مقایسه تأثیر افزودن آلفامیون و بیومین به جیره غذایی بر پاسخ ایمنی در برابر واکسن کشته آنفلوانزای پرندگان تحت تیپ H_9N_2 در جوجه‌های گوشتی

منصور میاحی[۱]، مسعودرضا صیفی‌آبادشاپوری[۲]، مهدی پورمهدی‌بروجنی[۳] و امین بهزادی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۳۰

خلاصه

به منظور مطالعه تاثیر افزودن آلفامیون و بیومین بر پاسخ ایمنی پرندگان به واکسن کشته آنفلوانزا، سیصد قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند و هر گروه به ۳ زیر گروه ۲۵ قطعه‌ای تقسیم شد. جوجه‌های گروه یک جیره پایه، جوجه‌های گروه ۲ آلفامیون به نسبت ۰/۵ کیلو در تن، جوجه‌های گروه ۳ بیومین به نسبت یک کیلو در تن و جوجه‌های گروه ۴ نیز جیره پایه دریافت کردند. جوجه‌های گروه ۲، ۳ و ۴ در روز نهم با واکسن آنفلوانزا تحت تیپ H_9N_2 به روش زیر جلد پشت گردن واکسینه شدند ولی گروه ۱ واکسن دریافت نکردند. در روزهای صفر (قبل از واکسیناسیون)، ۲۰ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون از هر گروه ۱۵ جوجه به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از ورید بال آنها به عمل آمد. سرم خون جدا شده به میکروتیوب منتقل و تا هنگام آزمایش در فریزر نگهداری شد. عیار پادتن ضد ویروس آنفلوانزا به روش جلوگیری از هماگلوتیناسیون و با ۴ واحد (HA) از آنتی‌ژن آنفلوانزا اندازه‌گیری شد. نتایج مطالعه نشان داد، اگر چه ۳۵ روز بعد از واکسیناسیون میانگین عیار پادتن سرم خون جوجه‌های گروه دریافت کننده بیومین (۳/۹۲) از گروه دریافت کننده آلفامیون (۳/۸۵) بیشتر می‌باشد ولی تفاوت معنی‌دار با جوجه‌های کنترل واکسینه ندارد. بنابراین می‌توان گفت، افزودن آلفامیون یا بیومین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیری بر پاسخ ایمنی پرنده در برابر واکسن کشته آنفلوانزا ندارد.

کلمات کلیدی: آلفامیون، بیومین، جوجه گوشتی، پاسخ ایمنی، H_9N_2

مقدمه

بیماری آنفلوانزای طیور توسط ویروس آنفلوانزای تیپ A ایجاد می‌گردد. این ویروس از خانواده ارتومیکسوویریده، واجد ژنوم قطعه‌ای با پولاریته منفی است. این تیپ از ویروس در انسان و دیگر پستانداران نیز ایجاد بیماری می‌کند (اوحدی‌نیا، ۱۳۷۹). ویروس آنفلوانزا تحت تیپ و H_9N_2 جدا شده از ایران که ۲۵۹/۱۹۹۸/ایران/ماکیان/A نام‌گذاری شده است، جزء ویروس‌های کم حدت طبقه‌بندی می‌گردد، در حال حاضر در اکثر مناطق ایران شایع است (میاحی، ۱۳۸۶، وصفی‌مرندی و بزرگمهری‌فرد، ۱۳۷۷). بیماری آنفلوانزا، بسیار واگیر و دستگاه‌های تنفس، گوارش، تولید مثل و اعصاب را درگیر می‌کند و در ماکیان و بوقلمون میزان ابتلا و مرگ میر بالا می‌باشد. مخزن عمده این ویروس‌ها، پرندگان وحشی می‌باشند و این پرندگان به عنوان منبع ویروس برای سایر گونه‌ها شامل انسان، پستانداران و پرندگان می‌باشند و از نظر بهداشتی برای انسان مخاطرات فراوانی را به ارمغان می‌آورد (اوحدی‌نیا، ۱۳۷۹). بعد از واگیری اولیه آنفلوانزا تحت تیپ H_9N_2 در کشور،

[۱] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۲] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۴] دانش‌آموخته دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
E-mail: m_mayahi@yahoo.com (نویسنده مسئول)

Archive of SID
www.SID.ir

واکسیناسیون به عنوان یک راهکار جهت کنترل بیماری مطرح و مورد استفاده قرار گرفت. واکسن کشته عیار پادتن بالایی تولید نمی‌کند و به نظر می‌رسد عدم تحریک اولیه سیستم ایمنی توسط واکسن زنده علت اصلی پایین بودن عیار پادتن باشد. میزان عیار پادتن سرم خون ویژه آنفلوانزا با میزان محافظت در برابر این بیماری ارتباط مستقیمی دارد و به این دلیل دانشمندان با استفاده از مواد تقویت کننده سیستم ایمنی همراه با واکسن سعی در افزایش عیار پادتن ضد ویروس دارند (گاوزن درونکلا، ۱۳۸۷). اگر بتوان از ترکیباتی استفاده نمود که باعث افزایش پاسخ ایمنی به واکسیناسیون شوند با ایجاد عیار بیشتر بر ضد بیماری آنفلوانزا می‌توان گامی در جهت پیشگیری مؤثرتر این بیماری برداشت.

آلفامیون عصاره‌ای از *ساکارومیسس سرویسیه* می‌باشد و باعث بهبود عملکرد و کارایی سیستم ایمنی حیوانات می‌شود. این ماده ترکیبی از گلوکان و الیگوساکارید مانان است. گلوکان موجود در آلفامیون به وسیله آنزیم گلوکاناز شکسته نمی‌شود و غیرقابل هضم می‌باشد. این ماده به ماکروفاژهای فعال شده که سیتوکین‌ها را ترشح می‌کنند، متصل می‌شود و با کمک به تحریک و افزایش ماکروفاژهای بافتی و نیز فعال کردن لنفوسیت‌های B و T موجب ارتقاء ایمنی اختصاصی می‌شود. الیگوساکاریدمانان، با افزایش مقاومت روده حیوانات در برابر عوامل بیماری‌زا، دارای اثرات تقویت کننده رشد قابل توجه می‌باشد، که این کار را از طریق مهار کلونیزه شدن پاتوژن‌های روده‌ای، با جلوگیری از چسبیدن باکتری‌ها به سطح داخل روده، افزایش سطح ایمنی، افزایش موسین سد لایه مسواکی، یکپارچه ساختن سطح پوشش روده و کاهش میزان جایگزینی انتروسیت‌ها، انجام می‌دهند. این خصوصیات باعث تقویت رشد می‌شوند و موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش توانایی زنده ماندن جوجه‌های گوشتی، بوقلمون‌ها و افزایش تولید تخم مرغ نیز می‌شوند (Bolu et al., 2009b, Bolu et al., 2009b, Mohamad et al., 2008).

بیومین محتوی پروبیوتیک *انتروکوکوس فاسیوم*[1] و پریبیوتیک فروکتوالیگوساکاریدها و ذرات تحریک کننده سیستم ایمنی است، که از جلبک‌های دریایی استخراج شده و مشابه ذرات دیواره سلولی عمل می‌نمایند (Akinleye et al., 2008, Awad et al., 2008). هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر افزودن این ترکیبات بر پاسخ ایمنی پرنده در برابر واکسن کشته آنفلوانزا بود.

مواد وروش کار

طرح آزمایش

سیصد قطعه جوجه گوشتی مخلوط یک روزه سویه راس خریداری و به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند، هر گروه به ۳ زیر گروه ۲۵ قطعه‌ای تقسیم شد. جوجه‌های گروه یک جیره پایه، جوجه‌های گروه ۲ آلفامیون به نسبت ۰/۵ کیلو در تن، جوجه‌های گروه ۳ بیومین به نسبت یک کیلو در تن و جوجه‌های گروه ۴ نیز جیره پایه دریافت کردند. جوجه‌های گروه ۲، ۳ و ۴ در روز نهم با واکسن کشته آنفلوانزا تحت تیپ H_9N_2 به روش زیر جلد پشت گردن واکسینه شدند. گروه ۱ به عنوان شاهد واکسن دریافت نکردند (جدول ۱). در روزهای صفر (قبل از واکسیناسیون)، ۲۰ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون از هر گروه ۱۵ جوجه به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از ورید بال آنها به عمل آمد. خون‌گیری در نوبت اول، با استفاده از سرنگ انسولین و در ادامه با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری و از طریق ورید بال انجام شد. سرم نمونه‌های خون، جهت انجام آزمایش (HI)، تا هنگام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شد. عیار پادتن در برابر واکسن کشته آنفلوانزا با به روش جلوگیری از هماگلوتیناسیون (HI) و با ۴ واحد (HA) اندازه‌گیری شد.

1- *Enterococcus facium*

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون به روش بتا

ابتدا سرم‌ها از فریزر خارج گردیده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس در ۱۰ ستون هر پلیت ۹۶ خانه ته گرد، ۵۰ میکرولیتر PBS ریخته شد. سپس به اولین حفره از هر ستون ۵۰ میکرولیتر سرم اضافه شد و به خوبی مخلوط گردید، بعد با انتقال ۵۰ میکرولیتر از حفره اول به حفره دوم و تکرار آن تا حفره هشتم، رقت‌های متوالی ۱/۲ و ۱/۴ و ۱/۸ و . . . از سرم حاصل شد. در ضمن ۵۰ میکرولیتر از حفره هشتم دور ریخته شد. سپس از هر حفره ۲۵ میکرولیتر به یک پلیت ۹۶ خانه‌ای دیگر منتقل شد. به این ترتیب در ۱۰ ستون از پلیت دوم ۲۵ میکرولیتر سرم رقیق شده ریخته شد و در ستون ۱۱ و ۱۲ نیز ۲۵ میکرلیتر PBS ریخته شد. در هر پلیت، حفرات ستون‌های ۱۱ و ۱۲ به ترتیب به عنوان شاهد ویروس و شاهد گلبول قرمز در نظر گرفته شدند. به تمامی ۱۱ ستون اول ۲۵ میکرولیتر از پادگن که حاوی ۴ واحد HA ویروس آنفلوانزا بود اضافه شد. برای بالا بردن ضریب اطمینان، برای هر سرم، ۲ بار آزمایش HI انجام گرفت. پلیت‌ها با پارافیلم پوشانده و به مدت۲۰ دقیقه در دمای محیط (حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد) گذاشته شدند، تا پادگن با پادتن احتمالی واکنش نشان دهد. سپس ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۰/۵ درصد گلبول قرمز ماکیان به تمامی حفرات اضافه و مجدداً پلیت با پارافیلم پوشانده شده و بعد از حدود ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط (حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد)، در صورت ته نشین شدن گلبول قرمز در حفره شاهد گلبول قرمز، نتیجه آزمایش قرائت گردید، در غیر این صورت هر ۱۰ دقیقه حفره شاهد گلبول قرمز، بررسی می‌شد. بالاترین رقت سرمی که ته نشین شدن مشخص گلبول قرمز را نشان می‌داد، به عنوان عیار HI هر نمونه در نظر گرفته شد (Thayer and Beard, 1998).

تجزیه و تحلیل آماری

استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ داده‌ها به طور توصیفی و تحلیلی بررسی گردید. به منظور مقایسه عیار HI در گروه‌های مختلف تحت بررسی از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی استفاده گردید و α=۰/۰۵ مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید.

نتایج

عیار سرمی پادتن ضد واکسن آنفلوانزا با روش HI

میانگین عیار پادتن ویژه آنفلوانزا در مراحل مختلف خونگیری از جوجه‌های گروه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ در جدول ۱ نشان داده شده است. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد میانگین عیار پادتن سرم میان گروه‌های تحت مطالعه در روز صفر واکسیناسیون تفاوت معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵). مقایسه میانگین عیار پادتن سرم خون، ۲۰ روز بعد از واکسیناسیون نشان داد تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها وجود دارد (P<۰/۰۰۱). در جوجه‌های گروه ۲، ۳ و ۴ افزایش میانگین عیار پادتن سرم خون برخلاف گروه ۱ رویت گردید و گروه کنترل منفی با گروه کنترل مثبت، آلفامیون و بیومین تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) اما تفاوت معنی‌داری میان گروه کنترل مثبت با آلفامیون و یا بیومین و همچنین بین گروه‌های دریافت کننده آلفامیون و بیومین دیده نشد (P>۰/۰۵). مقایسه میانگین عیار پادتن سرم خون در روز ۳۵ بعد از واکسیناسیون نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها وجود دارد (P<۰/۰۰۱). در تمام گروه‌ها کاهش میانگین عیار پادتن سرم خون مشاهده گردید و گروه کنترل منفی با گروه کنترل مثبت، آلفامیون و بیومین تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) اما تفاوت معنی‌داری میان گروه کنترل مثبت با آلفامیون و یا بیومین و همچنین بین آلفامیون و بیومین دیده نشد (P>۰/۰۵). عیار پادتن سرم خون در جوجه‌های گروه ۲ و ۳ و ۴ بعد از واکسیناسیون روند افزایشی را نشان داد و ۲۰ روز بعد از واکسیناسیون

Archive of SID

www.SID.ir

بالاترین عیار پادتن در هر سه گروه مشاهده گردید. در گروه کنترل مثبت عیار پادتن روز صفر با روزهای ۲۰ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون و بین ۲۰ با ۳۵ بعد از واکسیناسیون تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱). در گروه بیومین و آلفامیون عیار پادتن روز صفر با روزهای ۲۰ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) اما تفاوت بین روز ۲۰ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۱: تأثیر آلفامیون و بیومین بر میانگین و خطای عیار پادتن (HI) برضد واکسن آنفلوانزای کشته پرندگان به روش HI در جوجه‌های گوشتی

گروه	سن جوجه به روز		
	۸	۲۸	۴۳
	زمان خونگیری		
	۰	۲۰	۳۵
کنترل منفی	^{a}۲/۱۳±۰/۴۴	^{a}۰/۴۵±۰/۰۹	^{a}۰
آلفامیون	^{a}۲/۱۴±۰/۵	^{b}۴/۳۸±۰/۱۷	^{b}۳/۸۵±۰/۱۷
بیومین	^{a}۲/۲±۰/۴۹	^{b}۴/۵±۰/۲	^{b}۳/۹۲±۰/۱۶
کنترل مثبت	^{a}۲/۱۲±۰/۴۴	^{b}۴/۵۷±۰/۱۴	^{b}۳/۷۳±۰/۱۶

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۰۱).

بحث

برای کنترل بیماری آنفلوانزای پرندگان تحت تیپ H_9N_2 از واکسن‌های کشته استفاده می‌شود و این واکسن‌ها به علت عدم تحریک مناسب سیستم ایمنی، عیار پادتن بالایی تولید نمی‌کنند، بنابراین محققین تلاش می‌کنند با استفاده از مواد تقویت کننده سیستم ایمنی، پاسخ ایمنی را در برابر واکسن تقویت، و در نتیجه عیار پادتن بیشتری در سرم خون پرنده واکسینه ایجاد کنند.

مطالعه حاضر نشان داد میانگین عیار پادتن در جوجه‌های گروه کنترل منفی، روند کاهشی داشته است و در ۴۳ روزگی آزمایش HI قادر به تعیین میزان باقیمانده پادتن مادری نبوده است، بنابراین می‌توان گفت ویروس آنفلوانزا در جوجه‌های مورد مطالعه در گردش نبوده است. در سایر گروه‌ها میانگین عیار پادتن بعد از واکسیناسیون به طور معنی‌داری افزایش یافت که نشان دهنده تحریک سیستم ایمنی جوجه‌ها و مؤثر واقع شدن واکسیناسیون است. میانگین عیار پادتن سرم خون ۲۰ روز بعد از واکسیناسیون در جوجه‌های دریافت کننده آلفامیون، بیومین و کنترل مثبت افزایش یافت ولی میزان آن، در روز ۳۵ بعد از واکسیناسیون کاهش پیدا کرد اما تفاوت معنی‌داری میان گروه کنترل مثبت با آلفامیون و یا بیومین و همچنین بین آلفامیون و بیومین دیده نشد (P>۰/۰۵). در مورد تأثیر بیومین بر پاسخ ایمنی مطالعاتی انجام شده است که نتایج آنها با مطالعه حاضر همخوانی دارد. امانی در سال ۱۳۸۸ اثرات تحریک کنندگی بیومین، بر ایمنی هومورال ناشی از واکسیناسیون بر ضد بیماری نیوکاسل در طیور گوشتی سویه راس ۳۰۸ را مطالعه کرد و گزارش نمود استفاده از بیومین در جیره غذایی بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در برابر واکسن زنده نیوکاسل تأثیر ندارد. Akinleye و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر اضافه کردن بیومین به جیره غذایی را به عنوان یک محرک رشد طبیعی بر عملکرد، هماتولوژی و کیفیت لاشه ماکیان گوشتی مطالعه کردند و گزارش نمودند مصرف بیومین بر عملکرد، هماتولوژی، کیفیت لاشه و وزن اندام ماکیان گوشتی تأثیر ندارد ولی باعث کاهش میزان تلفات می‌شود. وکیلی در سال ۱۳۸۹ تأثیر بیومین بر پاسخ ایمنی در برابر واکسن آنفلوانزای تحت تیپ H_9N_2 را در جوجه‌های گوشتی مطالعه کرد و به این نتیجه رسید که اضافه کردن بیومین به میزان یک یا دو کیلو در تن جیره غذایی ماکیان گوشتی تأثیری در برابر واکسن کشته آنفلوانزای پرندگان ندارد.

در مورد تأثیر آلفامیون بر پاسخ ایمنی در ایران مطالعه‌ای در دسترس نیست ولی در سایر کشورها مطالعات بسیار محدودی انجام شده است. Devegowda, 2003 و Shashidhara تأثیر الیگوساکارید مانان، بر

www.SID.ir
Archive of SID

ویژگی‌های تولیدی و ایمنی مرغ مادر گوشتی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که الیگو ساکارید مانان، عیار IgM و IgG را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

Janardhana و همکاران (۲۰۰۹) اثرات تحریک‌کنندگی پربیوتیک اولیگوساکاریدمانان و فروکتو اولیگوساکارید بر اعمال سلول‌های ایمنی بافت‌های لنفوئیدی وابسته به دستگاه گوارش (GALT) جوجه‌های گوشتی سویه کاب را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند فروکتوالیگوساکارید (FOS) و مانوزاولیگوساکاریدها (MOS) تأثیری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارند. Wojcik (۲۰۱۰) تاثیر عصاره *ساکارومایسس سرویسیه*، بر برخی پارامترها و ایمنی هومورال و ایمنی سلولی در بره‌ها مطالعه کردند و گزارش نمودند که بر ایمنی هومورال و سلولی تاثیر ندارد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. Bolu و همکاران (۲۰۰۹a) تأثیر مقادیر مختلف آلفامیون، بر عملکرد، شیمی خون و بافت دستگاه گوارش در جوجه‌های گوشتی را مطالعه نمودند و نتیجه گرفتند بر عملکرد گله تاثیر مثبت دارد و مورفولوژی بافت را تغییر می‌دهد ولی بر شیمی خون و شاخص‌های سرم بی‌تأثیر است. به نظر می‌رسد بر خلاف توصیه شرکت‌های تولید کننده، این ترکیبات در ماکیان گوشتی قادر به تحریک سیستم ایمنی به میزان کافی نیستند که احتمال دارد ناشی از ناکافی بودن ترکیبات محرک ایمنی، کوتاه بودن عمر پرنده گوشتی، فلور میکروبی روده، نوع ترکیبات جیره و سایر عوامل ناشناخته باشد.

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزودن آلفامیون یا بیومین به جیره غذایی ماکیان گوشتی احتمالاً تأثیر چندانی بر پاسخ ایمنی هومورال پرنده در برابر واکسن کشته آنفلوانزا ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی می‌باشد. نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین هزینه این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

امانی امیر (۱۳۸۸). بررسی اثرات تحریک کنندگی سین بیوتیک بیومین ایمبو بر ایمنی هومورال ناشی از واکسیناسیون بر علیه بیماری نیوکاسل در طیور گوشتی سویه راس ۳۰۸، پایان‌نامه شماره ۱۰۶۵، دکتری عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه. صفحه ۳۵.

اوحدی‌نیا حسن (۱۳۷۹). بیماری آنفلوانزای مرغی، انتشارات علم و قلم، تهران، صفحات ۴۱-۳.

گاوزن‌درونکلا حکیمه (۱۳۸۷). تأثیر اکیناسه بر تولید پادتن بر ضد واکسن آنفلوانزای طیور A تحت تیپ (H_9N_2). پایان‌نامه دکتری عمومی از دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۸۷۵۸۶۰۱، صفحات ۲۳-۵.

میاحی منصور (۱۳۸۶). بیماری‌های ویروسی پرندگان، چاپ اول، انتشارات دانشگاه شهید چمران، صفحات ۳۸-۲۷.

وصفی‌مرندی مهدی و بزرگمهری‌فر محمدحسن (۱۳۷۷). عفونت‌های ناشی از ویرس‌های آنفلونزا در طیور، دام‌ها و انسان، مجله چکاوک، دوره هفتم شماره یک، صفحات ۵۰-۲۷.

Archive of SID

www.SID.ir

وکیلی نسرین (۱۳۸۹). مطالعه تأثیر بیومین بر پاسخ ایمنی در برابر واکسن کشته آنفلوانزای تحت تیپ H9N2 در جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۸۹۵۸۷۶۴ . صفحه ۴۶.

Akinleye S.B., Iyayi E.A. and Afolabi K.D. (2008). The performance, haematology and carcass traits of broilers as affected by diets supplemented with or without biomin a natural growth promoter. World Journal of Agricultural Sciences, (4): 467-470.

Awad W., Ghareeb K. and Böhm J. (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbioticcontaining *Enterococcus faecium* and oligosaccharides. International Journal of Molecular Sciences, 9(11): 2205–2216.

Bolu S.A., Ojo V., Oluyemi O., Babawale O.I. and Awodele O.A. (2009a). Effect of graded level of alphamune G on performance,blood chemistry and histology of cockerel chicks. International Journal of Poultry Science, 8(4): 397-400.

Bolu S.A., Ojo V., Oyeleke B.A., Ajiboye A.O., Baa Sambo A. and Oluyemi O. (2009b). Response of broiler chicks to graded levels of alphamune G supplementation. International Journal of Poultry Science, 8(1): 32-34.

Janardhana V., Broadway M.M., Bruce P.M., Lowenthal W.J., Geier S.M., Hunghes J.R. et al. (2009). Prebiotics modulate immune responses in the Gut-Associated Lymphoid Tissue of chickens. The Journal of Nutrition,139: 1404–1409.

Mohamad M.A., Hassan H.M.A. and El-Barkouky E.M.A. (2008). Effect of mannan oligosaccharide on performance and carcass characteristics of broiler chicks. Journal of Agriculture and Social Sciences, P:1813-2235.

Shashidhara R.G. and Devegowda G. (2003). Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. Poultry Sciences, 82:1319–25.

Thayer S.G. and Beard C.W. (1998). Serological procedures. In: Swayne, D.E., Glisson, J.R., Jackwood, M. W., Pearson, J. E. and Reed, W.M. (Eds). A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 4th edition. American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania, PP: 255-266.

Wojcik R. (2010). Effect of brewers yeast (*saccharomyces cerevisiae*) extract on selected parameters of humoral and cellular immunity in lambs. Bulletin of Veterinary Institute Pulawy, 54: 181-187.

Archive of SID

www.SID.ir