

Wpływ $\beta(1,3)$ -D-glukanu i lipopolisacharydu na odporność karpia przeciwko *Aeromonas hydrophila*

LESZEK GUZ, ANTONINA Sopińska

Zakład Chorób Ryb i Biologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Guz L., Sopińska A.

Effect of $\beta(1,3)$ -D-glucan and LPS on the protective immunity of carp against *Aeromonas hydrophila*

Summary

The effects of β -glucan, lipopolisaccharide (LPS) and cells of pathogenic *Aeromonas hydrophila* were studied on survival in carp, *Cyprinus carpio*, that were infected by the pathogen *A. hydrophila*. Beta-glucan from barley, LPS from *Serratia marcescens* and the virulent for carp *A. hydrophila* were used in this study. Immunostimulants were injected intramuscularly in the dorsolateral region of fish. Fish were divided into groups as follows: fish from group I (β -glucan, 50 mg kg⁻¹ i.m.), fish from group II (LPS, 50 mg kg⁻¹ i.m.), fish from group III (LPS, 50 mg kg⁻¹ i.m. and β -glucan, 50 mg kg⁻¹ i.m.), fish from group IV (killed cells of *A. hydrophila*, 0.1 ml), fish from group V – control (0.1 ml PBS i.m.). Control and test fish were challenged by intraperitoneal injections of *A. hydrophila* on days 7, 14 and 21. The cases of mortality were recorded for 7 days and the relative percent of survival (RPS) was calculated. The RPS in group I was 83%, 66% and 44%; in group II it was 42%, 55% and 63%; in group III it was 50%, 55% and 97%; in group IV it was 33%, 40% and 56% in the challenge test on the 7th, 14th and 21st days, respectively. It may be concluded that intramuscular injections of β -glucan and LPS mixture in carp could enhance resistance to an infection by *A. hydrophila*.

Keywords: fish, β -glucans, LPS, immunity

Cechą charakterystyczną układu immunologicznego ryb jest jego wrażliwość na stres i zmiany czynników fizykochemicznych w środowisku wodnym. Na zależność między stresem a wzmożoną podatnością na infekcje bakteryjne, wirusowe i grzybicze zwraca uwagę wielu autorów (10, 31, 36). W ostatnich latach ukazały się prace zalecające stosowanie preparatów chemicznych o właściwościach immunomodulacyjnych w czasie działania na ryby różnych czynników stresowych, jak również w profilaktyce i terapii zakażeń bakteryjnych i wirusowych oraz zatruc (9, 23, 30, 32-34, 40).

Modulowanie odpowiedzi immunologiczną u ryb uzyskuje się przez wprowadzenie do organizmu czynników egzogennych, pochodzenia syntetycznego (lewamizol, izoprinozyna) lub naturalnego (TFX-Polfa, dimer lizozymu, polisacharydy, β -hydroxy- β -metylo-maślan, *Echinacea* spp.) (1, 13, 21, 27-30, 32-34). Celem takiej immunostymulacji jest niespecyficzne pobudzenie mechanizmów obronnych.

Od dawna w profilaktyce i terapii ryb oraz innych kęgowców są stosowane glukany, izolowane ze ścian komórkowych grzybów i bakterii. Do najbardziej znanych glukanów grzybiczego pochodzenia należą: lentinan (izolowany z *Lentinula endodes*), schizopylan (*Schizophyllum commune*), grifolan (*Grifola fron-*

dosa), zymozan (*Saccharomyces cerevisiae*), krestin (*Trametes versicolor*), pestolotan (*Pestolotia* sp. 815), epiglukan (*Epicoccum nigrum*), betafektin (*Saccharomyces cerevisiae*), skleroglukan (*Sclerotinia sclerotiorum*), natomiast kurdlan izolowano z bakterii *Alcaligenes faecalis* (7, 40). Są one zbudowane z podjednostek glukozy połączonych wiązaniami β -1,3 i β -1,6 glikozydowymi. Podane rybom dootrzewnowo, w kąpieli lub z karmą *per os* powodują wzrost odporności na doświadczalne zakażenia bakteryjne i wirusowe. Wielu autorów zwraca uwagę na podwyższenie niektórych parametrów odporności nieswoistej, tj. liczby leukocytów, neutrofilii, monocytów, NBT-dodatnich komórek, aktywności fagocytarnej leukocytów po eksperymentalnym podaniu rybom glukanu (13, 25, 30). Mechanizm działania β -1,3/1,6-D-glukanu prawdopodobnie polega na łączeniu się ze swoistym dla niego jednym z receptorów na powierzchni komórek. Do tych receptorów należą: Dectin-1 (transmembranowy receptor typu II), receptor dopełniacza CR3, receptory typu „zmiataczy” (*scavenger receptors*), receptor LacCer i prawdopodobnie receptory typu TLR (4, 5, 12). Podwyższoną odporność, po zastosowaniu β -glukanu podawanego dootrzewnowo i w karmie, wykazano przeciwko *A. hydrophila* u karpia (*C. carpio*) (13, 24, 25), *Edwardsiella tarda* u grubowarga (*Labeo rohita*) (18),

E. ictaluri u suma kanałowego (*Ictalurus punctatus*) (6, 37), *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* u dorady (*Sparus auratus*) (8), *Streptococcus iniae* u tilapii nilowej (*Oreochromis niloticus*) (38), *Yersinia ruckeri* u pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) (29), *Vibrio sp.* u okonia morskiego (*Dicentrarchus labrax*) (3).

Innym znanym immunostymulatorem stosowanym w profilaktyce u ryb jest lipopolisacharyd (LPS), główny składnik ściany komórkowej bakterii G-ujemnych. Działanie LPS, dobrze poznane u ludzi, zachodzi za pośrednictwem mediatorów uwalnianych przez różnego typu komórki (monocyty, makrofagi, granulocyty, limfocyty B), na których występuje receptor dla endotoksyny. Utworzony kompleks LPS-CD14-MD2-TLR wywołuje dimeryzację TLR4 i dochodzi do aktywacji kinaz fosforylujących inhibitor czynnika transkrypcyjnego NFκB. Uwolniony NFκB przemieszcza się do jądra i indukuje transkrypcję wielu genów. Dochodzi do wytworzenia i sekrecji cytokin zapalnych IL-1, IL-6, IL-12 i TNFα. Stymulacja LPS powoduje podwyższenie aktywności fagocytarnej i pinocytarnej, wyższą wewnątrzkomórkową produkcję anionorodnika ponadtlenkowego oraz wzrost aktywności kwaśnej fosfatazy (2, 16).

Spośród dróg podawania immunostymulatorów u ryb najczęściej wykorzystuje się podawanie w iniekcji dootrzewnowej, w kąpieli lub z karmą. Zgodnie z wiedzą posiadaną przez autorów, nie testowano dotychczas domięśniowej drogi podawania β-glukanu w skojarzeniu z LPS.

Celem badań było porównanie wpływu β(1,3)-D-glukanu, LPS z *Serratia marcescens* i zabitych bakterii *A. hydrophila* podawanych domięśniowo na przeżywalność karpi po eksperymentalnym dootrzewnowym zakażeniu patogennymi bakteriami *Aeromonas hydrophila*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 450 sztukach karpi o masie ciała 70-80 g, nie wykazujących objawów chorobowych. Ryby pochodziły z gospodarstwa rybackiego, w którym w ostatnich latach nie występowała choroba MAI/MAS (motive aeromonad infection/motive *Aeromonas* septicemia).

Do immunizacji ryb użyto: β(1,3)-D-glukanu (G6513, Sigma) i LPS z *Serratia marcescens* (L6136, Sigma), a także zabitych bakterii *A. hydrophila*.

Ryby podzielono na cztery grupy doświadczalne i piątą kontrolną. Każda grupa obejmowała po 30 ryb. Rybom grupy I podano domięśniowo glukan w dawce 50 mg/kg m.c., grupy II – domięśniowo LPS w dawce 50 mg/kg m.c., grupy III – LPS (50 mg/kg m.c.) z glukanem (50 mg/kg m.c.), grupie IV podano domięśniowo zabite (przez trzykrotne zamrażanie do -20°C i rozmrażanie oraz dodatek 0,3% formaliny) patogenne bakterie *A. hydrophila* w dawce 0,1 ml zawierającej 10⁸ bakterii w 1 ml zawiesiny. Rybom grupy V – kontrolnej – podano domięśniowo 0,1 ml jałowego PBS.

Stan odporności ryb poddanych stymulacji badano przy zastosowaniu testu challenge. Ryby zakażano dootrzewnowo

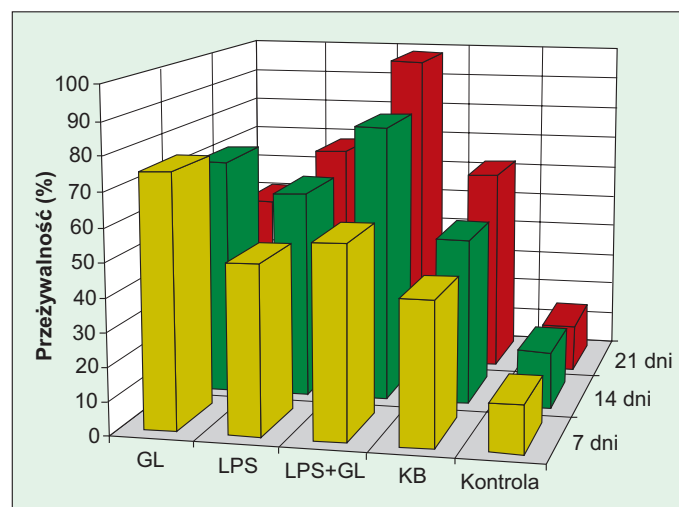
patogennymi bakteriami *A. hydrophila* w dawce 10⁸ ml⁻¹. Zabieg ten wykonywano po 7, 14 i 21 dniach od stymulacji (każdorazowo użyto po 10 ryb w trzech powtórzeniach). Śmiertelność ryb badano codziennie przez 7 dni.

Efekt immunizacji karpi określono na podstawie względnego procentu przeżywalności (WPP), wg wzoru: WPP = (1 - % śmiertelności w grupie immunizowanej / % śmiertelności w grupie nieimmunizowanej) × 100.

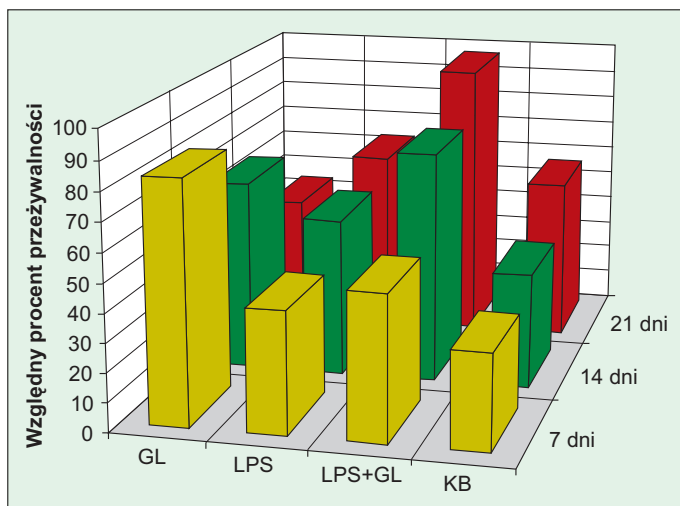
Wyniki i omówienie

Wyniki przeżywalności karpi w teście challenge przedstawiono na ryc. 1. Obserwowano wyższy procent przeżywalności we wszystkich grupach doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną, w której przeżywalność po 7 dniach wynosiła 14%, po 14 dniach 17% i po 21 dniach 14%. Zastosowanie β-glukanu w dawce 50 mg/kg m.c. spowodowało 75% przeżywalność po 7 dniach, 71% po 14 dniach i 51% po 21 dniach od immunizacji. Zastosowanie LPS z *S. marcescens* w dawce 50 mg/kg m.c. spowodowało 50% przeżywalność po 7 dniach, 62% po 14 dniach i 68% po 21 dniach od immunizacji. Zastosowanie β-glukanu (50 mg/kg m.c.) i LPS (50 mg/kg m.c.) w dawce połączonej spowodowało 57% przeżywalność po 7 dniach, 83% po 14 dniach i 100% po 21 dniach od immunizacji. Skojarzone podanie β-glukanu i LPS miało większy wpływ na przeżywalność karpi po 14 i 21 dniach od immunizacji niż zastosowanie oddzielnie tych dwóch immunostymulatorów. Zastosowanie zabitych, patogennych dla karpi bakterii *A. hydrophila* spowodowało 42% przeżywalność po 7 dniach, 50% po 14 dniach i 62% po 21 dniach od immunizacji (ryc. 1).

Efekt immunizacji określony na podstawie względnego procentu przeżywalności wyniósł, odpowiednio: u ryb grupy I – po 7 dniach 83%, 14 dniach 66%, 21 dniach 44%; u ryb grupy II – po 7 dniach 42%, 14 dniach 55%, po 21 dniach 63%; u ryb grupy III – po 7 dniach 50%, 14 dniach 55%, 21 dniach 97%; u ryb



Ryc. 1. Przeżywalność karpi immunizowanych β-glukanem (GL), lipopolisacharydem (LPS), β-glukanem z LPS oraz zabitymi bakteriami *A. hydrophila* (KB), po eksperymentalnym zakażeniu ryb bakteriami *A. hydrophila*



Ryc. 2. Względny procent przeżywalności karpki immunizowanych β -glukanem (GL), lipopolisacharydem (LPS), β -glukanem z LPS oraz zabitymi bakteriami *A. hydrophila* (KB), po eksperymentalnym zakażeniu ryb bakteriami *A. hydrophila*

grupy IV – po 7 dniach 33%, 14 dniach 40%, 21 dniach 56% (ryc. 2).

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy są zgodne z wynikami doświadczeń innych autorów, którzy potwierdzają immunostymulacyjne działanie β -glukanu i LPS (11, 14, 16, 24, 30). Dootrzewnowe podanie β -(1,3)-D-glukanu znacznie zmniejsza śmiertelność *Ictalurus punctatus* po doświadczalnym zakażeniu bakteriami *Edwardsiella ictaluri* (6), a dootrzewnowe podanie glukanu otrzymanego ze ścian komórkowych *Saccharomyces cerevisiae* powoduje podwyższenie odporności przeciwzakaźnej łososi (*Salmo salar*) (23). Gopalakannan i Arul (13) obserwowali wysoką przeżywalność karpki w teście challenge z użyciem bakterii *A. hydrophila*, którym podawano *per os* (przez 45 i 90 dni) chitozan. Wielu autorów podkreśla fakt pobudzenia przez glukan i LPS niektórych parametrów odporności nieswoistej oraz szeregu mechanizmów metabolicznych monocytów/makrofagów (9, 16, 22, 24, 30), którym przypisuje się główną funkcję obronną ryb w stosunku do mikroorganizmów środowiska wodnego (2).

Niedawno odkryty mechanizm działania β -1,3/1,6-D-glukanu prawdopodobnie polega na łączeniu się ze swoistym dla niego receptorem na powierzchni komórek. Autorzy zwracają uwagę na możliwość łączenia się z receptorem Dectin-1 (transmembranowym receptorem typu II), receptorem dopełniacza CR3, receptorami typu „zmiataczy” (scavenger receptors), receptorem LacCer i prawdopodobnie receptorem TLR-2 (4, 5, 12). Dectin-1 ulega ekspresji na makrofagach, neutrofilach, komórkach dendrytycznych i niektórych subpopulacjach limfocytów T (35, 39). Receptor CR3 występuje na limfocytach, komórkach NK i neutrofilach. Heterogenna grupa receptorów typu „zmiataczy” występuje w komórkach mieloidalnych i śródbłonna naczyń. Receptory LacCer, które są obojętnymi glikosfingolipidami występują w komórkach śródbłonna

naczyń krwionośnych, komórkach mięśni gładkich, makrofagach, neutrofilach, płytkach krwi i neutrocytach (7). Receptory TLR występujące m.in. na makrofagach, komórkach dendrytycznych i limfocytach również mają zdolność wiązania β -glukanów. Wykazano, że TLR 2 i prawdopodobnie TLR 4 wiążą zymozan, czego konsekwencją jest zwiększenie poziomu czynnika transkrypcyjnego NF- κ B i produkcja cytokin: IL-12 i TNF α (15, 17, 19). W wyniku działania β -glukanów dochodzi do uruchomienia nieswoistej odpowiedzi immunologicznej poprzez aktywację eozynofili i neutrofilów, a także aktywację układu dopełniacza. β -glukan pobudza wytwarzanie IL-2, IL-10, IL-12 i TNF α , co prowadzi do aktywacji odpowiednich subpopulacji limfocytów B i T. Udowodniono również, że niektóre czynniki aktywowanego układu dopełniacza aktywują limfocyty T (7). Wszystko to sprawia, że układ odpornościowy organizmu jest lepiej przygotowany do obrony przed różnego rodzaju czynnikami patogennymi.

Baba i wsp. (2) uzyskiwali po immunizacji karpki LPS wysoki efekt ochronny w stosunku do *A. hydrophila*. Również Kozińska i Guz (16) obserwowali wzrost przeżywalności karpki po dootrzewnowej immunizacji LPS otrzymanym z patogennych dla karpki szczepów *A. bestiarum*. Selvaraj i wsp. (24) podając β -glukan i LPS dootrzewnowo, w dawkach niższych niż użyto w niniejszych badaniach, uzyskali 100% względną przeżywalność karpki w teście challenge z użyciem *A. hydrophila*. Podanie β -glukanu w kombinacji z LPS *per os* zwiększyło względną przeżywalność jedynie w grupie ryb, która otrzymała 1% β -glukanu i 0,25% LPS. Nie obserwowano natomiast wzrostu przeżywalności po zastosowaniu immunostymulatorów w kąpielach (24).

Narastająca odporność na antybiotyki wymusza poszukiwanie coraz nowszych metod leczenia. Jedną z nich jest aktywacja odporności wrodzonej. Poczyniono udane próby podawania komercyjnie przygotowanych preparatów na bazie β -glukanów do karmy konsumpcyjnych ryb hodowlanych i ozdobnych (4, 20, 23, 26, 30). Zastosowanie immunostymulacji, prowadząc do aktywacji układu odpornościowego, redukuje również stres i działa przeciwzapalnie. Działanie wielu składników podanych równocześnie wywołuje korzystniejsze dla organizmu reakcje zależności i synergii. U ryb pozwoli w znacznym stopniu zmniejszyć ilość stosowanych w profilaktyce i terapii antybiotyków, które niekorzystnie wpływają na środowisko i mogą powodować pojawienie się szczepów opornych na powszechnie stosowane w lecznictwie antybiotyki.

Piśmiennictwo

- Anderson D. P., Siwicki A. K.: Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion. Prog. Fish Cult. 1994, 56, 258-261.
- Baba T., Imamura J., Izawa K., Ikeda K.: Immune protection in carp, *Cyprinus carpio* L., after immunization with *Aeromonas hydrophila* crude lipopolysaccharide. J. Fish Dis. 1988, 11, 237-244.

3. *Bonaldo A., Thompson K. D., Manfrin A., Adams A., Murano E., Mor-denti A. L., Gatta P. P.*: Influence of dietary β -glucans on the adaptive and innate immune responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) vaccinated against vibriosis. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007, 6, 151-164.
4. *Bricknell I., Dalmo R. A.*: The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish Shellfish Immun.* 2005, 19, 457-472.
5. *Brown G. D., Herre J., Williams D. L., Willment J. A., Marshall A. S. J., Gordon S.*: Dectin-1 mediates the biological effects of β -glucans. *J. Exp. Med.* 2003, 197, 1119-1124.
6. *Chen D., Ainsworth A. J.*: Glucan administration potentiates immune defence mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *J. Fish Dis.* 1992, 295-304.
7. *Chen J., Seviour R.*: Medical importance of fungal β -(1-3), (1-6)-glucans. *Mycological Res.* 2007, 111, 635-652.
8. *Couso N., Castro R., Magarinos B., Obach A., Lamas J.*: Effect of oral administration of glucans on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. *Aquaculture* 2003, 219, 99-109.
9. *Dalmo R. A., Seljelid R.*: The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran [β (1,3)-D-Glucan] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 1995, 18, 175-185.
10. *Dror M., Sinyakov M. S., Okun E., Dym M., Sredni B., Avtalion R. R.*: Experimental handling stress as infection-facilitating factor for the goldfish ulcerative disease. *Vet. Immunol. Immunop.* 2006, 109, 279-287.
11. *Efthimiou S.*: Dietary intake of β -1,3/1,6 glucans in juvenile dentex (*Dentex dentex*), Sparidae: effects on growth performance, mortalities and non-specific defence mechanisms. *J. Appl. Ichthyol.* 1996, 12, 1-7.
12. *Gantner B. N., Simmons R. M., Canavera S. J., Akira S., Underhill D. M.*: Collaborative induction of inflammatory response by dectin-1 and toll-like receptor 2. *J. Exp. Med.* 2003, 197, 1107-1117.
13. *Gopalakannan A., Arul V.*: Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture* 2006, 255, 179-187.
14. *Jeney G., Anderson D. P.*: Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with bacterin enhance the non-specific defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 1993, 116, 315-329.
15. *Kataoka K., Muta T., Yamazaki S., Takeshige K.*: Activation of macrophages by linear (1-3)- β -D-glucans. Implications for the recognition of fungi by innate immunity. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 36825-36831.
16. *Kozińska A., Guz L.*: The effect of various *Aeromonas bestiarum* vaccines on non-specific immune parameters and protection of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immun.* 2004, 16, 437-445.
17. *Lebron F., Vassallo R., Puri V., Limper A. H.*: Pneumocystis carini cell wall β -glucans initiate macrophage inflammatory responses through NF-kappaB activation. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 25001-25008.
18. *Misra C. K., Das B. K., Mukherjee S. C., Pattnaik P.*: Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture* 2006, 255, 82-94.
19. *Ozinsky A., Underhill D. M., Fontenot J. D., Hajjar A. M., Smith K. D., Wilson C. B., Schroeder L., Aderem A.*: The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 2000, 97, 13766-13771.
20. *Pal E., Joardar S. N., Roy B.*: Immunostimulatory effects of a yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall feed supplement on rohu (*Labeo rohita*), and indian major carp. *Isr. J. Aquacult.-Bamid.* 2007, 59, 175-181.
21. *Rairakhwada D., Pal A. K., Bhatena Z. P., Sahu N. P., Jha A., Mukherjee S. C.*: Dietary microbial levan enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish Shellfish Immun.* 2007, 22, 477-486.
22. *Robertson B., Engstad R. E., Jørgensen J. B.*: β -Glucans as immunostimulants in fish, [w:] Stolen J. S., Fletcher T. C.: *Modulators of Fish Immune Response*. SOS Publications, Fair Haven, NJ 1994, 83-99.
23. *Robertson B., Rorstad G., Engstad R., Raa J.*: Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *J. Fish Dis.* 1990, 13, 391-400.
24. *Selvaraj V., Sampath K., Sekar V.*: Adjuvant and immunostimulatory effects of β -glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Vet. Immunol. Immunop.* 2006, 114, 15-24.
25. *Selvaraj V., Sampath K., Sekar V.*: Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immun.* 2005, 19, 293-306.
26. *Siwicki A. K., Anderson D. P., Rumsey G.*: Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunop.* 1994, 41, 125-139.
27. *Siwicki A. K., Dunier M.*: Effect of levamisole on the lymphocyte and macrophage activity in carp (*Cyprinus carpio*). *Ann. Rech. Vet.* 1990, 21, 95-100.
28. *Siwicki A. K., Fuller Jr. J. C., Nissen S., Ostaszewski P., Studnicka M.*: In vitro effects of β -hydroksy- β -methylbutyrate (HMB) on cell-mediated immunity in fish. *Vet. Immunol. Immunop.* 2000, 76, 191-197.
29. *Siwicki A., Kazun K., Glabski E., Terech-Majewska E., Baranowski P., Trapkowska S.*: The effect of beta-1.3/1.6 β glucan in diets on the effectiveness of anti-Yersinia ruckeri vaccine in an experimental study in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2004, 46, 59-62.
30. *Siwicki A. K., Zakeś Z., Terech-Majewska E., Kowalska A., Malaczewska J.*: Supplementation the feed of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) juveniles with MacroGard and its influence on nonspecific cellular and humoral defense mechanisms. *Aquac. Res.* 2009, 40, 405-411.
31. *Śniezko S. F.*: The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish Biol.* 1974, 6, 197-208.
32. *Sopińska A., Guz L.*: Immunostymulujące działanie lewamizolu i preparatu TFX-Polfa u karpi w warunkach eksperymentalnych. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 548-550.
33. *Sopińska A., Guz L.*: Immunostymulujące działanie lewamizolu i preparatu TFX-Polfa u karpi w warunkach hodowlanych. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 258-261.
34. *Sopińska A., Lutnicka H., Guz L.*: Badania nad działaniem lewamizolu po przewlekłej intoksykacji karpi związkami azotowymi. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 612-614.
35. *Underhill D. M., Rossnagle E., Lowell C. A., Simmons R. M.*: Dectin-1 activates Syk tyrosine kinase in a dynamic subset of macrophages for reactive oxygen production. *Blood* 2005, 106, 2543-2550.
36. *Walters G. R., Plumb J. A.*: Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *J. Fish Biol.* 1980, 17, 177-185.
37. *Welker T. L., Lim. C., Yildirim-Aksoy M., Shelby R., Klesius P. H.*: Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell or yeast subcomponents. *J. World Aquac. Soc.* 2007, 38, 24-35.
38. *Whittington R., Lim C., Klesius P. H.*: Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 2005, 248, 217-225.
39. *Willment J. A., Marshall A. S., Reid D. M., Williams D. L., Wong S. Y., Gordon S., Brown G. D.*: The human β -glucan receptor is widely expressed and functionally equivalent to murine Dectin-1 on primary cells. *Eur. J. Immunol.* 2005, 35, 1539-1547.
40. *Yano T., Mangindaan R. E. P., Matsuyama H.*: Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some β -1,3-glucans. *Nippon Suisan Gakk.* 1989, 55, 1815-1819.

Adres autora: dr Leszek Guz, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: leszek.guz@up.lublin.pl