

Immunomodulacja jako narzędzie ograniczające antybiotykoterapię w intensywnym chowie drobiu

✉ BARTŁOMIEJ TYKAŁOWSKI, ✉ ANDRZEJ KONCICKI

Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
ul. Michała Oczapowskiego 13, 10-716 Olsztyn

Otrzymano 04.04.2022

Zaakceptowano 06.05.2022

Tykałowski B., Koncicki A.

Immunomodulation as a tool to reduce antibiotic therapy in intensive poultry production

Summary

The aim of the present review is to demonstrate the possibility of limiting antibiotic therapy in intensive poultry production through the use of various immunomodulators. In an era of increasing resistance of microorganisms to antimicrobial agents, it is particularly important to improve the efficiency of the immune system, which is indispensable for birds to survive in an environment where this system is constantly exposed to a number of stimuli that directly or indirectly affect its functioning. This is all the more important as the health of birds kept under intensive systems depends mainly on the functional status of their immune system, which determines the level of postvaccination immunity and the effectiveness of treatment. That is because its proper function is needed for the elimination of pathogenic microorganisms, stimulation of repair processes in damaged tissues and protection against reinfection.

This paper focuses on the possibilities of modulating immune mechanisms and correcting the reactivity of the immunological system in poultry by using natural or synthetic immunomodulators. The results presented here suggest that methisoprinol and β -glucans are effective in modulating immune processes in turkeys and may find practical application in mass rearing of these birds: β -glucans mainly in prophylactic programmes, whereas methisoprinol both in prevention and treatment of diseases of viral etiology occurring with immunosuppression. It has also been shown that phytoncides contained in well-composed complementary feeds show immunomodulatory effects in broiler chickens and turkeys and are effective in the prevention and treatment of black head disease in turkeys. Considering the key role of the immune system in fighting pathogens, it should be concluded that synthetic and natural immunomodulators, including phytoncides used in the prevention and treatment of poultry diseases, can effectively reduce and, in some cases, replace or support antibiotic therapy.

Keywords: poultry, immunomodulation, limiting antibiotic therapy

W dobie narastania oporności mikroorganizmów na antybiotyki znaczenia nabierają działania zmierzające do podniesienia u drobiu sprawności ich mechanizmów obronnych. Sprawnie funkcjonujący układ odpornościowy umożliwia ptakom przetrwanie w środowisku, w którym jest on stale narażany na szereg bodźców wpływających bezpośrednio lub pośrednio na jego funkcjonowanie. Jednym z istotnych czynników mających wpływ na układ immunologiczny ptaków jest postęp genetyczny w zakresie parametrów produkcyjnych, który na ogół prowadzi do osłabienia wrodzonej odporności, stanowiącej pierwszą barierę chroniącą organizm przed patogenami (12, 69). Dodatkowo, w warunkach intensywnego chowu na organizm ptaków bardzo często oddziałują immunosupresory niezakaźne, trwale związane z warunkami chowu oraz ilościowym i jakościowym składem skarmianej paszy (10, 11, 14, 17, 23).

Ponadto, z uwagi na częste nieprzestrzeganie na fermach zasad bioasekuracji, dochodzi do zakażeń ptaków różnymi patogenami, które wykazują powinowactwo do narządów immunologicznych. Upośledzenie funkcji układu odpornościowego na tle zakażeń wirusowych jest zagadnieniem niezwykle złożonym i nie do końca poznanym. Cechą charakterystyczną zakażeń wirusowych jest ich szczególne powinowactwo do narządów i komórek układu immunologicznego (45, 67, 75, 76, 82, 85). Do upośledzenia mechanizmów immunologicznych u ptaków prowadzą również zakażenia bakteryjne, które, z jednej strony, bardzo często wymagają antybiotykoterapii, z drugiej zaś – są wprowadzane rygorystyczne ograniczenia w stosowaniu chemioterapeutyków spowodowane narastaniem zjawiska antybiooporności drobnoustrojów. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że liczne chemioterapeutyki mają także

właściwości immunosupresyjne, na przykład powszechnie stosowane w terapii chorób ptaków tetracykliny hamują transformację blastyczną limfocytów stymulowanych mitogenami, obniżają siłę oddziaływania bodźca antygenowego, wpływają hamująco na rozwój komórek pamięci immunologicznej, a także hamują zdolności chemotaktyczne oraz fagocytarne granulocytów obojętnochłonnych (heterofili) (24, 26, 59, 83).

Konsekwencją oddziaływania na układ immunologiczny ptaków wymienionych wyżej czynników są zarówno zmiany ilościowe, jak i czynnościowe w mechanizmach odpornościowych, prowadzące do upośledzenia jego prawidłowego funkcjonowania, określane mianem immunosupresji. Następstwem immunosupresji, zarówno uwarunkowanej genetycznie, jak i powstającej pod wpływem różnych czynników środowiskowych jest zaostrenie toczących się procesów chorobowych, zwiększona wrażliwość ptaków na infekcje, obniżenie wskaźników produkcyjnych oraz zmniejszenie skuteczności prowadzonej immunoprofilaktyki (11, 28, 66). Jest to o tyle istotne, że zdrowie ptaków utrzymywanych systemem intensywnym w głównej mierze jest uzależnione od stanu funkcjonalnego ich układu immunologicznego, który decyduje o poziomie odporności poszczepiennej i skuteczności leczenia. Z prawidłową funkcją tego układu związane są: ostateczna eliminacja drobnoustrojów chorobotwórczych, stymulacja procesów naprawczych w uszkodzonych tkankach oraz ochrona przed ponownym zakażeniem.

Jak ważna jest racjonalna antybiotykoterapia, świadczy fakt, iż Parlament Europejski opracował Rezolucję z dnia 12 maja 2011 r. „w sprawie oporności na antybiotyki” (2012/C 377 E/17), w której wzywa Komisję Europejską i państwa członkowskie, aby w sposób odpowiedzialny zajęły się rosnącym problemem oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (61). W 2015 r. Komisja Europejska opublikowała wytyczne dotyczące rozsądnego stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w weterynarii „Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine”, w których wskazuje, że rozsądne stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych powinno doprowadzić do maksymalizacji efektu terapeutycznego i minimalizowania rozwoju oporności (27). Kodeks w sprawie rozsądnego stosowania przez lekarzy weterynarii produktów leczniczych przeciwdrobnoustrojowych przyjęła w dniu 25 sierpnia 2020 r. Krajowa Rada Lekarsko-Weterynaryjna (87). W tym miejscu warto dodać, że Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r., w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych (62) wprowadziło od 28 stycznia 2022 r. zakaz prewencyjnego podawania antybiotyków zdrowym zwierzętom. Sytuacja ta bez wątpienia sprawia, iż niezwłocznie muszą być poszukiwane i wprowadzane alternatywne metody, pozwalające ograniczać stosowanie antybiotyków. Jedną z alternatyw może być modulowanie zjawisk odpornościowych u drobiu utrzymywanego systemem intensywnym.

Prezentowane opracowanie ma na celu przybliżenie czytelnikom możliwości modulowania zjawisk odpornościowych i korygowania upośledzonej na różnym tle reaktywności układu odpornościowego u drobiu w chowie masowym. Służą temu podejmowane próby modulowania zjawisk odpornościowych poprzez wprowadzanie procedur ingerujących w mechanizmy odpowiedzi immunologicznej, stosując naturalne lub syntetyczne immunomodulatory. Ogólnie, wyrażenie „immunomodulacja” odnosi się do metod i środków pozwalających wpływać na funkcję układu odpornościowego, czyli modyfikować jego stan i aktywność. W zależności od stanu funkcjonalnego docelowych komórek układu immunologicznego pojęcie to obejmuje wszystkie preparaty stymulujące lub hamujące komórkowe i humoralne mechanizmy obronne organizmu. Jak wynika z powyższego stwierdzenia, efekt stosowania środka immunomodulującego może przybierać dwojaki charakter: wzmocnienia (pobudzenia), czyli immunostymulacji lub osłabiania (hamowania) odpowiedzi immunologicznej (90). Niektóre z czynników działają zarówno stymulująco, jak i hamująco na odpowiedź immunologiczną, co zależy od: wielkości dawki i liczby kolejnych podań, schematu stosowania, drogi podania, układu badawczego (*in vitro*, *in vivo*), statusu odpornościowego organizmu w chwili rozpoczęcia terapii, usytuowania terapii w czasie w stosunku do momentu zakażenia lub zadziałania czynnika immunosupresyjnego, czy gatunku ptaka. Z tego też względu niektóre z immunomodulatorów nie będą *sensu stricto* stymulowały mechanizmów immunologicznych, lecz przywracały ich osłabioną reaktywność do normy (90). Należy także pamiętać, że stosowanie wielokrotnych i zbyt wysokich dawek immunomodulatorów może prowadzić do wystąpienia zjawiska hyporeaktywności (zmęczenia), które ma zazwyczaj charakter odwracalny i najprawdopodobniej jest wynikiem uruchomienia mechanizmów regulacyjnych, zapobiegających wystąpieniu nadmiernej aktywności układu odpornościowego (37). Środki immunostymulujące są stosowane zarówno wtedy, gdy układ odpornościowy działa normalnie, np. w immunoprofilaktyce swoistej jako adiuwanty w celu wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej na podany antygen szczepionkowy, jak i w stanach osłabienia określonej jego funkcji, np. w okresie rekonwalescencji. Wymaga to indywidualnego podejścia do każdego stada ptaków, uwzględniając jego aktualny stan fizjologiczny, warunki chowu, żywienia oraz status immunologiczny (90). Niewątpliwie immunomodulacja będzie efektywniejsza, gdy drób będzie utrzymywany zgodnie z przewidzianymi normami technologicznymi (dobrostan), przy pełnej bioasekuracji.

Wiele substancji pochodzenia naturalnego, jak i tych syntetycznych, charakteryzuje się pozytywnym oddziaływaniem na układ immunologiczny (16, 17, 25, 39, 41, 43, 47, 48, 50, 53, 63, 64, 74, 77, 79). W chwili obecnej sporym zainteresowaniem cieszą się preparaty immunostymulujące pochodzenia roślinnego, ze względu

na coraz częstsze odchodzenie od antybiotykoterapii i poszukiwanie przez konsumentów produktów ekologicznych. Stwierdzono, że poszczególne zioła wykazują wyraźną swoistość w oddziaływaniu na układ immunologiczny, a aktywność immunologiczna preparatów roślinnych lub wyizolowanych z nich substancji wyraża się różnymi efektami, np.: wzmożoną aktywnością fagocytarną makrofagów (*Arnica montana*, *Echinacea* spp.), zwiększeniem liczby pobudzonych limfocytów T i B (*Echinacea* spp.), zahamowaniem wzrostu implantowanych komórek nowotworowych (*Calandula officinalis*), a niekiedy nawet przeżyciem zwierząt z wszczepionym nowotworem (*Solidago virga-aurea*). Często obserwuje się również indukcję syntezy interferonów (*Plantago lanceolata*, *Echinacea* spp., *Taraxacum officinale*). Niektóre biologicznie czynne składniki ziół mogą również podnosić aktywność lizozymu we krwi. Do najbardziej znanych i najczęściej stosowanych preparatów roślinnych należą soki i wyciągi wodne z aloesu drzewiastego (*Aloe arborescens*) i różnych gatunków jeżówki (*Echinacea* spp.). Zazwyczaj produkowane są one w postaci preparatów do stosowania *per os*. Ponadto spotyka się preparaty do stosowania podskórnego, domięśniowego i zewnętrznego, a większość z nich oddziałuje na granulocyty i makrofagi, wzmacniając fagocytozę. Niewiele natomiast było wiadomo, jaki wywierają one wpływ na różne populacje limfocytów (25). Coraz powszechniejsze stosowanie w badaniach naukowych cytometrii przepływowej pozwala ocenić wpływ różnych substancji pochodzenia zarówno naturalnego, jak i syntetycznego na komórkowe mechanizmy odpowiedzi immunologicznej u ptaków (43, 79, 80, 84).

W masowym chowie drobiu zastosowanie znajdują przede wszystkim preparaty, które można podawać *per os* ze skarmianą mieszanką paszową lub z wodą do picia. Ponadto nowatorską metodą modulowania zjawisk odpornościowych u drobiu jest immunomodulacja *in ovo*. Z danych literaturowych wynika, że w końcowym okresie inkubacji zarodki ptaków są immunokompetentne, co umożliwia skuteczne prowadzenie zabiegów profilaktycznych już w tym czasie (32, 54, 60, 65, 66, 91). Jest to o tyle istotne, że na układ odpornościowy embrionów nie oddziałują te tak liczne czynniki zewnętrzne, które mogą zmieniać stan funkcjonalny systemu immunologicznego u ptaków w chowie masowym. Zatem immunomodulacja metodą *in ovo*, która może być stosowana na szeroką skalę w zakładach wylęgowych, wykorzystując urządzenia do immunizacji zarodków (40), otwiera nowe możliwości w praktyce weterynaryjnej, zwłaszcza w stadach drobiu utrzymywanych systemem wielkotowarowym. Ocena skuteczności preparatów naturalnych i syntetycznych wykorzystywanych do modulowania zjawisk odpornościowych u drobiu nadal wymaga szeregu badań, w tym niezbędne jest opracowanie programów ich podawania z równoczesnym monitorowaniem wskaźników immunologicznych.

W badaniach własnych do modulowania mechanizmów odpornościowych metodą *in ovo* u indyków stosowano syntetyczny, niskotoksyczny immunomodulator – metizoprinol (izoprynozyne), który jest stosowany w medycynie człowieka w terapii zakażeń wywołanych przez wirusy opryszczki, ospy wietrznej, grypy, świnki, odry, HIV, a także w półpaścu oraz w innych zakażeniach wirusowych o powikłanym przebiegu, zwłaszcza u chorych z obniżoną odpornością (19-21, 30, 57). Metizoprinol posiada także właściwości modulujące naturalną odporność organizmu, co nasila jej efekt przeciwwirusowy oraz zdolność korygowania funkcji nieprawidłowo reagujących komórek układu immunologicznego u ludzi (70). Działanie tego immunomodulatora polega również na potęgowaniu oddziaływania mitogenów w stosunku do limfocytów T i B. Jest on także odpowiedzialny za wzrost liczby komórek T CD4⁺ oraz podwyższoną aktywność IFN- γ (9).

Rumińska-Groda (63) oraz Koncicki i wsp. (42) wykazali, że metizoprinol zastosowany *in ovo* w dawce 5 mg na jajo w 25. dobie inkubacji, a następnie u wykłutych z tych jaj indyków stosowany *per os* z paszą od 8. do 10. dnia odchowu w dawce 50 mg/kg m.c. wzmacnia humoralną odporność poszczepienną przeciwko wirusowi ND. Istotne również było wykazanie, iż metizoprinol zastosowany *in ovo* w trzech dawkach (5, 10 lub 20 mg na zarodek) w 26. dobie inkubacji w trakcie rutynowego przekładania jaj z komory lęgowej do kłujnika nie wpływa negatywnie na wylęgowość indycząt (82). U indycząt wykłutych z jaj otrzymujących 5 mg metizoprinolu obserwowano zwiększenie indeksu grasicy, a w torbie Fabrycjusza – większą liczbę grudek chłonnych o wyraźnym podziale na część korową i rdzenną (82). Wyniki badań histologicznych i morfometrycznych torby Fabrycjusza u indyków wykłutych z jaj otrzymujących 20 mg metizoprinolu *in ovo* wykazały, że taka dawka jest zbyt wysoka i prowadzi do stanu objawiającego się obniżeniem funkcji odpornościowych tego narządu (81), co koresponduje z wynikami badań uzyskanymi przez Stenzla i wsp. (74). W śledzeniu indycząt wykłutych z jaj otrzymujących 20 mg metizoprinolu na zarodek stwierdzono wyraźnie rozbudowaną miazgę czerwoną, a w obszarze miazgi białej wyraźnie zaznaczoną część korową, w której występowały liczne limfocyty. W śledzeniu od tych indycząt badaniem morfometrycznym stwierdzono także większą liczbę centrów rozrodczych miazgi białej w porównaniu z ich liczbą u indyków grupy kontrolnej (75). Dowodzi to stymulującego wpływu metizoprinolu na nieswoiste mechanizmy odporności komórkowej, o czym świadczy zarówno większa liczba centrów rozrodczych miazgi białej, jak i większy odsetek subpopulacji limfocytów T CD8⁺ w śledzeniu (74). Natomiast z badań Małaczewskiej i wsp. (53), którzy metizoprinol stosowali do worka omocznioowego w 10. dobie inkubacji jaj kurzych w ilości 0,2 ml/jajo w roztworze o stężeniu 60-250 mg/ml oraz Borzemskiej i wsp. (5), którzy preparat ten stosowali do woreczka żółtkowego

u 6-dniowych zarodków kurzych wynika, że oddziałuje on silnie embriotoksycznie, uszkadzając wątrobę i nerki zarodków. Prezentowane wyniki badań dowodzą, iż immunomodulacyjne działanie metizoprinolu stosowanego *in ovo* zależne jest od dawki, miejsca aplikowania i wieku zarodków. Biorąc jednak pod uwagę wyniki wszystkich badań dotyczących funkcjonowania układu odpornościowego pod wpływem metizoprinolu (42, 44, 74, 75, 81, 82), należy stwierdzić, że preparat ten zastosowany w dawce 5 mg na zarodek moduluje procesy odpornościowe u indyków i może znaleźć zastosowanie praktyczne w masowym chowie tych ptaków.

Tykałowski (79) przeprowadził badania z zastosowaniem u indyków *per os* metizoprinolu (preparat Isoprivet; VetAgro Lublin, Polska) i naturalnych β -glukanów 1,3/1,6 (preparat Alphamune™ G; Alpha Pharma, Belgia), zmierzające do oceny ich wpływu na wybrane parametry odporności nieswoistej oraz na przebieg zakażenia wirusem krwotocznego zapalenia jelit (Haemorrhagic Enteritis – HE). Należy przy tym podkreślić, że użyty w tych badaniach wirus HE jest silnym immunosupresorem, gdyż powoduje u zakażonych nim indyków wysoko istotny spadek odsetka limfocytów T CD3⁺CD8⁺ i B IgM⁺ we krwi obwodowej i w śledzionie (45, 80, 85). W przytaczanych wynikach badań wykazano, że metizoprinol podawany 6-tygodniowym zdrowym indykom *per os* przez 3 dni w dawce 200 mg/kg m.c. stymulował nieswoiste mechanizmy odporności komórkowej, czego dowodem był istotny wzrost odsetka subpopulacji limfocytów T CD3⁺CD4⁺ w śledzionie, a także CD3⁺CD8⁺ i B IgM⁺ we krwi. Podobnie na układ odpornościowy zdrowych klinicznie indyków oddziaływały β -glukany 1,3/1,6 izolowane ze ścianny drożdży *Saccharomyces cerevisiae* suplementowane do paszy w dawce 171 mg/kg przez 14-20 dni. Wyniki te korespondują z wynikami licznych badań, w których wykazano, że β -glukany pobudzają w organizmie makrofagi obecne w śluzówce jelit, poprzez łączenie się m.in. z receptorami typu CR3 na ich powierzchni (8). Jednak najważniejszymi receptorami są dektyna-1 oraz TLR 2 i TLR 4 (1, 8, 55). Aktywacja ta, oprócz wzmacniania działania toksycznego makrofagów względem patogenów (fagocytoza, produkcja bakteriocyn, NO), stymuluje je do wytwarzania zwiększonych ilości prozapalnych cytokin i eikozanoidów, takich jak IL-1, TNF- α oraz PGE₂, które pobudzają proliferację i aktywność limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺. Wydzielane następnie przez limfocyty T CD4⁺ interleukiny aktywują komórki NK oraz limfocyty B, zwiększając produkcję przeciwciał, zwłaszcza klasy IgA w jelitach. Powyższe dowodzi, że β -glukany 1,3/1,6 oddziałują na wszystkie, zarówno swoiste, jak i nieswoiste mechanizmy odpornościowe gospodarza a stymulowanie komórek APCs do wzmożonego wytwarzania interleukin wskazuje na ich pośrednie przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, a nawet przeciwnowotworowe działanie (1, 29, 41, 54, 58).

W kolejnych badaniach własnych (79) wykazano, że metizoprinol zastosowany w dawce 200 mg/kg m.c.

per os przez 3 dni przed lub przez 5 dni po zakażeniu eksperymentalnym wirusem HE stymulował u zakażonych indyków nieswoiste mechanizmy odporności komórkowej, czego wyrazem był wyższy odsetek subpopulacji limfocytów T CD3⁺CD4⁺ i CD3⁺CD8⁺ oraz limfocytów B IgM⁺ w ich krwi. Wykazano także, że metizoprinol zastosowany w dawce 200 mg/kg m.c. *per os* przez 3 dni przed lub przez 5 dni po zakażeniu eksperymentalnym wirusem HE i β -glukany suplementowane do paszy w dawce 171 mg/kg przez 14 dni przed i/lub przez 5 dni po zakażeniu tym wirusem wykazują u indyków właściwości immunokorygujące, czego dowodem było zahamowanie ponadnormatywnego wzrostu odsetka limfocytów T CD3⁺CD4⁺ w śledzionie. Zarówno metizoprinol, jak i β -glukany zastosowane w wymienionych dawkach wykazywały także działanie przeciwwirusowe, gdyż u zakażonych wirusem HE indyków w mniejszej liczbie próbek wykryto metodą PCR obecność jego materiału genetycznego, a limfocyty T CD4⁺ wyizolowane ze śledziony tych indyków zwiększały syntezę IFN- γ w odpowiedzi na stymulację mitogenami w hodowli *in vitro*. Powyższe wyniki badań (79) potwierdzają antywirusowe działanie metizoprinolu, co koresponduje z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy (19-21, 30, 44, 51, 52, 57).

Na podstawie uzyskanych wyników badań należy stwierdzić, że metizoprinol oraz β -glukany są skuteczne w modulowaniu procesów odpornościowych u indyków i mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w masowym chowie tych ptaków – β -glukany głównie w programach profilaktycznych, natomiast metizoprinol zarówno w profilaktyce, jak i leczeniu chorób o etiologii wirusowej przebiegających z immunosupresją.

Od wielu lat na świecie rośnie zainteresowanie opinii publicznej naturalnymi metodami zapobiegania oraz leczenia chorób ludzi i zwierząt. Bez wątplenia impulsem do akceptowania takich metod postępowania jest narastająca oporność mikroorganizmów na stosowane masowo antybiotyki i chemioterapeutyki. W konsekwencji na rynku pojawiła się duża liczba produktów pochodzenia roślinnego w formie mieszanek paszowych uzupełniających dla drobiu, ale i suplementów diety zawierających wtórne metabolity roślinne (PSM, plant secondary metabolites). Wtórne metabolity roślin wyższych (fitoncydy) wykazują bowiem działanie pierwotniakobójcze, grzybobójcze i grzybobójcze, przeciwwirusowe i antibakteryjne oraz immunomodulujące (3, 38, 56, 89).

W procesach odpornościowych ptaków istotną rolę odgrywa układ odpornościowy związany z błonami śluzowymi (MALT, mucosa-associated lymphoid tissue). W przewodzie pokarmowym MALT reprezentowany jest przez struktury immunologiczne błony śluzowej, które współtworzą tkankę limfatyczną błon śluzowych przewodu pokarmowego (GALT, gut-associated lymphoid tissue) (71). Z licznych badań (34, 72, 86, 88) wynika, że w zjawiskach odpornościowych przewodu pokarmowego dużą rolę odgrywają enterocyty kosm-

ków i krypt jelitowych, które pozostają w stałej kooperacji z limfocytami. Na rozwój tych elementów GALT ma wpływ rodzaj pokarmu i stosowanych dodatków paszowych (72). Te bardzo istotne, z punktu widzenia odpowiedzi immunologicznej, zagadnienia zachodzące w GALT i związanym z nim ogólnym układzie odpornościowym ptaków były inspiracją do przeprowadzenia badań nad wpływem fitoncydów stosowanych *per os* na funkcjonowanie układu odpornościowego kurcząt i indyków.

W badaniach własnych zastosowano preparat komercyjny zawierający w składzie: wyciąg z roślin *Satureja hortensis* L., *Origanum vulgare* L., *Juglans regia* L. (33,55%), kwas benzoesowy (0,55%), olejek anyżowy (0,55%), salicylan metylu (0,5%), olejek cynamonowy (0,3%), eugenol (izoeugenol) (0,4%), tymol (0,4%), olejek eukaliptusowy (0,3%), olejek czosnkowy/oleożywnica czosnkowa (0,3%), olejek herbaciany (0,27%), olejek gorczycowy (0,22%) i kwas walerianowy (0,15%) oraz glicerynę i siarczan sodu do 100% (43).

Wykazano, że fitoncydy zawarte w badanym preparacie, który podawano z wodą do picia w dawce 1 ml na 1 litr wody przez 3 dni, istotnie wpływają na procentowy udział subpopulacji CD4⁺, CD8⁺ i CD4⁺CD8⁺ limfocytów T oraz subpopulacji IgM⁺ komórek B izolowanych z torby Fabrycjusza, grasicy, migdałków jelit ślepych, błony śluzowej jelita biodrowego, śledziony i krwi kurcząt broilerów i indyków. Większy odsetek subpopulacji limfocytów T CD4⁺ i B IgM⁺ dowodzi, że pod wpływem badanego preparatu dochodzi do wzmagania inicjowania i regulacji odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty te wytwarzają głównie IL-4 i IL-13 oraz IL-3, które są czynnikami wzrostu i różnicowania limfocytów B, i wspomagają szczególnie odpowiedź typu humoralnego podczas zakażeń patogenami zewnątrzkomórkowymi (46, 71). Podobne zjawisko zaobserwowano w badaniach własnych w odniesieniu do miana przeciwciał po szczepieniu przeciwko IBV w grupie kurcząt otrzymujących badany preparat (43). Natomiast wykazany w tych badaniach wzrost odsetka subpopulacji limfocytów T CD8⁺ i CD4⁺CD8⁺ w narządach układu odpornościowego oraz w krwi kurcząt broilerów i indyków (43) świadczy o wzmacnianiu przez zawarte w tym preparacie fitoncydy komórkowych mechanizmów obronnych. Główną funkcją tych cytotoksycznych limfocytów jest zabijanie komórek zakażonych wirusami i innymi mikroorganizmami oraz nowotworowych, a także hamowanie replikacji wirusów poprzez wydzielanie specyficznych cytokin, np. IFN- γ (46, 71). Natomiast Nazzaro i wsp. (56) wykazali, iż olejki eteryczne i ich składniki działają przeciwko różnym bakteriom chorobotwórczym, zwłaszcza na ich błonę komórkową i cytoplazmę, a w niektórych przypadkach całkowicie zmieniając ich morfologię.

Uzyskane wyniki badań własnych wskazują, że badany preparat stosowany *per os* przez 3 dni w dawce 1 ml na 1 litr wody wykazuje działanie immunomodulujące u kurcząt broilerów i indyków (43).

Aktualnie poważnym zagrożeniem w nowoczesnym chowie ptaków, głównie indyków, jest histomonoza wywołwana przez pierwotniaka *Histomonas meleagridis* (13, 15, 36, 49, 68). Wynika to z wprowadzonego w krajach UE zakazu profilaktycznego i terapeutycznego stosowania u drobiu skutecznych chemioterapeutyków, zwłaszcza preparatów zawierających pochodne nitroimidazoli (metronidazol, ronidazol, dimetridazol) (6) oraz nitrofuranów (nifursol) (7). Zakaz podawania ptakom domowym tych substancji wynika z ryzyka występowania ich pozostałości w środkach spożywczych, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów (4).

Powyższa sytuacja zmusiła do nowego podejścia do problemu, jakim jest zapobieganie oraz leczenie histomonozy i w związku z tym skupiono się nad skutecznością substancji pochodzenia roślinnego (2, 22, 78). W tym kontekście podjęto badania własne zmierzające do oceny skuteczności terapeutycznej i profilaktycznej fitoncydów zawartych w mieszance paszowej uzupełniającej dla drobiu o następującym składzie: ekstrakty ziołowe (52,0%) zawierające *Acorus calamus* L., *Saponaria officinalis* L., *Sinapis alba* L., *Capsicum annuum* L. var. *Minimum* Heiser, *Curcuma longa* L., *Piper nigrum* L. oraz 9,2% dodatków sensorycznych, w tym tymolu oraz konserwantów: kwasu octowego (4,6%), mleczanu wapnia (0,6%) i diocjanu sodu (0,2%). Badania przeprowadzono w stadzie 11-tygodniowych indyków rodzicielskich, w którym wystąpił kliniczny przypadek histomonozy. Ponadto określono wpływ fitoncydów zawartych w tym preparacie na wybrane elementy odporności komórkowej i humoralnej u indyków (84).

Badany preparat zastosowany w dawce 2,5 ml/1 litr wody w trzech 7-dniowych cyklach, z dwudniową przerwą po każdym z nich, był skuteczny w leczeniu, a stosowany w dawce 1 ml/1 litr wody był skuteczny w profilaktyce histomonozy. Tak leczone indyki, którym następnie podawano ten preparat w profilaktycznej dawce 1 ml/1 litr wody przez 7 dni, z 7-dniową przerwą po każdym z nich, były utrzymywane do 56. tygodnia życia, a ich wyniki produkcyjne (nieśność, zapłodnienie i wylęgowość) nie odbiegały od normy dla tego typu użytkowego. W tym czasie u żadnego padłego i poddanego eutanazji indyka nie stwierdzono przypadku histomonozy. Natomiast z licznych publikacji wynika, że związki roślinne, pomimo zadowalających wyników badań *in vitro*, nie dają obiecujących efektów w walce z histomonozą *in vivo* (2, 22, 31, 33). Sytuacja ta jest prawdopodobnie spowodowana interakcją *in vivo* pierwotniaka *Histomonas meleagridis* z innymi patogenami, zwłaszcza z *Escherichia (E.) coli* (18, 35). Takiego zjawiska nie zaobserwowano w badaniach własnych, pomimo izolowania pałeczek *E. coli* z narządów wewnętrznych padłych z powodu histomonozy indyków. Mogło to wynikać z działania immunomodulującego składników badanego preparatu. W badaniach własnych wykazano bowiem statystycznie istotny wzrost odsetka badanych subpopulacji limfocytów T i B zarówno

we krwi, jak i w śledzionie. W doświadczeniu badano także wpływ tego produktu na odporność humoralną, wykazując u indyków wyższy poziom przeciwciał poszczepiennych przeciwko *Ornithobacterium rhinotracheale*. Dowodzi to, że składniki aktywne w badanym preparacie pobudzają ogólnoustrojowe, zarówno humoralne, jak i komórkowe mechanizmy obronne. Otrzymane wyniki wykazały, że badany preparat jest skuteczny w profilaktyce i terapii histomonozы indyków, i jednocześnie pobudza humoralne oraz komórkowe mechanizmy obronne u tych ptaków. Może zatem z powodzeniem być stosowany w walce z tą niebezpieczną chorobą indyków (84).

Podsumowanie

Na podstawie wyżej przedstawionych wyników badań należy stwierdzić, że metizoprinol i β -glukany są skuteczne w modulowaniu procesów odpornościowych u indyków i mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w masowym chowie ptaków – β -glukany głównie w programach profilaktycznych, natomiast metizoprinol zarówno w profilaktyce, jak i leczeniu chorób o etiologii wirusowej przebiegających z immunosupresją. Ponadto wykazano, że metizoprinol zastosowany *in ovo* w dawce 5 mg na zarodek moduluje procesy odpornościowe u indyków i może znaleźć zastosowanie praktyczne w masowym chowie tych ptaków. Wykazano również, że fitoncydy zawarte w dobrze skomponowanych mieszankach paszowych uzupełniających wykazują działanie immunomodulujące u kurcząt broilerów i indyków oraz że są skuteczne w profilaktyce i terapii histomonozы indyków. Mając zatem na uwadze kluczową rolę układu immunologicznego w zwalczaniu patogenów można stwierdzić, że immunomodulatory syntetyczne i naturalne, w tym fitoncydy stosowane w profilaktyce i terapii chorób drobiu mogą skutecznie ograniczać, a w niektórych przypadkach zastępować lub wspomagać antybiotykoterapię patogenów wielolekoopornych.

Piśmiennictwo

- Akramiene D., Kondrotas A., Didziapetrienė J., Kevelaitis E.: Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina* 2007, 43, 597-606.
- Arshad N., Zitterl-Eglseder K., Hasnain S., Hess M.: Effect of Peganum harmala or its beta-carboline alkaloids on certain antibiotic resistant strains of bacteria and protozoa from poultry. *Phytother. Res.* 2008, 22, 1533-1538.
- Bassole I. H. N., Juliani H. R.: Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 2012, 17, 3989-4006.
- Baynes R. E., Dedonder K., Kissell L., Mzyk D., Marmulak T., Smith G., Tell L., Gehring R., Davis J., Riviere J. E.: Health concerns and management of select veterinary drug residues. *Food Chem. Toxicol.* 2016, 88, 112-122.
- Borzemska W., Karpińska E., Kosowska G., Szeleszczuk P., Binek M., Malicka E., Malec H., Niedziółka J.: Studies on Inosine pranobex embryotoxicity in biological test on chicken embryos. *Med. Weter.* 1996, 52, 778-780.
- CEC. Commission Regulation (EC) No 1798/95 of July 25, 1995 amending Annex IV to Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Official Journal* 1995, L174, 20-21.
- CEC. Council Regulation (EC) No 1756/2002 of 23 September 2002 amending Directive 70/524/EEC concerning additives in feeding stuffs as regards withdrawal of the authorisation of an additive and amending Commission Regulation (EC) No 2430/1999. *Official Journal* 2002, L181, 1-2.
- Chen J., Seviour R.: Medicinal importance of fungal beta-(1-->3), (1-->6)-glucans. *Mycol. Res.* 2007, 111, 635-652.
- Cillari E., Dieli M., Lo Campo P., Sireci G., Caffarelli A., Maltese E., Millott S., Milano S., Liew F. Y.: Protective effect of isoprinosine in genetically susceptible BALB/c mice infected with Leishmania major. *Immunology* 1991, 74, 25-10.
- Dietert R. D., Golemboski K. A.: Environment-immune interactions. *Poult. Sci.* 1994, 73, 1062-1076.
- Dietert R. R., Lamont S. J.: Avian immunology: from fundamental immune mechanism to the integrative management of poultry. *Poult. Sci.* 1994, 73, 975-978.
- Dohms J. E., Saif Y. M.: Criteria for evaluation immunosuppression. *Avian Dis.* 1997, 28, 305-310.
- Dolka B., Zbikowski A., Dolka I., Szeleszczuk P.: Histomonosis – an existing problem in chicken flocks in Poland. *Vet. Res. Commun.* 2015, 39, 189-195.
- Douglas J., Buddiger N.: How today's social, political and consumer – driven environment influences the business objectives of the primary breeders: genotype, environment and nutrition interactions. 4th Internat. Symp. on Turkey Dis., Berlin 2002, s. 1-12.
- European Food Safety Authority. Technical meeting on histomonosis in turkeys, [w:] EFSA supporting publication. EFSA, Parma, Italy, 2013, s. 12.
- Friedman A., Bartov I., Sklan D.: Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. *Poult. Sci.* 1998, 77, 956-962.
- Friedman A., Sklan D.: Effect of dietary fatty acids on humoral immune response of turkeys. *Br. Poult. Sci.* 1997, 38, 342-348.
- Ganas P., Liebhart D., Glösmann M., Hess C., Hess M.: Escherichia coli strongly supports the growth of Histomonas meleagridis, in a monoxenic culture, without influence on its pathogenicity. *Int. J. Parasitol.* 2012, 42, 893-901.
- Ginsberg T., Glasky A. J.: Inosiplex: an immunomodulation model for the treatment of viral disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1977, 284, 128-138.
- Gordon P., Brown E. R.: The antiviral activity of isoprinosine. *Can. J. Microbiol.* 1972, 18, 1463-1470.
- Gordon P., Ronsen B., Brown E. R.: Anti-herpesvirus action of isoprinosine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1974, 5, 153-160.
- Grabensteiner E., Liebhart D., Arshad N., Hess M.: Antiprotozoal activities determined in vitro and in vivo of certain plant extracts against Histomonas meleagridis, Tetratrichomonas gallinarum and Blastocystis sp. *Parasitol. Res.* 2008, 103, 1257-1264.
- Graczyk S., Kurysko J., Orda J., Kliszczak-Król A., Zawadzki W., Janczyk B.: Wpływ żywienia na reaktywność struktur limfatycznych śledziony kurcząt. *Med. Weter.* 2006, 62, 411-415.
- Grądzki Z.: Niektóre aspekty supresyjnego oddziaływania chemioterapeutyków na reakcje immunologiczne organizmu. *Med. Weter.* 1998, 54, 152-158.
- Grela E. R., Sembratowicz I., Czech A.: Immunostymulacyjne działanie ziół. *Med. Weter.* 1998, 54, 152-158.
- Grondel J. L., Angenent G. C., Egberst E.: The influence of antibiotics on the immune system. Investigations on the cellular function of chicken leukocytes in vitro. *Immunopathol.* 1985, 10, 307-316.
- Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. Official J. Europ. Union, 2015/C 299/04.
- Guio S., Koncicki A.: Vaccination against NDV in turkeys infected by haemorrhagic enteritis virus. *Med. Weter.* 2004, 60, 871-873.
- Guo Y., Ali R. A., Qureshi M. A.: The influence of beta-glucan on immune responses in broiler chicks. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2003, 25, 461-472.
- Hadden J. W., Lopez C., O'Reilly R. J., Hadden E. M.: Levamisole and inosiplex: antiviral agents with immunopotentiating action. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1977, 284, 139-152.
- Hafez M. H., Houck R.: Efficacy of an herbal products against Histomonas meleagridis after experimental infection of turkey poults. *Arch. Anim. Nutr.* 2006, 60, 436-442.
- Haygreen E. A., Kaiser P., Burgess S. C., Davison T. F.: In ovo DNA immunisation followed by recombinant fowl pox boost is fully protective to challenge with virulent IBDV. *Vaccine* 2006, 24, 4951-4961.
- Heijden H. M. van der, Landman W. J.: In vivo effect of herbal products against Histomonas meleagridis in turkeys. *Avian. Pathol.* 2008, 37, 45-50.
- Hermiston M. L., Gordon J. I.: Organization of the crypt-villus axis and evolution of its stem cell hierarchy during intestinal development. *Am. J. Physiol.* 1995, 268, 813-822.
- Hess M.: Commensal or pathogen – a challenge to fulfil Koch's Postulates. *Br. Poult. Sci.* 2017, 58, 1-12.
- Hess M., Liebhart D., Bilic I., Ganas P.: Histomonas meleagridis – new insights into an old pathogen. *Vet. Parasitol.* 2015, 208, 67-76.
- Huff G. R., Huff W. E., Rath N. C., Tellez G.: Limited treatment with beta-1,3/1,6-glucan improves production values of broiler chickens challenged with Escherichia coli. *Poult. Sci.* 2006, 85, 613-618.
- Ingham J. L.: Disease resistance in higher plants. The concept of pre-infectious and post infectious resistance. *Phytopathol.* 1973, 78, 314-335.
- Jankowski J., Zduńczyk Z., Sartowska K., Tykałowski B., Stenzel T., Wróblewska M., Koncicki A.: Metabolic and immune responses of young turkeys originating from parent flocks fed diets with inorganic or organic selenium. *Pol. J. Vet. Sci.* 2011, 14, 353-358.
- Johnston P. A., Liu H., O'Connell T., Phelps P., Bland M., Tyczkowski J., Kemper A., Harding T., Avakian A., Haddad E., Whitfill C., Gildersleeve R., Ricks C. A.: Applications of in ovo technology. *Poult. Sci.* 1997, 76, 165-178.

41. Jung K., Ha Y., Ha S. K., Han D. U., Kim D. W., Moon W. K., Chae C.: Antiviral effect of *Saccharomyces cerevisiae* beta-glucan to swine influenza virus by increased production of interferon-gamma and nitric oxide. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public. Health* 2004, 51, 72-76.
42. Koncicki A., Rumińska E., Stenzel T., Mazur-Gonkowska B., Tykałowski B.: Application of isoprinosine in ovo to immunomodulation in turkeys. XIX Internat. Poult. Symp. PB WPSA Olsztyn 2007, 10-12 September, p. 63.
43. Koncicki A., Śmialek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T.: The influence of phytoncides on the immune system of broiler chickens and turkeys. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2015, 40, 287-291.
44. Koncicki A., Tykałowski B., Stenzel T., Andrzejewski M.: Assessment of the efficiency of applying methisoprinol and vaccination of turkeys against the haemorrhagic enteritis virus using in ovo methods. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 13-15.
45. Koncicki A., Tykałowski B., Stenzel T., Śmialek M., Pestka D.: Effect of infection of turkeys with haemorrhagic enteritis adenovirus isolate on the selected parameters of cellular immunity and the course of colibacillosis. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, 15, 215-220.
46. Lasek W.: The mucosal immune system, [w:] Gołąb J., Jakóbiński M., Lasek W. (red.): *Immunology*. PWN, Warszawa 2002, s. 288-299.
47. Leshchinsky T. V., Klasing K. C.: Profile of chicken cytokines induced by lipopolysaccharide is modulated by dietary alpha-tocopheryl acetate. *Poult. Sci.* 2003, 82, 1266-1273.
48. Leshchinsky T. V., Klasing K. C.: Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poult. Sci.* 2001, 80, 1590-1599.
49. Liebhart D., Ganas P., Sulejmanovic T., Hess M.: Histomonosis in poultry: previous and current strategies for prevention and therapy. *Avian Pathol.* 2017, 46, 1-18.
50. Makala H.: Zioła i fitogeniczne dodatki paszowe w żywieniu drobiu. *Med. Weter.* 2022, 78, 11-18.
51. Malaczewska J., Rotkiewicz Z.: Biological properties of Roakin strain of NDV and TK900 strain of ADV after serial passages in CECC in the presence of methisoprinol and KLP-602. *Pol. J. Vet. Sci.* 2005, 8, 23-28.
52. Malaczewska J., Rotkiewicz Z.: Effect of methisoprinol on virus replication in cell cultures. *Pol. J. Vet. Sci.* 2004, 7, 97-102.
53. Malaczewska J., Rotkiewicz Z., Siwicki A. K.: Effect of methisoprinol and KLP-602 on the development of immunocompetent organs and selected biochemical indices of the allantoic fluid of chicken embryos. *Pol. J. Vet. Sci.* 2003, 6 (3 Suppl), 21-24.
54. Moore C. B., Siopes T. D.: Enhancement of cellular and humoral immunity following embryonic exposure to melatonin in turkeys (*Meleagris gallopavo*). *General Comp. Endocrinol.* 2005, 143, 178-183.
55. Mueller A., Raptis J., Rice P. J., Kalbfleisch J. H., Stout R. D., Ensley H. E., Browder W., Williams D. L.: The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1 $\rightarrow$ 3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology* 2000, 10, 339-346.
56. Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R., De Feo V.: Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals (Basel)* 2013, Dec. 6/12, 1451-1474.
57. Ohnishi H., Kosuzume H., Inaba H., Okura M., Morita Y., Mochizuki H., Suzuki Y.: Mechanism of host defense suppression induced by viral infection: mode of action of inosiplex as an antiviral agent. *Infect. Immun.* 1982, 38, 243-250.
58. Ooi V. E., Liu F.: Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Curr. Med. Chem.* 2000, 7, 715-729.
59. Panigrahy B., Grumbles L. C., Millar D., Naqi S. A., Hall C. F.: Antibiotic-induced immunosuppression and levamisole-induced immunopotentiality in turkeys. *Avian Dis.* 1979, 23, 401-408.
60. Rautenschlein S., Neumann U.: Modulation of avian immune system: suppression versus induction of immunity. *Pol. J. Vet. Sci.* 2004, 7, 39-36.
61. Rezolucja Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 maja 2011 r. w sprawie oporności na antybiotyki. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2012/C 377 E/17.
62. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* L 4/43, 7.1.2019.
63. Rumińska-Groda E.: Wpływ izoprynozy na dynamikę zjawisk immunologicznych oraz przebieg zakażenia wirusem HE i pałeczkami *E. coli* i indyków. Praca dokt., UWM, Olsztyn 2002.
64. Rutherford M.: Rekonstrukcyjny wpływ *Mycobacterium Chelonae* na odpowiedź immunologiczną drobiu będącego w stanie immunosupresji. Praca dokt., AR-T, Olsztyn 1998.
65. Sharma J. M.: Introduction to poultry vaccines and immunity. *Adv. Vet. Med.* 1999, 41, 481-494.
66. Sharma J. M.: The structure and function of the avian immune system. *Acta Vet. Hungar.* 1997, 45, 229-238.
67. Sharma J. M., Karaca K., Pertile T.: Virus-induced immunosuppression in chickens. *Poult. Sci.* 1994, 73, 1082-1086.
68. Shivaprasad H. L., Senties-Cue G., Chin R. P., Crespo R., Charlton B., Cooper G.: Blackhead in turkeys, a reemerging disease? *Proc. 4th Internat. Symp. on Turkey Dis.*, Berlin 2002, s. 143-144.
69. Siegel P.: The role of genetics resistance in poultry and consumer protection. Turkey production: balance act between consumer protection, animal welfare and economic aspect. *Proc. 5th Internat. Symp. on Turkey Dis.*, Berlin 2003, s. 60-12.
70. Simone C. de, De Marco F., Arancia G., Tzantzoglou S., Paradisi S., Sorice F.: Influence of methisoprinol (isoprinosine) on HIV-infected human lymphocytes: in vitro immunological, virological, and ultrastructural studies. *J. Clin. Lab. Anal.* 1989, 3, 26-33.
71. Smith A. L., Beal R.: The avian enteric immune system in health and disease, [w:] Davison F., Kaspers B., Schat K. A. (red.): *Avian Immunology*. Elsevier Ltd. 2008, s. 243-271.
72. Smith M. W., Peacock M. A.: Comparative aspects of microvillus development in avian and mammalian enterocytes. *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 1989, 93, 617-622.
73. Stenzel T., Koncicki A.: The epidemiology, molecular characterization and clinical pathology of circovirus infections in pigeons – current knowledge. *Vet. Q.* 2017, 37, 166-174.
74. Stenzel T., Tykałowski B., Andrzejewski M., Koncicki A.: Wpływ metisoprinolu zastosowanego in ovo na odsetek subpopulacji limfocytów T CD3⁺, CD4⁺ i CD8⁺ u indyków. *Med. Weter.* 2008, 64, 1157-1160.
75. Stenzel T., Tykałowski B., Lewczuk B., Przybylska-Gornowicz B., Andrzejewski M., Koncicki A.: The influence of methisoprinol administered in ovo on the morphological structure of the spleen in turkeys. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, 13, 225-231.
76. Stenzel T., Tykałowski B., Śmialek M., Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: Effect of different immunomodulators on the percentage of the CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes and the antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. *Med. Weter.* 2011, 67, 254-257.
77. Świątkiewicz S., Koreleski J.: Dodatki paszowe o działaniu immunomodulacyjnym w żywieniu drobiu. *Med. Weter.* 2007, 63, 1291-1295.
78. Thofner I. C., Liebhart D., Hess M., Schou T. W., Hess C., Ivarsen E., Frette X. C., Christensen L. P., Grevsen K., Engberg R. M., Christensen J. P.: Antihistomonal effects of artemisinin and *Artemisia annua* extracts in vitro could not be confirmed by in vivo experiments in turkeys and chickens. *Avian. Pathol.* 2012, 41, 487-496.
79. Tykałowski B.: Wpływ metizoprinolu i β -glukanów na wybrane parametry odporności nieswoistej oraz na przebieg zakażenia adenowirusem krwotocznego zapalenia jelit (HEV) u indyków. Praca dokt., UWM, Olsztyn 2012.
80. Tykałowski B., Koncicki A.: Wpływ zakażenia indyków wirusem krwotocznego zapalenia jelit i immunomodulacji na kształtowanie się odsetka subpopulacji limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ syntetyzujących INF-Gamma. *Cytometria Polska* 2012, 1, 85-105.
81. Tykałowski B., Stenzel T., Lewczuk B., Andrzejewski M., Koncicki A.: Effect of methisoprinol administered in ovo on the histological structure of the bursa of fabricius in turkeys. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 471-474.
82. Tykałowski B., Stenzel T., Mazur-Lech B., Andrzejewski M., Koncicki A.: The influence of methisoprinol applied in ovo upon hatchability and health status of turkeys. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, 12, 203-207.
83. Tykałowski B., Stenzel T., Śmialek M., Pestka D., Choszcz D., Koncicki A.: Wpływ oksytetracykliny stosowanej per os na wybrane parametry odporności komórkowej u indyków. *Med. Weter.* 2013, 69, 432-435.
84. Tykałowski B., Śmialek M., Kowalczyk J., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Phytoncides in the prevention and therapy of Blackhead Disease and their effect on the turkey immune system. *J. Vet. Res.* 2021, 65, 79-85.
85. Tykałowski B., Śmialek M., Kowalczyk J., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: The influence of haemorrhagic enteritis virus infection on the immunological system and the associated risk of pathogenic *E. coli* in turkeys in Poland. 11th Turkey Sci. and Production Conf., UK, Chester 2017, pp. 38-40.
86. Tykałowski B., Śmialek M., Pestka D., Stenzel T., Jankowski J., Mikulski D., Koncicki A.: The effect of whole wheat feeding on selected immune parameters in growing male turkeys. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, 17, 255-262.
87. Uchwała Nr 63/2020/VII Krajowej Rady Lekarsko-Weterynaryjnej z dnia 25 sierpnia 2020 r.
88. Uni Z., Geyra A., Ben-Hur H., Sklan D.: Small intestinal development in the young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration. *Br. Poult. Sci.* 2000, 41, 544-551.
89. Williams C. A., Harborne J. B., Newman M., Greenham J., Eagles J.: Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium*. *Phytochemistry* 1997, 46, 1349-1353.
90. Wiśniewski J., Siwicki A. K., Wiśniewska M.: Wprowadzenie do ogólnej i klinicznej immunologii weterynaryjnej. UWM Olsztyn 2004, s. 28-43.
91. Worthington K. J., Sergeant B. A., Davelaar F. G., Jones R. C.: Immunity to avian pneumovirus infection in turkeys following in ovo vaccination with an attenuated vaccine. *Vaccine* 2003, 21, 1355-1362.

Adres autora: dr n. wet. Bartłomiej Tykałowski, ul. Wodnika 9, 11-034 Tomaszko; e-mail: bartlomiej.tykalowski@uwm.edu.pl