

Wpływ szczepionki anty *Yersinia pseudotuberculosis* i immunostymulatora *Propionibacterium acnes* na stężenie transferyny oraz żelaza w surowicy klaczy i źrebiąt

DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR,
ul. Doktora Judyma 24, 71-460 Szczecin

Czernomysy-Furowicz D.

Effect of anti-*Yersinia pseudotuberculosis* vaccine and *Propionibacterium acnes* immunostimulator on transferrin and iron concentration in mare and foal sera

Summary

The effect of anti-*Yersinia pseudotuberculosis* vaccine and *Propionibacterium acnes* immunostimulator on β_1 -fraction (transferrin), total and unsaturated iron binding capacity (TIBC, UIBC), and iron concentration in sera of mares and foals was investigated. The research was conducted on 40 clinically healthy mares 5 weeks before parturition and later on their 40 foals. All foals were 3-months-old. Two kinds of medicaments were used: immunostimulator based on CN5936 *Propionibacterium acnes* strain and inactivated vaccine made of *Yersinia pseudotuberculosis*, a strain isolated from the lungs of foals with yersiniosis. Medicaments were introduced as a hypodermic injection (1 ml per mare, 0.5 ml per foal). Statistically significant growth of β_1 -fraction and TIBC ($P \leq 0.01$) was observed in the sera of mares and their foals only after simultaneous injection of both medicaments. Furthermore, the increase of UIBC ($P \leq 0.01$) was observed in mares. An increase in UIBC concentration was an additional protection for mares against yersiniosis. Neither medicaments had effected the sera concentration of iron, which was 2 times higher in foals (35.86-40.46 mmol/l) than in mares (17.38-20.93 mmol/l). Therefore, it was suggested that the insufficient development of specific humoral immunity in foals in connection with high sera iron concentration could result in a pulmonary form of yersiniosis.

Keywords: pseudotuberculosis, TIBC, UIBC, iron, mare, foal

Transferyna jest białkiem biorącym udział w metabolizmie żelaza. Bakteriostatyczne działanie transferyny polega na hamowaniu rozwoju drobnoustrojów poprzez odbieranie im niezbędnego dla wzrostu żelaza. W zdrowym organizmie transferyna wysycona jest żelazem w 30%. Pozostała część transferyny jest zdolna *in vivo* i *in vitro* do wiązania żelaza. Niezwiązana część transferyny cechuje się utajoną zdolnością wiązania żelaza (UIBC), z kolei całkowite wysycenie transferyny żelazem nazwane jest całkowitą zdolnością wiązania żelaza (TIBC). Samo oznaczenie poziomu żelaza w surowicy nie jest wystarczające do rozpoznania niedoboru żelaza, albowiem wahania poziomu żelaza w ciągu doby są rzędu 50%, ponadto obniżenie poziomu żelaza w surowicy może być skutkiem niedokrwistości w przebiegu infekcji bakteryjnych. Wysycenie transferyny poniżej 15% jest jednym z kryteriów niedoboru żelaza w organizmie. Pozbawienie ustroju dostatecznej ilości żelaza powoduje wzrost

syntezy transferyny i odwrotnie – w przypadku nadmiaru tego pierwiastka w organizmie poziom transferyny obniża się (11). Frakcję β_1 tworzy przede wszystkim transferyna. Ponieważ frakcja ta jest dwu-, trzykrotnie wyższa u koni niż u innych gatunków (6, 10) można przypuszczać, że odgrywa ona istotną funkcję przy zakażeniu pałeczkami *Y. pseudotuberculosis*, których wzrost jest żelazozależny.

Celem badań było określenie znaczenia transferyny poprzez oznaczenie stężenia frakcji β_1 , całkowitej i utajonej zdolności wiązania żelaza, a także koncentracji żelaza w surowicy klaczy i źrebiąt, którym podano inaktywowaną szczepionkę *Yersinia pseudotuberculosis* oraz immunostymulator *Propionibacterium acnes*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w stadninie koni, na terenie której doszło do zachorowań i padnięć źrebiąt na płucną

postać jersiniozy. Do eksperymentu użyto 40 klinicznie zdrowych klaczy (grupy I-IV) na 5 tygodni przed porodem i 40 źrebiąt (grupy IA-IVA) w wieku 3 miesięcy, będących potomstwem tychże klaczy. W każdej grupie było 10 zwierząt. Zwierzęta z grup I i IA otrzymywały PBS, z grup II i IIA – szczepionkę anty *Y. pseudotuberculosis*, z grup III i IIIA – immunostymulator *Propionibacterium acnes* CN5936, a z grup IV i IVA – immunostymulator, po czym po 5 dniach – szczepionkę. Wszystkie wymienione preparaty były podawane podskórnie – klaczom w ilości 1 ml/na zwierzę, a źrebiętom 0,5 ml/zwierzę. Szczepionkę wykonano ze szczepu *Y. pseudotuberculosis*, wyizolowanego z płuc padłego źrebięcia, natomiast immunostymulator – ze szczepu *P. acnes* CN 5936. Oba preparaty doprowadzono do gęstości 6×10^9 komórek/ml i inaktywowano formaldehydem (5 ml/l). W próbach na białych myszach wyeliminowano toksyczność wymienionych preparatów.

Krew pobierano trzykrotnie: przed podaniem preparatów, a także po jednym i trzech tygodniach od ich podania, przy czym w grupach: IV i IVA – po jednym i trzech tygodniach od podania szczepionki. W surowicy oznaczano: stężenie frakcji β_1 w rozdziale elektroforetycznym na żelu agarozowym zgodnie z protokołem i na odczynnikach firmy Cormay, stężenie żelaza i całkowitą zdolność wiązania żelaza (TIBC) metodą kolorymetryczną wg procedury i przy użyciu gotowych odczynników firmy Aqua Medica. Utażoną zdolność wiązania żelaza (UIBC) obliczono z różnicy TIBC i stężenia żelaza. Wskaźnik wysycenia transferyny (WWTf) obliczono wg wzoru: $WWTf = \frac{\text{stężenie żelaza}}{\text{stężenie transferyny}} \times 100 (\%)$. W celu sprawdzenia istotności oddziaływania szczepionki i immunostymulatora na analizowane cechy zastosowano wielowymiarową analizę wariancji z powtarzalnymi pomiarami przy użyciu programu Statistica 6.0.

Wyniki i omówienie

Tylko u klaczy z grupy IV podanie propionibakterii i szczepionki anty *Y. pseudotuberculosis* spowodowało długotrwałe, statystycznie istotny, wzrost frakcji β_1 ($p \leq 0,01$) (tab. 1). W grupach II i III obserwowany wzrost nie był statystycznie istotny. Porównując rodzaje szczepień, po 3 tygodniach stwierdzono statystycznie istotny wzrost frakcji β_1 u klaczy, którym podano szczepionkę i immunostymulator (grupy: II, III, IV). Ponieważ wzrost stężenia transferyny prowadzi do utrudnienia drobnoustrojom dostępu do jonów żelaza, a tym samym do ograniczenia rozwoju bakterii, podanie klaczom preparatów powodujących zwiększenie stężenia frakcji β_1 można uznać za pożądany efekt profilaktyczny(6).

Przed podaniem preparatów najwyższe stężenie frakcji β_1 stwierdzono u źrebiąt, których matki były immunostymulowane i następnie szczepione. Po 3 tygodniach od szczepienia statystycznie istotny wzrost stężenia tej frakcji stwierdzono u źrebiąt i szczepionych, i immunostymulowanych (grupy: IIA, IIIA i IVA) ($p \leq 0,01$). W stosunku do grupy kontrolnej, zarówno po tygodniu, jak i po trzech tygodniach od szczepienia, stężenie frakcji β_1 w surowicy źrebiąt z grup: IIA,

IIIA i IVA było statystycznie wyższe ($p \leq 0,01$) (tab. 2). Tak więc podanie szczepionki i immunostymulatora zdrowym źrebiętom spowodowało zwiększenie stężenia transferyny. W przypadku zakażenia bakteryjnego stężenie tego białka ostrej fazy ulega zmniejszeniu, co obserwowano u człowieka i u bydła (12). Ek (7) w badaniach prowadzonych na 112 chorych koniach obserwował spadek transferyny przy zakażeniach bakteryjnych i kulawiznie. Stężenie transferyny u zdrowych koni waha się w bardzo szerokim zakresie – od 7,88 do 15,07 g/l (8), w związku z czym przy zapaleniu jej spadek może być niezauważony przede wszystkim u tych zwierząt, u których fizjologiczne stężenie tej siderofiliny jest wysokie.

Schorr (16) oraz Steinbrecher i wsp. (17) odnotowali, że stężenie żelaza w surowicy koni waha się od 17,71 do 65,47 $\mu\text{mol/l}$ i zależy m.in. od żywienia, wieku, stanu fizjologicznego, sposobu użytkowania, a także rasy. W wyniku badań własnych stwierdzono, że u ciężarnych klaczy stężenie żelaza w surowicy przed podaniem preparatów wahało się od 17,38 do 19,35 $\mu\text{mol/l}$ (tab.1), natomiast średnia koncentracja żelaza w stadninie wynosiła 36,0 $\mu\text{mol/l}$ (14). Zgodnie z wartościami referencyjnymi stężenie żelaza u koni waha się od 13,1 do 25,1 $\mu\text{mol/l}$ (18). Stanem, w którym niezwykle często obserwuje się niedobór żelaza, jest ciąża, a więc można uznać, że uzyskane wartości stężenia żelaza u badanych ciężarnych klaczy mieściły się w zakresie normy fizjologicznej. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w koncentracji żelaza u ciężarnych klaczy po podaniu preparatów. U źrebiąt nie stwierdzono również wpływu podanych preparatów na koncentrację żelaza w surowicy (tab. 2). Wynosiła ona przed szczepieniem od 35,86 $\mu\text{mol/l}$ do 41,18 $\mu\text{mol/l}$, po upływie 3 tygodni – od 37,58 do 40,46 $\mu\text{mol/l}$, a zatem była prawie dwukrotnie wyższa niż u klaczy. Wysoką koncentrację żelaza u 3-miesięcznych źrebiąt, wynoszącą 53,2 $\mu\text{mol/l}$, zaobserwowały Cieśla i Janiszewska (4). Z kolei Brommer i van Oldruijtenborgh-Oosterbaan (1) u ciepłokrwistych 3-miesięcznych zdrowych źrebiąt, przebywających w bokсах, stwierdzili, że koncentracja żelaza wynosiła $22,00 \pm 11,99 \mu\text{mol/l}$. Jego wysoka koncentracja w surowicy badanych źrebiąt mogła być czynnikiem sprzyjającym do zachorowania na jersiniozę. Wykazano, że w większości przypadków do bakteriemii na tle drobnoustrojów z rodzaju *Yersinia* dochodzi przy przeciążeniu organizmu żelazem. Jednocześnie ograniczona jest wówczas liczba receptorów dla transferyny w błonie komórek, w których następuje największe odkładanie żelaza (15).

Całkowita zdolność wiązania żelaza u badanych ciężarnych klaczy przed szczepieniem wynosiła od 114,74 $\mu\text{mol/l}$ (w grupie IV) do 120,70 $\mu\text{mol/l}$ (w grupie III) (tab. 1). Według Schorra (16), u dorosłych zdrowych koni TIBC waha się od 64,22 do 123,79 $\mu\text{mol/l}$. Największy, statystycznie istotny wzrost TIBC zaobserwowano w grupie IV. Również w tej grupie po 3 ty-

Tab. 1. Wpływ szczepionki anty *Y. pseudotuberculosis* i immunostymulatora *P. acnes* na stężenie frakcji β_1 , żelaza, całkowitej i utajonej zdolności wiązania żelaza oraz wysycenie transferyny w surowicy kłaczcy (n = 10)

Czas	Oznaczenie	Grupa			
		I	II	III	IV
Przed szczepieniem	β_1 (g/l)	7,95 ± 1,44	7,78 ± 0,68	8,25 ± 2,01	7,73 ± 0,54 ^{A,B}
	Fe (μmol/l)	18,4 ± 7,81	17,38 ± 7,85	18,81 ± 8,48	19,35 ± 8,04
	WWTf (%)	15,97 ± 4,99	14,94 ± 10,65	15,58 ± 5,75	16,86 ± 6,40
	TIBC (μmol/l)	115,20 ± 7,50	116,34 ± 6,85	120,70 ± 9,29	114,74 ± 7,82 ^{A,B}
	UIBC (μmol/l)	96,74 ± 17,85	98,96 ± 7,88	101,89 ± 10,86	95,3 ± 8,84 ^A
Tydzień po szczepieniu	β_1 (g/l)	7,30 ± 0,69 ^{a,b}	8,02 ± 0,51	8,73 ± 0,99 ^a	9,10 ± 0,34 ^{b,A}
	Fe (μmol/l)	17,42 ± 10,34	17,79 ± 8,23	19,52 ± 8,28	19,81 ± 7,65
	WWTf (%)	14,91 ± 9,85	14,95 ± 9,62	15,97 ± 9,03	15,63 ± 8,49
	TIBC (μmol/l)	116,81 ± 11,20	118,97 ± 9,56	122,20 ± 13,54	126,76 ± 8,86 ^A
	UIBC (μmol/l)	99,39 ± 10,96	101,03 ± 11,28	102,68 ± 12,65	106,95 ± 9,95
3 tygodnie po szczepieniu	β_1 (g/l)	7,13 ± 0,51 ^{a,b,c}	8,49 ± 0,35 ^a	8,88 ± 0,47 ^b	9,30 ± 0,26 ^{c,B}
	Fe (μmol/l)	18,88 ± 9,96	19,80 ± 9,67	19,67 ± 7,00	20,93 ± 8,59
	WWTf (%)	16,22 ± 8,76	16,15 ± 9,61	15,20 ± 8,69	14,97 ± 10,63
	TIBC (μmol/l)	116,43 ± 0,88 ^a	122,58 ± 11,32	129,46 ± 9,84	139,84 ± 8,32 ^{a,B}
	UIBC (μmol/l)	97,55 ± 12,71 ^a	102,78 ± 12,87	107,72 ± 11,23	118,91 ± 8,10 ^{a,A}

Objaśnienia: WWTf – wskaźnik wysycenia transferyny; TIBC – całkowita zdolność wiązania żelaza; UIBC – utajona zdolność wiązania żelaza; a, b, c – różnice istotne przy $p \leq 0,01$ dla wartości podanych w wierszach; A, B – różnice istotne przy $p \leq 0,01$ dla wartości w kolumnach

Tab. 2. Wpływ szczepionki anty *Y. pseudotuberculosis* i immunostymulatora *P. acnes* na stężenie frakcji β_1 , żelaza, całkowitej i utajonej zdolności wiązania żelaza oraz wysycenie transferyny w surowicy źrebiąt (n = 10)

Czas	Oznaczenie	Grupa			
		IA	IIA	IIIA	IVA
Przed szczepieniem	β_1 (g/l)	6,61 ± 1,28 ^a	6,98 ± 2,41 ^A	7,86 ± 1,22 ^A	8,14 ± 0,63 ^{a,A}
	Fe (μmol/l)	37,46 ± 9,42	35,86 ± 9,76	40,34 ± 10,68	41,18 ± 13,59
	WWTf (%)	36,99 ± 9,38	33,70 ± 9,95	35,44 ± 13,72	34,10 ± 13,59
	TIBC (μmol/l)	101,26 ± 9,10 ^a	106,41 ± 10,39	113,83 ± 12,68 ^A	120,78 ± 9,08 ^{a,A}
	UIBC (μmol/l)	63,80 ± 9,60 ^a	70,55 ± 12,66	73,49 ± 12,66 ^A	79,60 ± 9,40 ^a
Tydzień po szczepieniu	β_1 (g/l)	6,77 ± 0,89 ^{a,b,c}	8,76 ± 0,72 ^a	8,57 ± 0,83 ^{b,B}	9,96 ± 0,80 ^c
	Fe (μmol/l)	38,55 ± 9,19	36,63 ± 9,92	40,42 ± 9,06	40,21 ± 11,58
	WWTf (%)	34,98 ± 13,65	29,29 ± 13,92	31,46 ± 10,24	29,79 ± 10,24
	TIBC (μmol/l)	110,21 ± 11,93 ^a	125,08 ± 13,06	128,47 ± 12,98	135,00 ± 9,04 ^{a,A}
	UIBC (μmol/l)	71,66 ± 12,23 ^a	88,45 ± 11,46	88,05 ± 13,73	94,79 ± 10,67 ^a
3 tygodnie po szczepieniu	β_1 (g/l)	6,39 ± 0,53 ^{a,b,c}	9,32 ± 0,87 ^{a,A}	10,81 ± 0,57 ^{b,A,B}	9,82 ± 0,58 ^{c,A}
	Fe (μmol/l)	39,90 ± 9,94	37,58 ± 12,42	40,46 ± 12,38	40,34 ± 13,90
	WWTf (%)	36,26 ± 12,33	29,52 ± 13,07	29,00 ± 12,79	30,07 ± 10,68
	TIBC (μmol/l)	110,05 ± 13,63 ^{a,b}	127,31 ± 13,73	139,53 ± 12,47 ^{a,A}	134,16 ± 12,53 ^b
	UIBC (μmol/l)	70,15 ± 13,40 ^{a,b}	89,73 ± 12,56	99,07 ± 11,96 ^{a,A}	93,82 ± 12,87 ^b

Objaśnienia: jak w tab. 1.

godniach nastąpił statystycznie istotny wzrost UIBC. Pomiedzy kontrolną grupą kłaczcy a grupą IV, po 3 tygodniach od podania preparatów odnotowano statys-

wyższej koncentracji żelaza u tych zwierząt UIBC była także statystycznie wyższa niż w grupie kontrolnej. Można zatem przypuszczać, że łączne podanie im-

tycznie istotne różnice zarówno w TIBC, jak i w UIBC. Wzrost UIBC jest istotny w przypadku zakażeń bakteryjnych. Bakteriostatyczne działanie transferyny kłaczcy wykazano w stosunku do szczepu *Y. pseudotuberculosis* (5). Po podaniu ciężarnym kłaczkom propionibakterii i szczepionki anty *Y. pseudotuberculosis* nie stwierdzono statystycznie istotnego wzrostu koncentracji żelaza, a zaobserwowano wzrost frakcji β_1 ($p \leq 0,01$) i TIBC ($p \leq 0,01$) (tab. 1). Przypuszcza się, że ten zabieg miał wpływ na wzrost stężenia transferyny w wyniku zwiększonego zapotrzebowania na żelazo proliferujących komórek. Harford i wsp. (11) stwierdzili, że wzrost ekspresji receptorów dla transferyny jest związany z nasileniem proliferacji i różnicowaniem się komórek oraz że wraz ze wzrostem potencjału proliferacyjnego zwiększa się zapotrzebowanie komórki na żelazo. Limfocyty T i B w stanie spoczynku odślaniają kilka receptorów dla transferyny na swojej powierzchni, natomiast podczas aktywacji ich liczba szybko i znacznie wzrasta (11). U wszystkich badanych kłaczcy, ze względu na niskie stężenie żelaza i wysoką TIBC, wysycenie transferyny było również niskie i kształtowało się 2 tygodnie przed porodem na poziomie 14,97-16,22%. Nie stwierdzono wpływu zastosowanych preparatów na stopień wysycenia transferyny.

TIBC u źrebiąt z grupy IVA, przed podaniem preparatów, była statystycznie wyższa ($p \leq 0,01$) niż w grupie IA (tab. 2). Pomimo naj-

munostymulatora i szczepionki klaczom z grupy IV wpłynęło na wzrost całkowitej i utajonej zdolności wiązania żelaza u ich potomstwa. Podanie preparatów spowodowało wzrost TIBC po tygodniu u źrebiąt z grupy IVA, a po 3 tygodniach również u źrebiąt z grupy IIIA. W obu grupach wzrost ten był istotny na poziomie $p \leq 0,01$. Porównując rodzaje uodpornienia, statystycznie istotne różnice TIBC stwierdzono pomiędzy grupami IA a IVA po tygodniu i pomiędzy grupą IA a grupami IIIA i IVA po 3 tygodniach od podania preparatów. Statystycznie istotny wzrost ($p \leq 0,01$) UIBC stwierdzono tylko w grupie IIIA po 3 tygodniach od podania propionibakterii. Porównując wpływ stosowanych preparatów na UIBC, po 3 tygodniach stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą IA a grupami IIIA i IVA ($p \leq 0,01$). Ponieważ podawanie propionibakterii matkom, a następnie ich potomstwu wpłynęło na wzrost wolnej transferyny (a tym samym doszło do dodatkowej ochrony zakażonego źrebięcia przed rozwojem choroby), można by tego typu wakcynację wykorzystać w ochronie źrebiąt, zanim zostaną w pełni wykształcona u nich odporność humoralna swoista.

Wysycenie transferyny u badanych źrebiąt wynoszące od 29,00% do 36,99% było dwukrotnie wyższe niż u klaczy i jest charakterystyczne dla zdrowych aktywnych źrebiąt (1). Nie stwierdzono wpływu zastosowanych preparatów u źrebiąt na wysycenie transferyny żelazem. Zarówno wysokie stężenie żelaza, jak i wysycenie nim transferyny może być czynnikiem sprzyjającym rozwojowi chorób na tle mikroorganizmów, których rozwój jest żelazozależny.

W odpowiedzi na infekcję bakteryjną organizm reaguje obniżeniem poziomu żelaza we krwi, co stwarza niekorzystne warunki do rozmnażania się drobnoustrojów. Pomimo tego rodzaju zabezpieczenia organizmu wykazano, że niektóre szczepy *Yersinia enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* produkują siderofory zdolne do wychwytywania żelaza z transferyny bądź do wykorzystywania jonów Fe^{3+} . Wysoka chorobotwórczość pałeczek *Yersinia* związana jest z obecnością wyspy wysokiej patogenności, zawierającej geny odpowiedzialne za produkcję sideroforu (yersiniabactin), ukierunkowanego na żelazo (2). Ekspresja tych genów zachodzi wówczas, gdy żelazo w środowisku występuje w formie nieprzyswajalnej (Fe^{2+}) dla bakterii (13). Receptory dla tego sideroforu występują w zewnętrznej części błony komórkowej patogennych bakterii z rodzaju *Yersinia* (3). Do takich drobnoustrojów należał ze względu na wytwarzane czynniki zjadliwości, wyizolowany od padłych źrebiąt szczep *Y. pseudotuberculosis* (9).

Piśmiennictwo

1. Brommer H., van Oldruijtenborgh-Oosterbaan M. M.: Iron deficiency in stable Dutch warmblood foals. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, 15, 482-485.
2. Carniel E.: The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes Infect.* 2001, 3, 561-569.
3. Chambers C. E., Sokol P. A.: Comparison of siderophore production and utilization in pathogenic and environmental isolates of *Yersinia enterocolitica*. *J. Clin. Microbiol.* 1994, 32, 32-39.

4. Cieśla A., Janiszewska J.: Koncentracja magnezu, cynku, miedzi, żelaza i manganu w surowicy krwi klaczy i noworodków. *Folia Univ. Agric. Stet.* 225, *Zootechnika* 2001, 43, 65-68.
5. Czernomysy-Furowicz D., Furowicz A. J.: Elektroforeza białek osocza krwi ciężarnych klaczy, z uwzględnieniem poziomu immunoglobulin i bakteriostatycznego wpływu transferyny na szczep *Yersinia pseudotuberculosis*. *Folia Univ. Agric. Stet.* 225, *Zootechnika* 2001, 43, 57-65.
6. Eder H.: Blut und Lymphe, [w:] Scheunert A., Trautmann A. (red.): *Lehrbuch der Veterinär-Physiologie*. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg 1987, s. 160-208.
7. Ek N.: Antigen-antibody crossed electrophoretic studies and quantitative comparisons of serum transferrin types in horses. *Acta Vet. Scand.* 1981, 22, 246-259.
8. Ek N.: Studies on prealbumin (PR) protein and transferrin phenotypes in serum of healthy and sick horses and investigations of serum levels of the equine immunoglobulins IgG and Ig(T). *Veterinary College of Norway, Oslo* 1981.
9. Gackowska I., Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D., Jakubczak A.: Fenotypowa i genotypowa analiza właściwości chorobotwórczych szczepów *Yersinia pseudotuberculosis* oraz *Yersinia enterocolitica*. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 303-305.
10. Halliwell R. E. W., Gorman N. T.: *Veterinary Clinical Immunology*. Saunders W. B. Comp., Philadelphia 1989.
11. Harford J. B., Casey J. L., Koeller D. M., Klausner R. D.: Structure, function, and regulation of the transferrin receptor: Insights from molecular biology, [w:] Steer C. J., Hanover J. A. (wyd.): *Intracellular Trafficking of Proteins*. Cambridge University Press, Cambridge, England 1991, 302-322.
12. Kostro K., Gliński Z., Wojcicka-Lorengowicz K., Krakowski L.: Białka ostrej fazy jako markery chorób u zwierząt. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 539-542.
13. Perry R. D., Balbo P. B., Jones H. A., Fetherston J. D., DeMoll E.: *Yersinia-bactin* from *Yersinia pestis*: biochemical characterization of the siderophore and its role in iron transport and regulation. *Microbiology* 1999, 145, 1181-1190.
14. Pikula R., Janus K., Gronet D., Smugała M., Cieśla A., Grzesiak W.: Porównanie wybranych wskaźników biochemicznych krwi u koni z SK Racot, Nowielice i Bielin. Cz. II. Wpływ rasy i zakładu treningowego na wielkość stężenia niektórych składników mineralnych we krwi ogierów. *Mat. Symp.: Aktualne kierunki hodowli i użytkowania koni w Europie. Sympozjum międzynarodowe Kraków 17-19.09.1999*, s. 372-376.
15. Piroth L., Meyer P., Bielefeld P., Besancenot J. F.: *Yersinia bacteremia* and iron overload. *Rev. Med. Intern.* 1997, 18, 932-938.
16. Schorr G.: Iron and iron-binding capacity in the serum of clinically healthy horses. *Tierärztl. Prax.* 1988, 16, 163-165.
17. Steinbrecher A., Fuchs R., Kolb E., Nestler K., Schineff C., Schmidt U., Wahren M.: The content of Hb and hematocrit value in blood and the total proteins, urea, glucose, free fatty acids, Na, K, Ca, Mg, Pa, Fe, Fe-binding capacity, Cu and Zn in the blood plasma of Warmblood horses during feeding with oat-hay or barley-hay rations over a period of 9 months. *Arch. Exp. Vet. Med.* 1990, 44, 367-381.
18. Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. SGGW, Warszawa 1997.

Autor: dr hab. Danuta Czernomysy-Furowicz, ul. Monte Cassino 16A/2, 70-466 Szczecin; e-mail: dfurowicz@wp.pl