

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych
Akademii Rolniczej w Lublinie
ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin,
e-mail: marek.chmielewski@ar.lublin.pl

DOROTA LUFT-DEPTUŁA, MARIA TERESA ZOŃ,
MARIUSZ MIKOŁAJCZAK

Immunostymulatory naturalne i syntetyczne stosowane u pszczoły miodnej – charakterystyka

The honey bee natural and synthetic immunestimulators – characteristics

Streszczenie. W artykule przeglądowym przedstawiono problem immunosupresji i jej opanowania u pszczoły miodnej. Opisano substancje o działaniu stymulującym i oceniono ich wartość w pobudzaniu mechanizmów odporności. Układ immunologiczny odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy pszczoły miodnej, łącznie z kontrolą zakażeń i inwazji pasożytniczych. Czynniki stresogenne, takie jak inwazja *Varroa destructor* i zanieczyszczenie środowiska, są częstą przyczyną zaburzeń czynności układu immunologicznego. Dąży się do minimalizacji uszkodzeń spowodowanych immunosupresantami i chorobami u pszczół oraz ogrodzenia używania toksycznych związków chemicznych i antybiotyków. W Unii Europejskiej stosowanie leków i związków chemicznych, które zanieczyszczają miód, pyłek, mleczko pszczele jest całkowicie zabronione. Dlatego wzrasta zainteresowanie substancjami zwiększającymi działanie ochronne i reaktywność immunologiczną. Wśród nich jest chitozan, wyciąg z jeżówki purpurowej (*Echinaceae purpurea*), furanokumaryny, klotrimazol i lewamizol. Wszystkie są endogennymi mediatorami i wykazują silne działanie regulujące na układ immunologiczny pszczoły miodnej.

Słowa kluczowe: pszczoła miodna, immunostymulacja, chitozan, jeżówka purpurowa, furanokumaryny, klotrimazol, lewamizol

WSTĘP

Dysfunkcje układu odpornościowego u pszczoły miodnej są następstwem działania różnorodnych stresów, skażenia środowiska, infekcji i inwazji pasożytniczych, leków o działaniu immunosupresyjnym, zmian zachodzących w biologii rodziny związanych z porą roku [Gliński i Kauko 2000, Gliński i Kostro 2001]. Następstwem immunosupresji jest zwiększenie podatności na choroby zakaźne i pasożytnicze, indukcja latentnych

zakażeń wirusowych [Ball 1985]. Immunosupresja umożliwia saprofitom a także drobnoustrojom warunkowo chorobotwórczym, występującym obficie w niszach ekologicznych zasiedlanych przez owady przełamanie działania ochronnego i rozwój posocznicy bakteryjnych, będących przyczyną masowego padania pszczół [Gliński i Jarosz 1991, Kauko i Gliński 1994, Gliński 2001]. Zakażenia wywołane przez *Pseudomonas apisepticus* [Papadopoulou-Karabela i in. 1992], *Hafnia alvei* i *Enterococcus faecalis* [Kauko i Gliński 1994, Kauko i in. 1996] rozwijają się u pszczół poddanych działaniu silnego stresu, w zatruciach chemicznych i w inwazjach pasożytów. Wyróżnia się co najmniej trzy grupy czynników działających immunosupresyjnie na pszczołę miodną. Zalicza się do nich skażenie środowiska, inwazje pasożytnicze oraz stres hodowlany, których niepożądanym skutkiem jest osłabienie odpowiedzi immunologicznej.

IMMUNOSUPRESYJNY WPŁYW SKAŻONEGO ŚRODOWISKA

Stres środowiskowy należy do głównych czynników wpływających niekorzystnie na układ odpornościowy. Supresyjnie na odporność pszczoły miodnej wpływa skażenie środowiska metalami ciężkimi, środkami ochrony roślin, insektycydami [Gliński i Jarosz, 1999, Gliński i in. 2002, 2003]. Źródłem skażenia powietrza, gleby i wody są emisje i odpady przemysłowe, nawozy mineralne, środki ochrony roślin, komunikacja, na technologie oparte energii jądrowej.

Pszczoła miodna jest narażona na działanie zanieczyszczeń chemicznych poprzez łańcuch pokarmowy, a także bezpośrednio w wyniku pobierania wody, wdychania pyłów i gazów atmosferycznych. Dobrą egzemplifikacją wpływu skażonego środowiska na jej układ odpornościowy jest zachowanie się parametrów odporności, w środowisku skażonym metalami ciężkimi. Ekspozycja pszczoły na pokarm o podwyższonej zawartości żelaza, manganu, cynku, miedzi, niklu, kadmu i ołowiu, nawet w granicach uznawanych za dopuszczalne, wywołuje zaburzenia w komórkowych i humoralnych mechanizmach odporności jamy ciała. Wartość indeksu fagocytarnego, wynosząca w grupie kontrolnej od 0,9 do 1,2 komórki *Sarcina lutea*/hemocyt, u pszczół robotnic ze środowiska skażonego w żadnym przypadku nie przekraczała wartości 1,0 komórki bakteryjnej/hemocyt, zaś u robotnic ze środowiska silnie skażonego wahała się w granicach 0,5–0,75 komórek *Sarcina lutea*/hemocyt. Wyższe stężenia metali wpływają wyraźnie supresyjnie na odsetek hemocytów hemolimfy aktywnych w procesie fagocytozy [Gliński i Grzegorzczak 1995a, b].

Skażenie wywołuje zmiany w ilości i w odsetkowym składzie poszczególnych frakcji białek w hemolimfie pszczół pochodzących z pasiek, w których występują różnice w poziomie metali ciężkich w miodach. W świetle tych obserwacji zrozumiałą jest zarówno cięższy przebieg inwazji *Varroa destructor* oraz częstsze występowanie posocznicy bakteryjnych na tle zakażenia *Hafnia alvei* bądź *Streptococcus faecalis*, a także coraz powszechniejsze występowanie grzybicy otorbielakowej w rodzinach z terenów o glebie i roślinach silnie zanieczyszczonych.

IMMUNOSUPRESYJNE DZIAŁANIE *Varroa destructor*

Uszkodzający wpływ *Varroa destructor* na układ odpornościowy pszczoły dotyczy poziomu komórkowego i subkomórkowego [Sammataro 1997]. Inwazja hamuje ekspre-

sje genów kodujących białka odpornościowe i enzymy zaangażowane w procesach odpornościowych, czego skutkiem jest zahamowanie odpowiedzi komórkowej i humoralnej [Yang i Cox-Foster 2005]. Podczas inwazji *Varroa destructor* zachodzą zmiany w objętości krwi, stężeniu i frakcjach białek oraz aktywności enzymów hemolimfy, w nasileniu odpowiedzi hemocytarnej i humoralnej. Inwazja pasożyta odpowiada więc za zaburzenie syntezy „białek odpornościowych” w ciele tłuszczowym [Gliński i Jarosz 1984], spadek aktywności bakteriologicznej lizozymu aż do jej całkowitego zaniku, a także za obniżenie aktywności fagocytarnej [Gliński i Jarosz 1988]. Zmiany te narastają kaskadowo wraz z postępem inwazji i usposabiają do rozwoju posocznic bakteryjnych, zakażeń wirusowych i grzybic, co prowadzi do masowego padania pszczół w rodzinach porażonych przez *Varroa destructor*.

W hemolimfie robotnic porażonych *Varroa destructor* obniża się aktywność aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaninowej. Zaobserwowane zaburzenia w poziomie białka całkowitego i aktywności enzymatycznej mają charakter przejściowy. Ustępują bowiem z chwilą pozbycia się pasożyta i przystąpienia pszczół do samodzielnego pobierania pokarmu [Sokół 2003]. Inwazja pasożyta obniża też znamienne aktywność oksydazy fenolowej, dehydrogenazy glukozy, oksydazy glukozy w hemolimfie pszczół. Te enzymy są związane z odpornością owadów [Yang i Cox-Foster 2005].

Varroa destructor powoduje deplecję białek hemolimfy [Tewarson 1983], niszczy drobnocząsteczkowe białka hemolimfy. Następstwem osłabienia humoralnych i komórkowych odczynów obronnych pszczoły przez pasożytujące roztocza jest indukcja latentnych zakażeń wirusowych [Ball 1983, 1985], rozwój posocznic bakteryjnych i grzybic [Kauko i Gliński 1994], a także indukcja zakażeń przenoszonych przez pasożytujące roztocze [Gliński i Jarosz 1992].

STRES HODOWLANY

Jednym z czynników stresogennych są nieodpowiednie warunki hodowli oraz zmiany zachodzące w biologii rodziny związane z porą roku. Niepokojenie pszczół, gwałtowne zmiany temperatury, zaburzenia w dopływie pożytków do rodziny znajdują swoje odbicie w zaburzeniu odporności przeciwwzakaźnej. Chociaż zimujące robotnice pszczoły miodnej dysponują sprawnym układem odporności reprezentowanym przez komórkowe oraz humoralne, wrodzone i nabyte mechanizmy obronne, to jednak nasilenie ich odporności przeciwwzakaźnej ocenione na podstawie nasilenia działania ochronnego (protekcji) jest mniejsze niż u pszczół robotnic przed i po zimowaniu [Pliszczyński i in. 2005]. Te zaburzenia mogą być jedną z przyczyn padania zimujących rodzin na skutek infekcji bakteryjnych i wirusowych.

IMMUNOSTYMULACJA

Immunostymulacja polega na zmianie reaktywności układu immunologicznego w kierunku nasilenia odporności. Działaniem immunostymulującym u owadów cechuje się wiele substancji pochodzenia naturalnego oraz związków chemicznych. Jednak obserwacje poczynione na kręgowcach, zwłaszcza na ludziach, nad efektami profilaktycz-

nymi i leczniczymi oraz mechanizmami działania preparatów wpływających na układ odpornościowy na poziomie komórek i układów sygnalizacyjnych układu odpornościowego, a także na poziomie molekularnym nie mogą być bezkrytycznie przenoszone na pszczołę miodną. Trudno wyjaśnić mechanizm ich działania i porównać go z mechanizmem działania na organizm kręgowców, mimo że często uzyskuje się identyczne efekty końcowe, np. zwiększenie aktywności fagocytarnej lub wzrost aktywności bakteriolitycznej typu lizozymu.

Obecnie stosowane u owadów immunomodulatory nie pozwalają w zasadzie na selektywne pobudzenie lub hamowanie aktywności określonych składowych odporności owada. Z reguły ich wpływ na układ odpornościowy jest wieloraki i jego efektem jest zwiększenie nasilenia odporności.

Mechanizm pobudzenia hemocytarnych odczynów obronnych owadów przez immunostymulatory nie jest dokładnie poznany. Można tylko przypuszczać, że wpływają one na jedną lub na obydwie znane kaskady przenoszenia sygnałów, Toll i Imd, i w sposób pośredni dochodzi do zwiększonej aktywności immunocytów, czego skutkiem jest wzrost indeksu fagocytarnego.

Elementy podobne do κB kręgowców znaleziono w genach aktywowanych w zakażonych owadach oraz w genach cekropin oraz dipterycyn [Hultmark 1993, Zheng i in. 2005] i okazały się one niezbędne do aktywacji transkrypcji. DIF zostaje przetransportowany do komórek ciała tłuszczowego i po przedostaniu się do jądra komórkowego rozpoznaje sekwencję paromotorową GGGRAYYYYY (G – guanina, R – puryna, A – alanina, Y – pirymidyna), rozpoczynając transkrypcję genu lizozymu i prawdopodobnie też cekropin. Natomiast szlak sygnałowy Imd (IMD – Relish), który jest niezbędny do obrony owada przed bakteriami Gram-ujemnymi, kontroluje indukcję ekspresji takich przeciwbakteryjnych peptydów, jak attacyny, cekropiny, defensyny i prawdopodobnie apidycyny. Translokacja z cytoplazmy do jądra komórki białka Relish, należącego do czynników transkrypcji NF- κB , jest kluczem w przypadku immunostymulacji na drodze IMD–Relish.

Polipeptydy i białka odpornościowe pszczołowatych, które są warunkiem istnienia humoralnej naturalnej (lizozym) i nabytej (apidycyny) odporności cechują się różnorodnością. Jednakże efekt ich działania jest w zasadzie dwupłaszczyznowy: zahamuje wzrost, względnie działa bójczo. Aktywacja immunologiczna, w wyniku której następuje hipersynteza lizozymu, synteza *de novo* apidycyn, abycyny i hymenoptecyny u pszczoły miodnej obejmuje współdziałanie hemocytów z komórkami produkującymi polipeptydy i białka odpornościowe, głównie z komórkami ciała tłuszczowego oraz regulację tych mechanizmów na poziomie komórkowym przy użyciu białek sygnałowych, jakimi są hemokiny oraz na poziomie subkomórkowym – na etapie transkrypcji. Hemokiny, będące odpowiednikami cytokin kręgowców, biorą udział w większości procesów biologicznych w organizmie owadów.

Działanie stymulujące i modulujące odporność może mieć związek z ich wpływem na indukcję ekspresji genów odpornościowych, będących pod kontrolą szlaku sygnalizacyjnego Toll i szlaku Imd, najprawdopodobniej na etapie transkrypcji. Efektem tego działania było zwiększenie syntezy lizozymu i apidycyn oraz ich uwalniania do hemolimfy. W związku z tym, głównym miejscem działania wielu immunostymulatorów jest ciało tłuszczowe (*fat body*) jako centralny narząd syntezy polipeptydów i białek odpornościowych owadów.

Immunostymulatory pochodzenia naturalnego

Ostatnio, zarówno w medycynie ludzkiej, jak i w medycynie weterynaryjnej, coraz więcej uwagi poświęca się produktom pochodzenia naturalnego wykorzystywanym jako leki lub preparaty wspomagające leczenie chemioterapeutykami i antybiotykami. Terapia przy użyciu ziół lub wyciągów roślinnych, określana coraz powszechniej jako fitomedycyna, jest uznawana nie tylko za leczenie uzupełniające, ale w niektórych chorobach za leczenie podstawowe [Jonas 1997]. Największe znaczenie jako immunostymulatorom przypisuje się wyciągom z żeń-szenia oraz z jeżówki, zwłaszcza z jeżówki purpurowej (*Echinacea purpura*) [Block i Mead 2003, Patwardhan i Gautam 2005].

Spośród całej gamy znanych i powszechnie stosowanych stymulatorów i modulatorów odporności wykorzystywanych u człowieka i zwierząt gospodarskich, tylko nieliczne wykorzystywano w badaniu u pszczoły miodnej [Gliński i Chmielewski 1996a, b, Buczek 1998, Gliński i in. 2001, 2002, Gliński 2001]. Spośród preparatów roślinnych badano furanokumaryny roślinnego pochodzenia i wyciągi z jeżówki [Chełmiński 2007], zaś spośród syntetycznych związków o charakterze immunostymulatorów – lewamizol, klotrimazol i pochodne imidazolu [Gliński i Chmielewski 1996a, b] oraz niektóre leki [Grzegorzczak 1996], a z preparatów zwierzęcego pochodzenia – chitozan [Gliński i in. 2000].

Immunostymulatory próbowano też wykorzystać do zmniejszenia niepożądanych skutków stosowania warroacydów w zwalczaniu inwazji *Varroa destructor* [Grzegorzczak 1966, Sokół 2003]. W przypadku supresyjnego ich wpływu wydaje się konieczne i w pełni uzasadnione stosowanie w leczonych rodzinach immunostymulatorów pochodzenia naturalnego [Gliński i Jarosz 1991].

Spośród immunostymulatorów pochodzenia naturalnego w apipatologii uwagę zwróciły wyciągi roślinne zawierające furanokumaryny, wyciągi z jeżówki purpurowej i chitozan.

Wyciąg z arcydzięgla lekarskiego (*Archangelica officinalis* Hoffm.) otrzymany metodą ekstrakcji nadkrytycznej zawiera takie furanokumaryny, jak: bergapten, imperatoryna, ksantotoksyna. Ten wyciąg stymulował w warunkach eksperymentalnych zarówno naturalną, jak i indukowaną odpowiedź komórkową i humoralną pszczoły [Gliński i Wolski 1996].

Wyciąg z jeżówki purpurowej jest produktem naturalnym otrzymanym z korzenia i ziela *Echinacea purpurea* (Asteraceae). Działanie wyciągu jeżówki jest związane z obecnością wielu substancji czynnych. Wśród nich najważniejsze znaczenie odgrywa: kwas kawowy i jego pochodne, takie jak: kwas cychorynowy, echinakozyd, kwas chlorogenowy i izochlorogenowy, werbaskozyd i cynaryna, frakcje polisacharydów (heteroksylanów i arabinorannogalakтанów) oraz frakcje alkamidów (głównie izobutyloamidyn) [Brauer 1995, Block i Mead 2003]. U zwierząt laboratoryjnych oraz u człowieka wyciągi z jeżówki zwiększają aktywność makrofagów, pobudzają komórki NK aktywne w cytotoksyczności naturalnej i cytotoksyczności zależnej od przeciwciał. Silnie wzrasta indeks fagocytarny. Frakcja polisacharydów aktywuje fagocytozę i uwalnianie czynnika martwicy guza α (TNF- α) oraz aktywuje produkcję interleukin (IL1, IL6 i IL10). Składniki olejku eterycznego i flawonoidy zawarte w wyciągu jeżówki działają przeciwzapalnie [Barrett 2003].

Te właściwości immunostymulacyjne wyciągu z jeżówki na organizm człowieka, szczególnie jego silny wpływ na odpowiedź komórkową, zainicjowały badania nad możliwością wykorzystania go jako immunostymulatora u pszczoł miodnych, także w rodzinach zimujących. Wyciąg z jeżówki cechował się działaniem immunostymulującym, a także immunomodulującym na odporność zimujących robotnic z rodzin eksponowanych

na ich działanie. Na silne działanie stymulujące odpowiedź komórkowa wskazuje wzrost wartości indeksu fagocytarnego, zaś o działaniu na składową humoralną odpowiedzi immunologicznej świadczy wzrost aktywności bakteriologicznej typu lizozymu. W komórkowych odczynach obronnych uczestniczą immunocyty, a najważniejszym mechanizmem oczyszczania jamy ciała z zarazków u owadów jest fagocytoza. Odczyny komórkowe zaczynają działać natychmiast po rozpoznaniu patogenu jako „obcego” dla organizmu owada, zaś ich skuteczność jest duża [Oleś-Bizoń 2006].

Chitozan jest polimerem N-acetyloglukozaminy, częściowo pozbawionym grupy acetylowej. Jest produktem naturalnym otrzymanym z zewnętrznego szkieletu chitynowego skorupiaków i ślimaków [Shepherd i in. 1997]. Badania Glińskiego i in. [2000, 2001] u pszczoły miodnej oraz Swobody-Danilkiewicz [2003] u trzmiela ziemnego (*Bombus terrestris*) wykazały po raz pierwszy działanie chitozanu jako stymulatora komórkowych i humoralnych mechanizmów odporności tych owadów. Zwiększał on u pszczół robotnic aktywność bakteriologiczną typu lizozymu w hemolimfie, odsetek hemocytów hemolimfy aktywnych w procesie fagocytozy i liczbę bakterii pochłanianych przez jeden fagocyt. Tylko w niewielkim stopniu wpływał na poziom apidycyn. Zastosowany w rodzinach chorych na grzybicę otorbielakową zwiększał wartość liczby Wrighta u robotnic o 50% w porównaniu z robotnicami z rodzin nieleczonych, powodował też wzrost wartości indeksu fagocytarnego z 1,2 (kontrola) do 1,6 (komórek/fagocyt) [Gliński i in. 2000]. U *Bombus terrestris* stymulował wzrost odsetka plazmatocytów i granulocytów, a także zwiększał poziom apidycyny u owadów zakażonych do jamy ciała żywą hodowlą *E. coli* D31. Indukował też hipersyntezę lizozymu i jego uwalnianie do hemolimfy.

Ze względu na naturalne pochodzenie chitozanu i wyciągu z jeżówki purpurowej oraz dużą skuteczność pobudzenia układu odpornościowego pszczoły miodnej przez małe dawki tych preparatów, zastosowanie w rodzinie pszczelej nie spowoduje skażenia produktów pszczelich, a tym samym nie będzie wg wymagań Unii Europejskiej uznane za szkodliwe i niebezpieczne dla zdrowia człowieka. Z tego względu postuluje się zastosowanie ich jako immunostymulatorów w rodzinach zdrowych oraz jako modulatorów odporności przeciwwzakaźnej w rodzinach zakażonych.

Immunostymulatory syntetyczne

Znane jest działanie immunostymulujące klotrimazolu na organizm pszczoły miodnej i trzmiela [Grzegorzczak 1996, Swoboda-Danilkiewicz 2003]. Klotrimazol, indukując w ciele tłuszczowym pszczół robotnic (*Apis mellifera* L.) i gąsienic barciaka większego (*Galleria mellonella*) hipersyntezę lizozymu i jego sekrecję do hemolimfy, pełni rolę stymulatora naturalnej odporności humoralnej tych owadów [Buczek 1998]. U pszczoły miodnej pod jego wpływem zwiększała się wartość indeksu fagocytarnego. Klotrimazol zwiększał nasilenie odpowiedzi hemocytarnej i humoralnej robotnic *Bombus terrestris* pobudzonych immunologicznie, a także po jego stosowaniu obserwowano silny wzrost działania ochronnego na zakażenie zjadliwym szczepem *Pseudomonas aeruginosa* [Swoboda-Danilkiewicz 2003]. Klotrimazol w dawkach dających dobre efekty w terapii grzybicy otorbielakowej czerwia pszczoły miodnej wywierał działanie stymulujące u pszczół robotnic. Zwiększał wartość indeksu fagocytarnego oraz aktywność bakteriologiczną typu lizozymu w hemolimfie [Gliński i Chmielewski 1996a, b]. Indukował on też u robotnic nieimmunizowanych pojawienie się w hemolimfie apidycyn podczas 24–48 godz. obserwacji. Poziom tych polipeptydów odpornościowych był jednak niski i wyno-

sił maksymalnie $4,0 \pm 0,3$ $\mu\text{g/ml}$. To działanie można tłumaczyć albo efektem zwiększenia przepuszczalności ściany jelita owada dla bakterii saprofitycznych, które po przedostaniu się do jamy ciała spełniają rolę induktora apidycyn, albo bezpośrednim wpływem klotrimazolu na syntezę mRNA w ciele tłuszczowym. Na korzyść ostatniej z wymienionych właściwości przemawia wzrost poziomu lizozymu w hemolimfie w tym samym przedziale czasowym. U owadów zakażonych (immunizowanych) klotrimazol zwiększając poziom apidycyn i aktywność lizozymu działał jako modulator odporności nabytej, co znajduje też potwierdzenie w działaniu ochronnym. Klotrimazol, ze względu na możliwość zanieczyszczenia produktów spożywczych pochodzących z rodzin pszczoelich eksponowanych na ten preparat, zgodnie z zaleceniem Unii Europejskiej nie może być stosowany u pszczoły miodnej.

Lewamizol (S)-2,3,5,6-tetrahydro-6-fenylimidazol[2,1-b]tiazol), należący do grupy imidazolotiazoli, jest lekiem przeciwpasożytniczym i immunostymulatorem zalecanym w zakażeniach bakteryjnych, wirusowych, chorobie reumatoidalnej, a także pomocniczo w chorobie nowotworowej u człowieka i zwierząt. Aktywuje zdolność do fagocytozy i mechanizmów cytotoksycznych.

Dotychczas prowadzono tylko nieliczne badania nad przydatnością lewamizolu jako preparatu wpływającego na stan układu odpornościowego pszczoły miodnej [Sokół 2003]. Wywiera on działanie immunostymulujące na mechanizmy odporności hemocytarnej w rodzinach porażonych inwazją *Varroa destructor*. To działanie, jeżeli się uwzględni, że w efekcie warrozy rozwijają się też często wtórne infekcje wirusowe i bakteryjne, odgrywa ważną rolę w profilaktyce zdrowia rodziny porażonej przez *Varroa destructor*. Lewamizol jest jednak słabszym immunostymulatorem aniżeli modulatorem odporności nabytej, reprezentowanej przez apidycyny.

PIŚMIENNICTWO

- Ball B.V. 1983. Der Zusammenhang zwischen *Varroa jacobsoni* und Viruserkrankungen der Hohigbiene. Allg. Deutsche Imker. 17, 177.
- Ball B.V. 1985. Acute paralysis virus isolated from honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. J. Apicult. Res. 24, 115.
- Barrett B. Medical properties of *Echinacea*: A critical review. Phytomedicine 10, 66, 2003.
- Block K.I., Mead M.N. 2003. Immune system effects of *Echinacea*, *Ginseng*, and *Astragalus*: A review. Integrative Cancer Therapy 2, 247.
- Brauer R. Analytic und Standardisierung von *Echinacea* haltigen Phyto-Pharmaka. Pharmazie in unserer Zeit 24, 93, 1995
- Buczek K. 1998. Badania nad przydatnością Klotrimazolu jako leku w grzybicy otorbielakowej i immunostymulatora pszczoły miodnej. Rozprawa dokt., Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie.
- Chełmiński M. 2007. Badania nad modulacją odporności przeciwbakteryjnej robotnic pszczoły miodnej, *Apis mellifera* L. przy użyciu immunomodulatorów biologicznych i syntetycznych. Rozprawa dokt., Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie.
- Gliński Z. 2001. Problemy immunotoksykologii, [w:] Immunologia weterynaryjna. Wybrane zagadnienia, A.K. Siwicki, W. Deptuła. (red.) Wyd. Edycja Olsztyn 49–53.

- Gliński Z., Buczek K., Luft-Deptuła D., Stark J.A. 2003. Immunotoxic action of heavy metals polluting the environment on the honey bee, *Apis mellifera* L. Final Programme and Book of Abstracts. XXXVIIIth Apimondia International Apicultural Conference, Ljubljana, Slovenia, August 24–29, 232–233.
- Gliński Z., Chmielewski M. 1996a. Imidazole derivatives in control of the honey bee brood mycoses. *Pszczelnicze Zesz. Nauk.* 40, 165.
- Gliński Z., Chmielewski M. 1996b. Immunomodulujące działanie pochodnych imidazolowych na organizm *Apis mellifera* L. XXXIII Naukowa Konferencja Pszczelarska, Puławy 12–13 marca, 26–27
- Gliński Z., Chmielewski M., Kauko L. 2000. Chitosan a potent natural immunostimulator of insect immune system. The Ist European Scientific Apicultural Conference, Puławy, September 5–8, 74–75.
- Gliński Z., Chmielewski M., Swoboda M. 2001. Immunostymulacja i immunosupresja a występowanie i przebieg grzybicy otorbielakowej czerwia pszczoły miodnej, *Apis mellifera* L. Materiały XXXVIII Nauk. Konf. Pszczelarskiej, Puławy 29–30
- Gliński Z., Chmielewski M., Swoboda-Mazurek M. 2002. Wykorzystanie profilu immunologicznego do oceny efektów immunomodulacyjnych leków stosowanych w leczeniu chorób pszczół. Materiały XXXIX Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy 12–13 marca 2–53
- Gliński Z., Grzegorzczak K. 1995a. Hemolymph proteins of the honeybee (*Apis mellifera* L.) from apiaries differing by the level of pollution with heavy metals. *Ann. UMCS, sec. DD*, 50, 241.
- Gliński Z., Grzegorzczak K. 1995b. Apidaecins and lysozyme in the honeybee (*Apis mellifera* L.) from environment non-heavily contaminated with heavy metals. *Ann. UMCS, sec. DD*, 50, 139.
- Gliński Z., Jarosz J. 1984. Alterations in haemolymph proteins of drone honey bee larvae parasitized by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 15, 329.
- Gliński Z., Jarosz J. 1988. Deleterious effects of *Varroa jacobsoni* on the honey bee. *Apiacta* 23, 42.
- Gliński Z., Jarosz J. 1999. Antibacterial immune response and biological control of agricultural insect pests. *Ann. UMCS, sec. DD*, 54, 187.
- Gliński Z., Jarosz J. 1991. Sterowanie układem obronnym owadów. *Medycyna Wet.* 47, 442.
- Gliński Z., Jarosz J. 1992. *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. *Apidologie* 23, 25.
- Gliński Z., Kauko L. 2000. Problems of immunosuppression and immunotoxicology in respect to the honey bee protection against microbial and parasitic invaders. *Apiacta* 35, 65.
- Gliński Z., Kostro K. 2001. Key stones in insect immunity. *Cent. Eur. J. Immunol.* 26, 43.
- Gliński Z., Wolski T. 1996. Complexes of plant furanocoumarins useful in therapy of chalkbrood disease of the honey bee. *Umbelliferae Improvement Newsletters* 6, 28.
- Grzegorzczak K. 1996. Badania nad działaniem immunomodulującym chemioterapeutyków zalecanych w zwalczaniu warrozy (Apiwarol AS, Fluwarol) i w terapii grzybicy otorbielakowej (klotrimazol) na modelu *Apis mellifera* i *Galeria mellonella*. Rozprawa dokt., Wydział Farmacji AM w Lublinie.
- Hultmark D. 1993. Immune reactions in *Drosophila* and other insects: a model for innate immunity. *Trends Genet.* 9, 178.
- Jonas W.B. 1997. Alternative medicine. *J. Pharm. Pract.* 45, 32.
- Kauko L., Gliński Z. 1994. *Hafnia alvei* – bakterin aiheutamma septicemia mehilaisissa. *Suomen Finsk Veterinartidskrift* 5, 314.
- Kauko L., Gliński Z., Buczek K. 1996. *Enterococcus faecalis* – tartunta mehiläisellä. *Suomen Eläinlaak.* 102, 266.

- Oleś-Bizoń K. 2006. Badania na wpływie chitozanu i wyciągu z jeżówki na wartość indeksu fagocytarnego, aktywność bakteriolityczną lizozymu, poziom apidocyn i działanie ochronne u zimujących pszczoł robotnic (*Apis mellifera* L. *Apidae*). Rozprawa dokt., Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie.
- Papadopoulou-Karabela K., Iliadis N., Liakos V., Burdzy-Hatzopoulou E. 1992. Experimental infection of honeybees by *Pseudomonas aeruginosa*. *Apidologie* 23, 293.
- Patwardhan B., Gautam M. 2005. Botanical immunodrugs: scope and opportunities. *Drug Discovery Today* 10, 495.
- Pliszczyński M., Luft-Deptuła D., Bizon K. 2005. Monitorowanie odporności zimujących robotnic pszczoły miodnej, *Apis mellifera* L (*Apidae*) w oparciu o test działania ochronnego. *Ann. UMCS, sec. DD*, 61, 173.
- Sammataro D. 1997. Report on parasitic honey bee mites and disease associations. *Amer. Bee J.* 137, 301.
- Shepherd R., Reader S., Falshaw A. 1997. Chitozan functional properties. *Glycoconj. J.* 14, 535.
- Sokół R. 2003. Wpływ lewamisolu na wybrane wskaźniki immunologiczne i biochemiczne hemolimfy robotnic i trutni *Apis mellifera* z rodzin dotkniętych inwazją *Varroa destructor*. Wyd. Uniw. Warmińsko-Mazurskiego. Rozprawy i monografie, 74, Olsztyn.
- Swoboda-Danilkiewicz M. 2003. Badania nad opracowaniem metody stymulacji odporności robotnic *Bombus terrestris* (*Apidae*). Rozprawa dokt. Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie.
- Tewarson N.C. 1983. Nutrition and reproduction in the ectoparasitic honey bee (Apis mite) *Varroa jacobsoni*. Rozprawa dokt. Eberhardt-Karls-Universität, Tübingen.
- Yang X., Cox-Foster D.L. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral infection. *PNAS* 102, 74709.
- Zheng I., Zhang I., Lin H., McIntosh M.T., Malacrida A.R. 2005. Toll-like receptors in invertebrate innate immunity. *ISJ* 2, 105.

Summary. This article considers the problem of immunosuppression and its control in the honey bee, describing immunostimulatory compounds claimed to have positive effects and evaluating their role in enhancing immune capability. The review further discusses their use as alternative strategies and approaches to diseases control. The immune system has an important role in the homeostasis of the honey bee body including the control of infections and parasite invasions. The stressors such as invasion of *Varroa destructor* and environment pollution often disturb the functions of the immune system. There is a growing need to control, prevent or minimize the devastating effects of immunosuppressant and diseases in bees without recourse to toxic chemicals or antibiotic. In the European Community the use of drugs and chemicals that may contaminate honey, pollen, propolis and royal jelly is completely prohibited. Therefore, interest is developing in compounds that confer protection and enhance immune reactivity. The agents currently under scrutiny for bees include chitosan, purple coneflower (*Echinaceae purpurea*) extract, furanocoumarins, klotramisole and levamisole. All of them are endogenous mediators in the bee body with strong regulatory effects on the immune system of the honey bee.

Key words: honey bee, immunostimulation, chitosan, purple coneflower extract, furanocoumarins, klotramisole, levamisole