

Lizaty bakteryjne – skuteczna immunostymulacja

Bacterial lysates – effective immunostimulation

Edyta Szalek

Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Streszczenie

Ze względu na dużą częstość występowania infekcji dróg oddechowych (ang. *respiratory tract infections*; RTIs) o etiologii bakteryjnej i wirusowej, zarówno u dzieci jak i dorosłych, bardzo istotną rolę odgrywa profilaktyka, która obejmuje odpowiednią dietę, wysiłek fizyczny i sen. Kolejnym sposobem zapobiegania chorobom infekcyjnym jest immunostymulacja poprzez stosowanie lizatów bakteryjnych (LB). LB w odróżnieniu od szczepionek działają niespecyficznie, a więc zapewniają lepszą odpowiedź immunologiczną na różne patogeny, co oznacza efektywniejszą ochronę w przypadku infekcji bakteryjnych i wirusowych. Ich przydatność potwierdzono w leczeniu m.in. zapalenia oskrzeli, gardła, krtani, błony śluzowej nosa, zatok i ucha wewnętrznego. Jednym z lepiej poznanych leków immunostymulujących jest Broncho-Vaxom® (BV), którego skuteczność u dzieci i dorosłych pacjentów wykazano w randomizowanych badaniach klinicznych oraz metaanalizach. Autorzy tych publikacji wskazują na złożony, wielokierunkowy mechanizm działania LB, który w efekcie prowadzi do wzrostu odpowiedzi nieswoistej i swoistej, zapewniając skuteczną profilaktykę infekcji, a także przyczyniają się do redukcji objawów RTIs w każdej grupie wiekowej pacjentów. (*Farm Współ 2018; 11: 49-54*)

Słowa kluczowe: immunostymulacja, lizat bakteryjny, infekcje dróg oddechowych

Abstract

Due to the high incidence of respiratory tract infections (RTIs) of bacterial and viral aetiology observed in adults and children it is very important to prevent them by adequate diet, physical exercise and sleep. Infectious diseases can also be prevented by immunostimulation with bacterial lysates (BL). In contrast to vaccines, BL have non-specific effect, so they guarantee better immune response to various pathogens. In consequence, they provide better protection from bacterial and viral infections. BL have been proved effective against bronchitis, pharyngitis, laryngitis, rhinitis, sinusitis and inner ear inflammation. Broncho-Vaxom® (BV) is an immunostimulant which has been well investigated and its efficacy has been proved in randomised clinical trials and meta-analyses conducted on children and adult patients. The authors of these publications indicate a complex, multidirectional mechanism of action of BL. It increases the non-specific and specific response, successfully prevents infections and reduces the symptoms of RTIs in patients of all ages. (*Farm Współ 2018; 11: 49-54*)

Keywords: immunostimulation, bacterial lysate, respiratory tract infections

Infekcje dróg oddechowych o etiologii wirusowej dotyczą aż 70-80% dorosłych pacjentów, z których większość niestety leczona jest antybiotykiem. Około 65% chorych z przebiegiem otrzymuje leki przeciwbakteryjne, mimo że nie zaleca się ich rutynowego stosowania, ponieważ prowadzą do osłabienia niepatogennej flory bakteryjnej, licznych powikłań oraz rosnącej oporności drobnoustrojów. Dopiero

nasilenie objawów (np. gorączka, brak poprawy po 7-10 dniach, ropny katar) stanowi wskazanie do podania antybiotyku, zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami postępowania w pozaszpitalnych zakażeniach układu oddechowego z 2016 roku (Narodowy Program Ochrony Antybiotyków) oraz z uwzględnieniem zasad farmakokinetyczno-farmakodynamicznych dotyczących leków przeciwbakteryjnych [1-3]. Infekcje dróg

oddechowych u dzieci, szczególnie do 5 roku życia, wynikają głównie z niedojrzałości układu odpornościowego, a ich liczba wynosi średnio 6-8/rok. Dzieci poniżej 5-7 r.ż. nie posiadają jeszcze w pełni wykształconych mechanizmów obronnych wobec patogenów, które spełniają funkcje przeciwbakteryjną (defensyny, lizozym, IgA), immunomodulującą (sekretoglobiny, cytokiny) i protekcyjną (hereguliny). Niższa ekspresja receptorów toll-podobnych (ang. *toll-like receptors*), które są zlokalizowane na komórkach układu odpornościowego, prowadzi u dzieci do ograniczonego rozpoznawania patogennych mikroorganizmów i osłabionej wczesnej odpowiedzi immunologicznej. Stężenie defensyn i kolektywnych w śluzówce dzieci jest także niższe [4]. Do czynników osłabiających funkcje układu odpornościowego należy włączyć także: złą higienę snu, małą aktywność fizyczną, stres i nieprawidłowe nawyki żywieniowe. W badaniu Cohen i wsp. obserwowano zdecydowanie większą zachorowalność w grupie osób, które spały krócej (< 7-8 godzin) w porównaniu do grupy śpiącej powyżej 8 godzin [1,4,5]. Umiarkowana i regularna aktywność fizyczna u dzieci wzmacnia układ odpornościowy, lecz wyczerpujący i intensywny wysiłek – osłabia jego funkcję [4]. Niedożywienie jest kolejnym czynnikiem zmniejszającym odporność, jednak w przypadku dzieci w Europie nie ma on istotnego znaczenia. Przeciwnie, istotnym klinicznie problemem jest otyłość. Słabsza odpowiedź immunologiczna i wyższe ryzyko infekcji dróg oddechowych u pacjentów otyłych wynika ze zmniejszonej produkcji cytokin, odpowiedzi na stymulację antygenem i mitogenem, funkcji makrofagów, komórek

dendrytycznych (DC; ang. *dendritic cells*) i osłabienia komórek NK (ang. *natural killer*) [4]. Komórki DC wychwytyują antygeny oraz prezentują je limfocytom T, natomiast komórki NK są naturalnymi komórkami cytotoksycznymi.

Jednym z istotnych elementów zapobiegania chorobom infekcyjnym jest immunostymulacja. Aktualnie na rynku lekowym jest dostępnych szereg preparatów immunostymulujących. Są to zarówno szczepionki, jak i lizaty bakteryjne (LB). Przykładem sprawdzonego LB, który jest stosowany u dorosłych i dzieci już od 1980 roku, jest Broncho-Vaxom® (BV), który zawiera standaryzowaną mieszaninę liofilizowanych 21 szczepów, które pochodzą od ośmiu gatunków najważniejszych patogennych bakterii: *Haemophilus influenzae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Neisseria catarrhalis* [6, 7]. Skład lizatu determinuje jego skuteczność kliniczną, dlatego powinien zawierać przede wszystkim antygeny tych drobnoustrojów, które są głównymi czynnikami etiologicznymi zakażeń dróg oddechowych [8]. Lizaty bakteryjne, dostępne na rynku lekowym, istotnie różnią się liczbą i doбором bakterii (tabela I). Wskazania do stosowania leku Broncho-Vaxom® obejmują: zapobieganie nawracającym zakażeniom dróg oddechowych oraz leczenie wspomagające ostrych zakażeń dróg oddechowych.

Przewagą LB nad szczepionkami jest ich niespecyficzne działanie, co oznacza pobudzenie odpowiedzi immunologicznej przeciwko różnym patogenom i ochronę wobec bakterii, ale także wirusów. LB,

Tabela I. Porównanie składu wybranych lizatów bakteryjnych (LB) [9-12]

Table I. A comparison of composition of selected bacterial lysates (LB) [9-12]

Nazwa LB	Liczba bakterii	Skład
Broncho-Vaxom®	8	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Diplococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella ozaenae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus viridans</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i>
Luivac®	7	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Ryboimunyl®	4	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> ,
Ismigen®	8	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus (viridans) oralis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella ozaenae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>

mimo że zawiera w swoim składzie antygeny bakteryjne (zabite całe bakterie lub elementy komórek bakteryjnych otrzymane w wyniku lizy chemicznej lub mechanicznej), istotnie stymuluje także odpowiedź immunologiczną przeciwvirusową na drodze różnych mechanizmów, m.in. działając przez receptory toll-podobne (ang. *toll-like receptors*) [13,14]. LB powodują pobudzenie odpowiedzi nieswoistej (głównie poprzez granulocyty, mastocyty i komórki NK) oraz odpowiedzi swoistej, na którą składa się wzrost odpowiedzi

komórkowej (limfocyty T) i humoralnej (limfocyty B). Po takiej stymulacji obserwuje się intensywną syntezę odpowiednio immunoglobulin: IgA, IgE, IgG, IgM oraz cytokin [15]. Wzmocniona produkcja przeciwciał ma miejsce w surowicy, ale także w ślinie, błonie śluzowej płuc i jelit. Puidgollers i wsp. wykazują w swoim badaniu na zdrowych ochotnikach wzrost stężenia IgA w ślinie o ponad 100% po 10 dniach od podania LB (Broncho-Vaxom®). U 4 ochotników, którzy otrzymali tylko 1 kurs leczenia, poziom IgA wrócił do wartości

Tabela II. Przykłady badań klinicznych oceniających skuteczność i bezpieczeństwo lizatów bakteryjnych u dzieci
Table II. Examples of clinical trials estimating the efficacy and safety of bacterial lysates in children

Autorzy	Cel badania	Charakterystyka badania	Wnioski	Źródło
Gómez Barreto i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u dzieci z podostrym zapaleniem zatok przynosowych leczonych amoksylicyną z kwasem klawulanowym (40/10 mg/kg/21 dni)	– prospektywne, randomizowane badanie równoległe, podwójnie zaślepienie, z użyciem <i>placebo</i> , u dzieci w wieku 18 m-cy-9 lat – gr. badana otrzymywała BV przez 3 m-ce (10 dni/m-c), w pierwszym miesiącu wraz z rozpoczęciem antybiotykoterapii	– w grupie leczonej BV obserwowano istotnie krótszy okres trwania choroby – w trakcie 6-miesięcznej obserwacji wykazano u dzieci leczonych BV mniejszą liczbę infekcji w porównaniu do gr. kontrolnej otrzymującej <i>placebo</i>	17
Del-Río-Navarro i wsp.	– ocena wpływu LB (BV) na liczbę RARTIs i poziom IgG	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, z <i>placebo</i>) u dzieci w wieku 3-6 lat (n=49) z obniżonym poziomem IgG; gr. badana otrzymywała BV przez 3 m-ce (10 dni/m-c) – ocena efektu po 3 miesiącach	– w grupie leczonej BV obserwowano istotnie mniejszą liczbę ostrych infekcji dróg oddechowych w porównaniu do gr. kontrolnej	18
Schaad i wsp.	– ocena skuteczności i bezpieczeństwa LB (BV) u dzieci z nawracającymi infekcjami górnych dróg oddechowych (URTIs)	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, wieloośrodkowe, z <i>placebo</i>) u dzieci w wieku 36-96 miesięcy (n=232); gr. badana otrzymywała BV co dzień przez 1 m-c oraz przez 10 dni od 3 do 5 m-ca;	– w grupie leczonej LB obserwowano istotnie mniejszą liczbę URTIs w porównaniu do gr. kontrolnej – obserwowano porównywalne bezpieczeństwo i tolerancję LB i <i>placebo</i>	19
Gutiérrez-Tarango i wsp.	– ocena skuteczności i bezpieczeństwa LB (BV) u dzieci	– prospektywne badanie równoległe, podwójnie zaślepienie, z użyciem <i>placebo</i> , u dzieci w wieku 1-12 lat (n=54); gr. badana otrzymywała BV przez 3 m-ce (10 dni/m-c) i drugi cykl po 6 m-cach; – ocena efektu po 12 m-cach	– w grupie leczonej LB obserwowano istotnie mniejszą liczbę i czas trwania ostrych infekcji dróg oddechowych oraz znaczące zmniejszenie stosowania antybiotykoterapii	20
Zagar S i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u dzieci z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych	– badanie randomizowane, podwójnie zaślepienie, z użyciem <i>placebo</i> , u dzieci w wieku 4-12 lat (n=51); gr. badana otrzymywała BV przez 6 m-cy – ocena skuteczności po 6 m-cach	– w grupie leczonej LB obserwowano istotnie krótszy czas trwania infekcji, mniejszą liczbę dodatkowych terapii oraz ich czas trwania, a także wzrost poziomu IgA	21

BV – Broncho-Vaxom®, RARTIs – ang. *recurrent acute respiratory tract infections*; – nawracające ostre infekcje dróg oddechowych; URTIs – ang. *upper respiratory tract infections* – infekcje górnych dróg oddechowych

wyjściowych po 1 miesiącu, natomiast u 8 uczestników badania otrzymujących 2 kursy – wysokie stężenie przeciwciała utrzymywało się przynajmniej 3 miesiące. W eksperymencie wykazano także istotny

wzrost stężenia w surowicy IgG (ok. 50%) oraz IgM (> 100%) między 35 dniem a 5 miesiącem od podania leku [16]. Interesujące wyniki dotyczące skuteczności i bezpieczeństwa preparatu Broncho-Vaxom®

Tabela III. Przykłady badań klinicznych oceniających skuteczność i bezpieczeństwo lizatów bakteryjnych u dorosłych

Table III. Examples of clinical trials estimating the efficacy and safety of bacterial lysates in adults

Autorzy	Cel badania	Charakterystyka badania	Wnioski	Źródło
Heintz i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u dorosłych pacjentów z przewlekłym ropnym zapaleniem zatok przynosowych	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, wielośrodkowe, z <i>placebo</i>) u dorosłych pacjentów (n=284); gr. badana otrzymywała BV przez 3 m-ce (10 dni/ m-c) – ocena skuteczności do 6 m-cy	– w grupie leczonej LB obserwowano istotną redukcję objawów choroby w pierwszym i szóstym miesiącu obserwacji	22
Ahrens i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u dorosłych pacjentów z nawracającymi infekcjami dróg oddechowych z uwzględnieniem częstości występowania i zaawansowania zakażenia oraz konieczności wdrożenia leczenia przeciwbakteryjnego	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, wielośrodkowe, z <i>placebo</i>) u dorosłych pacjentów (n=230) – ocena skuteczności do 6 m-cy	– w grupie leczonej LB obserwowano korzystniejszy efekt w porównaniu do <i>placebo</i> , również w aspekcie działań niepożądanych	23
Orcel i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u starszych pacjentów z przewlekłym zapaleniem oskrzeli	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, wielośrodkowe, z <i>placebo</i>) u starszych pacjentów (n=290) w wieku >65 lat – ocena skuteczności do 6 m-cy	– w grupie leczonej LB obserwowano istotny spadek liczby ostrych infekcji oraz mniejszą liczbę przepisywanych antybiotyków	24
Cvoriscec i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) u pacjentów z przewlekłym zapaleniem oskrzeli	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, z <i>placebo</i>) u pacjentów (n=104) – ocena skuteczności do 6 m-cy	– w grupie leczonej LB obserwowano istotny spadek liczby ostrych infekcji, gorączek, mniejszą liczbę przepisywanych antybiotyków, istotny wzrost stężenia IgA w surowicy krwi u pacjentów leczonych BV w porównaniu do grupy z <i>placebo</i>	25
Collet i wsp.	– ocena skuteczności LB (BV) w prewencji ostrych infekcji u pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc	– badanie randomizowane (podwójnie zaślepienie, z <i>placebo</i>) u pacjentów (n=381) – ocena skuteczności do 6 m-cy	– liczba dni związanych z hospitalizacją pacjentów z POChP leczonych BV – o 55% niższa w porównaniu do grupy leczonej <i>placebo</i> – pogorszenie duszności u pacjentów otrzymujących <i>placebo</i>	26

BV – Broncho-Vaxom®;

w populacji pediatrycznej przedstawia metaanaliza Yin i wsp. Autorzy poddają analizie 53 randomizowane, kontrolowane badania kliniczne z udziałem dzieci (n = 4851) z nawracającymi infekcjami górnych i dolnych dróg oddechowych (ang. *recurrent respiratory tract infections*; RRTIs), których wyniki zostały opublikowane w bazach: PubMed, Embase, Cochrane Library, CBM, CNKI, WanFang Data i VIP do stycznia 2017 roku. W analizie uwzględniano pacjentów, którzy otrzymali przynajmniej jeden kurs leczenia lizatem bakteryjnym (3 miesiące/kurs). W grupie otrzymującej Broncho-Vaxom® wykazano istotne skrócenie czasu antybiotykoterapii, infekcji, gorączki, kaszlu i świstów. Ponadto stwierdzono wzrost stężenia immunoglobulin IgG, IgA, IgM oraz limfocytów T (CD3+, CD4+ i CD8+). W grupie z LB w porównaniu do grupy kontrolnej obserwowano częściej działania niepożądane (wysypka, objawy ze strony przewodu pokarmowego), jednak miały one charakter łagodny i nie wpływały na przebieg leczenia [7]. Przykłady licznych badań klinicznych z udziałem dzieci leczonych lizatem bakteryjnym przedstawiono w tabeli II. Zapobieganie infekcjom u osób dorosłych jest szczególnie istotne zwłaszcza u pacjentów geriatrycznych, u których podczas leczenia antybiotykami należy dodatkowo wziąć pod uwagę choroby współistniejące (np. przewlekła obturacyjna choroba płuc – POChP,

cukrzyca, nadciśnienie, niewydolność nerek, niewydolność wątroby, choroby nowotworowe) oraz przyjmowane leki (inhibitory/induktory enzymatyczne), które mogą powodować mniejszą skuteczność terapii i ryzyko licznych, trudnych do przewidzenia interakcji. Przykłady badań klinicznych z udziałem dorosłych pacjentów leczonych lizatem bakteryjnym, w przebiegu nawracających infekcji dróg oddechowych, zapalenia oskrzeli oraz POChP, przedstawiono w tabeli III.

Ograniczenie liczby zakażeń dróg oddechowych bądź skrócenie czasu ich trwania, poprzez stosowanie odpowiedniej profilaktyki, pozwala poprawić jakość życia chorych, zredukować koszty niezbędnego leczenia, ale także odciążać system opieki zdrowotnej.

Konflikt interesów/Conflict of interest

Współpraca z firmą Sandoz.

Adres do korespondencji:

✉ Edyta Szalek
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji
UM w Poznaniu
ul. Św. Marii Magdaleny 14; 61-052 Poznań
☎ (+48 61) 668 78 53
✉ szalekedyta@wp.pl

Piśmiennictwo

- Rygalski M, Zawisza E. Postępowanie terapeutyczne w przeziębieniu. *Lek Pol.* 2015; 25(9): 16-26.
- „Rekomendacje postępowania w pozaszpitalnych zakażeniach układu oddechowego 2016” Narodowy Program Ochrony Antybiotyków.
- Szałek E. Podstawowe wskaźniki PK/PD stosowane w antybiotykoterapii. *Anest Ratow.* 2009; 3: 88-93.
- Feleszko W, Ruszczyński M, Zalewski BM. Non-specific immune stimulation in respiratory tract infections. Separating the wheat from the chaff. *Paediatr Respir Rev.* 2014 Jun;15(2):200-6.
- Cohen S, Doyle WJ, Alper CM, Janicki-Deverts D, Turner RB. Sleep habits and susceptibility to the common cold. *Arch Intern Med.* 2009 Jan 12;169(1):62-7. doi: 10.1001/archinternmed.2008.505.
- Kałucka S. Lizat bakteryjny skuteczny lek w walce z zakażeniami dróg oddechowych. *Praktyczny poradnik w pytaniach i odpowiedziach.* Monografia. Warszawa: Wydawnictwo Akademia Medycyny; 2016.
- Yin J, Xu B, Zeng X, Shen K. Broncho-Vaxom in pediatric recurrent respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 2018 Jan;54:198-209.
- Szałek E. Skuteczna immunostymulacja u dzieci. *Farm Wsp.* 2017;10(3):184-6.
- Broncho-Vaxom. Charakterystyka Produktu Leczniczego.
- Luivac. Charakterystyka Produktu Leczniczego.
- Rybomunyl. Charakterystyka Produktu Leczniczego.
- Ismigen. Charakterystyka Produktu Leczniczego.
- Feleszko W, Dziekiewicz M, Wąsowicz A. Immunostymulacja przy użyciu antygenów bakteryjnych – mechanizm działania i praktyka kliniczna w wirusowych zakażeniach układu oddechowego. *Pediatr Med Rodz.* 2015;11(4):358-64.
- Braido F, Tarantini F, Ghiglione V, Melioli G, Canonica GW. Bacterial lysate in the prevention of acute exacerbation of COPD and in respiratory recurrent infections. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2007 Sep;2(3):335-45.

15. Kuthan RT, Kuthan RH. Zastosowanie nieswoistych szczepionek bakteryjnych jako immunostymulacji tkanki limfatycznej układu oddechowego u dzieci. *Lek w Polsce* 2014; 24 (279): 35-43.
16. Puigdollers JM, Serna GR, Hernandez del Rey I, Barruffet MT, Torroella JJ. Immunoglobulin production in man stimulated by an orally administered bacterial lysate. *Respiration*. 1980;40(3):142-9.
17. Gómez Barreto D, De la Torre C, Alvarez A, Faure A, Berber A. Safety and efficacy of OM-85-BV plus amoxicillin/clavulanate in the treatment of subacute sinusitis and the prevention of recurrent infections in children. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1998 Jan-Feb;26(1):17-22.
18. Del-Río-Navarro BE, Luis Sienra-Monge JJ, Berber A, Torres-Alcántara S, Avila-Castañón L, Gómez-Barreto D. Use of OM-85 BV in children suffering from recurrent respiratory tract infections and subnormal IgG subclass levels. *Allergol Immunopathol. (Madr)*. 2003 Jan-Feb;31(1):7-13.
19. Schaad UB, Mütterlein R, Goffin H. Immunostimulation with OM-85 in children with recurrent infections of the upper respiratory tract: a double-blind, placebo-controlled multicenter study. *Chest*. 2002 Dec;122(6):2042-9.
20. Gutiérrez-Tarango MD, Berber A. Safety and efficacy of two courses of OM-85 BV in the prevention of respiratory tract infections in children during 12 months. *Chest*. 2001 Jun;119(6):1742-8.
21. Zagar S, Löfler-Badzek D. Broncho-Vaxom in children with rhinosinusitis: a double-blind clinical trial. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 1988;50(6):397-404.
22. Heintz B, Schlechter WW, Kirsten R, Nelson K. Clinical efficacy of Broncho-Vaxom in adult patients with chronic purulent sinusitis-a multi-centric, placebo-controlled, double-blind study. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. 1989 Nov;27(11):530-4.
23. Ahrens J, Wiedenbach M. [Efficacy of the immunostimulant Broncho-Vaxom]. *Schweiz Med Wochenschr*. 1984 Jun 23;114(25):932-4.
24. Orcel B, Delclaux B, Baud M, Derenne JP. Oral immunization with bacterial extracts for protection against acute bronchitis in elderly institutionalized patients with chronic bronchitis. *Eur Respir J*. 1994 Mar;7(3):446-52.
25. Cvoriscec B, Ustar M, Pardon R, Palecek I, Stipic-Markovic A, Zimic B. Oral immunotherapy of chronic bronchitis: a double-blind placebo-controlled multicentre study. *Respiration*. 1989;55(3):129-35.
26. Collet JP, Shapiro P, Ernst P, Renzi T, Ducruet T, Robinson A. Effects of an immunostimulating agent on acute exacerbations and hospitalizations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. The PARI-IS Study Steering Committee and Research Group. Prevention of Acute Respiratory Infection by an Immunostimulant. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Dec;156(6):1719-24.