تحضير مرادف حيوي من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وإستخدامه في خفض الإصابة التجريبية بجراثيم *Salmonella typhimurium* في أفراخ اللحم 2- عند عمر متقدم (16 – 30 يوم) [1]

غادة عبد الخالق قطان و فارس عبد علي العبيدي و شهرزاد محمد الشديدي

وحدة الامراض المشتركة – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد – بغداد – العراق

الخلاصة

استهدف البحث تحضير مرادف حيوي من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وتقييم استخدامه بنسبتي 0.1 و 0.2 % من العلف (T2 و T3) لخفض الاصابة التجريبية لأفراخ اللحم بجراثيم *Salmonella typhimurium* عند عمر متقدم (16-30 يوم) . وزعت 40 طير لحم على اربع معاملات، وكانت المعاملة T1 ، سيطرة سالبة بإضافة 0.1 % مرادف حيوي و T4، وهي سيطرة موجبة اصابة تجريبية فقط لدراسة المؤشرات الأنتاجية وبعض صفات الدم الخلوية . وقد بينت النتائج مايأتي :

حضر مرادف حيوي لخميرة *Sacch. cerevisiae* يحوي الغرام الواحد على 10^7 خلية خميرة *Sacch. cerevisiae* و 10 ملغم من متعدد السكر مانان / غم مرادف حيوي . أدى إستخدام 0.1 و 0.2 % منه الى خفض شدة الإصابة التجريبية من خلال تحسين وزن الجسم والزيادة الوزنية وكفاءة التحويل ، وخفض نسبة الهلاكات وخفض الأجهاد الفسلجي الناتج عن الإصابةالتجريبية لافراخ اللحم.

[1] بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

Preparing of *saccharomyces cereviciae* Synbiotic for Reducing Expermental Infection of *salmonella typhimurium* in Broiler 2 – advanced age (16 -30 days)

Ghada A. Qatan , Faris A. Al-Obaidi and Shahrazad M. Al-Shadeedi
Zoonosis unit - College of Vet. Med.- Baghdad University - Baghdad - Iraq

Summary

This study aimed to prepare a synbiotic of *Sacch. cerevisiae* and used as 0.1 and 0.2 % in feed (T2,T3) for reducing the experimental infection of *Salmonella typhimurium* to broiler chicks (16-30 days) by using 40 birds divided into four treatments , T1 was negative control with 0.1 % synbiotics and T4 was positive control with experimental infection only , production and blood parameters were studied , and the results showed the following:

A synbiotic of *Sacch. cerevisiae* was made which have 10^7 cfu of *Sacch. cerevisiae* and 10 mg Mannan Oligosaccharide per gram .Using 0.1 and 0.2 % of *Sacch. cerevisiae* synbiotic reduced experimental infection of *Salmonella typhimurium* via increase body weight and feed conversion and decrease mortality and physiological stress of experimental infection.

المقدمة

المرادف الحيوي (Synbiotic) منتوج خليط من المعزز الحيوي (Probiotic) والسابق الحيوي (Prebiotic) , ويسهم اعطاء هذه المنتجات في تسريع حصول التوازن الجرثومي المعوي المثالي ، ومن ثم تدعيم وسائل الدفاع غير المتخصصة في الجسم , فضلاً عن دورها في تحفيز كل من المناعة الخلطية والخلوية (1 , 2, 3) و تؤدي الى تحسين الوضع الصحي والأداء الأنتاجي للأفراخ وتقليل إحتمالية الإصابة بالأمراض التي تهدد حياة الأفراخ حيث ثبت إن للمعزز الحيوي (Probiotic) دوراً مهماً في تقليل الإصابة بالتهاب الأمعاء التنخري (5,4) والإصابة بجراثيم القولون (6) ، وكذلك خفض الأصابة بالأمراض التي تسببها جراثيم السالمونيلا ،(7) ، وهذه بدورها تقلل الحاجة لإستخدام المضادات الحياتية ، وقد إستطاع (8) لأول مرة تصنيع معزز حيوي محليا من خميرة *Sacch.cerevisiae* وعمل بنجاح على تحسين الأداء الإنتاجي لفروج اللحم عند إضافته بنسبة 2,1 كغم / طن علف ؛ لذا يهدف البحث الحالي تحضير مرادف حيوي من خميرة *Sacch. cerevisiae* والسكر متعدد المانان وتقييم اثر اضافته في خفض الإصابة التجريبية بجراثيم *S.*

typhimurium في أفراخ دجاج اللحم ودراسة مدى تأثر الصفات الأنتاجية والفسلجية خلال الاسبوعين الثاني والثالث من العمر .

المواد وطرائق العمل

تحضير المرادف الحيوي لخميرة *Sacch. cerevisiae* :

استخدمت خميرة *Sacch. cerevisiae* الجافة التجارية نوع Pakmaya تركية المنشأ لتحضير المعزز الحيوي حسب ماذكرت (8) , ثم اضيف له الجدار الخلوي لمستنبت الخميرة المنماة على الوسط السائل Potato dextrose broth لمدة خمسة ايام وبدرجة 30م والمتكون من متعدد السكريات مانان (Mannan Oligosaccharids) كسابق حيوي للحصول بالنتيجة على مرادف حيوي ولأول مرة محلياً وحسب الطريقة المذكورة من قبل (9).

تجربة الاصابة التجريبية لافراخ اللحم

اجري البحث في بيت الحيوان في كلية الطب البيطري خلال المدة من 15 – 30 حزيران باستخدام 40 فرخ دجاج لحمً نوع لومان (Lohman) وبعمر 16 يوم جلبت من احد المفاقس المحلية في مدينة بغداد / أبي غريب ، ووزعت على أربعة اقنان متساوية الأبعاد 2 X 2 متر ،وكأن العلف يقدم بصورة حرة أمام الافراخ حيث غذيت على عليقة تجهز نسبة بروتين 22% وطاقة متمثلة 3044 كيلوسعرة لكل كيلوغرام علف ، وكانت المعاملات كالأتي :

المعاملة الأولى (T1) : إضافة 0.1 % من المرادف الحيوي مع العلف وبدون اصابة تجريبية.

المعاملة الثانية (T2) : إضافة 0.1 % من المرادف الحيوي مع العلف مع إصابة تجريبية .

المعاملة الثالثة (T3) : إضافة 0.2 % من المرادف الحيوي مع العلف مع إصابة تجريبية .

المعاملة الرابعة (T4) : إصابة تجريبية فقط .

جراثيم جرعة التحدي:

استخدمت جراثيم *S.typhimurium* كان الحصول عليها عن طريق مختبر الصحة المركزي / وزارة الصحة ببغداد حيث كانت قد عزلت وشخصت هناك .

تحضير جرعة التحدي:

حضرت جرعة التحدي حسب طريقة (10) حيث أخذت 5 مستعمرات جرثومية نقية من *S. typhimurium* المحفوظة بدرجة حرارة 4 م ° على وسط BHIA (Brain Heart Infusion Agar) ، ووضعت كل مستعمرة في قنينة قياسية معقمة (Universal Bottle) تحوي على 5 مل من المرق المغذي NB (Nutrient Broth) ، ومزجت المحتويات بشكل جيد وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة ثم مزجت محتويات القناني

الخمس في دورق معقم ،وأخذ 0.1 مل منها وزرع في قنينة قياسية معقمة تحوي 9 مل من المرق المغذي (NB) بدرجة 37 م ◦ لمدة ساعتين وبعدها جرى عد محتوياتها الجرثومية بطريقة (11) بحيث أصبح تركيز الجراثيم في كل 1 مل حوالي ($10 X (6-4.5 ^{7}$) جرثومة ، ثم خففت الجرعة بحيث اخذ 1 مل من هذا المستنبت وأضيف الى 250 مل من الماء المقطر المعقم ذي اس هيدروجيني 7.2 ،فأصبح تركيز الجراثيم في كل 1 مل $10 X 0.4 ^{5}$ جرثومة ثم جرعت فموياً 0.3 مل لكل طير (12)

الصفات المدروسة

الصفات الأنتاجية لأفراخ اللحم

وزنت الأفراخ بصورة فردية جميعاً في كل مكرر منذ اليوم الأول للتجربة وعند نهاية كل أسبوع ، واستخرجت الزيادة الوزنية حسابياً وحسبت كميات العلف المستهلكة أسبوعيا عن طريق وزن كمية العلف المتبقية في نهاية كل اسبوع ،وطرحها من الكمية الكلية المقدمة في بداية الأسبوع و حسب معامل التحويل الغذائي الأسبوعي خلال مدة التجربة وسجل عدد الهلاكات الأسبوعية في كل معاملة وحسبت نسبتها المئوية .

فحوصات الدم الخلوية

جمعت عينات الدم مع مواعيد تشريح الافراخ وجمع الدم من طيراً من كل معاملة وبصورة عشوائية . اذ جمع الدم من الوريد العضدي(Brachial vein) حيث استخدمت انابيب حاوية على مانع تخثر Potassium EDTA لمنع تخثر الدم وتم اعتماد المعدلات العامةخلال مرات الجمع لقياس تركيز الهيموغلوبين وحسب الطريقة التي اشار اليها (13), و قدرعدد الخلايا الدم الحمروالبيض وفقاً للطريقة التي اشار اليها (14) وتم قياس النسبة المئوية لحجم خلايا الدم المرصوصة حسب الطريقة التي اشار اليها (15) .

التحليل الأحصائي :

حللت البيانات وفق التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized Design)، وجرى مقارنة المتوسطات وفق أختبار دنكن متعدد المديات

(Duncan's multiple range test) وبإستخدام التحليل الأحصائي الجاهز SAS (16) .

النتائج

تحضير المرادف الحيوي

تم وبنجاح تحضير اول مرادف حيوي محلياً من خميرة *Sacch. cerevisiae* يحوي على مالايقل عن 10^{7} خلية خميرة / غم ومتعدد السكريد مانان بما لايقل عن 10 ملغم / غم و أعداد البكتيريا الهوائية 10^{5} خلية / غم وأعداد بكتريا القولون 10^{3} خلية /غم (9) .

تطبيق استخدام المرادف الحيوي في خفض الاصابة التجريبية بجراثيم *S.typhimurium* في افراخ اللحم :

وزن الجسم الحي والزيادة الوزنية :

من الجدول (جدول1) ان المعاملة T1 قد سجلت اعلى وزن جسم عند عمر ثلاثة واربعة اسابيع، وكانت 350 و 530 غم على التوالي وبفارق معنوي ($P<0.05$) مقارنة بافراخ المعاملة الرابعة T4 التي سجلت 300 و 450 غم لكلا العمرين على التوالي . ساهمت اضافة المرادف الحيوي 1و2 كغم / طن علف بتحسين وزن الجسم الحي عن المعاملة T4 الا ان الفروق لم تكن معنوية , ويتبين من الجدول نفسه ان اعلى زيادة وزنية قد سجلتها افراخ المعالة الأولى T1 وبلغ 150 و 180 غم للعمر في ثلاثة واربعة اسابيع على التوالي، وبفارق معنوي ($P<0.05$) عن بقية المعاملات ،في حين اقل زيادة وزنية سجلتها افراخ المعاملة T4 حيث بلغت 100 و 150 غم للعمرين كليهما على التوالي ، أما المعاملتان T2 و T3 فقد اسهم المرادف الحيوي المضاف بنسبة 0.1 و 0.2 % برفع الزيادة الوزنية لهذين العمرين وبفارق معنوي ($P<0.05$) مقارنة بالمعاملة T4 ، وعلى الرغم من ان المرادف الحيوي قد اسهم في رفع قيمة الزيادة الوزنية لأفراخ المعاملتين T2 و T3 مقارنة بالمعاملة T1 الا ان الفروق لم تكن معنوية إحصائياً .

جدول(1) :معدل الوزن الحي والزيادة الوزنية لأفراخ اللحم بعد الإصابـــة التجريبيـــة بجراثيم *S. typhimurium* بعمر 16-30 يوم

المعاملات	معدل الوزن الحي (غم) للأسبوع الثالث	معدل الوزن الحي (غم) للأسبوع الرابع	الزيادة الوزنية(غم) للأسبوع الثالث	الزيادة الوزنية(غم) للأسبوع الرابع
T1 (Cont.)	350 ± 5.14 a	530 ± 10.24 a	150 ± 1.22 a	180 ± 1.36 a
T2 (مرادف 0.1 %)	330 ± 5.09 ab	500 ± 10.17 ab	130 ± 1.00 b	170 ± 1.26 b
T3 (مرادف 0.2 %)	330 ± 5.11 ab	510 ± 11.25 ab	136 ± 1.25 b	174 ± 1.33 b
T4 (إصابة فقط)	300 ± 5.10 b	450 ± 11.29 b	100 ± 1.09 c	150 ± 1.26 c
المعنوية	*	*	*	*

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير الى وجود فرق معنوي .

- عند مستوى 0.05 >P

أستهلاك العلف وكفاءة التحويل الغذائي :

يتضح من الجدول (2) ان اقل معدل للعلف المستهلك لأفراخ المعاملة T4 في كل من الأسبوعين الثالث والرابع من العمر حيث بلغ 280 و 455 غم / طير / اسبوع على التوالي وبفارق معنوي (P<0.05) عما هو عليه للمعاملات الثلاث الاوائل T1 و T2 و T3 حيث بلغ العلف المستهلك 420 و 385 و 406 على التوالي للمعاملات الثلاث في الأسبوع الثالث و 549.5 و 539 و 560 غم / طير / أسبوع على التوالي للمعاملات الثلاث في الأسبوع الرابع من العمر ، يتبين من الجدول نفسه ان افراخ المعاملات الثلاثة T1 و T2 و T3 قد سجلت نفس القيمة لكفاءة التحويل الغذائي حيث بلغت 2.9 لكل منها في الأسبوع الثالث وسجلت T4 قيمة لكفاءة التحويل الغذائي للعمر نفسه 2.8 وارتفعت هذه القيمة لجميع المعاملات في الأسبوع الرابع حيث بلغت 3.1 و

3.1 و 3.2 و 3.0 للمعاملات T1 و T2 و T3 و T4 على التوالي ولم يكن هنالك فروق معنوية إحصائياً .

جدول (2): استهلاك العلف وكفاءة التحويل الغذائي لإفراخ اللحم بعد الإصابة التجريبية بجراثيم *S. typhimurium* بعمر 16-30 يوم

المعاملات	معدل العلف المستهلك للأسبوع الثالث غم/ طير/أسبوع	معدل العلف المستهلك للأسبوع الرابع غم/ طير/أسبوع	كفاءة التحويل الغذائي للاسبوع الثالث	كفاءة التحويل الغذائي للأسبوع الرابع
T1 (Cont.)	420 ± 3.95 a	549.5 ± 9.33 a	2.9 ± 0.25 a	3.1 ± 0.21 a
(مرادف 0.1 %) T2	385 ± 3.85 b	539 ± 9.25 b	2.9 ± 0.31 a	3.1 ± 0.20 a
(مرادف 0.2 %) T3	406 ± 4.10 b	560 ± 8.61 b	2.9 ± 0.11 a	3.2 ± 0.20 a
(إصابة فقط) T4	280 ± 3.82 c	455 ± 8.91 c	2.8 ± 0.19 a	3.0 ± 0.20 a
المعنوية	*	*	*	*

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير الى وجود فرق معنوي .

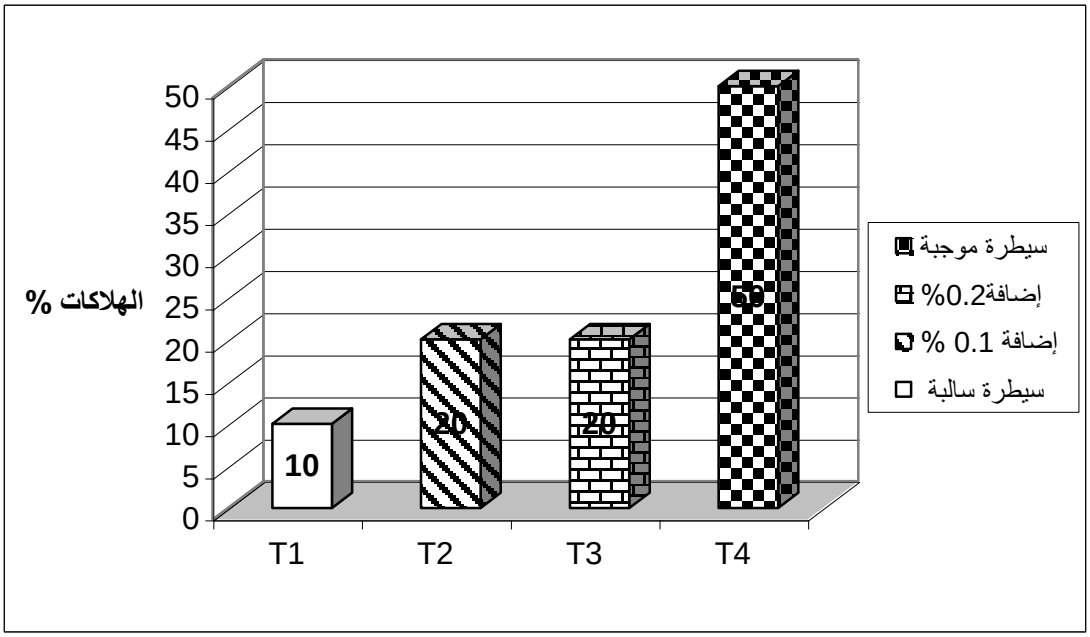
- عند مستوى $P< 0.05$

الهلاكات :

يتبين من الشكل(1) ان نسبة الهلاك الكلية كانت مرتفعة (40 %) في افراخ المعاملة T4 وبفارق عالي المعنوية ($P<0.01$) عن بقية المعاملات وفي الوقت نفسه سجلت المعاملة T1 أدنى نسبة هلاكات كلية إذ بلغت 12.5 % , وقد اسهمت معاملات اضافة 1و 2 كغم من المرادف الحيوي / طن علف (T2 و T3) في خفض نسبة الهلاك معنوياً ($P<0.01$) مقارنة بالمعاملة T4 اذ سجلتا 26 و 20 % على التوالي .

صفات الدم الخلوية

يتضح من الجدول (3) إن اعلى عدد لخلايا الدم الحمر(RBCs) سجلته أفراخ المعاملة T1 إذ بلغ 3.14 مليون خلية / مل دم وبفارق معنوي عن بقية المعاملات ($P<0.05$) وسجلت معاملتي T2 و T3 2.91 و 2.93 مليون خلية / مل دم على التوالي في حين كانت ماسجلته المعاملة T4 هو الأدنى



شكل (1) :يبين تأثير اضافة المرادف الحيوي في نسبة الهلاكات الكلية لأفراخ اللحم بعد الإصابة التجريبية بجراثيم *S. Typhimurium* بعمر (16-30) يوماً .

وبلغ 2.80 مليون خلية / مل دم ، ونلاحظ ان معدل خلايا الدم المرصوصة (PCV) كان متناسباً طردياً مع اعداد الخلايا الحمر (RBCs) لكل معاملة ،وكذلك الهيموغلوبين (Hb) إذ كانت قيمته أكثر ارتفاعاً في افراخ المعاملة T1 (7.95 غم / 100 مل دم) وأكثر انخفاضاً لافراخ المعاملة T4 (7.31 غم / 100 مل دم) ، اما خلايا الدم البيض (WBCs) فقد انخفض عددها في افراخ المعاملة T1 وارتفع في افراخ المعاملات الاخرى التي تعرضت للأصابة التجريبية بجراثيم *S. typhimurium* لان الاصابة الجرثومية هي أحد عوامل الأجهاد التي تسبب ارتفاعاً في اعداد هذه الخلايا .

المناقشة

اصابة أفراخ فروج اللحم بجراثيم *S. typhimurium* مشكلة صحية كبيرة تؤدي الى خفض الأداء الأنتاجي عموماً (12) , حيث تسبب هذه الجراثيم تدهوراً في الصفات الأنتاجية المتمثلة بوزن الجسم الحي والزيادة الوزنية واستهلاك العلف ، فضلاً عن قابلبيها في الأستيطان وغزو بطانة الأمعاء ثم الدخول للدورة الدموية محدثة حالة تجرثم دموي والانتشار الى باقي اعضاء الجسم (17) ، وانتاج سموم معوية (18) تؤدي الى الخمول والهزال وقلة الشهية (19) , وهو السبب في انخفاض.

جدول (3): بعض صفات الدم الخلوية لأفراخ اللحم المصابة تجريبياً بجراثيم *S typhimurium* بعمر 16-30 يوم

المعاملات	RBCs مليون خلية / مل دم	PCV %	WBCs الف خلية / مل دم	Hb غم/100 مل دم
T1 (Cont.)	3.14 ± 0.44 a	35.0 ± 0.52 a	23.17 ± 1.45 c	7.95 ± 0.30 a
(مرادف 0.1 %) T2	2.91 ± 0.39 b	34.3 ± 0.56 b	23.95 ± 1.45 b	7.68 ± 0.31 b
(مرادف 0.2 % T3)	2.93 ± 0.38 b	34.6 ± 0.66 b	23.96 ± 1.36 b	7.71 ± 0.31 b
(إصابة فقط) T4	2.80 ± 0.39 c	33.5 ± 0.69 c	24.25 ± 1.39 a	7.31 ± 0.29 c
المعنوية	*	*	*	*

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير الى وجود فرق معنوي :

* عند مستوى 0.05 >P

معدلات وزن الجسم الحي والزيادة الوزنية واستهلاك العلف وارتفاع في نسبة الهلاكات للمعاملة T4 مقارنة ببقية معاملات التجربة .

ظهر تحسن في وزن الجسم الحي والزيادة الوزنية واستهلاك العلف لافراخ المعاملات T1 و T2 و T3 نتيجة اضافة المرادف الحيوي الى علائقها لما له من اثر كبير في تحسين اداءها الانتاجي بسبب دور هذه الخميرة وجدارها الخلوي MOS في الحد من الأصابة الجرثومية من خلال الأرتباط

بهذه الجراثيم ومنعها من اختراق بطانة النسيج الظهاري للأمعاء وطرحها مع الفضلات (20) كما ان خميرة *Sacch. cerevisiae* تعمل على انتاج وافراز العديد من الأنزيمات المهمة في تحسين جاهزية العناصر الغذائية للمواد العلفية (21) وتسهم بزيادة استهلاك العلف وتحسناً في كفاءة التحويل الغذائي (22) , وكذلك للدور الذي تؤديه خميرة

Sacch. cerevisiae في المرادف الحيوي من تقليل أثر الأجهاد بشكل عام وزيادة مناعة الجسم الخلطية (23) , وبالتالى خفض نسبة الهلاكات.

ان معدل خلايا الدم المرصوصة (PCV) كان متناسباً طردياً مع اعداد الكريات الحمر (RBCs) لكل معاملة ،وكذلك هيموكلوبين الدم (Hb) إذ كانت قيمته أكثر ارتفاعاً في افراخ المعاملة T1 وهي 7.95 غم / 100 مل دم وأكثر انخفاضاً لافراخ المعاملة T4 وهي 7.31 غم / 100 مل دم ، اما بالنسبة لخلايا الدم البيض (WBCs) فقد انخفض في افراخ المعاملة T1 وارتفع في افراخ المعاملات الاخرى التي تعرضت للأصابة التجريبية بجراثيم *S. typhimurium* لان الاصابة الجرثومية هي أحد عوامل الأجهاد التي تسبب ارتفاعاً في اعداد هذه الخلايا (24) وتفرز جراثيم Salmonella سموماً تؤثر سلباً في عمل الكبد الذي يظهر على الصورة الدموية للجسم الحي (19).

المصادر

1. Jeffery,J.S.(1999).Use of competitive exclusion product for poultry ,P.F.S.:30.
2. Salmenin,S.;A.V.Wright;L.Morelli;P.Mateau;D.Brassart,W.M.Vos.;R.FOnden ; M. Sacelin ; K. Collins ; G. , Mogensen , S. E. Birkeland and T.M.Sandholm.(1998).Demonstration of safety of probiotics a review .Int.J.Food Microbial.,44:93- 106.
3. Schrezenmier,J.Vrese,M.D.(2001).Probiotics , Probiotics and synbiotics – approaching adefinition .Am.J.Nutri.vol. 73: 3015-3645.
4. Yeo,J. and K.I.Kim.(1997).Effect of feeding diets containing an antibiotic, Probiotic , Probiotic or Yucca extract on growth and intestinal Urease activity in broiler chicks .Poult.Sci.76:381-385.
5. Craven, S. E. ; N. J. Stern ; S. E. Line ; N. A. Cox, and J. S. Bailey (1997).Reduction of *Colstridium perfringes* in the ceca of broiler with a mucosal starter culture T.M.or a culture of the Yeast (Supp.7):5124(Abst.).
6. Nisbet, D. J. E. ; Corrier, M. E. Hume, J. A. Byrd , L. H. Stander and R. A. Anderson,(1997).Effcet of (CF_3 ^{TM}).on cecal colonization by Escherichia coli 0157: H7in Broiler chicks .Poultry Sci.76(Suppl.1) 530 Abst.
7. Corrier,D.E.;J.A.Byrd,M.E.Hume.;D.J.Nisbet, and L.Stanker, (1997).Effect of treatment with characterized competitive exclusion culture on a simulkineous

Salmonella chaling and seeder to contact chick transmission .Poultry Sci.76 (Supp1).:120(Abst.).

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

9. العبيدي ، فارس عبد علي وقطان , غادة عبد الخالق 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 يوم) .المجلة الطبية البيطرية العراقية.32(2).

10. Pivinick,H.; B.Blanchfield, and D' Aoust,J.Y.(1981).Prevention of Salmonella infection in chicks by pretreatment with faecal cultures from mature chickens (Nurmi cultures)J.Food Protect .44(12):909-916.

11. Miles,A.A.; S.S.Misra, and J.O.Irwin, (1938).The estimation of the bactericidal power of blood J.Hyg.Camp.38:739-746.

12. Line,J.E.;J.S.;Baily,N.A.Cox, and N.J. Steven,(1997).Yeast treatment to reduce Salmonella and Campylobacter population associated with broiler chickens subjected to transport stress.Poultry Sci.76:1227- 1231.

13. Varley,H.A.H.GrawenlockandM.Bell.(1980).PracticalClinical Biochem istry 5thed William Heinemann Medical Books.Ltd.,London.

14. Natt M.P. and C.A. Herrick(1952).A new blood diluent for counting the erythrocytes and Leukocytes of the chicken.Poultry Sci.31:735- 738.

15. Archer,P.K.(1965).Haematological techniques for use in animals Oxford Black Scientific Publications.

16. SAS,Institue,(2001).SA/TAT user's Guide version G. 4th ed SAS Institue Gary,NC.

17. Zhang-Barber , L . ; Turner,A.K. and Barrow , P . A . (1999). Vaccination for contol of Salmonella in Poultry.Vaccine.17:2538.2545.

18. Muir,W.I.; W.L. Bryden, and A.J. Hudband , (2000).Immunity , Vaccination and t he avian intestinal tract . Dvelop . Comparat . Immune.24:325-342.

19. Williams,J.E.(1984). Paralytic infections,In: Hofstand, M.S., Barnes, H.J.;Calnek,B.W.;Reid,W.M. and Yoder,Jr.,H.W.Eds.) Diseases of poultry .pp:91-129.Iowa state uni.press.Ames,Iowa.USA.

20. CFNP Center for Food and Nutrition Policy(CFNP) Viriginia Tech-Alexandria August 2002.

21. Day,E.J.B.C.DiLworth, and S.Omer.(1987).Effect of varying levels of phosphorous and live yeast culture in caged laying diets.Poultry Sci.66:1402-141.

22. Gurrero,R. and G.Hoyos.(1991).Direct fed microbials and cidifiers for poultry .P.407-411. alltechs 7th Ann.Sym. On .Biotechnology in the feed industry .In: T.P. loyns and K. A. Jacques .Eds ,Lough Bovough ,Leciershire, USA.

23. Verword,D.J.;A.J.Oliver,M.M.Herton and Vander walt (1998). Main training health and performance in the young ostrich : Applications for a Mannan Oligosaccharide Pp:539-551. Proc.Altech's 14th Ann.Sym.On Biotechnology in the feed industry inTp:Lyons and K.A. acques, eds.Longborough, Leicestershir, U.S.A.

24. Sturkie,P.D(1986).Avian Physiology 4th ed Springer –Verlag.New York.