

Áhrif lýsisríks fæðis á lifun músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae* eða *Streptococcus pneumoniae*

Valtýr Stefánsson
Thors¹,

Auður Þórisdóttir¹,

Helga Erlendsdóttir²,

Ingibjörg
Harðardóttir¹,

Ingólfur Einarsson³,

Sigurður
Guðmundsson⁴,

Eggert Gunnarsson⁵,

Ásgeir Haraldsson^{1,3}

Ágrip

Markmið: Áhrif lýsisneyslu á lifun eftir sýkingar og á sjálfnámissjúkdóma hefur verið staðfest af ýmsum rannsóknarhópum. Talið er að áhrifin megi rekja til breytinga á ónæmissvari líkamans. Flestar rannsóknanna hafa verið gerðar með Gram neikvæðu bakteríunni *Klebsiella pneumoniae*. Ónæmissvarið gegn Gram jákvæðum bakteríum er nokkuð frábrugðið svari gegn Gram neikvæðum bakteríum. Þá er Gram jákvæða bakterían *Streptococcus pneumoniae* mjög algengur sýkingavaldur, einkum í börnum.

Til að kanna hvort verndandi áhrif lýsisneyslu séu mismunandi eftir því hvort sýkt er með Gram jákvæðum eða Gram neikvæðum bakteríum rannsókum við áhrif lýsisríks fæðis á lifun músa eftir sýkingar með *Klebsiella pneumoniae* eða *Streptococcus pneumoniae*.

Efniviður og aðferðir: 120 NMRI músur var skipt í fjóra hópa og voru aldar á fæði bættu með lýsi (tveir hópar, 30 mús í hvorum hópi) eða á fæði bættu með kornolíu (tveir hópar, 30 mús í hvorum hópi). Eftir sex vikur voru mýsnar sýktar með *Klebsiella pneumoniae* (lýsishópur og kornolíuhópur) eða með *Streptococcus pneumoniae* hjúpperð 3 (lýsishópur og kornolíuhópur). Fylgst var með lifun músanna. Tilraunin var síðan endurtekin á sama hátt.

Niðurstöður: Lifun músa sem sýktar voru með *Klebsiella pneumoniae* var marktækt betri hjá hópunum sem fengu lýsisríkt fæði samanborið við hópana sem fengu kornolíubætt fæði ($p=0,0001$ og $0,0013$).

Ekki var tölfræðilega marktækur munur á lifun músa sem sýktar voru með *Streptococcus pneumoniae* hjúpperð 3 hvort heldur þær fengu lýsisríkt eða kornolíuríkt fæði ($p=0,74$ og $p=0,15$).

Ályktanir: Niðurstöður okkar benda til þess að áhrif lýsisríks fæðis tilraunadyra séu greinileg þegar sýkt er með Gram neikvæðu bakteríunni *Klebsiella pneumoniae* en ekki í sýkingum með *Streptococcus pneumoniae* hjúpperð 3.

Inngangur

Undanfarin ár hafa margir rannsakað áhrif mismunandi fitusýra á ónæmiskerfi líkamans. Niðurstöður rannsókna benda til þess að lýsi hafi verndandi áhrif gegn mörgum sjúkdómum, þar með talið bólgusjúkdómum og sjálfnámissjúkdómum (1-5). Lýsi er auðugt af ω -3 fitusýrum (6) og neysla þess eykur magn ω -3 fitusýra í frumuhinnnum líkamans. Af því leiðir síðan að aukin framleiðsla verður á bólgumiðlum

ENGLISH SUMMARY

Thors VS, Þórisdóttir A, Erlendsdóttir H, Harðardóttir I, Einarsson I, Guðmundsson S, Gunnarsson E, Haraldsson Á

Effect of dietary fish-oil on survival of experimental animals after infection with *Streptococcus pneumoniae* or *Klebsiella pneumoniae*

Lækna blaðið 2002; 88: 120-4

Objective: Dietary fish-oil has beneficial effect in infections and in autoimmune disorders. This effect is thought to be associated with alterations in the immune system. The Gram negative organism *Klebsiella pneumoniae* has been used as an infective agent in most studies investigating the effect of dietary fish-oil on infection. The immune response against Gram positive bacteria is somewhat different to the response to Gram negative organisms. Moreover, the Gram positive bacteria *Streptococcus pneumoniae* is a very common pathogen, particularly in children.

To investigate whether dietary fish-oil has different effect in infections by Gram positive or Gram negative bacteria, we studied the survival of mice fed with fish-oil or corn-oil supplemented diets and infected in the lungs with either *Klebsiella pneumoniae* or *Streptococcus pneumoniae*.

Materials and methods: 120 NMRI mice were divided into four groups and fed diets supplemented with fish-oil (two groups, 30 mice in each group) or corn-oil (two groups, 30 mice in each group). After six weeks, the mice were infected with *Klebsiella pneumoniae* (fish-oil group and corn-oil group) or with *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 (fish-oil group and corn-oil group). The survival was monitored. The experiment was performed twice.

Results: The survival of the mice infected with *Klebsiella pneumoniae* was significantly better in the groups receiving the fish-oil enriched diet as compared to the groups fed the corn-oil enriched diet ($p=0.0001$ and 0.0013).

There was no difference in the survival of mice infected with *Streptococcus pneumoniae* serotype 3, receiving the fish-oil or corn-oil enriched diets ($p=0.74$ and $p=0.15$).

Conclusions: These results indicate that dietary fish-oil has beneficial effect on survival of mice after experimental infection with the Gram negative bacteria *Klebsiella pneumoniae* but not on experimental infections with the Gram positive bacteria *Streptococcus pneumoniae* serotype 3.

Key words: omega-3 fatty acids, experimental animals, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*.

Correspondence: Ásgeir Haraldsson. E-mail: asgeir@landspitali.is

¹Háskóli Íslands, læknaeild.

²Sýklafræðideild Landspítala.

³Barnspítali Hringins.

Landspítala Hringbraut.

⁴Landlækniseimbættið.

⁵Rannsóknarstöð Háskóla

Íslands í meinafræði að

Keldum. Fyrirspurnir: Ásgeir

Haraldsson prófessor

Barnspítala Hringins.

Landspítala Hringbraut, 101

Reykjavík. Sími: 5601050;

netfang: asgeir@landspitali.is

Lykilord: lýsi, omega-3 fitusýrur, tilraunadyr, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*.

framleiddum úr ω -3 fitusýrum en minni framleiðsla verður á bólgumiðlum framleiddum úr ω -6 fitusýrum, svo sem arakíðónsýru.

Fyrri niðurstöður okkar og annarra sýna að lýsi hefur verndandi áhrif gegn sýkingum með Gram neikvæðu bakteríunni *Klebsiella pneumoniae* (6-8). Í rannsóknum okkar fram til þessa höfum við notað kornolíu eða ólífuolíu til samanburðar við áhrif lýsisins (6, 7, 9). Mismunur lýsis annars vegar og ólífuolíu eða kornolíu hins vegar felst fyrst og fremst í magni omega-3 fitusýra í lýsi en omega-6 eða omega-9 fitusýrum í kornolíu eða ólífuolíu (6). Í rannsóknum okkar hefur lýsi haft greinileg áhrif umfram bæði ólífuolíu eða kornolíu.

Flestar rannsóknir á verndandi áhrifum lýsis í sýkingum hafa verið gerðar með bakteríunni *Klebsiella pneumoniae* þó fleiri sýklar hafi verið reyndir (8, 10-15). Rannsóknir á Gram jákvæðum bakteríum eru þó af skornum skammti (16-18).

Pneumókokkar eru algengir sýkingavaldar hjá börnum og fullorðnum. Talið er að ár hvert valdi þeir sýkingum í meira en 150 milljónum manna í heiminum (19, 20). Þeir eru ein algengasta bakterían sem veldur heilahimnubólgu, eyrnabólgu og lungnabólgu (20).

Í ljósi þess að lítið er vitað um áhrif lýsisríks fæðis á sýkingar með Gram jákvæðum bakteríum, auk þess sem pneumókokkar eru afar algengur sjúkdómavaldur, voru í tilraun þessari rannsókuð áhrif lýsisneyslu tilraunadýra á lifun eftir sýkingar í lungu með *Streptococcus pneumoniae* hjúngerð 3 annars vegar og hins vegar *Klebsiella pneumoniae*.

Efni og aðferðir

Tilraunadýr og meðferð þeirra

Tilraunadýrin voru 120 NMRI kvenmýs, skipt í fjóra jafnstóra hópa, sem aldar voru á Tilraunastöð Háskólans í meinafræði að Keldum. Mýsnar voru aldar á hefðbundinn hátt og höfðu frjálsan aðgang að fæðu og vatni meðan á tilrauninni stóð.

Í sex vikur voru mýsnar aldar á hefðbundnu nagdýrafóðri frá Special Diets Services (Witham, Essex, England). Músunum var skipt í 4 hópa og fengu tveir hópar fæði bætt með lýsi (Lýsi ehf, Grandavegi, Reykjavík, Ísland) og tveir hópar fæði bætt með kornolíu (Wesson, Hunt-Wesson Inc., Fullerton, USA) þannig að fitusýrumagn og hitaeningamagn hópanna væri sambærilegt. Lýsið og kornolían námu 10% af þyngd fæðisins.

Sýklar, sýkingar og framkvæmd

Streptococcus pneumoniae (hjúngerð 3) var fengin frá Sýklafræðideild Landspítala háskólasjúkrahúss. Gerðar voru tvær sýkingatilaunir og var fjöldi bakteríanna sem sýkt var með annars vegar 7.500 og hins vegar 9.000. Fjöldi músa í hvorri tilraun voru 60, 30 fengu lýsisríkt fæði og 30 mýs fengu kornolíuríkt fæði.

Klebsiella pneumoniae, ATCC 43816, var einnig

fengin frá Sýklafræðideild Landspítala háskólasjúkrahúss. Gerðar voru tvær sýkingatilaunir og var fjöldi bakteríanna annars vegar 275 og hins vegar 436. Fjöldi músa í hvorri tilraun var 60, 30 mýs fengu lýsisríkt fæði og 30 fengu kornolíuríkt fæði.

Við sýkingu voru mýsnar svæfðar með pentobarbiton-sódíum (50 mg/kg) sem sprautað var í kviðarhol. Síðan voru mýsnar hengdar upp á vír á framtönnunum og 50 μ l af lausn með bakteríunum látnir drjúpa niður í nefhol þeirra og þaðan niður í lungu. Að 10 mínútum liðnum var músunum komið fyrir í sitjandi stöðu þar til þær vöknudu af svæfingunni. Lausnin með bakteríunum var geymd í ísbaði meðan á sýkingarferlinu stóð til að hindra fjölgun bakteríanna og voru þær í log fasa við sýkingu. Aðferðinni hefur verið lýst áður (21).

Fylgst var með lifun músanna á átta klukkustunda fresti. Tilraunin var framkvæmd tvisvar á sama hátt, að því frátöldu að í annarri tilrauninni var fylgst með músunum í 14 daga en í hinni í 18 daga.

Tölfræði

Lifun tilraunadýranna var metin með Kaplan-Meier log rank prófi. Munur var talinn tölfræðilega marktækur ef p -gildi var minna en 0,05.

Niðurstöður

Þyngdaraukning músanna var sú sama í hópnum sem fengu lýsisríkt fæði og þeim sem fengu kornolíuríkt fæði.

Lifun músa sem sýktar voru með *Klebsiella pneumoniae* var marktækt betri hjá hópnum sem alinn hafði verið á lýsisríku fæði samanborið við hópinn sem alinn var á kornolíuríku fæði í báðum tilraununum ($p=0,0001$ og $0,0013$) (mynd 1).

Ekki var tölfræðilega marktækur munur á lifun músanna sem sýktar voru með *Streptococcus pneumoniae* hjúngerð 3 og fengu lýsisríkt fæði og þeirra sem fengu kornolíuríkt fæði í hvorugri tilrauninni ($p=0,74$ og $p=0,15$) (mynd 2).

Umræða

Fyrri niðurstöður rannsóknarhópsins sýndu betri lifun músa sem sýktar voru með Gram neikvæðu bakteríunni *Klebsiella pneumoniae* og aldar voru á lýsisbættu fæði samanborið við mýs sem aldar voru á kornolíubættu fæði (6, 7). Þó flestar rannsóknir á áhrifum lýsis í sýkingum hafi verið gerðar með *Klebsiella pneumoniae* hafa einnig aðrir sýklar verið notaðir. Þannig hefur verið bent á góð áhrif lýsis eftir sýkingar með *Pseudomonas aeruginosa* (10) og eftir innspýtingu endótoxína bæði eftir gjöf lýsisríks fæðis (11) og einnig eftir gjöf lýsisblöndu í æð (22). Þá hefur tilraunadýrum verið gefin lýsislausn í æð skömmu eftir upphaf blóðsýkingar. Niðurstöðurnar sýndu marktækt betri lifun dýranna sem fengu lausnina samanborið við saltvatn (23). Einnig hefur lifun

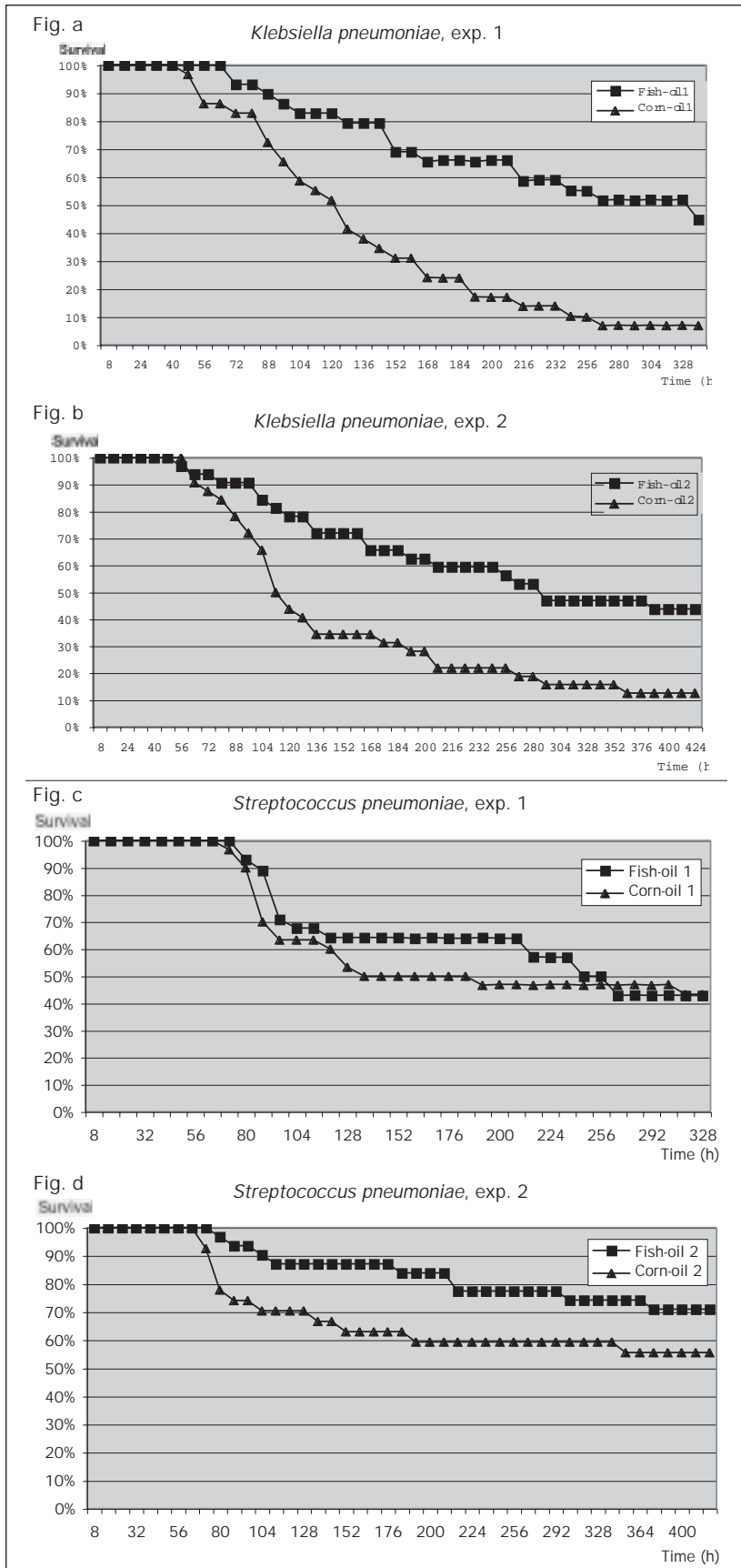


Fig. 1. The survival of mice fed fish-oil or corn-oil enriched diet for six weeks before infected in the lungs with either *Klebsiella pneumoniae* (figs. a and b) or *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 (figs. c and d).

tilraunadýra verið betri eftir sýkingar með *Helicobacter pylori*, bæði *in vivo* og *in vitro* (12, 13) og sömu sögu er að segja af sýkingum með berklum (14) og malaríu (8, 15, 24). Loks hefur verið sýnt fram á vaxtarhemjandi áhrif lýsis á veirusýkingar *in vitro* (25) en áhrif lýsisneyslu á veirusýkingar í tilraunadýrum *in vivo* hafa hins vegar bent til hægari hreinsunar veirunnar úr öndunarvegi og minnkaðrar framleiðslu á interferón-gamma (26).

Rannsóknir á Gram jákvæðum bakteríum eru af skornum skammti. Þær niðurstöður kunna þó að vera mikilvægar, meðal annars í ljósi tíðni sýkinga af völdum slíkra baktería. Rannsóknir hafa þó verið gerðar á áhrifum lýsisríks fæðis á sýkingar með *Staphylococcus aureus* (16, 17). Benda niðurstöðurnar til ákveðinna áhrifa lýsisríks fæðis á ónæmissvar kanína en hafði ekki áhrif á hreinsun baktería úr lungum (17). Einnig hefur rannsókn á nýfæddum rottuungum leitt í ljós að neysla lýsis olli minnkaðri hreinsun *Staphylococcus aureus* úr lungum (16). Þannig virðist sem áhrif lýsisríks fæðis séu ekki þau sömu í tilraunum með *Staphylococcus aureus* samanborið við til dæmis *Klebsiella pneumoniae*.

Niðurstöður okkar nú, þar sem verndandi áhrifa lýsis gætir ekki þegar sýkt er með Gram jákvæðu bakteríunni *Streptococcus pneumoniae*, eru athyglisverðar. Mögulegt er að hluti skýringarinnar geti verið sá að þessar mismunandi bakteríutegundir vekji mismunandi ónæmissvar (27) og að önnur þeirra sé frekar háð afleiðum lýsis en hin. Þó greining ónæmissvarsins eftir bakteríutegundum sé ekki glögg er þó *Streptococcus pneumoniae* talinn vekja aðallega B-eitilfrumusvar sem einkennist af þroskun þeirra í mótefnaseytrandi plasmafrumur. Á hinn bóginn vekja Gram neikvæðar bakteríur á borð við *Klebsiella pneumoniae* frekar upp frumubundið ónæmissvar sem einkennist af því að T-eitilfrumur eru kallaðar til og útrýma sýkingarvaldinum ýmist með þroskun í drápsfrumur eða hjálparfrumur. Þessi munur endurspeglast einnig í mismunandi framleiðslu ýmissa frumuboddefna. Örvun B-frumna er einna helst tengd við framleiðslu IL-4 og IL-5 en örvun T-fruma er fremur háð framleiðslu IL-2. Niðurstöður margra rannsókna benda til að lýsi minnki styrk boðefna IL-1, IL-2, IL-6 og TNF- α en þessi boðefni hafa öll hlutverk við bólgumiðlun í ónæmiskerfi líkamans (28). Í tilraunum okkar var sýkt með *Streptococcus pneumoniae* af hjúppgerð 3 en þessi hjúppgerð hefur óvenju mikinn sykrunghjúp. Einnig var sýkt með *Klebsiella pneumoniae* sem inniheldur mikið af lípópólísakkaríðum. Munur þessara baktería er því afar mikill.

Neysla á ω -3 fitusýrum hefur líklega áhrif á ýmsa þætti ónæmiskerfisins eins og fjallað hefur verið um í yfirlitgreinum (29, 30). Bent hefur verið á að lýsisríkt fæði auki framleiðslu eitilfrumna í öndunarvegum eftir veirusýkingar í tilraunadýrum en dragi hins

vegar úr framleiðslu sérhæfðra T-eitilfrumna (30, 31). Fleiri breytingum á starfsemi og fjölgun eitilfrumna hefur verið lýst (32). Rannsóknir hafa einnig bent til að draga mætti úr bælingu lymfocýta í sepsis með lýsisgjöf (23). Niðurstöður hafa einnig sýnt fram á minni framleiðslu IL-12 og interferón-gamma í dýrum (33). Einnig hefur verið bent á aukningu á sjálfstýrðum frumudauða hjá tilraunadýrum sem fengu lýsisríkt fæði (34). Þó hafa einnig verið birtar niðurstöður sem sýna minni vöxt malaríu *in vitro* og *in vivo* eftir lýsisneyslu tilraunadýra sem varla styður kenningar um ónæmisbælingu (24). Því má ætla að áhrif lýsisins á ónæmissvar líkamans sé afar fjölbreytt.

Í rannsóknum okkar og annarra hefur ýmist verið notað kornoliubætt fæði eða ólífuoliubætt fæði til viðmiðunar við lýsisgjöfina (6, 7, 9, 14, 16, 35, 36). Mismunur á fitusýrusamsetningunni felst fyrst og fremst í omega-3 innihaldi lýsisins sem hvorki er í ólífuolíu né kornolíu. Viðmiðunarféðið hefur hins vegar sýnt sömu niðurstöður og hefðbundið fæði í tilraunum okkar (6, 7, 37). Því er eðlilegt að álykta að áhrifin séu fyrst og fremst vegna lýsisgjafarinnar og þá vegna omega-3 innihalds lýsisins.

Niðurstöður okkar nú benda ákveðið til þess að áhrif lýsisríks fæðis tilraunadýra séu greinileg í sýkingum með *Klebsiella pneumoniae* en ekki í sýkingum með *Streptococcus pneumoniae*. Ástæður þessa munar eru enn ekki ljósar.

Þakkir

Sonja Vilhjálmsdóttir annaðist dýrahald á Keldum. Örn Ólafsson aðstoðaði við tölfraeðiútreikninga. Styrkir til rannsóknarinnar fengust frá RANNÍS, Nýsköpunarsjóði námsmanna, Lýsi ehf, Aðstoðarmannasjóði Háskóla Íslands og Vísindasjóði Landspítalans. Sýklafræðideild Landspítala lagði til bakteríurnar.

Heimildir

- Kremer JM, Lawrence DA, Petrillo GF, Litts LL, Mullaly PM, Rynes RI, et al. Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. Clinical and immune correlates. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1107-14.
- Bittner SB, Tucker WB, Cartwright I, Bleehen SS. A double blind, randomised, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis. *Lancet* 1988; 1: 378-80.
- Miura S, Tsuzuki Y, Hokari R, Ishii H. Modulation of intestinal immune system by dietary fat intake: relevance to Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1183-90.
- Cheng IK, Chan PC, Chan MK. The effect of fish-oil dietary supplement on the progression of mesangial IgA glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 241-6.
- Harbige LS. Dietary n-6 and n-3 fatty acids in immunity and autoimmune disease. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 555-62.
- Björnsson S, Hardardóttir I, Gunnarsson E, Haraldsson Á. Lýsisneysla eykur lifun músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae*. *Læknablaðið* 1997; 83: 289-93.
- Björnsson S, Hardardóttir I, Gunnarsson E, Haraldsson Á. Dietary fish oil supplementation increases survival in mice following *Klebsiella pneumoniae* infection. *Scand J Infect Dis* 1997; 29: 491-3.
- Blok WL, Vogels MTE, Curfs JHAJ, Eling WMC, Buurman WA, van der Meer JWM. Dietary fish-oil supplementation in experimental gram-negative infection and in cerebral malaria in mice. *J Infect Dis* 1992; 165: 898-903.
- Þórisdóttir A, Sigurðsson JR, Erlendsdóttir H, Einarsson I, Guðmundsson S, Gunnarsson E, et al. Áhrif lýsisneyslu á bakteríuvöxt *in vivo*. *Læknablaðið* 2001; 87: 715-18.
- Peck MD, Alexander JW, Ogle CK, Babcock GF. The effect of dietary fatty acids on response to *Pseudomonas* infection in burned mice. *J Trauma* 1990; 30: 445-52.
- Rosa DM, Spillert CR, Flanagan JJ, Lazaro EJ. Beneficial effect of cod liver oil in murine endotoxemia. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 1990; 70: 125-7.
- Wang X, Sjunnesson H, Sturegard E, Wadstrom T, Willen R, Aleljung P. Dietary factors influence the recovery rates of *Helicobacter pylori* in a BALB/cA mouse model. *Zentralblatt für Bakteriologie* 1998; 288: 195-205.
- Thompson L, Cockayne A, Spiller RC. Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on the growth of *Helicobacter pylori* - a possible explanation of the effect of diet on peptic ulceration. *Gut* 1994; 35: 1557-61.
- Paul KP, Leichsenring M, Pfisterer M, Mayatepek E, Wagner D, Domann M, et al. Influence of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the resistance to experimental tuberculosis. *Metabolism* 1997; 46: 619-24.
- Fevang P, Sääv H, Høstmark AT. Dietary Fish Oils and Long-Term Malaria Protection in Mice. *Lipids* 1995; 30: 437-41.
- D'Ambola JB, Aeberhard EE, Trang N, Gaffar S, Barrett CT, Sherman MP. Effect of dietary (n-3) and (n-6) fatty acids on *in vivo* pulmonary bacterial clearance by neonatal rabbits. *J Nutr* 1991; 121: 1262-9.
- Palombo JD, DeMichele SJ, Boyce PJ, Lydon EE, Liu JW, Huang YS, et al. Effect of short-term enteral feeding with eicosapentaenoic and gamma-linolenic acids on alveolar macrophage eicosanoid synthesis and bactericidal function in rats. *Crit Care Med* 1999; 27: 1908-15.
- Fritsche KL, Shahbazian LM, Feng C, Berg JN. Dietary fish oil reduces survival and impairs bacterial clearance in C3H/He mice challenged with *Listeria monocytogenes*. *Clin Sci (Colch)* 1997; 92: 95-101.
- Bluestone C, Klein J, Paradise J, et al. Workshop on effects of otitis media on the child. *Pediatrics* 1983; 71: 639-52.
- Williams W, Hickson M, Kane M, Kendal A, Spika J, Hinman A. Immunization policies and vaccine coverage among adults. The risk for missed opportunities (published erratum appears in *Ann Intern Med* 1988; 109: 348). *Ann Intern Med* 1988; 108: 616-25.
- Magnusson V, Erlendsdóttir H, Kristinsson KG, Guðmundsson S. Comparative efficacy of penicillin and ceftriaxone against penicillin resistant pneumococci in a mouse pneumonia model. In: *ICAAC*; 1995; 1995.
- Mascioli E, Leader L, Flores E, Trimbo S, Bistran B, Blackburn G. Enhanced survival to endotoxin in guinea pigs fed IV fish oil emulsion. *Lipids* 1988; 23: 623-5.
- Lanza-Jacoby S, Flynn JT, Miller S. Parenteral supplementation with a fish-oil emulsion prolongs survival and improves rat lymphocyte function during sepsis. *Nutrition* 2001; 17: 112-6.
- Kumaratilake LM, Robinson BS, Ferrante A, Poulos A. Antimalarial properties of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids: *in vitro* effects on *Plasmodium falciparum* and *in vivo* effects on *P. berghei*. *J Clin Invest* 1992; 89: 961-7.
- Thormar H, Isaacs CE, Brown HR, Barshatzky MR, Pessano T. Inactivation of enveloped viruses and killing of cells by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob agents chemother* 1987; 31: 27-31.
- Byleveld PM, Pang GT, Clancy RL, Roberts DC. Fish oil feeding delays influenza virus clearance and impairs production of interferon-gamma and virus-specific immunoglobulin A in the lungs of mice. *J Nutr* 1999; 129: 328-35.
- Cundell D, Masure HR, E.I. T. The molecular basis of pneumococcal infection: A hypothesis. *Clin Infect Dis* 1995; 21: S204-12.
- Calder PC. Can ω-3 polyunsaturated fatty acids be used as immunomodulatory agents? Pharmacological targets in the immune response. 1996; 24: 211-20.
- Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Ann Nutr Metab* 1997; 41: 203-34.
- Calder PC. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 467-90.
- Byleveld M, Pang GT, Clancy RL, Roberts DC. Fish oil feeding enhances lymphocyte proliferation but impairs virus-specific T lymphocyte cytotoxicity in mice following challenge with influenza virus. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 287-92.
- Yaquob P, Newsholme EA, Calder PC. The effect of dietary lipid manipulation on rat lymphocyte subsets and proliferation. *Immunology* 1994; 82: 603-10.

33. Fritsche KL, Anderson M, Feng C. Consumption of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid impair murine interleukin-12 and interferon-gamma production *in vivo*. *J Infect Dis* 2000; 182: S54-61.
34. Avula CP, Zaman AK, Lawrence R, Fernandes G. Induction of apoptosis and apoptotic mediators in Balb/C splenic lymphocytes by dietary n-3 and n-6 fatty acids. *Lipids* 1999; 34: 921-7.
35. Blok WL, Vogels MT, Curfs JH, Eling WM, Buurman WA, van der Meer JW. Dietary fish-oil supplementation in experimental gram-negative infection and in cerebral malaria in mice. *J Infect Dis* 1992; 165: 898-903.
36. Peck MD, Alexander JW, Ogle CK, Babcock GF. The effect of dietary fatty acids on response to *Pseudomonas* infection in burned mice. *J Trauma* 1990; 30: 445-52.
37. Alexander NJ, Smythe NL, Jokinen MP. The type of dietary fat affects the severity of autoimmune disease in NZB/NZW mice. *Am J Pathol* 1987; 127: 106-21.