

Wybrane parametry odporności nieswoistej u indyków szczepionych Dindoralem-SPF po podaniu lewamizolu i izoprinozyny

ROMAN WÓJCIK, GRAŻYNA ŚWIĘCICKA-GRABOWSKA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Wójcik R., Święcicka-Grabowska G.

Selected parameters of non-specific immunity in turkeys vaccinated with Dindoral-SPF in response to a NDV antigen after the administration of levamisol and isoprinozine

Summary

The aim of the present study was to compare selected biochemical and non-specific immunity parameters in turkeys vaccinated with Dindoral-SPF in response to a live virus antigen, the Roakin strain of Newcastle disease virus (NDV), after the administration of two synthetic immunity stimulators: isoprinozine and levamisol. The experiment was performed on 30 turkeys. At 24-days-of-age they were vaccinated with the commercial vaccine Dindoral-SPF containing an attenuated strain of hemorrhagic enteritis virus (HEV). At 29-days-of-age the turkeys were divided into three groups of ten birds each. Particular subgroups were given a single dose of either levamisol or isoprinozine, and the third group (the control) received none of the immunity stimulators. After 7 days and again after 100 days all birds received a live mesogenic Roakin strain of NDV. Biochemical and non-specific immunity parameters were determined in blood collected from the wing vein.

The results obtained indicated short-term but statistically significant decreases and increases in the levels of biochemical parameters (total protein, gammaglobulins and ceruloplasmin) and non-specific immunity indicators (lysozyme activity) in both experimental groups, as compared with the control group. More interesting, indicating higher effectiveness of isoprinozine than levamisol, were the results concerning non-specific cellular immunity in turkeys, including a higher metabolic activity of leukocytes in the NBT test, especially during the primary response, and higher leukocyte reactivity in the TB test, reflected by RI values, especially during the secondary response. The phagocytic activity of leukocytes, expressed as a percentage of phagocytizing cells and the values of the phagocytic index, was the highest in isoprinozine-stimulated turkeys.

Keywords: turkeys, isoprinozine, levamisol

Upośledzenie reaktywności układu odpornościowego zwierząt wywoływane być może przez wiele negatywnych czynników środowiskowych. A takie wystąpić mogą w dużych fermach hodowlanych, które w dążeniu do zmniejszenia kosztów obniżają standardy zoohigieniczne. Znajduje to odbicie w słabszej kondycji zdrowotnej stada, która szczególnie w przypadku zakażeń wirusowych, z powodu braku skutecznych leków, prowadzić może nawet do padnięć zwierząt i w efekcie do strat ekonomicznych. Równie groźne są wirusowe zakażenia bezobjawowe, a zwłaszcza te prowadzące do trwałych uszkodzeń narządów i komórek immunokompetentnych np.: wirus Gumboro, białaczka drobiu oraz wirus krwotocznego zapalenia jelit indyków (HEV) (11, 15). Szczepy patogenne tego ostatniego zarazka odpowiedzialne są za liczne padnięcia ptaków, natomiast niepatogenne, występujące w formie zakażeń bezobjawowych, mogą uszkadzać

torbę Fabrycjusza, powodując trwałą immunosupresję organizmu (24). Co więcej, samo zakażenie wirusowe organizmu w wielu przypadkach powodować może krócej lub dłużej trwającą supresję jego układu odpornościowego. Zjawisko to stwierdza się np.: u indyków nawet po zastosowaniu szczepionek profilaktycznych, sporządzanych z żywych, atenuowanych szczepów wirusa, np. przeciwko wirusowi Newcastle (ND), krwotocznego zapalenia jelit indyków (HE) (1, 2, 12, 18, 27).

Niebezpieczeństwo kryje się zatem w tym, że, z jednej strony, immunosupresja wywołana czynnikami środowiskowymi prowadzi do obniżenia efektu poszczepionego, z drugiej – samo szczepienie żywymi szczepionkami może przyczyniać się do jej pogłębienia. Niemniej jednak, bezpieczeństwo stad, a zatem i rentowność hodowli, wymusza prowadzenie stałych szczepień profilaktycznych. Natomiast negatywne zja-

wisko, jakim jest immunosupresja, może być eliminowane np. poprzez stosowanie immunostymulatorów. Ich różnorodność pozwala na ustalenie w badaniach najskuteczniejszego dla indyków, taniego, a zarazem prostego w użyciu, co ma szczególne znaczenie na dużych fermach ptaków.

Celem badań była ocena i porównanie wybranych parametrów biochemicznych i odporności nieswoistej u indyków szczepionych Dindoralem-SPF w odpowiedzi na żywy antygen wirusowy, szczep Roakin wirusa ND, po podaniu im dwóch syntetycznych stymulatorów odporności: izoprynozyny i lewamizolu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na indykach, obu płci, rasy mięsnej – Big 6. Dwudniowe indyczęta odchowano sposobem tradycyjnym na ściółce, przy stałym dostępie do wody oraz paszy (mieszanki – R210, R211, R212).

Układ doświadczenia. Badania przeprowadzono na 30 indykach, które w 24. dniu życia szczepiono komercyjną szczepionką Dindoral-SPF, zawierającą atenuowany szczep wirusa krwotocznego zapalenia jelit HE. Po następnych pięciu dniach, w 29. dniu życia, ptaki podzielono na trzy grupy po 10 sztuk w każdej z nich. Następnie poszczególnym podgrupom podawano jednorazowo jeden z dwóch badanych stymulatorów odporności: grupa I (DL) otrzymywała lewamizol, II (DI) – izoprynozynę, natomiast grupa III – kontrolna (D) nie otrzymywała żadnego ze stymulatorów. Wszystkim ptakom po 7 dniach od podania stymulatorów odporności zaaplikowano żywy, mezogeniczny szczep Roakin „R” wirusa choroby Newcastle, a po 100 dniach od pierwszego podania zabieg ten powtórzono. Do badań krew pobierano z żyły skrzydłowej od 5 indyków z każdej grupy, począwszy od dnia szczepienia oraz 7 aż do 140. dnia p. i. NDV.

Immunostymulatory syntetyczne: – izoprynozyna (10% substancji czynnej), produkowana przez Grodzkie Zakłady Farmaceutyczne, podawana domięśniowo w dawce 50 mg/kg masy ciała; – lewamizol – preparat handlowy firmy Sigma-Aldrich, aplikowany domięśniowo w dawce 0,25 mg/kg masy ciała.

Wirus rzekomego pomoru drobiu (NDV – Newcastle Diseases Virus): mezogeniczny szczep Roakin „R” o mianie $EID_{50} = 10^{9,6}/ml$ dla zarodków kurzych oraz $10^{8,6}/ml$ $TCID_{50}$ dla hodowli komórek zarodka kurzego, stosowano domięśniowo w dawce $10^{5,6}/ml$ EID_{50} .

Wirus krwotocznego zapalenia jelit (HEV): żywa, atenuowana szczepionka Dindoral-SPF nr seryjny 83Z71, firmy Rhone-Merieux, podawana ptakom w wodzie do picia zgodnie z zaleceniami producenta.

Parametry biochemiczne: poziom białka całkowitego (g/l) oznaczano metodą spektrofotometryczną (14), poziom gammaglobulin (g/l) metodą precypitacji wg Siwickiego i Andersona (22), aktywność ceruloplazminy (mg%) w surowicy metodą spektrofotometryczną (19).

Badanie odporności nieswoistej: wewnątrzkomórkową zdolność zabijania sfagocytowanych drobnoustrojów przez granulocyty obojętnochłonne krwi obwodowej oznaczano odczynem NBT (25), aktywność fagocytarną leukocytów metodą standardową (26) w postaci odsetka komór-

rek fagocytujących (%F) i indeksu fagocytarnego (IF), aktywność lizozymu (mg/l) metodą turbidymetryczną (17, 22) oraz w teście transformacji blastycznej (TB) – zdolność do proliferowania limfocytów wobec fitohemaglutyniny (8).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie metodą jednoczynnikowej analizy wariancji testem Bonferroni z wykorzystaniem programu komputerowego GraphPad Prism.

Wyniki i omówienie

Coraz powszechniej występujący w stadach indyków wirus HE, któremu przypisywane jest negatywne działanie na układ odpornościowy ptaków, wzbudza zainteresowanie badaczy. Zarazek ten wykazuje dużą oporność na czynniki środowiskowe (4, 5), pozwalającą mu na długie utrzymywanie się w pomieszczeniach, zwłaszcza w ściółce, za pośrednictwem której z łatwością dochodzi do ponownych zakażeń ptaków (6).

Supresyjne działanie szczepów tego wirusa nie jest jednoznaczne, istnieje bowiem w tej kwestii wiele rozbieżności i kontrowersji. O ile w przypadku terenowych, zjadliwych jego szczepów, immunosupresja uznana jest za oczywistą i bezsporną (9, 13, 21), o tyle w ocenie szczepów apatogennych i szczepionkowych zaznaczają się różnice poglądów. Rautenschlein i Sharma (18) stwierdzają, że szczepionkowy, atenuowany szczep HEVp30 wirusa HE wykazuje działanie stymulujące w stosunku do odporności humoralnej. Cardona i wsp. (2), a także inni (13, 21) sugerują, że niektóre szczepionki wirusa HE, podobnie jak mało patogenne i apatogenne szczepy terenowe, mogą wywołać immunosupresję, natomiast wg trzeciej grupy badaczy (9, 16, 20) szczepy Domermutha wirusa HE nie wywołują żadnego z wymienionych zjawisk.

Wydaje się, że tak różne dane wynikać mogą z wielu przyczyn np.: sposobu atenuacji wirusa, rodzaju stosowanych hodowli komórkowych, ilości wykonywanych pasażów, a *in vivo* innej reaktywności immunologicznej ptaków na różne antygeny: żywe, zabite, upostaciowane i nieupostaciowane, a przede wszystkim bakteryjne i wirusowe. Dodatkowo nieco odmienny proces stymulacji odporności u ptaków, a zatem, który typ odporności – humoralna czy komórkowa – podlega supresji, pozostają zagadnieniami mało poznanymi.

Ponieważ na fermach indyków szczepienia wykonywane są najczęściej szczepionką występującą pod nazwą Dindoral, jej też użyto do szczepień indyków doświadczalnych, w celu oceny kształtowania się ich odporności. Równocześnie opierając się na sugestiach wielu badaczy dotyczącej supresyjnego działania szczepionkowego wirusa HE, ptakom podano żywy antygen wirusa ND oraz stymulatory odporności: lewamizol lub izoprynozynę. Ten ostatni stymulator u indyków, w takim układzie, badany jest po raz pierwszy i podobnie jak w poprzednich doświadczeniach (28, 29), w ocenie jego skuteczności punktem odniesienia były wyniki uzyskane po stosowaniu lewamizolu.

Tab. 1. Poziom białka całkowitego, gammaglobulin, ceruloplazminy oraz aktywność NBT leukocytów w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF

Parametry odporności	Poziom białka całkowitego (g/l) w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Poziom gammaglobulin (g/l) w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Poziom ceruloplazminy (mg%) w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Aktywność NBT leukocytów (µg formazanu) w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			
	Grupy	D	DL	DI	D	DL	DI	D	DL	DI	D	DL	DI
Dni doświadczenia	1	23,6 ± 2,65			4,3 ± 0,82			6,5 ± 0,69			63 ± 1,55		
	5	23,2 ± 3,69			5,5 ± 0,41			4,9 ± 2,32			59 ± 1,64		
	12	25,5 ± 2,25	27,5 ± 1,41	24,2 ± 0,86	4,8 ± 1,07	5,6 ± 0,64	3,8 ± 0,45	8,0 ± 0,46	9,1 ± 0,42	10,8*** ± 1,44	60 ± 3,16	82*** ± 1,87	81*** ± 10,7
	19	26,1 ± 3,38	32,6 ± 4,03	26,9 ± 7,65	4,9 ± 0,73	6,1 ± 2,49	4,2 ± 0,39	8,4 ± 0,80	9,5* ± 0,62	9,3 ± 0,53	73 ± 1,58	84* ± 4,36	85** ± 4,64
	26	39,5 ± 2,57	35,7 ± 4,44	31,6* ± 1,6	5,2 ± 0,56	6,6 ± 0,94	4,6 ± 1,14	11,4 ± 0,85	10,9 ± 0,27	9,1*** ± 0,33	79 ± 2,55	92 ± 10,22	111** ± 22,94
	47	34,9 ± 5,52	33,7 ± 3,85	33,0 ± 4,92	6,2 ± 0,43	7,9 ± 0,75	5,4 ± 1,76	8,4 ± 0,57	9,3 ± 0,57	8,7 ± 0,38	91 ± 5,70	107* ± 8,15	92 ± 4,36
	87	31,4 ± 0,78	28,7 ± 3,43	42,5** ± 4,16	3,5 ± 2,10	4,3 ± 0,47	4,0 ± 0,79	8,3 ± 0,52	9,9* ± 0,75	8,5 ± 0,58	81 ± 3,39	90 ± 3,54	91 ± 0,71
	112	29,6 ± 2,89	25,9 ± 6,0	24,4 ± 1,62	3,5 ± 1,26	3,8 ± 0,66	1,6** ± 0,35	9,4 ± 0,44	10,4 ± 3,58	7,6 ± 1,31	80 ± 6,59	81 ± 15,02	83 ± 7,65
	119	36,6 ± 9,34	33,7 ± 5,09	39,5 ± 0,92	3,9 ± 0,36	4,7 ± 0,70	2,0*** ± 0,51	9,5 ± 3,99	10,5 ± 0,71	5,5 ± 0,80	93 ± 5,79	100 ± 4,06	98 ± 5,15
	126	42,5 ± 1,96	26,5** ± 0,92	41,4 ± 10,19	4,1 ± 0,38	5,0 ± 0,46	4,8 ± 1,55	11,5 ± 3,67	10,5 ± 0,16	5,6 ± 0,75	93 ± 13,6	99 ± 9,16	98 ± 3,74
140	35,9 ± 7,36	26,5** ± 1,18	25,1** ± 1,47	5,2 ± 1,25	6,4 ± 0,32	5,3 ± 0,31	11,9 ± 0,43	11,8 ± 0,50	13,2 ± 1,05	98 ± 9,46	100 ± 3,0	102 ± 3,61	

Objaśnienia: * – statystycznie istotne różnice $p \leq 0,05$; ** – statystycznie istotne różnice $p \leq 0,01$; *** – statystycznie istotne różnice $p \leq 0,001$

Wyniki przedstawiono w tabelach: 1-2 – dotyczą wskaźników biochemicznych oraz parametrów odporności nieswoistej.

Generalnie na podstawie uzyskanych danych stwierdzić można, że we wszystkich badanych grupach ptaków szczepionych Dindorałem, po podaniu żywego antygenu wirusowego, szczepu Roakin wirusa ND, parametry odpornościowe oraz biochemiczne kształtowały się na podobnym poziomie. Natomiast różnice dotyczące wskaźników odporności zaznaczyły się dopiero po zastosowaniu u wymienionych grup ptaków stymulatorów odporności, szczególnie izoprynozyny.

Analiza danych w zakresie wskaźników biochemicznych (tab. 1) obu stymulowanych grup, wskazuje jedynie na krótkotrwały statystycznie istotny wzrost badanych parametrów, głównie w trakcie odpowiedzi pierwotnej. Po rewakcytacji zaś brak było istotnych różnic, a nawet chociaż sporadycznie zaznaczyły się ich spadki w porównaniu do grupy kontrolnej. Efekt ten wydaje się zaskakujący i ciekawy, zaś pokuszenie się o wyjaśnienie przyczyn jego powstawania stanowi trudność na tym etapie badań, których celem była jedynie parametryczna ocena kształtowania się odporności ptaków.

W tym też zakresie uzyskano najbardziej interesujące wyniki badań. Oba zastosowane u indyków szcze-

pionych Dindorałem-SPF stymulatory wywołały na ogół pożądaną reakcję, jednak większą skuteczność cechowała izoprynozynę niż lewamizol. Szczególnie przy zakażeniach wirusowych istotny jest fakt, że stymulacja izoprynozyną dotyczyła reaktywności komórek leukocytarnych. Wyraża się to w teście zabijania wewnątrzkomórkowego zarazków (NBT) wyższymi statystycznie znaczącymi wartościami, zwłaszcza w trakcie odpowiedzi pierwotnej (tab. 1). Podobnie wyseparowane limfocyty badane w teście transformowania w formy blastyczne (TB) pod wpływem fitohemaglutyniny (tab. 2) najwyższą aktywność, określaną na podstawie wartości współczynnika RI, wykazywały zwłaszcza w trakcie odpowiedzi wtórnej, podczas gdy po lewamizolu tylko w pierwszych 7 dniach odpowiedzi pierwotnej. Podobny rezultat po zastosowaniu izoprynozyny stwierdzili w badaniach *in vitro* Delafuente i Panush (3) oraz u prosiąt Hennessy i wsp. (10).

Także większą skuteczność niż po lewamizolu, w stosunku do aktywności fagocytarnej leukocytów uzyskano w grupie ptaków stymulowanych izoprynozyną, w której wyższy był procent komórek fagocytujących (tab. 2) przez cały okres trwania doświadczenia, a okresowo także indeks fagocytarny (tab. 2). Podobnie zwiększoną aktywność fagocytarną leukocytów po podaniu izoprynozyny świniom zakażonym

Tab. 2. Współczynnik reaktywności RI limfocytów stymulowanych fitohemaglutyniną oznaczany w teście transformacji blastycznej, procent komórek fagocytycznych i indeks fagocyтары oraz aktywność lizozymu w surowicy krwi u indyków szczepionych Dindorałem-SPF

Parametry odporności	Współczynnik reaktywności (RI) limfocytów stymulowanych fitohemaglutyniną w teście TB u indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Fagocytoza – % komórek fagocytycznych w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Fagocytoza – indeks fagocyтары u indyków szczepionych Dindorałem-SPF			Aktywność lizozymu (mg/l) w surowicy krwi indyków szczepionych Dindorałem-SPF			
	Grupy	D	DL	DI	D	DL	DI	D	DL	DI	D	DL	DI
Dni doświadczenia	1	1,1 ± 0,33			71 ± 2,84			9,2 ± 0,23			2,4 ± 0,75		
	5	1,1 ± 0,21			60 ± 3,39			8,2 ± 0,68			6,2 ± 0,31		
	12	1,3 ± 0,19	2,0*** ± 0,16	1,8* ± 0,14	64 ± 3,81	62 ± 2,92	84** ± 5,70	9,4 ± 0,34	10,1 ± 0,74	9,8 ± 0,41	6,0 ± 1,32	6,1 ± 1,09	5,4 ± 1,82
	19	1,8 ± 0,26	2,5** ± 0,29	1,8 ± 0,25	70 ± 2,92	74 ± 4,74	80* ± 4,53	10,6 ± 0,47	12,4** ± 0,58	12,6** ± 0,4	6,3 ± 0,64	5,7 ± 1,25	5,4 ± 1,07
	26	1,9 ± 1,70	2,0 ± 0,25	2,0 ± 0,24	69 ± 2,74	78* ± 3,87	86*** ± 4,30	11,4 ± 0,45	11,8 ± 1,05	13,1* ± 1,57	5,9 ± 0,46	5,0 ± 0,22	4,4* ± 1,22
	47	1,7 ± 0,20	1,7 ± 0,31	2,0** ± 0,16	77 ± 3,61	75 ± 8,00	81 ± 5,70	10,2 ± 1,13	10,5 ± 0,75	9,8 ± 0,42	5,4 ± 0,81	4,8 ± 0,42	4,0 ± 0,44
	87	1,6 ± 0,19	1,7 ± 0,25	1,6 ± 0,23	74 ± 4,53	75 ± 5,87	79 ± 8,10	9,0 ± 0,32	10,0 ± 1,38	10,1 ± 0,6	5,7 ± 0,52	4,6 ± 0,25	4,4* ± 0,87
	112	1,5 ± 0,20	1,7 ± 0,23	1,5 ± 0,24	73 ± 4,85	74 ± 5,96	79 ± 3,39	9,1 ± 0,26	8,8 ± 0,32	9,0 ± 0,87	4,6 ± 2,06	4,5 ± 0,16	6,4 ± 2,08
	119	1,9 ± 0,24	1,9 ± 0,26	2,2* ± 0,14	79 ± 5,48	80 ± 2,92	89** ± 2,55	11,5 ± 0,72	12,0 ± 0,33	14,1* ± 0,63	9,5 ± 0,15	10,1 ± 0,62	7,6*** ± 0,35
	126	1,5 ± 0,33	2,1** ± 0,21	2,0* ± 0,27	81 ± 3,81	88 ± 5,24	93** ± 3,24	12,3 ± 0,49	13,4 ± 0,52	11,2 ± 0,62	6,2 ± 0,16	5,4 ± 0,14	6,0 ± 0,61
140	1,5 ± 0,07	1,4 ± 0,35	2,0 ± 0,23	80 ± 2,92	87 ± 6,93	85 ± 5,10	9,6 ± 1,33	10,2 ± 0,50	11,0 ± 0,40	5,7 ± 0,90	5,9 ± 1,99	3,3* ± 0,16	

Objaśnienia: jak w tab. 1.

wirusem choroby Aujeszky'ego, uzyskali Flaming i wsp. (7), zaś Studnicka i wsp. (23) u ryb stymulowanych tym związkiem zjawisko to obserwowali w odniesieniu do nieswoistej odporności komórkowej oraz humoralnej.

Badania własne oceniające nieswoistą odporność humoralną na podstawie kształtowania się aktywności lizozymu w surowicy krwi (tab. 2) u indyków szczepionych Dindorałem-SPF nie dały oczekiwanego efektu, bowiem zarówno po izoprinozynie, jak i lewamizolu kształtowały się one w obu grupach albo na podobnym poziomie jak w grupie kontrolnej, albo wykazywały krótkotrwałe statystycznie istotne spadki jego aktywności.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że izoprinozyna u indyków szczepionych Dindorałem-SPF, po zakażeniu ich wirusem ND, podobnie jak we wcześniejszych badaniach własnych, w których stosowano ją u ptaków z prawidłowo działającym układem immunologicznym (28) oraz supresorowanych (29), również skuteczniej niż lewamizol stymulowała nieswoistą odporność komórkową. A jak wiadomo, czynniki tej odporności, odgrywają główną rolę w zakażeniach drobnoustrojami wewnątrzkomórkowymi, zwłaszcza wirusami. Istotny jest przy tym fakt

pozytywnego działania izoprinozyny na właściwości fagocyтарыne leukocytów stanowiących pierwszą barierę obronną organizmu, które wyraża się w zabijaniu zarazków i ich degradacji, a następnie prezentacji antygenów limfocytom T, aktywując je do dalszych procesów odpornościowych. Równie ważnym elementem w procesach immunologicznych jest zdolność limfocytów do przekształcania się w formy aktywne, młodsze, czyli blastyczne. Dobre wyniki uzyskane w tym względzie w niniejszym doświadczeniu pozwalają stwierdzić, że izoprinozyna jest dobrym stymulatorem odporności komórkowej, co jest niezwykle istotnym elementem w przypadku zakażenia organizmu pasożytami wewnątrzkomórkowymi, głównie wirusami.

Wydaje się zatem, że stosowanie stymulatorów odporności przy tego typu zakażeniach, wobec braku skutecznej terapii, nabiera szczególnego znaczenia, tak w działaniach profilaktycznych, jak i terapeutycznych. Za stosowaniem izoprinozyny przemawia dodatkowo fakt, że przy dobrym efekcie stymulacyjnym, wykazuje mały stopień toksyczności, może być bezpiecznie stosowana.

Wyniki te dały podstawę do podjęcia dalszych badań dotyczących stosowania obu stymulatorów: izoprinozyny i lewamizolu, w których poddano ocenie

parametry odporności swoistej u indyków szczepionych Dindoralem-SPF w odpowiedzi na żywy antygen wirusowy, szczep Roakin wirusa ND.

Piśmiennictwo

1. Balla L., Papocsi L., Szurol I., Toth B.: Studies on the efficiency of various immunization methods and schedules against Newcastle disease. I. Immune state of chicken flocks after repeated drinking water and aerosol vaccinations with the LaSota strain. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 1979, 27, 253-263.
2. Cardona C. J., Reed W. M., Witter R. L., Silva R. F.: Protection of turkeys from hemorrhagic enteritis with a recombinant fowl poxvirus expressing the native hexon of hemorrhagic enteritis virus. *Avian Dis.* 1999, 43, 234-244.
3. Delafuente J. C., Panush R. C.: Pharmacologic immunoenhancement in the elderly: in vitro effects of isoprinosine. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1988, 47, 363-367.
4. Domermuth C. H., Gross W. B.: Effect of disinfectants and drying on the virus of hemorrhagic enteritis of turkeys. *Avian Dis.* 1971, 15, 94-97.
5. Domermuth C. H., Gross W. B.: Effect of chlorine on the virus of hemorrhagic enteritis of turkeys. *Avian Dis.* 1972, 16, 952-953.
6. Domermuth C. H., Gross W. B., Douglass C. S., DuBose R. T., Harris J. R., Davis R. B.: Vaccination for hemorrhagic enteritis of turkeys. *Avian Dis.* 1977, 21, 557-565.
7. Flaming K. P., Blecha F., Fedorka-Cray P. J., Anderson G. A.: Influence of isoprinosine on lymphocyte function in virus-infected feeder pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1989, 50, 1653-1657.
8. Goch J. H., Tchórzewski H., Niedworak J., Tkaczewski W., Ofierska H., Soszyńska W.: Test transformacji blastycznej limfocytów i zahamowania migracji leukocytów w przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia mięśnia sercowego u ludzi. *Immunol. Pol.* 1981, 6, 239-248.
9. Guiro S.: Badania nad immunosupresyjną rolą wirusa krwotocznego zapalenia jelit u indyków. Praca dokt. UWM, Olsztyn 2000.
10. Hennessy K. J., Blecha F., Pollman D. S., Kluber E. F.: Isoprinosine and levamisole immunomodulation in artificially treated neonatal pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1987, 48, 477-480.
11. Koncicki A., Krasnodębska-Depta A.: Aktualne problemy w patologii indyków w Polsce. *Mat. VIII Symp. Drob., Polanica Zdrój* 1997, s. 67-69.
12. Larski Z., Grabowska G., Spohr-Foundez I.: Poziom przeciwciał HI i indeks hamowania migracji leukocytów u kurcząt po dwustopniowym doustnym szczepieniu przeciw chorobie Newcastle. *Med. Weter.* 1977, 33, 153-155.
13. Le Gros F. X., Gillet J. P., Toquin D., Guittet M., Bennejean G.: Etude de l'effet immunodépresseur de souches virulente ou vaccinale de l'entérite hémorragique de la dinde. *Avian Path.* 1988, 17, 547-558.
14. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R.: Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265-275.
15. Minta Z., Koncicki A.: Nowe jednostki chorobowe u indyków. *Mat. III Międzynarodowego Symp. PRO ANIMALI '96*, 1996, s. 5-7.
16. Neumann U., Sander I., Rautenschlein S., Behr H. P., Baron G.: Krwotoczne zapalenie jelit u indyków. Aspekty patogenezy i uodpornienia. *Mat. VIII Symp. Drob., Polanica Zdrój* 1997, s. 70-77.
17. Parry R. M., Chandau R. C., Shahani R. M.: A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965, 119, 384-386.
18. Rautenschlein S., Sharma J. M.: Response of turkeys to simultaneous vaccination with hemorrhagic enteritis and Newcastle disease viruses. *Avian Dis.* 1999, 43, 286-292.
19. Rice E. W., Wagman E., Takenaka Y.: Ceruloplazmin assay in serum: standardization of ceruloplazmin activity in terms of international enzyme units. *Diag. Lab.* 1986, 12, 39-53.
20. Sander I., Neumann U., Lindloff-Muller J.: Vaccination against adenovirus (type II) induced hemorrhagic enteritis in turkey flocks: field trials and laboratory experiments. *Mat. XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association.* Budapest 1997, s. 43.
21. Sauders G. K., Pierson F. W., Van den Hurk J. V.: HEV infection in turkeys: a comparison of virulent and avirulent virus infections and a proposed pathogenesis. *Avian Dis.* 1993, 22, 47-58.
22. Siwicki A. K., Anderson D. P.: Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. *U.S. Fish Wildl. Service-IFI.* Olsztyn 1993, 1, 17.
23. Studnicka M., Dunier M., Siwicki A. K., Morand M.: Application of biostimulants in rectifying of immunological reactivation handicapped by phospho-organic pesticides, [w:] Siwicki A. K. (red.): *Biologiczne monitorowanie skażenia środowiska.* Olsztyn, IRS 1997, 187-194.
24. Suresh M., Sharma J. M.: Hemorrhagic enteritis virus induced changes in the lymphocyte subpopulations in turkeys and the effect of experimental immunodeficiency on viral pathogens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1995, 45, 139-150.
25. Sychłowy A., Lukas A.: Ocena mikroilościowej metody redukcji NBT przez granulocyty krwi obwodowej. *Pol. Tyg. Lek.* 1978, 33, 45-48.
26. Wiśniewski J., Grabowska G., Trybala E., Rotkiewicz Z.: Wpływ podania biotropiny i lewamizolu na wybrane wskaźniki odporności swoistej i nieswoistej u świń. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 66-68.
27. Wiśniewski J., Grabowska G., Wasilewska A.: Badanie immunosupresyjnego działania szczepu LaSota wirusa choroby Newcastle (NDV) u kurcząt. *Medycyna Wet.* 1982, 38, 41-43.
28. Wójcik R., Święcicka-Grabowska G.: Parametry odporności swoistej u indyków szczepionych wirusem NDV po podaniu lewamizolu lub izoprynozyny. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 808-810.
29. Wójcik R., Święcicka-Grabowska G., Siwicki A. K.: Wpływ lewamizolu i izoprynozyny na odporność nieswoistą u indyków supresorowanych karbarylem. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 437-440.

Adres autora: dr Roman Wójcik, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn;
e-mail: brandy@uwm.edu.pl