تأثير الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في الإستجابة المناعية لأفراخ اللحم المخمجة بجرثومة *Listeria monocytogenes*

فارس عبدعلي العبيدي* بان صاحب الناصري** وشهرزاد محمد الشديدي***

* مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي العراقي / جامعة بغداد. ** كلية الطب البيطري- جامعة بغداد- العراق

*** مركز احياء التراث العلمي العربي / جامعة بغداد

تأريخ القبول 1/6/2009

الخلاصة

هدف البحث تحديد تأثير الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في تحفيز الإستجابة المناعية لأفراخ اللحم المخمجة بجرثومة *Listeria monocytogenes* ، أعطي الجدار الخلوي بتركيز 30gm/ 100kg من العلف، وزع 30 فرخاً على 3 معاملات (10 طير / معاملة) وهي:

T_1: مجموعة سيطرة مغذاة على الجدار الخلوي للخميرة مع العلف وخالية من أي إصابة.

T_2: مجموعة أفراخ غذيت على 30 غم / 100 كغم من الجدار الخلوي للخميرة وجرعت بجراثيم *Listeria monocytogenes* (1×10^9 خلية / مل) وبجرعة مقدارها 0.1 مل / طير فموياً. T_3: مجموعة أفراخ جرعت بجراثيم *Listeria monocytogenes* (1×10^9 خلية / مل) وبجرعة مقدارها 0.1 مل / طير فموياً. ودرست بعض المؤشرات المناعية المتمثلة بنسبة كاما- كلوبيولين، ونسبة الخلايا المتغايرة الى الخلايا اللمفية واختبار الانتشار المناعي في الهلام Single diffusion وفحص الحساسية المتأخر المتمثل بتفاعل الدلايات والصفاق الآجل. مع فحوصات الدم (نسبة بروتين الترانسفرين ونسبة الألبومين). وقد بينت النتائج أن استخدام الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ساعد في حدوث الإستجابة المناعية (الخلوية والخلطية) من خلال الزيادة في أعداد الخلايا اللمفاوية مع انخفاض نسبة الخلايا المتغايرة فضلاً عن ملاحظة نتائج إيجابية لتثخن الدلايات والصفاق مع زيادة نسبة كل من الكاما – كلوبيولين والألبومين بالمقارنة مع المجموعة المخمجة (T_3)

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

Saccharomyces cerevisiae Cell wall Effects on Immunological Response Of Broiler Chicks that Infected with *Listeria monocytogenes*

***Faris A. Al- Obaidi **Al- Nassery, Ban S. Abdul- Nabi and ***Shahrazad M. Al- Shididi**

*** Iraq Natural History Research Center & Museum / University of Baghdad.**

**** Veterinary Medicine . / University of Baghdad.**

***** Arab Scientific Heritage Revival Center . / University of Baghdad.**

Summary

The objects of this study were to determine the effect of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall (SCCW) to induce immunological response of Broiler chicks that infected with *Listeria monocytogenes* . SCCW was administrated to chicks by adding 30 gm / 100 kg feed. A 30 broiler chicks were distributed into 3 treatments (10 chicks/ treatment) which were:
T_1 **:** control group for both experiment fed on (SCCW). T_2 : chicks fed 30 gm / 100 kg feed (SCCW) and experimentally infected orally by *Listeria monocytogenes* 0.1 ml of 1×10^9 CFU /ml. T_3 : chicks were experimentally infected orally by *Listeria monocytogenes* 0.1 ml of 1×10^9 CFU /ml. and study some immunological parameter includes the concentration of σ- globulin, albumin, transfferin, H/L ratio, single diffusion test, delayed hypersensitivity reaction (DWR). The result obtained revealed that using (SCCW).increased immune response (cellular and humeral immunity) through increased of lymphocyte and decreased H/L ratio and positive reaction of delayed hypersensitivity also increase the percentage of σ- globulin, albumin compared with infected group (T_3).

المقدمة

تعد خميرة *Saccharomyces cerevisiae* من أكثر انواع الخمائر إستعمالاً كمعزز حيوي (Probiotic) لتحفيز الاداء الانتاجي للحيوانات الحقلية حيث تؤدي هذه الخميرة دوراً مهماً في احداث التوازن في حيز داخل المضيف (1). أشارت (2) إلى ان استخدام خميرة *Saccharomyces cerevisiae* قد أسهم في تعزيز الأداء الصحي وبعض المؤشرات الفسلجية وخفض الهلاكات.

واستطاعت (3) من تحضير مرادف حيوي من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* مكون من الجدار الخلوي مع الخلايا الحية للخميرة وأبدى كفاءة عالية في تقليل شدة إصابة أفراخ اللحم بجرثومة *Salmonella typhimurium* وإن استعمال هذا المرادف الحيوي من شأنه ان يقلل من الإصابة التجريبية بجرثومة *Salmonella typhimurium* لأفراخ اللحم عند الاعمار المبكرة (4) ، ان جدار خميرة *Saccharomyces cerevisiae* يتكون من وحدات متعددة من سكري المانان والكلوكان β(6-1) Mannan and Glucans , β(4-1) وان التراكيز القليلة من هذه السكريات تعمل على غلق مواقع ارتباط البكتريا المرضية مع الخلايا الظهارية للأمعاء عن طريق ارتباطها معها وطرحها خارج الجسم قبل ان تتأيض هذه السكريات وينتج عنها تأثير جيد بتنظيف الأمعاء ومنع التحطم المستمر لزغابات الأمعاء بفعل الأحياء المجهرية المرضية وسمومها، وتعد هذه السكريات محفزة للاستجابة المناعية الخلوية والخلطية(6 , 5)

لـذا يهدف البحث الحـالي الى استعمال الجـدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في تحفيز الاستجابة المناعية لأفراخ اللحم المخمجة بجرثومة Listeria monocytogenes ولأول مرة محلياً.

المواد وطرائق العمل

أجري البحث في بيت الحيوان في كلية الطب البيطري، باستعمال 30 فرخ فروج لحم بعمر 21 يوماً ووزعت على ثلاث معاملات كالآتي:

* المعاملة الأولى T_1: سيطرة سالبة غذيت على جدار الخميرة بنسبة 30 غم / 100 كغم بعمر اسبوعان واستمرت حتى نهاية التجربة.

* المعاملة الثانية T_2: غذيت على عليقة مضافاً اليها الجدار الخلوي للخميرة 30 عليقة غم / 100 كغم علف بعمر اسبوعان واستمرت حتى نهاية التجربة وجرعت 0.1 مل من العالق الجرثومي لجرثومة *Listeria monocytogenes* بجرعة 1×10^9 خلية / مل بعمر ثلاثة أسابيع.
* المعاملة الثالثة T_3: سيطرة موجبة جرعت 0.1 مل من العالق الجرثومي لجرثومة *Listeria monocytogenes* بجرعة 1×10^9 خلية / مل بعمر ثلاثة أسابيع وغذيت على علفٍ خالٍ من أي إضافة.

الأحياء المجهرية المستخدمة:

* تم الحصول على عترة جرثومة *Listeria monocytogenes* من وحدة الامراض المشتركة/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد.
* اما خميرة *Saccharomyces cerevisiae*

فتم تحضيرها من مسحات من الخميرة المنماة على علف متخمر بخميرة الخبز الجافة وزرعت على الوسط الغذائي PDA (Potato Dextrose Agar) المعقم والمتصلب وحسب طريقة (7) وبعد تشخيص الخميرة حفظت عزلات منها لغرض الحصول على الجدار الخلوى .

- جدار خميرة *Saccharomyces cerevisiae*

زرعت عزلات الخميرة على الوسط السائل Potato dextrose broth لمدة خمسة ايام وبدرجة 30ْم بعدها اجريت عملية التجميد ثم الاذابة (8) وكررت العملية لاكثر من عشرة مرات من اجل تكسير خلايا الخميرة بعدها اجريت عملية الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة واخذ الراسب وغسل بالماء المقطر ثم جرى التاكد من تكسر جميع خلايا الخميرة بالفحص تحت المجهر لبعض الشرائح المصبغة بصبغة المثيل الازرق. و للحصول على متعدد السكريات مانان – كلوكان تم تجفيف الراسب بدرجة حرارة 50ْم بالفرن كهربائي مع التقليب السريع في عملية التجفيف.

* تحضير جرعة الإصابة بجرثومة *Listeria monocytogenes* :

تم تنمية جرثومة *Listeria monocytogenes* على وسط مرق فول الصويا Tryptic soya broth وحضنت بدرجة حرارة 37ْ م لمدة 24 ساعة ثم أجري العد البكتيري لجرثومة اللستريا بطريقة Miles and Misra(1938) للحصول على تركيز جرعة التحدي 1×10^9 خلية / مل وجرعت فموياً بمقدار 0.1 مل / فرخ.

* تحضير مستضد اللستريا لاجراء الفحص الجلدي :

تم تحضيره حسب طريقة (9) وكما يلي:

زرعت الجرثومة المنشطة على مرق القلب والدماغ وحضنت بدرجة حرارة 37ْ م لمدة 24 ساعةوتم حصاد الجراثيم بمحلول الـ PBS وفصلت الجراثيم بالطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة نصف ساعة واهمل الطافي، وغسلت الخلايا بالمحلول الملحي وأضيفت كمية من الماء المقطر إلى الراسب الجرثومي وعرضت الخلايا الى التكسير بالأمواج فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة وفصلت الخلايا بالطرد المركزي المبرد بسرعة 10000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة وأخذ السائل الطافي الحاوي على المستضدات وحفظ بالتجميد وتم حساب تركيز البروتين حسب طريقة بايوريت وكان التركيز 27.3 ملغم / مل.

* فصل بروتينات مصل الدم:

فصلت بروتينات مصل الدم باستخدام منظومة Disc-gel electrophoresis المجهزة من شركة (JOOKOH Co. LTD) وعلى هلام الاكريلمايد وحسب الطريقة المقدمة من قبل الشركة المجهزة لمنظومة الفصل، واخرجت أعمدة للهلام لملاحظة حزم البروتينات التي تم مقارنتها بالبروتينات القياسية المحضرة من قبل شركة sigma Chemical واستخرجت نسبة البروتينات وكما يلي:

الحركة النسبية = المسافة التي قطعتها الحزمة البروتينية / المسافة التي قطعتها صبغة البروموفينول الزرقاء

* اختبار الانتشار المناعي في الهلام Immuno diffusion :

اعتمدت طريقة الانتشار المناعي المذكورة من قبل (10).

* فحص الدلايات والصفاق :

اجري هذا الفحص لاختبار فرط الحساسية المتأخر لأفراخ التجربة ، إذ حقنت بجرعة 0.1 ملم من مستضد اللستريا بتركيز 27.3 ملغم / مل في منطقة الدلايات والصفاق وقرأت النتائج بعد 24 و 48 ساعة باستخدام آله القياس Vernia لقياس تثخن الجلد بعد الحقن.

* نسبة الخلايا المتغايرة/اللمفية Heterophel/Lymphocyte ratio

حسبت نسبة الخلايا المتغايرة Heterophel إلى الخلايا اللمفية Lymphocyte بعد عمل الشرائح الزجاجية ثم صبغها بصبغةWright-Giemsa وفقاً لطريقة (11) وجرى عدها حسب طريقة (12) و حسبت نسبة خلايا H/L .

التحليل الأحصائي :

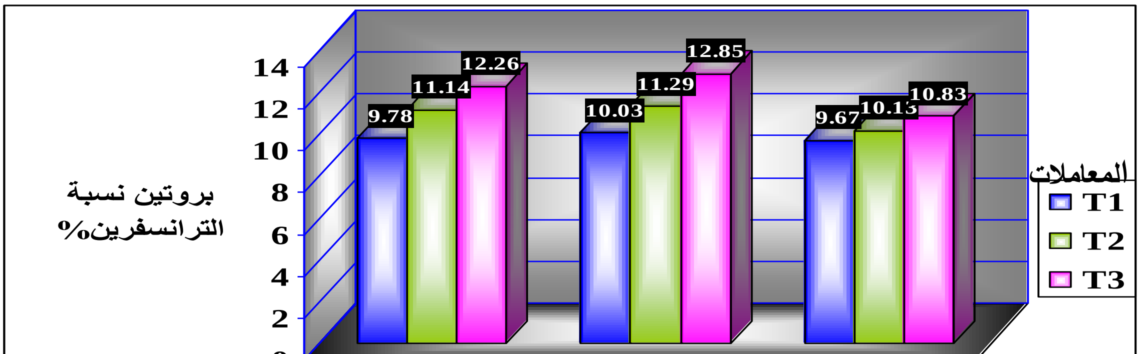
حللت البيانات وفق التحليل العشوائي الكامل (Complete Randomized Design)، وجرى مقارنة المتوسطات على وفق إختبار دنكن متعدد المديات (Duncan's multiple range test) وبإستخدام التحليل الأحصائي الجاهز (13) .

النتائج

* الاستجابة المناعية غير المتخصصة والخلوية:

* نسبة بروتين الترانسفرين:

يوضح الشكل (1) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في نسبة بروتين الترانسفرين في مصل دم افراخ المعاملات الثلاثة بعد 3 أيام من الخمج إذ كانت اعلى قيمة لافراخ المعاملة T_3 وبلغت 12.26 % تلتها المعاملة T_2 11.14 % لتسجل المعاملة T_1 اقل قيمة وبلغت 9.78 % وبعد 10 أيام من الخمج استمر التفوق المعنوي للمعاملة T3 وبلغ 12.85 % على المعاملتين T_2 و T_1 وبلغتا 11.29 و 10.03 % على التوالي وعند 21 يوم من الخمج استمر تفوق المعاملة T_3 وبفارق معنوي ($P<0.05$) عن بقية المعاملات محققة 10.83 % تلتها المعاملة T_2 مسجلة 10.13 مقارنة بالمعاملة T_1 التي بلغت اقل قيمة 9.67 % .

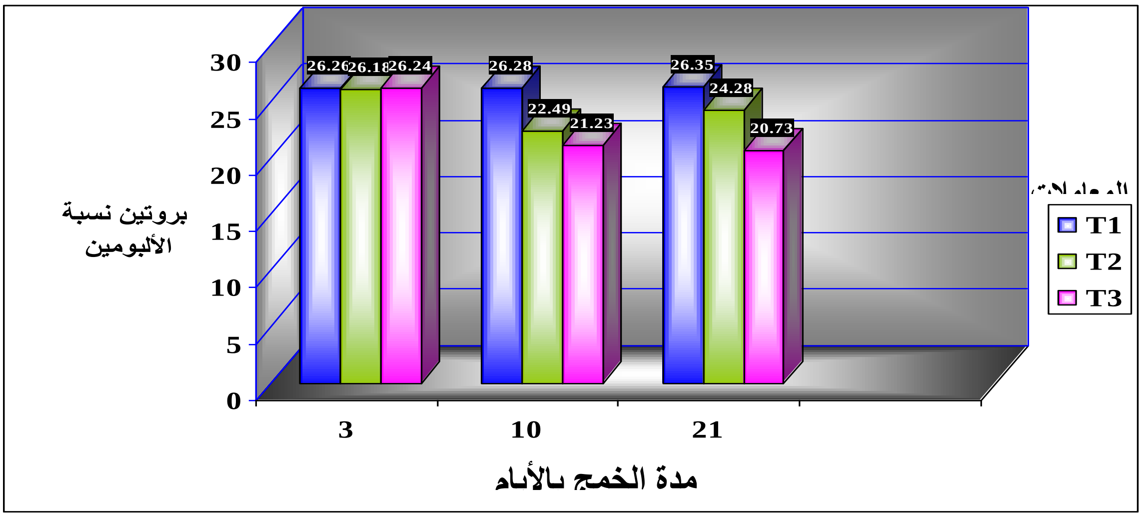


مدة الخمج بالأيام

شكل (1) تاثير اضافة الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على نسبة بروتين الترانسفرين في أفراخ اللحم المخمجة بجراثيم *Listeria monocytogenes* .

* نسبة البومين مصل الدم:

لوحظ عدم وجود فروق معنوية في نسبة البومين مصل دم افراخ المعاملات الثلاثة بعد 3 أيام من الخمج أذ كانت النسب 26.26 و 26.18 و 26.24 % على التوالي ، اما بعد 10 أيام من الاصابة فيلاحظ ظهور فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات الثلاث مع تفوق المعاملة T_1 إذ بلغت 26.28 % تلتها المعاملة T_2 وبلغت 22.49 % لتسجل المعاملة T_3 ادنى نسبة ومقدارها 21.23 % كذلك بعد 21 يوماً من الخمجاذ ظهر التفوق المعنوي للمعاملة T_1 على المعاملتين T_2 و T_3 والتي بلغت 26.35 و 24.38 و 20.73 % على التوالي شكل (2) .



شكل(2) تاثير اضافة الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على نسبة بروتين الالبومين في أفراخ اللحم المخمجة بجراثيم *Listeria monocytogenes* .

نتائج فحص التحسس المناعي المتأخر في الدلايات والصفاق:

أظهر جدول (1) النتائج التي اجريت لغرض معرفة الاستجابة المناعية الخلوية إذ ان المعدلات الحسابية في سمك التثخن لثلاثة افراخ اعطت تفاعلاً موجباً لمستضد اللستريا بالنسبة لمجموعة T_2 مقارنة بمجموعة T_3 إذ كان مقدار التثخن للدلايات 1.49 و 1.29 ملم بعد 24 ساعة من الحقن لكل من T_2 و T_3 على التوالي ثم انخفضت هذه الاقيام بعد 48 ساعة الى 1.27 و 1.22 ملم على التوالي مع بقاء تفوق T_2 على T_3 اما المعدل الحسابي لتثخن الصفاق فكان 1.79 و 1.36 ملم بعد 24 ساعة من الحقن لكل من T_2 و T_3 على

التوالي ثم انخفضت الاقيام بعد 48 ساعة الى 1.51 و 1.13 ملم على التوالي مع بقاء تفوق T_2 على T_3 مقارنة بافراخ المعاملة T_1 التي حقنت بالمحلول الفسلجي.

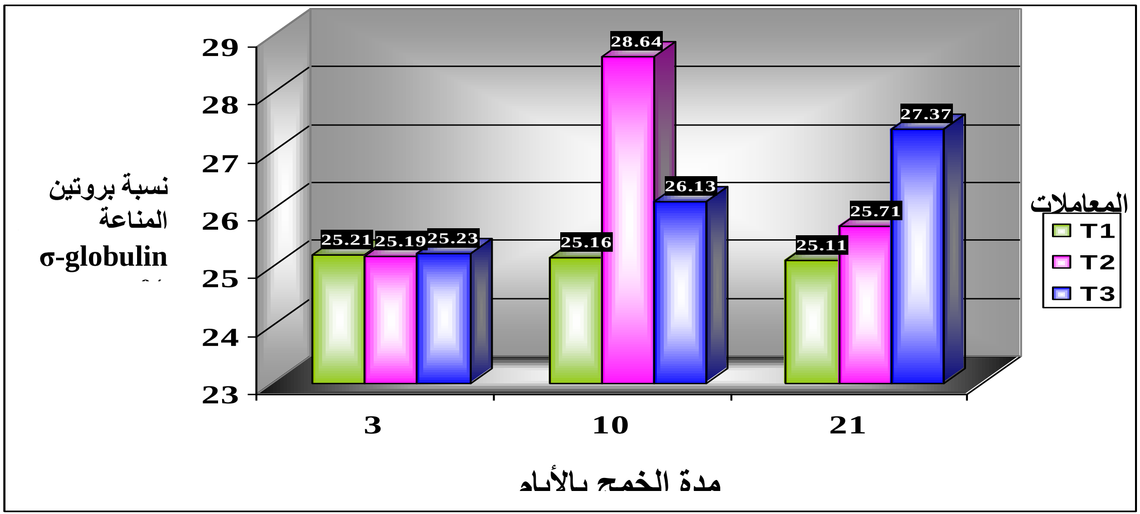
المعاملات	المعدل الحسابي لتثخن الجلد			
	التفاعل بعد 24 ساعة (ملم)		التفاعل بعد 48 ساعة (ملم)	
	دلايات	صفاق	دلايات	صفاق
سيطرة سالبة (T_1)	–	–	–	–
(T_2)لستريا +جدار	1.49	1.79	1.27	1.51
لستريا فقط (T_3)	1.29	1.36	1.22	1.13

جدول(1) نتائج لاختبار الجلدي بعد21 يوم من الخمج بجرثومة *Listeria monocytogenes*:

* نتائج الاستجابة المناعية الخلطية :

* نسبة بروتين الكلوبيولين σ- globulin:

يظهر الشكل (3) عدم وجود فروق معنوية في نسبة بروتين المصل كاما كلوبيولين في مصل دم افراخ المعاملات الثلاث بعد 3 أيام من الخمج ، إذ كانت النسب 25.21 و 25.19 و 25.23 % على التوالي، وظهرت فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات الثلاثة بعد 10 أيام من الخمج حيث كانت اعلى قيمة للمعاملة T_2 وبلغت 28.64 % تلتها المعاملة T_3 وبلغت 26.13 % لتسجل افراخ المعاملة T_1 اقل قيمة ومقدارها 25.16 % وأما في اليوم 21 من الخمج كان هناك تفوقاً معنوياً لافراخ المعاملة T_3 إذ سجلت 27.37 % وفي الوقت نفسه سجلت افراخ المعاملة T_1 ادنى القيم وبلغت 25.11 % ولم يكن بينها وبين المعاملة T_2 فروق معنوية إذ سجلت الاخيرة معدل 25.71 % .



شكل(3) تاثير اضافة الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على نسبة بروتين الكلوبيولين σ- globulin في أفراخ اللحم المخمجة بجراثيم *Listeria monocytogenes* .

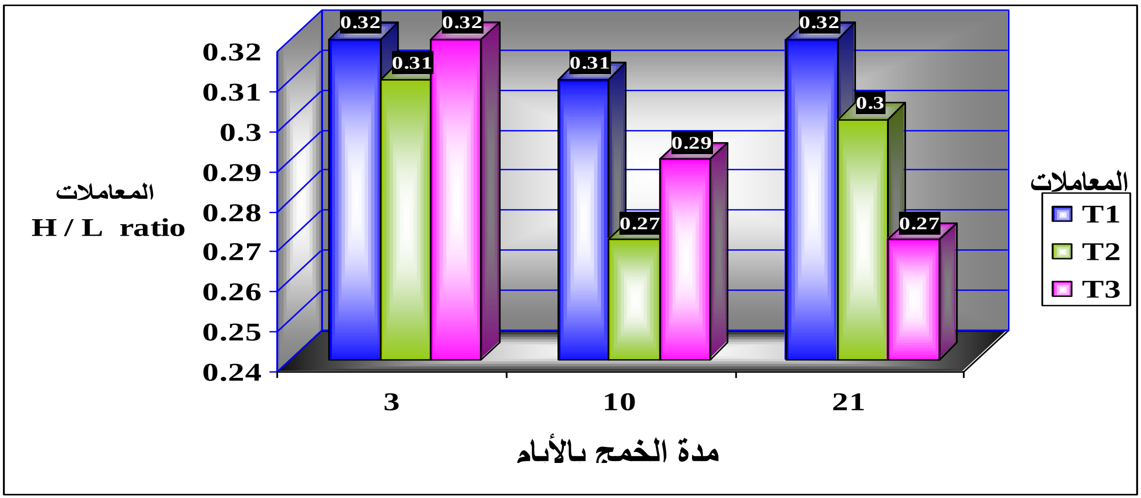
* اختبار الانتشار المناعي Immuno diffusion:

من خلال نتائج اختبار الانتشار المناعي في الهلام بعد 10 أيام من الخمج بجراثيم *Listeria monocytogenes* يتضح وجود خط ترسيب واضح للمعاملة T_2 مقارنة بـ T_3 التي أظهرت خط ترسيب واضح

نسبياً عند هذا العمر، في حين سجلت المعاملة T_3 خط ترسيب واضح بعد 21 يوم من الخمج كما وسجلت المعاملة T_2 خط ترسيب أقل عند هذا العمر ولم تسجل أي ظهور لخط الترسيب للمعاملة T_1 كونها معاملة سيطرة سالبة.

*نسبة خلايا المتغايرات / الخلايا اللمفاوية (H/L ratio) :

يبين الشكل (4) عدم وجود فروق معنوية في نسبة خلايا المتغاييرات الى الخلايا اللمفاوية (H/L ratio) بعد 3 أيام من الخمج ولجميع المعاملات ، وبدأت الفروق المعنوية بالظهور في بعد 10 أيام من الخمج بين المعاملات الثلاث إذ لوحظ تفوق معنوي للمعاملة T_1 وبلغت 0.31 تلتها المعاملة T_3 وبلغت 0.29 في إذ سجلت المعاملة T_2 اقل نسبة ومقدارها 0.27 وكذلك بعد 21 يوماً من الخمج إذ استمر التفوق المعنوي للمعاملة T_1 على المعاملتين T_2 و T_3 .



شكل(4) تاثير اضافة الجدار الخلوي لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في نسبة خلايا المتغاييرات الى الخلايا اللمفية H/ L ratio في أفراخ اللحم المخمجة بجراثيم *Listeria monocytogenes* .

المناقشة

أظهرت نتائج البحث ان بروتين الترانسفرين وهو من بروتينات الدم ذات المقاومة غيرالمتخصصة قد ارتفع تركيزه في مصل دم افراخ المعاملة T_3 وبفارق معنوي ($P<0.05$)عن T_1وT_2 بعد 21,10,3 يوم من الخمج بجرثومة اللستريا كمؤشر لحدوث الالتهاب والذي تتناسب شدته طرديا مع تركيز هذا البروتين(14). اما نسبة هذا البروتين في مصل افراخ المعاملة T_2 فكانت منخفضة مقارنة بالمعاملة T_3 مما يشير الى دور الجدار الخلوي للخميرة في تقليل شدة الخمج بجراثيم *Listeria monocytogenes*. اما البومين مصل الدم فيلاحظ ارتفاع نسبته في دم افراخ المعاملة T_1 كونه البروتين الرئيس في بروتينات الدم وله دور مهم في استقرار الجسم ويعتبر خزين جيد للاحماض الامينية كما ويعد مؤشر جيد للحالة الصحية والانتاجية للدجاج (2) ، في حين يلاحظ انخفاض نسبة هذا البروتين في دم افراخ المعاملة T_3 وبفارق معنوي عن المعاملتين T_1و T_2 نتيجة الخمج بجراثيم اللستريا التي تسهم في تثبيط عمل الكبد في تصنيع البروتينات المختلفة نتيجة الضرر الحاصل فيه (15و16) ، اما نسبته في افراخ المعاملة T_2 فكانت اقل من T_1 واعلى من T_3 ويعود السبب الى دور مكونات الجدار الخلوي للخميرة في زيادة تركيز هذا البروتين واعادة موازنة نسبته في الجسم من خلال خفض شدة الخمج (17). ومن خلال فحص الدلايات والصفاق وجدنا استجابة خلوية ملحوظة إذ اجري الفحص

الجلدي بعد 21 يوم من التجريع ويشير جدول (1) الى ان المعدلات الحسابية أعطت تفاعلاً موجباً لمستضد اللستريا المكسر بالنسبة لمجموعة الافراخ التي اعطيت الجدار T_2 مقارنة بمجموعة الخمج بجرثومة اللستريا فقط (T_3)، مع تفوق T_2 على T_3 ، ويعود ذلك الى الدور الذي يلعبه الجدار الخلوي للخميرة في تنشيط الخلايا اللمفية التائية المساعدة والتي بدورها تعمل على تحفيز وتنشيط البلعميات إذ أصبحت اكثر قدرة في عملية البلعمة(Phagocytosis) (18 و19و 20) ثم انخفضت هذه الاقيام بعد 48 ساعة مع بقاء تفوق T_2 على T_3 ، ان السبب في ارتفاع قيمة المعدل الحسابي لسمك التثخن ثم انخفاضها قد يعود الى طبيعة جرثومة اللستريا حيث تبقى متواجدة داخل الخلايا (21) وفي محاولة الجسم السيطرة على الجرثومة تحدث استجابة خلوية سريعة من خلال ارتشاح شديد للخلايا وحيدة النواة الى منطقة الخمج بعد 24 ساعة مما يشير الى تحفيز مناعي جيد وهذا يتفق مع (22) في تفسير التثخن الجلدي إذ يتم انتاج المدورات الخلوية (Cytokines) التي بدورها تجذب البلاعم الكبيرة (Macrophage) في مكان الفحص الجلدي وتمنع هجرتها بوساطة عامل مانع هجرة البلاعم (Migration Inhibition Factor) (MIF) فضلاً عن جذب الخلايا القعدة والبدنية(Mast cell) التي تفرز الهستامين والسيروتونين الذي يوسع الاوعية الدموية ويزيد نفوذيتها مما يعجل من هجرة الخلايا وحيدة النواة الى موقع الخمج (23)، وهذا ما حدث في تثخن الصفاق، في حين أعطت أفراخ المعاملة T_1 التي حقنت بالمحلول الفسلجي تفاعلاً سالباً. اما الاستجابة المناعية الخلطية فقد تمثلت بارتفاع تركيز كاما كلوبيولين في مصل دم افراخ المعاملة T_2 بعد 10 أيام من الخمج بجرثومة *Listeria monocytogenes* وبفارق معنوي عن المعاملة T_3 مما يشير الى حدوث تحفيز مناعي واضح ضد جراثيم اللستريا وذلك لدور مكونات الجدار الخلوي للخميرة في خفض شدة الخمج وتحفيز الاستجابة المناعية مقارنة بالمعاملة T_3 (6 و19) في حين ارتفعت نسبته بعد 21 يوم في مصل افراخ المعاملة T_3 وقد يعود الى حدوث استجابة مناعية متأخرة فيها مقارنة بافراخ المعاملة T_2 التي بدأت الحالة تستقر فيها، وهذا يتوافق مع نتائج فحص الانتشار المناعي على الهلام Immuno diffusion إذ وجد خط الترسيب ظهر واضحاً في المعاملة T_2 بعد 10 أيام في حين أصبح واضحاً في المعاملة T_3 بعد 21 يوماً وهذا يتفق مع العديد من الباحثين الذي أكدو على دور المناعة الخلطية في تطور المقاومة ضد اللستريا إذ لاحظ (24) تطور معايير عالية من الاجسام المضادة للستريولايسين −0 عند الخمج في العجول عن طريق الفم وان هذه الاجسام المضادة تبدأ باليوم الثامن ووصلت قمتها في باليوم 16−32 واستمرت الى اليوم 126 وبدون ظهور علامات سريرية مؤكداً نتائج فحص H/L ratio إذ ظهر أنخفاضاً معنوياً في هذه النسبة في دم أفراخ المعاملة T_2 لإنخفاض الاجهاد الناتج من الخمج وفي نفس الوقت يعد مؤشراً لزيادة أعداد الخلايا اللمفاوية المسؤولة عن الاستجابة المناعية(25).

المصادر

1- Safalaoh AC L (2006). Body weight gain, dressing percentage, abdominal fat and serum cholesterol of broilers supplemented with a microbial preparation AF J Food Agriculture Nutrition and development .,6(1) .

2- الشديدي ، شهرزاد محمد (2001). تأثير استخدام نسب من خميرة الخبز والعلف المخمر بها على الأداء الانتاجي والصفات النوعية لفروج اللحم ، رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

3-القطان، غادة عبد الخالق (2006) تحضير مرادف حيوي من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وإستخدامه في خفض الإصابة التجريبية بجراثيم *Salmonella typhimurium* في أفراخ اللحم . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

4- العبيدي، فارس عبدعلي، وغادة عبد الخالق القطان وشهرزاد محمد الشديدي (2008) تحضير مرادف حيوي من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وإستخدامه في خفض الإصابة التجريبية بجراثيم *Salmonella typhimurium* في أفراخ اللحم 1- عند عمر مبكر (1-15) . المجلة الطبية البيطرية العراقية. 1 (1).

5- Fleet GH (2006).The commercial and community significance of yeast in food and Beverage production .The yeast Handbook ,Amparo Querol,Graham H.Fleet (Eds).:yeasts in food and Beverages © Springer – verlag berlin Heidelberg.

6- Vetvicka V Bohuslave Dvorak Jana Vetvickova Jan Richter ,Jiri Krizan ,Petr Sima and Jean – Claude Yvin (2007):orally – administerd marine (1->3) –ß-D-glucan phycarine stimulates both humoral and cellular immunity . international journal of biological macro molecules , 40 ..

7- Harrigan WF and McCance ME (1976) . Labrotary Methods in Food and Dairy Microbiology . Academic Press, London.

8- Work E(1971).Cell walls In J. R. Novis an D.W. Ribbons (ed.) , methods in microbiology , Vol.5A Academic press Inc. New York. .P. 361 – 418.

9- Halliburton BL and Blazkovec AA(1975). Delayed hypersensitivity and acquired cellular resistance in guinea pigs infected with *Listeria monocytogenes*. Infect Immun. 11: 1-7.

10- Tizard IR (1996).Veterinary Immunology An Introduction 5th ed ., WB Saunders company .Philadelphia USA Chap .18 : Serology :The detection and measurement of antibodies.

11- Shen PF and Patterson LT (1983).A simplified wright's stain technique for routine avian blood smear staining poult Sci.62:923-924.

12- Burton R P and Guion CW (1968).The differential Leukocyte blood count : its precision and individuality in the chicken .Poultry .Sci.47:1945 – 1949.

13- SAS Institute (2001). SA/ TAT user's Guide version G.7th ed SAS Institute Gary , NC.

14- Tohijo H Miyoshi F Vehida E Niyama M Syuto P Moritsu Y Ichikawa S and Takeuchi M (1995) Polyacrylamide Gel Electrophoretic patterns of chicken serum in Acute Inflummation induced by intramusscular injection of turpentine. Poultry Sci. 74 : 648-655.

15- Dunn PL and North RJ(1991).Early r-interferon production by natural killer cells is important in defense against murine Listeriosis .Infect Immun. 59 85 – 102 .

16- Conlan JW and North RJ (1994) .Neutrophils are essential for early anti- *Listria* defense in the liver , but not in the spleen or peritoneal cavity as revealed by a granulocyte depleting monoclonal antibody .J Exp Med. 189 :259-268.

17- Zaghini A Martelli G Rooncada P Simioli M and Rizzi I (2005). Mannan oligo saccharides and aflatoxin B1 in feed for laying hens :Effect on Egg , and Aflatoxin B1 levels in liver Poult Sci J. 84 :825 -832.

18- Verword DJ Oliver AJ Henton MM and Vander W(1998). Maintaining health and performance in the young ostrich: Applications for amannan oligo saccharide Pp: 539–551. oroc. Altech`s 14th Ann. Symp. on Biotechnology in the Feed Industry in: TP Lyonsand KA Jacques eds Longhborough Leicestershir U.S.A .

19- Jamous F Ferrieres V Guegan JP Yvin JC Plusquellec D Vetvicka V (2004). Glucan – like synthetic oligosaccharides – Iterative synthesis of linear olig – b – (1,3) – glucans and immunostimulatory effects Glycobiology 15 : 393-407.

20- Dramis S Bourdichon F Cabanes D Lecuit M Fsihi H and Cossart P(2004). FbP,A.anoval multifunctional *Listeria monocytogenes* virulence factor .Mol.Microbiol .53(2):639-649.

21- VetvickaVVetvickova J (2007): Evaluation of the Immunological activities of commercially available B1 3- Glucans ,JANA,Vol10 No1.

22- Tizard L(1982). Veterinary immunology: An introduction .2nd ed WB.Saunders .Co.Canda .P.300.

23- Ramzi C Vinayak and Stanely LR(1994).Robbins pathological basis of diseases 5th ed . Philadephia, London Toronto Montreal.Tokyo,P.1754.

24- Barbuddhe SB Malik SVS and Gupta, LK (2000) .:Kinetics of antibody production and clinical profiles of calves experimentally infected with *Listeria monocytogenes* .J Vet Med Ser. 47 :497 -502.

25- Gross WB and Siegel HS (1983). Evaluation of heterophile/ Lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens .Avian dis .;27 :972 -979.