УДК 579.864.1:615.331

С.О. Старовойтова[1], Н.О. Тимошок[2], В.Ю. Горчаков[1], М.Я. Співак[2]

[1]Національний технічний університет України «КПІ»
[2]Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МПС, Д03680, Україна

ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ РОДУ *LACTOBACILLUS*

Досліджено імуномодулюючі властивості композиції, що містить живі клітини бактерій роду Lactobacillus: L. delbrueckii subsp. bulgaricus LB86 ВКПМ-В-5788, L. delbrueckii subsp. delbrueckii DSM20074, L. rhamnosus LB3 IMB B-7038, L. acidophilus, L. rhamnosus V®. Показано, що стимуляція фагоцитарної системи під впливом композиції лактобактерій корелювала з підвищенням функціональної активності природних клітин кілерів, а також їх впливом на синтез цитокінів: інтерферону та фактора некрозу пухлин.

Ключові слова: імуномодулюючі властивості, лактобактерії, інтерферон, фактор некрозу пухлин, макрофаги, природні клітини кілери.

Бактерії роду *Lactobacillus* є провідними представниками резидентної мікрофлори шлунково-кишкового тракту (ШКТ) людини. Важлива роль лактобактерій у життєдіяльності макроорганізму обумовлена різноманітністю функцій, що вони виконують. Нормальна лактофлора ШКТ бере безпосередню участь в імунно-фізіологічній реакції багатьох процесів, що спрямовані на підтримку імунологічного гомеостазу [2, 3]. Лактобактерії – грампозитивні бактерії, до складу клітинної стінки яких входять такі компоненти, як пептидоглікан, полісахариди та тейхоєва кислота. Компоненти клітинної стін-

© С.О. Старовойтова, Н.О. Тимошок, В.Ю. Горчаков, М.Я. Співак, 2009

ки, антигени цитоплазми, фрагменти ДНК та продукти життєдіяльності лактобактерій володіють імуностимулюючими властивостями [16].

Однією з вимог до сучасних біологічних препаратів запобіжного характеру є їх здатність стимулювати антигенспецифічні механізми захисту, основою яких є індукція ендогенного інтерферону (ІФН) та інших цитокінів. Встановлено, що *L. brevis, L. reuteri, L. lactis, L. casei* або *L. plantarum* при стимуляції макрофагів та спленоцитів у системі *in vitro* здатні до індукції цитокінів ІЛ-1, ІЛ-12, фактору некрозу пухлин (ФНП), ІФН-γ [17], проте в системі *in vivo* при пероральному застосуванні лактобактерій не всі штами виявляють подібну активність. Саме тому метою нашої роботи було дослідити вплив композиції пробіотичного препарату на основі молочнокислих бактерій на продукцію імунорегуляторних цитокінів ІФН та ФНП *in vitro* та *in vivo* і визначити його вплив на цитотоксичну активність природних клітин кіллерів (ПКК).

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження була композиція пробіотичного препарату, створена на основі п'яти штамів бактерій роду *Lactobacillus,* одержаних із музею культур кафедри промислової біотехнології НТУУ «КПІ»: *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LB86 ВКПМ-В-5788*, L. delbrueckii subsp.delbrueckii* DSM20074*, L. rhamnosus* LB3 IMB B-7038*, L. acidophilus, L. rhamnosus V®.*

Імуномодулюючі властивості розробленої композиції лактобактерій вивчали на білих безпородних лабораторних мишах масою 14–16 г. Тварини було поділено за принципом аналогів на 3 групи по 15 голів. Мишам першої та другої групи протягом 5 діб з інтервалом 24 години вводили *per os* по 0,5 мл суспензії композиції лактобактерій та препарат порівняння «Лактобактерин сухий» (*L. plantarum* № 8Р-А3, або № 38*,* або *L. fermentum* № 90Т-С4, або № 39) (м. Перм, Російська Федерація) з концентрацією 10^9 кл/мл, відповідно. Третя група мишей, контрольна, отримувала по 0,5 мл фізіологічного розчину. Перерахунок концентрації препаратів для мишей робили за методом [11]. Також досліджували вплив одноразового перорального введення композиції та Лактобактерину мишам на індукцію імунорегуляторних цитокінів.

Через 6, 8, 24, 72 та 120 годин після щоденного введення препаратів одержували сироватку крові мишей [9], селезінку [10], спленоцити та макрофаги перитонеального ексудату (МФПЕ) [9].

Для індукції інтерферону (ІФН) та фактору некрозу пухлин (ФНП) в умовах *in vitro* в суспензію спленоцитів та МФПЕ (1×10^6 кл/мл) вносили композицію лактобактерій та Лактобактерин у кінцевих концентраціях $1*10^3$ та $1*10^6$ кл/мл. Через 6, 8 та 24 годин після внесення препаратів відбирали супернатанти для встановлення рівня індукованих цитокінів ІФН та ФНП.

Активність сироваткового й індукованного ІФН-α та γ визначали за стандартною методикою [9]. Активність ФНП оцінювали за цитотоксичною дією на перевивній культурі фібробластів миші L-929 [15].

Активність фагоцитозу (поглинальну здатність фагоцитів) вивчали у мікроскопічному тесті [4], із використанням тест-культури *Staphylococcus aureus* шт. IMB B-4001. Визначали показник фагоцитозу (ПФ) – кількість фагоцитуючих клітин (%) на 100 підрахованих, та фагоцитарний індекс (ФІ) – середню кількість бактерій, захоплених фагоцитом (ум. од). Бактерицидну активність фагоцитів (%) вивчали у тесті відновлення тетразолію нітросинього (НСТ-тест) [5]. Активність ПКК визначали колориметричним методом, використовуючи мішені L_{929} та спленоцити, попередньо оброблені 0,826 % розчином хлориду амонію для лізису еритроцитів у співвідношенні 1:100 [8].

Для отримання адекватних результатів індукції імунорегуляторних цитокінів та цитотоксичної активності ПКК під впливом дослідних препаратів, останні додавали до імунокомпетентних клітин дослідних, що одержали лактобактерії та інтактних (контрольних) мишей.

Усі досліди проводили не менше трьох разів із використанням відповідних контролів. Цифрові дані, одержані внаслідок досліджень, оброблялися статистичними методами з використанням t-критерію Ст'юдента [1]. Різницю вважали достовірною при значенні $P<0,05$ [6].

Результати та їх обговорення. Експериментальні дослідження показали, що одноразове пероральне введення композиції лактобактерій та Лактобактерину супроводжувалося індукцією ІФН у системі *in vivo.* Максимум ІФН спостерігався на 6 годину після введення дослідних препаратів і становив 3,7 $\log_2$ од/мл (P<0,05) – для композиції лактобактерій та 4,0 $\log_2$ од/мл (P<0,05) – для Лактобактерину, проти 1,5 $\log_2$ од/мл у контролі. Рівень ІФН залишався таким протягом 24 год. Після чого його концентрація в сироватці крові дещо знижувалася – до 2,0 $\log_2$ од/мл як для композиції лактобактерій, так і для Лактобактерину.

Щоденне введення дослідним мишам *per os* композиції або Лактобактерин протягом 5 діб дозволяло підтримувати рівень циркулюючого ІФН відповідно до (4,2)0,5) та (4,0)0,4) $\log_2$ од/мл (P<0,05) проти (2,0)0,3) $\log_2$ од/мл у контролі.

У сироватці крові дослідних тварин під впливом лактобактерій на 8 годину спостереження відмічали тенденцію до підвищення рівня ФНП у циркуляції. Подальші дослідження показали, що рівень ФНП у сироватці крові тварин залишався на рівні контролю.

Інтерферони беруть участь у регуляції багатьох ланок клітинної та гуморальної імунної відповіді. Вони здатні посилювати фагоцитарну та бактерицидну активність макрофагів, цитотоксичність ПКК та макрофагів, міграцію імунокомпетентних клітин [7]. Продукція ІФН під впливом композиції лактобактерій, на фоні щоденного введення, корелювала з підвищенням функціональної активності фагоцитуючих клітин. Проте підвищення рівня ІФН у циркуляції відмічали на 6 годину, а підвищення поглинальної здатності фагоцитів на 24 годину спостереження. Так, поглинальна активність МФПЕ – фагоцитарне число (ФЧ) під впливом композиції лактобактерій, становила 57,2±2,2%, 57,5±2,3%, 57,4±2,2% (P<0,05) на 1, 3 та 5 добу спостереження, проти 54,2±2,8 у контролі. Показники фагоцитарного індексу (ФІ) залишались у межах контролю 5,8±1,6 ум.од, 5,7±1,3 (P<0,10) ум.од, проти 5,5±2,2 ум. од (табл. 1). Підсилення бактерицидної активності макрофагів за даними НСТ-тесту не відмічали.

Таблиця 1

Вплив дослідних препаратів на фагоцитарну активність МФПЕ мишей *in vivo* стосовно *S. aureus* IMB B-4001

Доба спостереження	Групи мишей	Фагоцитарна активність МФПЕ	
		ФЧ, %	ФІ, ум.од.
1	Контроль (інтактні)	54,2±2,8	5,5±2,2
	Композиція лактобактерій 0,5 мл	57,2±2,2*	5,8±1,6
	Лактобактерин 0,5 мл	58,6±2,2**	5,8±1,4
3	Контроль (інтактні)	54,2±2,8	5,5±2,2
	Композиція лактобактерій 0,5 мл	57,5±2,3*	5,7±1,3
	Лактобактерин 0,5 мл	60,3±2,2**	6,4±1,3
5	Контроль (інтактні)	54,2±2,8	5,5±2,2
	Композиція лактобактерій 0,5 мл	57,4±2,2*	5,8±1,6
	Лактобактерин 0,5 мл	59,1±2,2**	6,8±1,4

Примітка: * – P<0,05;** – P<0,02.

Активацію МФПЕ при пероральному застосуванні лактобактерій можна пояснити тим, що продукти метаболізму лактобактерій поглинаються дендритними клітинами та активують не тільки фагоцитарні та лімфоїдні клітини організму, але і стимулюють ріст власної мікробіоти [14]. В літературі є дані про цілу низку малих молекул мікробного походження, за допомогою яких бактерії впливають на стан макроорганізму. Зокрема, це – так звані бактеріальні модуліни, що мають цитокініндукуючу активність: ліпополісахариди, порини, фімбрії, поверхневі протеїни, ліпопротеїни цитоплазматичної мембрани, екстрацелюлярні протеїни, протеази, ендотоксини, тейхоєві та ліпотейхоєві кислоти. У здоровому організмі джерелом таких молекул є представники нормальної мікрофлори [14].

На відміну від системи *in vivo*, дослідження функціональної активності фагоцитуючих клітин у системі *in vitro* під впливом дослідних препаратів (табл. 2) показало, що під дією композиції лактобактерій у концентраціях 10^6 кл/мл та 10^3 кл/мл поглинальна активність МФПЕ підвищувалася з 58,3 ± 2,4 % у контролі, до 62,2 ± 1,8 % (P<0,01) та

60,1 ± 1,8 % (P>0,05), відповідно. Величина ФІ підвищувалася до 7,8 ± 2,3 та 7,0±2,5 ум. од. (P>0,05), відповідно, порівняно з 5,7 ± 1,5 ум. од. у контролі.

Таблиця 2

Залежність функціональної активності МФПЕ мишей *in vitro* від рівня продукції імунорегуляторних цитокінів під впливом дослідних препаратів

Кінцеві дози дослідних препаратів у МФПЕ	Функціональна активність МФПЕ			Титр ІФН, од/мл	Концентрація ФНП-α, нг/мл
	ФЧ, %	ФІ, ум.од.	НСТ-тест %		
Композиція лактобактерій 10^6 кл/мл	62,2±1,8**	7,8±2,3*	18,2±1,3****	>2log$_2$	1,1
Композиція лактобактерій 10^3кл/мл	60,1±1,4*	7,0±2,5*	16,3±1,2***	>1log$_2$	1,1
Лактобактерин 10^6 кл/мл	63,1±1,6***	8,0±2,4*	18,2±1,2****	4log$_2$	1,0
Лактобактерин 10^3 кл/мл	61,3±1,8***	7,4±2,6*	16,2±1,3***	>2log$_2$	1,0
Контроль	58,3±2,4	5,7±1,5	12,0±1,3	1log$_2$	0,15

Примітка: * – P<0,10; ** – P<0,01; *** – P<0,002, **** – P<0,001.

Досліджувані препарати підсилювали *in vitro* здатність МФПЕ – інтактних мишей до відновлення нітросинього тетразолію. Відомо, що НСТ-тест відображає кінцеву реакцію одного з ключових, ферментних каскадів, який відповідає за ефекторний потенціал фагоцитів. Так, композиція лактобактерій у концентраціях 10^6 кл/мл і 10^3 кл/мл, та Лактобактерин у концентраціях 10^6 кл/мл і 10^3 кл/мл підвищували киснево-залежну бактерицидну активність МФПЕ відповідно до: 18,2±1,3%; 16,3±1,2%, та 18,2±1,2%; 16,2±1,3% (P<0,002) проти 12±1,3% у контролі (табл. 2).

Одержані дані щодо стимуляції дослідними препаратами фагоцитарної та бактерицидної активності МФПЕ можна пояснити підсиленням синтезу цитокінів (ІФН та ФНП-α) під впливом бактерій роду *Lactobacillus*. Активуючі ефекти ІФН виявилися опосередкованими через індукцію дослідними препаратами синтезу аутокриного стимулятора – ФНП-α, який визначали на 6 годину після стимуляції МФПЕ (табл. 2).

Наступним завданням було дослідження впливу композиції лактобактерій та Лактобактерину на активність ПКК у системі *in vitro*.

Відомо, що ПКК відіграють важливу роль в імунологічному нагляді організму. Вони є поліфункціональною ланкою системи імунітету, від ефективності якої залежить як специфічна, так і неспецифічна резистентність організму. Виражений модулюючий вплив ІФН на функцію ПКК дає змогу розглядати його як основний фактор фізіологічної регуляції активності даної популяції ефекторних клітин. Цитотоксичність ПКК в умовах *in vitro* та *in vivo* підсилюють різні типи інтерферону (α/β та γ-ІФН). Останнім часом показано, що окрім ІФН деякі штами лактобактерій здатні підсилювати цитотоксичну здатність ПКК [12]. Тому вирішено було дослідити, як композиція лактобактерій буде впливати на цитотоксичну активність ПКК. Для цього спленоцити мишей культивували з мішенями L_{929} та вносили дослідні препарати в концентраціях 10^3 кл/мл та 10^6 кл/мл. Індекс цитотоксичності (ІЦ) в системі кілер-мішень для композиції лактобактерій у концентраціях 10^3 кл/мл та 10^6 кл/мл становив 35,2 % та 39,7 % (P<0,02), відповідно, проти 31,6 % у контролі. При дослідженні впливу Лактобактерину на активність ПКК у системі *in vitro* показано, що препарат в дозах 10^6 кл/мл та 10^3 кл/мл вже в перші 24 год після внесення в систему кілер-мішень виявляв стимулюючу дію на ПКК, так ІЦ досягав 40,7 % та 39,2 % (P<0,002), відповідно, проти 31,6 % у контролі.

Функція ПКК регулюється як балансом пригнічуючих та стимулюючих сигналів, що надсилаються поверхневими клітинними рецепторами, так і прозапальними цитокінами. Окрім своєї ефекторної цитотоксичної активності, ПКК також залучені до організації імунної

відповіді за рахунок секреції деяких цитокінів (ІФН та ФНП-α), які здатні направляти імунну відповідь за Th-1 шляхом.

Отже, досліджена композиція лактобактерій чинила виражений стимулюючий вплив на цитокін-секреторну активність. У свою чергу функціональна активність продуцентів імунорегуляторних цитокінів корелювала з цитотоксичною активністю ПКК.

У роботі також використовували і супернатанти, що були одержані при культивуванні макрофагів (1×10^7 кл/мл) та спленоцитів (1×10^6 кл/мл) з індукторами вірус хвороби Н'юкаслу (ВХН), фітогемаглютинін (ФГА), композиція лактобактерій (10^6 кл/мл та 10^3кл/мл) і Лактобактерин (10^6 кл/мл та 10^3кл/мл). Попередні досліди показали високу здатність спленоцитів та макрофагів до продукції ІФН під впливом таких доз дослідних препаратів. У перші 24 год інкубації спленоцитів або макрофагів із стандартними індукторами, а також із композицією лактобактерій і Лактобактерином незалежно від дози одержані супернатанти не виявляли стимуляції ПКК порівняно з контрольними величинами. При 48 годинної інкубації з індукторами встановлено достеменне підвищення природної кілерної активності спленоцитів порівняно з контролем.

Встановлено, що внесення в тест-систему одержаних зразків призводило до підсилення цитотоксичної активності ПКК як дослідних, так і інтактних мишей (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив супернатантів, одержаних при культивуванні імунокомпетентних клітин з індукторами ІФН, на цитотоксичну активність ПКК у системі *in vitro*

Супернатанти, одержані при культивуванні МФПЕ	ІЦ ПКК, %	
	Дослідні миші	Інтактні
ВХН 10 $ТЦД_{50}$/клітину	$52,1^{***}$	40,1
ФГА (10 мкг/мл)	$55,0^{***}$	41,2
композиція лактобактерій 10^6 кл/мл	$38,5^{*}$	36,8
композиція лактобактерій 10^3кл/мл	$37,4^{*}$	37,4
Лактобактерин 10^6кл/мл	$44,4^{**}$	40,4
Лактобактерин 10^3кл/мл	$40,6^{***}$	39,6
Контроль	35,8	35,8
Супернатанти, одержані при культивуванні спленоцитів	Дослідні миші	Інтактні
ВХН 10 $ТЦД_{50}$/клітину	$42,2^{*}$	40,2
ФГА (10 мкг/мл)	$43,4^{*}$	41,4
композиція лактобактерій 10^6 кл/мл	$40,4^{*}$	39,4
композиція лактобактерій 10^3кл/мл	$39,2^{*}$	38,2
Лактобактерин 10^6кл/мл	$50,1^{*}$	49,1
Лактобактерин 10^3кл/мл	$43,5^{*}$	40,5
Контроль	35,8	35,8

Примітка: * – $P<0,05$; ** – $P<0,02$; *** – $P<0,001$.

Тобто, супернатанти, одержані при культивуванні імунокомпетентних клітин з індукторами, підсилювали природну цитотоксичність ПКК. Найбільш високу активуючу здатність виявили супернатанти, одержані при культивуванні макрофагів із Лактобактерином у концентрації 10^6кл/мл, проте концентрація 10^3кл/мл Лактобактерину та композиція лактобактерій у концентраціях 10^3 кл/мл та 10^6 кл/мл також викликали значну активацію цитотоксичної здатності ПКК. Така активність супернатантів може бути пояснена здатністю індукторів викликати синтез ряду цитокінів, таких як (ІФН, ФНП-α) та інших.

Супернатанти, одержані при культивуванні макрофагів з композицією лактобактерій і Лактобактерином, призводили до підсилення цитотоксичної активності ПКК як дослідних, так і контрольних мишей.

Встановлено, що живі клітини лактобактерій володіють достатньо високими показниками імуномодулюючої дії. Можна припустити, що ця дія пов'язана з специфічною будовою їх клітинних стінок. Так з літературних даних відомо, що мурамоїлдипептид (МДП) – головна складова пептидоглікану лактобактерій, стимулює продукцію інтерлейкіну-1 (ІЛ) макрофа-

гами, який необхідний для активації Т-лімфоцитів та продукції ІФН-γ лімфоцитами. МДП стимулює продукцію ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП-α моноцитами, а також ІЛ-4 та ІФН-γ лімфоцитами. Інший компонент клітинної стінки лактобактерій, що дає внесок в імуностимулюючу активність лактобактерій, – це тейхоєві кислоти. Вони стимулюють продукцію ІЛ-1, ФНП-α та ІЛ-6 моноцитами *in vitro* [16].

Лактобактерії здатні стимулювати медіатори імунітету – цитокіни та впливати на фенотип імунокомпетентних клітин. Механізми дії пробіотиків на основі лактобактерій зазвичай вірогідно мультифакторні, що включають низку ефекторних сигналів, типів клітин і рецепторів. Різні штами лактобактерій можуть різно впливати на імунокомпетентні та епітеліальні клітини ШКТ. З літератури відомо, що деякі пробіотики здатні запобігати або відновлювати гомеостаз ШКТ після імунного порушення, покращуючи бар'єрні функції [13].

Таким чином, дослідження впливу композиції лактобактерій на продукцію імунорегуляторних цитокінів інтерферону та фактору некрозу пухлин *in vitro* та *in vivo*, а також на функціональну активність МФПЕ (поглинальну здатність і бактерицидність) і цитотоксичну активність ПКК показало, що дані культури є потенційними індукторами цитокінів імунної відповіді І типу (ІФН та ФНП), які здатні впливати на функціональну активність макрофагів і цитотоксичну активність ПКК. Стимуляція фагоцитарної системи дослідними препаратами корелювала з підвищенням цитотоксичної активності ПКК та їх впливом на продукцію імунорегуляторних цитокінів (ІФН та ФНП-α). Це дає підстави для розроблення наукового обґрунтування показань, доз і схем застосування пробіотиків як для підвищення стійкості організму до інфекцій, оздоровлення імунної системи при тимчасових вторинних імунодефіцитах, так і для лікування різних захворювань, причому вони стимулюють пригнічену імунну систему і не впливають на імунну систему в нормальному стані. Препарати, що виготовляються на основі лактобактерій, не мають протипоказань, мають низьку токсичність, їх дія є фізіологічною, тому вони вже зараз можуть широко використовуватися для корекції мікробіоти та імунних порушень.

С.А. Старовойтова, Н.А. Тимошок, В.Ю. Горчаков, Н.Я. Спивак

[1]Національний технічний університет України «КПІ»
[2]Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРІЙ РОДА *LACTOBACILLUS*

Резюме

Исследовано иммуномодулирующие свойства композиции, содержащей живые клетки бактерий рода *Lactobacillus: L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LB86 ВКПМ-В-5788, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii DSM20074, L. rhamnosus LB3 IMB B-7038, L. acidophilus, L. rhamnosus V*®. Показано, что стимуляция фагоцитарной системы под влиянием композиции лактобактерий коррелировала с увеличением цитотоксической активности природных клеток киллеров, а также их влиянием на синтез цитокинов: интерферона и фактора некроза опухолей.

Ключевые слова: иммуномодулирующие свойства, лактобактерии, интерферон, фактор некроза опухолей, макрофаги, природные клетки киллеры.

S.A. Starovoitova, N.A. Timoshok, V.Yu. Gorchakov, N.Ya. Spivak

[1]National Technical University of Ukraine: Kyiv Polytechnik Institute; [2]Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

IMMUNOMODULATION AND ANTIVIRUS PROPERTIES OF BACTERIA OF LACTOBACILLUS GENUS

Summary

Immunomodulation properties of the composition which contains live cells of bacteria of genus *Lactobacillus: L. delbrueckii subsp. bulgaricus LB86 VKPM B- 5788, L.delbrueckii subsp. delbrueckii DSM20074, L. rhmanosus LB3 IMB B-7038, L. acidophilus, L. rhamnosus V*® were studied. Stimulation of phagocytic system under the influence of lactobacteria composition correlated with an increase of cytotoxic activity of

natural killer cells and with their influence on synthesis of cytokines: interferon and tumor necrosis factor was shown.

The paper is presented in Ukrainian.

K e y w o r d s: lactobacteria, phagocytic system, cytotoxic activity, natural killer cells, synthesis of cytokines tumor necrosis factor.

T h e a u t h o r's a d d r e s s: *S.A. Starovoitova*, National Technical University of Ukraine, Kyiv Polytechnic Institute; 37 Pobeda Pr., Kyiv, D03680, Ukraine.

1. *Бейли Н.* Статистические методы в биологии. – Москва: Изд-во иностранной литературы, 1962. – 260 с.
2. *Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А.* Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве препаратов пробиотиков // ЖМЭИ. – 1998. – № 5. – С. 107–112.
3. *Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Воробьева М.А.* Механизм действия пробиотических препаратов // БИОпрепараты. – 2003. – № 3. – С. 2–5.
4. *Вихоть Н.Е.* Фагоцитарная активность при стафилококковой инфекции // Журн. микробиологии. – 1981. – № 4. – С. 8–15.
5. *Грачева М.П.* Определение бактерицидной силы альвеолярных макрофагов с помощью НСТ-теста // ЖМЭИ. – 1984. – № 2. – С. 87–88.
6. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Москва: Медицина, 1978. – 294 с.
7. *Дяченко Н.С., Спивак Н.Я., Тарасишин Л.А.* и др. Современные методы диагностики вирусных респираторных инфекций и их терапии с использованием препаратов интерферона и его индукторов : Метод. рекомендации. – Киев, 1994. – 18 с.
8. *Кузовкова Н.А.* Оценка активности естественных киллеров колориметрическим методом // Иммунология. – 1991. – № 4. – С. 59–61.
9. *Лазаренко Л.М., Співак М.Я., Михайленко О.М., Сухих Г.Т.* Папіломовірусна інфекція та система інтерферону. – Київ: Фітосоціоцентр, 2005. – 288 с.
10. *Лимфоциты:* Методы : Пер. с англ. / Под ред. Дж. Клауса. – Москва: Мир, 1990. – 395 с.
11. *Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С.* Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады академии наук СССР. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513–1517.
12. *Цой И.Г., Сапаров А.С., Тимофеев И.К.* и др. Иммуностимулирующее действие лактобактерий на цитотоксичность естественных клеток-киллеров и продукцию интерферона // Микробиол. журн. – 1994. – № 6. – С. 112–113.
13. *Foligne B., Nutten S., Grandette C.* et al. Correlation between *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria // World Journal of Gastroenterology. – 2004. – **13**, № 32. – P. 236–243.
14. *Haller D., Blum S., Bode C.* Activation of human peripheral blood mononuclear cells by nonpathogenic bacteria *in vitro*: Evidence of NK cells as primary targets // Infect. and Immun. – 2000. – **68**, № 2. – P. 752–759.
15. *Meager A,, Leung H.,Waley J.* Tumor necrosis factor alpha (TNF) // J. Immunol. Meth. – 1989. – **116**, N 1. – P. 1–17.
16. *Meydani S.N., Ha W.-K.* Immunologic effects of yogurt // ASCN. – 2000. – **71**, № 4. – P. 861–872.
17. *Muller-Alouf H., Graggette C, Goundercourt D.* et al. Comparative cytokine inducing pattern of lactic acid bacteria used for mucosal vaccine development // Immunol. Letters. – 1999. – **69**, N 1. – Abstr. 6.6.

Отримано 16.04.2008