فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۹، جلد ۵، شماره ۴، پائیز ۹۱، صفحه ۴۳ تا ۴۸

بررسی اثر پروبیوتیک بومی لاکتوباسیلوس برویس در افزایش وزن و پاسخ ایمنی در جوجه‌های گوشتی واکسینه شده با واکسن بیماری بورس فابریسیوس عفونی

نفیسه مقصودی[۱]، **سید داوود حسینی**[۲]، پروانه جعفری[۳]، سید رضا حسینی دوست[۴]، مریم تاج آبادی ابراهیمی[۵]، پریسا توسلی[۶]، محمد خانی[۷]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی، تهران، دانشکده علوم وفناوری‌های نوین، کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، تهران. ایران.
۲- عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، اراک. ایران hosseinida@yahoo.com.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک. دانشکده علوم پایه، استادیار گروه میکروبیولوژی، اراک. ایران.
٤- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی، تهران، دانشکده علوم وفناوری‌های نوین، استادیار گروه میکروبیولوژی، تهران. ایران.
۵ - دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشکده علوم پایه، استادیار گروه زیست شناسی، تهران. ایران.
٦- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک ،کارشناس میکروبیولوژی،اراک.ایران.
۷- کارشناس بهداشت و مواد غذایی با منشاء دامی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، اراک.

تاریخ دریافت:۹۱/۷/۲٦ تاریخ پذیرش:۹۱/۸/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: میکروفلور روده نقش بسیار مهمی در حفظ تعادل و توازن پاسخ ایمنی در برابر عوامل عفونت‌زا ایفا می‌کند. پروبیوتیک‌ها نیز همانند میکروفلور با تأثیر بر روی سیستم ایمنی، مقاومت موجود را نسبت به انواع میکروراگانیسم‌های بیماری‌زا افزایش می‌دهند. هدف از این مطالعه بررسی اثر پروبیوتیک حاوی لاکتو باسیلوس‌برویس جدا شده از ترخینه، بر القائ پاسخ آنتی‌بادی در جوجه‌های واکسینه شده با واکسن ویروس بورس فابریسیوس عفونی و تأثیر آن بر وزن جوجه‌ها می‌باشد.

روش کار: جوجه‌های گوشتی یک روزه نژاد Cobb۵۰۰ به صورت تصادفی به ۳ گروه کنترل بدون واکسن، کنترل با واکسن و گروه آزمون دریافت کننده واکسن به همراه پروبیوتیک (۱میلی لیتر با غلظت ۱×۱۰^{۹} cfu/ ml) بود. واکسن به صورت خوراکی در روزهای ۱۷ و ۲٦ به جوجه‌ها داده شد. هر هفته با خون‌گیری، میزان آنتی‌بادی علیه ویروس بورس فابریسیوس عفونی موجود در خون با روش الایزا تعیین گردید. میزان افزایش وزن جوجه‌ها نیز به صورت هفتگی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج حاصله نشان داد که در ابتدا تیتر اولیه آنتی‌بادی در تمامی گروه‌ها یکسان بود و تا روز ۲۵ به تدریج به صورت معنی‌داری کاهش می‌یافت. کاهش تیتر آنتی‌بادی در گروه‌های ۲ و ۳ بیشتر بوده و اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل داشت. در گروه ۱، کاهش تیتر آنتی‌بادی تا روز ۳۲ ادامه داشت در حالی که در گروه‌های ۲ و ۳، تیتر افزایش یافت. در روز ۳۲ در گروه دریافت کننده پروبیوتیک، تیتر آنتی‌بادی بالاتر از گروه کنترل منفی بود ولی اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دریافت کننده واکسن نداشت.

نتیجه‌گیری: اندازه‌گیری وزن جوجه‌ها در طی دوره آزمایش نشان داد که استفاده از پروبیوتیک به صورت معنی‌داری با افزایش وزن، سبب بهبود تولید می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، ویروس بورس‌فابریسیوس، آنتی‌بادی، سیستم ایمنی.

مقدمه

مقاومت باکتریایی و خطر انتقال این مقاومت توسط تولیدات صنعت طیور به انسان‌ها، سبب جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با پروبیوتیک و یا ترکیبات سینبیوتیک شد(۱۴،۱۲).

از سال ۱۹۷۳ پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیلوس به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک درمانی مورد استفاده قرار گرفتند(۷). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی از میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات مفیدی را بر روی میزبان اعمال می‌کنند و باعث بهبود ضریب تبدیل

www.SID.ir

غذایی وافزایش وزن می‌شوند(۱۵). این امکان وجود دارد که پروبیوتیک‌ها از طریق کلونیزه شدن در دستگاه گوارش باعث پیشگیری از ابتلا به بیماری در جوجه‌ها شوند(۳). این تاثیر از طریق فعال‌سازی سلول‌ها و پاسخ ایمنی با افزایش مکانیسم‌های دفاعی درونی و تنظیم سیستم ایمنی مخاطی صورت می‌پذیرد(۵). تحقیقات نشان داده که پروبیوتیک‌ها می‌توانند در بهبود پاسخ‌های ایمنی در برابر بیماری‌های آنفولانزا و بورس فابریسیوس عفونی مؤثر باشند(۴) و هم چنین باعث تحریک تولید آنتی‌بادی طبیعی می‌شوند(۹). مطالعات متعدد در انسان و حیوان، منجر به ارزیابی توانایی پروبیوتیک‌ها در تغییر نوع وتعداد میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش شده است(۱۲). به علاوه پروبیوتیک‌ها به طور معنی‌داری باعث کاهش ضریب تبدیل غذا و افزایش بازدهی تولید در صنایع دامپروری می گردد (۱۶، ۲). لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم جنس‌های بسیار متداول به عنوان پروبیوتیک هستند و لازم به ذکر است که سوش‌های مختلف باکتریایی، کارایی متفاوتی نیز دارند(۱). مصرف خوراکی لاکتوباسیلوس‌ها توانایی ادجوانی نیرومندی را اعمال می کند که مسؤل افزایش پاسخ‌های ایمنی میزبان است(۴). در مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک بومی بر پایه لاکتوباسیلوس برویس بر میزان پاسخ آنتی‌بادی و وزن، در جوجه‌های واکسینه شده با بورس فابریسیوس عفونی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

هدف از این آزمایش بررسی پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی از طریق اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی بر علیه بیماری ویروسی بورس فابریسیوس عفونی و وزن جوجه‌ها هنگام استفاده از پروبیوتیک بود. برای این منظور تعداد ۱۲۰ عدد جوجه گوشتی یک روزه نژاد ۵۰۰ cobb به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. جوجه‌های گروه ۱ به عنوان گروه کنترل بدون واکسن، گروه ۲ کنترل به همراه دریافت واکسن و گروه ۳ گروه تیمار با پروبیوتیک به همراه دریافت واکسن در نظر گرفته شدند.

تیمار با پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس برویس سوش۴ TD استفاده شده در این تحقیق توسط دکتر ابراهیمی و همکاران از ترخینه جدا شده بود. این باکتری بعد از تعیین خصوصیات بیوشیمیایی و تعیین ژنوتیپ در Gene Bank با کد رهگیری GQ412732 ثبت شده است. به منظور آماده سازی باکتری برای گاواژ، ابتدا لاکتوباسیلوس برویس سویه۴TD در محیط MRS Broth در انکوباتور CO_2 دار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. پس از اتمام دوره‌ی رشد ابتدا جذب نوری محیط کشت در ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید سپس سری رقت از کشت باکتری تهیه شد و با استفاده از روش کشت سطحی، تعداد باکتری‌های زنده موجود در محیط کشت تعیین شد. هدف از این بخش گاواژ تعداد معین و ثابتی از باکتری‌ها در کل دوره آزمایش بود. هر روز کشت تازه باکتری تهیه و پس از تعیین جذب نوری، محیط کشت با دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و ۳ بار با بافر فسفات شسته شدند. رسوب سلولی حاصله با غلظت $۱۰^۹$cfu/ ml در ۰/۲ ml بافر فسفات سوسپانسون شد. جوجه‌ها از ۷ روزگی به بعد به صورت روزانه با این سوسپانسیون باکتریایی گاواژ شدند در حالی که گروه‌های دیگر همان مقدار بافر فسفات را به صورت دارونما دریافت می‌نمودند.

واکسیناسیون

به منظور تعیین زمان دقیق واکسیناسیون در ابتدای دوره از جوجه‌ها خون گیری به عمل آمد.گروه‌های ۲ و ۳ در روزهای ۱۷ و ۲۶ روزگی واکسن تجاری زنده تخفیف حدت یافته گامبورو Cevac Gumbo-L را به

Archive of SID

www.SID.ir

صورت خوراکی دریافت کردند. آماده سازی واکسن طبق دستورالعمل دامپزشکی انجام شد.

تعیین تیتر آنتی‌بادی

در ۳ روزگی از هر گروه ۲۰ جوجه به صورت تصادفی انتخاب شدند و خون‌گیری ازورید بال به منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی مادری به عمل آمد. علت انتخاب ورید بال برای خون گیری کاهش اندازه هماتوم بود. پس از آن از ۷ روزگی تا ۳۲ روزگی هر هفته خون گیری انجام و در لوله‌های آزمایش استریل ریخته شد. لوله‌ها به‌طور مایل قرار داده شدند و پس از انعقاد به‌مدت ۱ ساعت در بن ماری۳۷ درجه سانتی-گراد گرماگذاری شدند تا به طور کامل لخته شوند. بعد از جدا کردن فیبرین با سوآپ استریل، لوله‌ها برای جدا سازی سرم سانتریفوژ و سرم در میکروتیوپ‌های استریل جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند تا در زمان مناسب تیتر سرم اندازه گیری شود. در این تحقیق از کیت الایزا علیه ویروس گامبورو برای تعیین تیتر آنتی‌بادی استفاده شد.

اندازه گیری وزن

برای تعیین افزایش وزن، از هرگروه ۱۰ جوجه به صورت تصادفی انتخاب شد و به صورت هفتگی توزین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق هر آزمون ۳ بار تکرار شد و داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی و با استفاده از نرم افزار prism مورد بررسی آماری قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی تیتر آنتی‌بادی در روزهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. در۳ روزگی به منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی مادری خون‌گیری به عمل آمد. تیتر در این روز در تمامی گروه‌ها یکسان بود.در تمامی گروه‌ها تیتر تا ۱۸ روزگی به طور معنی-داری کاهش یافت($p<۰/۰۵$). این کاهش در گروهی که با پروبیوتیک تیمار شده بودند، کم‌تر بود اما معنی-دار نبود.هم چنین این کاهش تیتر تا ۲۵ روزگی ادامه داشت. یک هفته بعد از واکسیناسیون(۲۵ روزگی) تیتر در گروه‌های ۲ و ۳ به دلیل دریافت واکسن کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل بدون دریافت واکسن داشت. در همین زمان اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$)، بین گروه ۲ و ۳ در تیتر آنتی‌بادی وجود داشت و تیتر در گروهی که پروبیوتیک دریافت کرده بود بالاتر بود. در ۳۲ روزگی اختلاف معنی‌داری در تیتر آنتی‌بادی در گروه‌های ۲و ۳ وجود نداشت و تیتر آنتی‌بادی در هر دو گروه یکسان بود و هر دو گروه افزایش معنی‌داری در تیتر آنتی‌بادی در مقایسه با گروه کنترل داشتند. بنابراین پروبیوتیک لاکتوباسیلوس برویس از کاهش تیتر آنتی‌بادی در ۲۵ روزگی جلوگیری به عمل آورده است.این روند تیتر آنتی‌بادی در نمودار ۱ نشان داده شده است.

افزایش وزن جوجه‌ها

نتایج حاصله از افزایش وزن جوجه‌ها در جدول ۲ نمایش داده شده است. میزان وزن موش‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. وزن در تمامی گروه‌ها در ۱ روزگی یکسان است. در ۸ روزگی بین گروه تیمار با پروبیوتیک و گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. از ۱۵ روزگی تا پایان ۴۳ روزگی وزن در گروه ۳ به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل بیشتر است. به عبارت دیگر با مصرف پروبیوتیک میزان وزن به طور معنی داری در جوجه‌ها افزایش پیدا کرده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین و انحراف از معیار تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری گامبورو درجوجه‌های آلوده در تیمارهای مختلف

	تیتر آنتی بادی (U/ml)				
گروه‌ها	**روز ۳**	**روز ۱۱**	**روز ۱۸**	**روز ۲۵**	**روز ۳۲**
کنترل بدون واکسن	۵۲۵۷±۱۶۹/۶	۴۱۰۲±۲۴۶/۶	۲۳۵۱±۱۲۶	۱۴۲۸±۱۶۲/۶	۸۸۴/۶±۹۰/۴۴
کنترل با واکسن	۵۲۵۷±۱۶۹/۶	۴۱۰۲±۲۴۶/۶	۲۳۵۱±۱۲۶	۶۴۰/۷±۵۵/۳۸	۳۲۳۶±۲۵۱/۵
پروبیوتیک با واکسن	۵۲۵۷±۱۶۹/۶	۴۶۱۴±۱۱۱/۲	۲۳۶۴±۱۴۵/۲	۹۹۳/۶±۲۰/۵۰	۳۰۰۶±۵۸/۱۰

جدول ۲ - میانگین و انحراف از معیار وزن جوجه‌ها در تیمار های مختلف

گروه ها روز	کنترل بدون واکسن	کنترل با واکسن	پروبیوتیک با واکسن
۱	۴۸/۱۵ ±۰/۳۷	۴۸/۱۵ ±۰/۳۷	۴۸/۱۵ ±۰/۳۷
۸	۱۰۵/۴±۶/۵۹	۱۰۵/۴±۶/۵۹	۱۱۰/۶±۴/۶
۱۵	۲۲۶/۸±۲/۳۹	۲۲۶/۸±۲/۳۹	۲۵۱/۲±۴/۵۴
۲۲	۳۴۵/۶±۱۳/۲۴	۳۴۵/۶±۱۳/۲۴	۴۶۰/۶±۱۵/۲۷
۲۹	۵۶۸/۴±۳۰/۷۸	۵۶۸/۴±۳۰/۷۸	۷۳۸/۴±۳۱/۱۷
۳۶	۹۰۰/۲±۵۱/۹۸	۹۰۰/۲±۵۱/۹۸	۱۰۹۶±۴۰/۶۴
۴۳	۱۳۷۸ ±۵۸/۵۹	۱۳۷۸ ±۵۸/۵۹	۱۷۵۴ ±۱۳/۴۹

بحث و نتیجه گیری

افت تیتر آنتی‌بادی در هر سه گروه از روز ۳ تا ۲۵ مشاهده شد. در گروه کنترل همراه با واکسن، افت تیتر آنتی‌بادی در ۲۵ روزگی به طور معنی‌داری بیشتر است. به همین دلیل جوجه‌ها در این روز به ویروس حساس‌تر هستند. در روز ۲۵ افت تیتر آنتی‌بادی در گروهی که پروبیوتیک را همراه واکسن دریافت کرده است(گروه ۳) به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$)کمتر از گروه ۲ است. بنابر این می‌توان گفت لاکتوباسیلوس برویس از کاهش تیتر آنتی‌بادی ممانعت کرده است و اگر به جوجه‌ها پروبیوتیک بدهیم، تیتر آنتی‌بادی افت در جوجه‌ها می‌شود. بنابراین پروبیوتیک‌ها می‌توانند تقویت سیستم ایمنی را به هنگام واکسیناسیون داشته شدیدی نخواهد داشت. گروه ۳ و ۱ در روز ۲۵ اختلاف معنی داری ندارند. اما گروه ۲ و ۱ اختلاف معنی‌داری دارند و تیتر در گروه کنترل بدون واکسن بیشتر است. گروه۲ به دلیل دریافت واکسن، یک هفته بعد از واکسیناسیون افت تیتر دارند. در ۳۲ روزگی در گروهی که واکسن دریافت نکرده‌اند، تیتر به طور طبیعی کاهش پیدا می‌کند. اما در دو گروه ۲و ۳ تیتر در این روز افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. گروه ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری در تیتر آنتی‌بادی ندارند. بیشترین کاربرد پروبیوتیک در ۱۶ تا ۲۸ روزگی است که در این دوره پروبیوتیک باعث دوام تیتر آنتی‌بادی باشند. نتایج به‌دست آمده از این آزمایش با مطالعات انجام شده توسط گیل در سال ۲۰۰۰ مطابقت

www.SID.ir

داشت(۸). در سال ۲۰۰۶ حقیقی و همکاران دریافتند که با تیمار پروبیوتیکی در جوجه‌ها میزان تیتر آنتی‌بادی مخاطی و سرمی در برابر توکسوئید تتانوس افزایش می‌یابد(۹). در پایان ۳۲ روزگی تفاوت معنی-داری بین گروه تیمار و گروه کنترل دریافت کننده واکسن نداشت اما هر دو این گروه‌ها با گروه کنترل بدون واکسن تفاوت معنی‌داری داشتند. گزارش شده که مصرف خوراکی سوش‌های لاکتوباسیل‌ها به صورت معنی‌داری باعث افزایش میزان IgG می‌شود(۱۱). مکانیسم دقیق تعدیل ایمنی با استفاده از پروبیوتیک‌ها هنوز به طور کامل شرح داده نشده است اما ممکن است سلول‌های متفاوتی را در سیستم تحریک کنند(۱۱، ۵). پروبیوتیک‌ها هم چنین می‌توانند پاسخ‌های ایمنی سیستمیک را به برخی از آنتی‌ژن‌ها در جوجه‌ها افزایش دهند و تولید آنتی‌بادی‌های طبیعی را تحریک کنند(۹). مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها میزان سایتوکاین‌ها را در سرم افزایش می‌دهند. تأثیر پروبیوتیک‌ها روی سیستم ایمنی در برخورد با آنتی‌ژن‌های مختلف متفاوت است. به طوری که لاکتوباسیلوس سالیواریوس که از دستگاه گوارش طیور جدا شده است پاسخ‌های آنتی‌بادی را بر علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی افزایش می‌دهد در حالی که لاکتوباسیلوس روتری بومی طیور اثری بر روی تیتر آنتی‌بادی در برابر گلبول‌های قرمز گوسفندی ندارد. استفاده از لاکتوباسیلوس به صورت خوراکی در جوجه‌ها باعث بهبود پاسخ‌های ایمنی در برابر واکسیناسیون بیماری بورس عفونی گردید. چیزی که اهمیت دارد این است که با استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی می‌توان سیستم ایمنی را بهبود بخشید و این مهم اثبات شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند ایمنی موکوسی را افزایش داده و از اتصال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ممانعت به عمل آورند. در این مطالعه علاوه بر بررسی اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس برویس بر روی سیستم ایمنی جوجه‌ها، اثر آن بر روی وزن جوجه‌ها نیز مطالعه شد. میزان وزن در جدول۲ نشان داده شده است و این نتیجه به دست آمد که با مصرف پروبیوتیک‌ها وزن جوجه‌ها به‌طور معنی داری افزایش پیدا می‌کند. این یافته با مطالعات انجام شده توسط ایرانگ در سال ۲۰۰۰ و کامپرچتوا در سال ۲۰۰۰ تفاوت داشت(۱۰، ۶). در این تحقیقات گزارش شد که پروبیوتیک‌ها تاثیری روی عملکرد جوجه‌های گوشتی ندارند. اما نتایج به دست آمده در تحقیقات لن در سال ۲۰۰۳ و احمد در سال ۲۰۰۴ گزارش شد که پروبیوتیک‌ها باعث بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی می‌شوند(۱۳، ۲). میزان اثر بخشی پروبیوتیک‌ها در افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی صرف نظر از نوع و سوش میکروارگانیسم به تعداد باکتری‌های مصرف شده و زمان مصرف بستگی دارد. در جوجه‌های یک روزه که سریعاً بعد از بیرون آمدن از تخم با پروبیوتیک‌ها تیمار می‌شوند، علاوه بر بهبود فلور دستگاه گوارش میزان وزن‌گیری در هر هفته بیشتر است. همان‌طور که مشاهده شد در گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک علاوه بر افزایش وزن در مقایسه با گروه کنترل، در گروه تیمار وزن هر هفته با هفته قبل متفاوت و به صورت معنی‌داری در حال افزایش است. می‌توان گفت استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند جایگزین مناسبی برای ترکیبات و آنتی‌بیوتیک‌هایی باشند که برای بهبود عملکرد و افزایش وزن طیور استفاده می‌شوند(۱۵).

منابع

Archive of SID

www.SID.ir

1.AFRC, R.F. (1989). Probiotics in man and animals. Journal of Applied Microbiology, 66(5); 365-378.
2.Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science, 5(6); 593-597.
3.Angelakis, E, Raoult, D. (2010). The increase of *Lactobacillus* species in the gut flora of newborn broiler chicks and ducks is associated with weight gain. PloS one, 5(5); e10463.
4.Brisbin, J.T. (2011). Oral treatment of chickens with *Lactobacilli* influences elicitation of immuneresponses. Clinical and Vaccine Immunology, 18(9); 1447-1455.
5.Dalloul, R. (2003). Enhanced mucosal immunity against Eimeria acervulina in broilers fed a *Lactobacillus*-based probiotic. Poultry Science, 82(1); 62-66.
6.Ergün, A., Yalcin, S., Sacakli, P. (2000). The usage of probiotic and zinc bacitracin in broiler rations. Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 47(3); 271-280**.**
7.Ghafoor, A. (2005). Immunomodulatory effects of multistrain probiotics (protexin™) on broiler chicken vaccinated against avian influenza virus (H9). International Journal of Poultry Science, 4(10); 777-780
8.Gill, H.S.(2000). Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). British Journal of Nutrition, 83(02); 167-176.
9.Haghighi, H.R. (2006). Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. Clinical and Vaccine Immunology, 13(9); 975-980.
10. Kumprechtová, D., Zobač, P., Kumprecht, I. (2000). The effect of *Saccharomyces cerevisiae* Sc47 on chicken broiler performance and nitrogen output. Czech Journal of Animal Science, 45(4); 169-177.
11. Maassen, C. (2000). Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered< i> Lactobacillus</i> strains. Vaccine, 18(23); 2613-2623.
12. Midilli, M. (2008). Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. South African Journal of Animal Science, 38(1): p. 21-27.
13. Ngoc Lan, P.T., Binh, L.T., Benno, Y.(2003). Impact of two probiotic *Lactobacillus strains* feeding on fecal *Lactobacilli* and weight gains in chicken. The journal of general and applied microbiology, 49(1); 29-36.
14. Patterson, J., Burkholder, K. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry Science, 82(4); 627-631.
15. Talebi, A.(2008). Effects of a multi-strain probiotic (Prima Lac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broilerchickens. Avian Pathology, 37(5); 509-512**.**
16. Zulkifli, I. (2000). Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. British Poultry Science, 41(5); 593-597.

.
.

Archive of SID

www.SID.ir