

THE EFFECT OF IMMUNOLOGICAL ENHANCERS ON SPECIFIC IMMUNITY OF INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS USING VIRAL CHALLENGES TESTS

MONA AL. SHARABI

PhD of Poultry Diseases, Faculty of Vet. Med., Al-Baath University, Hama, Syria

Received: 12 February 2017; Accepted: 30 March 2017

ABSTRACT

The study was conducted on (100) commercial broiler chickens, for study the effect of Brewer`s Yeast on Specific Immunity of infectious bursal disease (IBD) after using challenges tests. The study has confirmed that there were clear significant variations between control and study group which added to its feed Brewer`s yeast during all stages of breeding for antibody titers of IBD (P value = 0.01). at 34dayold, (P value = 0.002). at 42,dayold.

Key words: Immunological, Enhancers, Infectious Bursal Disease, Challenges Tests.

تأثير المحسنات المناعية على المناعة النوعية لفيروس مرض الجراب المعدي باستخدام اختبارات التحدي الفيروسية

منى الشرابي

دكتوراه في أمراض دواجن ، كلية الطب البيطري ، جامعة البعث، حماه ، سوريا

E-mail: d.mona.sharabi@hotmail.com

Assiut University web-site: www.aun.edu.eg

أجريت الدراسة على (١٠٠) طائر من إحدى الهجن التجارية لدجاج اللحم لمعرفة تأثير المحسن المناعي (خميرة البيرة) أو خميرة الخبز على المناعة النوعية لمرض التهاب الجراب المعدي (الجمبورو) وذلك باستخدام اختبار التحدي. أثبتت الدراسة وجود فروق معنوية واضحة بين مجموعة الشاهد ومجموعة الدراسة التي اضيف لعلفها خميرة البيرة بالنسبة لمعايير الأضداد لمرض التهاب الجراب المعدي حيث كانت قيمة $p = 0.01$ بعمر ٣٤ يوم وكانت قيمة $p = 0.002$ بعمر ٤٢ يوم.

الكلمات المفتاحية: النيكلوتيدات النووية، (nucleotides) ، خميرة الخبز او البيرة (Brewer`s Yeast)، (Saccharomyces Cerevisiae)، المناعة النوعية عند دجاج اللحم (Specific, Immunity of Broiler Chickens)

INTRODUCTION

المقدمة

من احدى عوامل التربية الناجحة لتحقيق الربح في تربية الدواجن تحقيق تحسن في كفاءة الجهاز المناعي ضد الأمراض المختلفة لقطعان المزارع. ويتحقق هذا من خلال تخفيض وبائية الأمراض إلى حدها الأدنى ، وقد أصبحت المناعة الغذائية Immunity nutritional تلعب دوراً مهماً في الوقاية من الأمراض المعدية (Yamauchi *et al.*, 2002) وأصبح التوجه اليوم نحو ما يسمى بالعلوم الوبائية الحديثة للطب الوقائي، وذلك من خلال تحفيز مناعة طبيعية لدى الطائر. ويتم تحقيق ذلك من خلال تحسين الوظيفة الطبيعية للجهاز المناعي، والذي يمكن أن يساعد في مواجهة تحدي الأمراض المحتملة، ، ولذلك كان لا بد من اللجوء إلى نوع من المحسنات المناعية الطبيعية دون أن يكون لها تأثير على نوعية اللحم المنتج، وفي السنوات الأخيرة تمت دراسة العديد من هذه المواد المحسنة، مثل النيوكلوتهيدات النووية (nucleotides) والتي تتوافر في الخمائر خميرة الخبز أ و(خميرة البيرة) وتعد النيوكلوتهيدات النووية ومثيلاتها مواد تم الاهتمام بها في السنوات الأخيرة كمعدلات (محورات) مناعية كامنّة Immune-modulators.

فهي تلعب دوراً في العديد من الوظائف الفسيولوجية الأساسية بما فيها تشكيل المعلومات الوراثية Genetic informations ، وكوسيط في الطاقة الإستقلابية Mediating metabolic (energy Carver and Walker., 1995 and Aggett *et al.*, 2002) ، وقد سجل الباحثون (Aggett *et al.*, 2002; and Adjei *et al.*, 1993)، إن إضافتها كمتنمات علفية

يمكن أن يحرض ويحسن المناعة الخلوية الوسيطة (Cell-mediated immunity) (Van Buren *et al.*, 1983) ، ويؤدي لإنتاج اللغويات (Lymphocyte proliferation) (Yamauchi *et al.*, 1996) ويحسن مقاومة الطائر للأخماج الجرثومية. وفي السنوات القليلة الماضية تم استخدام النيوكوتيدات النووية عن طريق الفم لتحسين الوظائف المناعية ، وتحسين فعالية اللقاح ، ومقاومة الأمراض.

كما تم استخدام خميرة الخبز أو البيرة Brewer's yeast ، أو ما يدعى بالاسم العلمي سكارومييسيسيرفيسيا *Saccharomyces Cerevisiae* . بشكلٍ مقتولٍ أو (معطلٍ) كمتعمٍ علفي ، في تغذية الدواجن نظراً لاحتوائها على قيمة غذائية مرتفعة ، وعدم وجود آثارٍ سلبيةٍ عند استخدامها بنسبٍ محدودةٍ كمتعمٍ علفي. (Carter and Phillips, 1944, (Bhattacharjee, 1970).

كما وجد الباحث (Stone, 1998) ، أن استخدام خميرة سكارومييسيسيرفيسيا في تغذية دجاج اللحم كمادةٍ طبيعيةٍ توفر الفيتامينات وخاصة مجموعة فيتامين B وكذلك البروتين ذو القيمة البيولوجية العالية.

وفي أبحاثٍ أخرى مشابهة وجد الباحث (Cruichshank, 2002.) ، أن خميرة الخبز عملت على تحسين الهضم والامتصاص للمواد الغذائية ، وسيطرت على الأمراض المعدية المعوية الناجمة عن بعض المسببات المرضية وأدت لتحسن مناعي واضح إضافة إلى تحسن في معامل التحويل العلفي.

كما وجد الباحثون (Mickolos *et al.*, 2003) أن مشاركة التحصين مع إعطاء محسن مناعي ، أدى لزيادة في مستوى معيار الأجسام المضادة المناعية بشكلٍ مرتفع ، وإن الاستمرارية في إعطاء المحسن المناعي أعطت نتائج أفضل بكثير فيما لو أعطي اللقاح منفرداً حيث إن المحسن المناعي زاد من نسبة الحماية عند التحصين

MATERIALS AND METHODS

المواد والطرائق

مواد العمل : Materials

١ - الصيصان :

تم تربية (١٠٠) طائر مختلط (ذكور، إناث) بعمر يوم واحد من أحد الهجن التجارية (رووس) ، تم الحصول عليها من إحدى المزارع التجارية لتربية قطعان أمات دجاج اللحم (الفروج) ، قدمت للطيور عليقةً محببةً بمراحل مختلفة (مرحلة أولى ومرحلة ثانية) .

٢-خميرة البيرة:

استخدمت خميرة البيرة Brewer's yeast ، أو ما يدعى بالاسم العلمي سكارومييسيسيرفيسيا *Saccharomyces Cerevisiae* ، بشكلٍ مقتولٍ كمتعمٍ علفي على شكل بودرة تم خلطها مع العلف المستخدم حسب خطة الدراسة (١٠٠٠ جرام /طن من العلف) أثناء عملية تصنيع العلف المستخدم في التجربة بعد أن تم تحضيرها بشكلٍ مقتولٍ من خلال تعريضها للبخار لمدة (٤) ساعات مع الحفاظ على درجة حرارتها (٧١°) م وتم حفظها بالبراد في الدرجة (٤°) م في حاويات مغلقة ومن ثم تم تعقيمها قبل الاستعمال بوضعها بالأوتوغلاف أو ما يدعى بالصاد الموصد لمدة (٢٠) دقيقة.

٣- معلق العدوى التجريبية (التحدي)

تم تحضير معلق غدة فابريشس حسب طريقة الباحثين (Wu *et al.*, 2000) ، حيث أخذت غدة فابريشس من طيور مصابة سريرياً بمرض الجراب المعدي، تم تقطيع غدة فابريشس إلى قطع صغيرة وطحنها بشكلٍ جيد ومن ثم وضعها في محلول HBSS ثم تم تثقيفها بسرعة (٢٥٠٠) دورة بالدقيقة ولمدة (١٠) دقائق. وتم الحصول على معلق الخلايا المعدية أما الراسب الخلوي فتم وضعه في محلول الدارئة الفوسفاتية Phosphate buffered saline (PBS) والتي تحتوي في (١٠٠٠) مل منه على ما يلي:

(8.00g NaCl ,0.20g KCl ,2.89g Na₂HPO₄.12H₂O,0.20g KH₂PO₄ ,PH 7.2)

وحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة خمس دقائق لتحلل الأنسجة الخلوية بعد ذلك أخذ المعلق الخلوي الناتج عن الراسب وأضيف للمعلق السابق الناتج عن التثقيف وتم تكرير غسل الراسب مرتين بمحلول HBSS .

طرق العمل : Methods

١- مجاميع الدراسة The Study Groups:

استخدم (١٠٠) صوص بعمر يوم واحد ، نوع رووس ، قسمت الطيور كالتالي:

المجموعة الأولى : وهي مجموعة الشاهد شملت (٥٠) طيراً قدمت لها عليقةً محببةً خاليةً من أي محسن مناعي.

المجموعة الثانية : وقد شملت (٥٠) طيراً قدمت لها عليقةٌ محببةٌ تحتوي على خميرة الخبز المحلية بمقدار (١٠٠٠) جرام اطن بدءاً من اليوم الأول وحتى نهاية التجربة بعمر (٤٥) يوماً.

وقد تم تغذية الطيور بعلف محبب ، وتم مراعاة الاحتياجات الغذائية حسب متطلبات الطيور في جميع مراحل التربية. فكان بروتين المرحلة الأولى (٢٢%) والطاقة (٣٠٠٠) ك.ك/كغ مادة جافة ، أما بروتين المرحلة الثانية (٢٠%) والطاقة (٣٢٠٠) ك.ك/كغ مادة جافة.

وتم تحصين الطيور لجميع مجاميع الدراسة بنفس جرعة ونوعية اللقاح كما هو موضح بالجدول رقم (١)

الجدول رقم ١ : برنامج تحصين طيور التجربة.

العمر بالأيام	اسم اللقاح
٨	لقاح التهاب القصبات المعدي (حي) العترة Mas5 عن طريق ماء الشرب
١١	لقاح النيوكاسل HB1 عن طريق ماء الشرب
١٥	لقاح الجمبورو (حي) عن طريق ماء الشرب
٢٨	لقاح نيوكاسل (حي) CLONE عن طريق ماء الشرب

٢- طريقة إجراء الاختبار Test procedure:

بعد أن تم تحضير معلق فيروس الجمبورو، أضيف له صادات لمنع التلوث الجرثومي ومن ثم تم إعطاء الطيور ٠,٥ مل من المستحلب المذكور عن طريق الفم، وقد تم إعطاؤه لمجاميع التجربة في عمر (٢٦) يوماً من عمر الطيور.

تمت مراقبة الطيور في مجموعات التحدي والشاهد ثلاث مرات في اليوم، ولمدة (١٦) يوماً حيث سجلت حالات النفوق والإمراضية يومية، في مجاميع الاختبار خلال فترة التربية كاملة من بداية إجراء الاختبار وحتى النهاية، وتم تشريح الطيور النافقة وتشريح عدد من الطيور الحية لمراقبة التغيرات التشريحية المرضية النوعية للمرض، إذ لوحظ على الطيور المصابة بعد الاختبار بعض الأعراض والآفات التشريحية المميزة لمرض الجمبور.

٣- طرق أخذ عينات الدم Blood Samples

تم أخذ عينات الدم بعد أسبوع من إحداث العدوى التجريبية حيث تم جمع (٧٥) عينة دم من الوريد الجناحي لطيور مجاميع الدراسة، حسب الباحث كامبرون (Cameron , 1999) تم تنقيتها بالمثقلة وفصل المصل بأنابيب إندروف، وتم وضعها في المجمدة ليتم إجراء الاختبارات المصلية ومعايرة الأجسام المضادة المناعية النوعية لمرض الجمبور فيما بعد، وذلك باستخدام اختبار المقاييس المناعية الأنظمية . (ELISA) (Enzyme Linked Immunosorbent- Assay) . لها اختبار الاليزا. ومن ثم تم أخذ العدد السابق نفسه من عينات الدم بعد الأسبوع الثاني من إجراء العدوى التجريبية (التحدي).

٤- الاختبارات المصلية Serological Tests :

أجريت الدراسة المصلية باستخدام اختبار المقاييس المناعية المرتبطة بالأنظيم Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) لمعرفة مستوى الأضداد النوعية لمرض الجراب المعدي في مصل الدم ، ويعد هذا الاختبار هو المفضل في عمليات التقصي المصلي لأعداد كبيرة من العينات بالنسبة لمرض الجراب المعدي (IBD) (Lee and Lin, 1992) . واستخدمت طريقة الباحثون (Pick and Mizel., 1981). لإجراء الاختبار وخطوات العمل حسب توصيات الشركة المنتجة للمجموعة التشخيصية.

يتم قراءة طبق الاختبار باستخدام قارئ الاليزا وعلى موجة بطول (٤٠٥) نانومتر الذي يقيس معدل الامتصاص في كل حفرة، أو قيم الكثافة البصرية (OD) Optical Density يحسب معيار الأضداد حسب العلاقة :

$$S/P = (\text{Abs Test Sample} - \text{Abs Negative}) / (\text{Abs Positive} - \text{Abs Negative})$$

$$\text{Log } 10 \text{ Titre} = 0.870 \times (\text{Log } 10 \text{ S/P}) + 3.92$$

$$\text{Titre} = \text{Antilog of log } 10 \text{ Titre}$$

٥- طريقة التحليل الإحصائي Statistic Analysis Method

استخدم برنامج التحليل على الحاسوب (Statistics, 1998) ، لإجراء جميع التحاليل الإحصائية في هذه الدراسة. درست الفروق لمعايير الأجسام المضادة المناعية بين مجاميع الدراسة المختلفة باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق One Way Analysis of Variance.

RESULTS

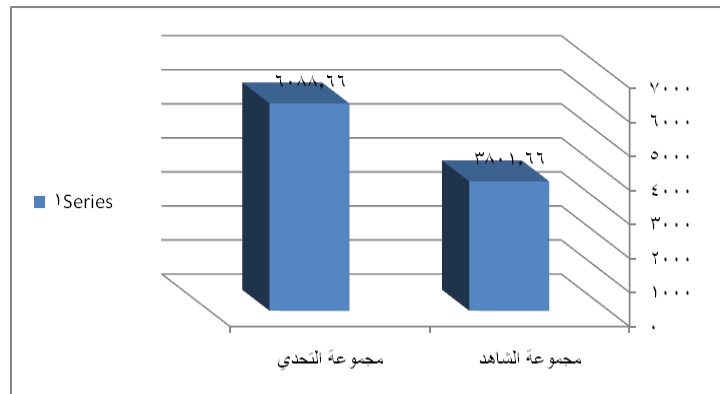
النتائج

مقارنة معايير الأضداد لمجاميع طيور العدوى التجريبية (التحدي) بعمر ٣٤ يوماً باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق:
One way – Analysis of Variance (AOV)

بمقارنة معايير الأضداد المناعية النوعية لمرض الجراب المعدي بين مجاميع الدراسة الخاصة باختبار التحدي حيث كان عمر الطيور (٣٤) يوماً أي بعد أسبوع من إجراء التحدي، تبين وجود فروق معنوية بين مجموعة الشاهد التي لم يقدم لها مع غذائها خميرة البيرة ومجموعة التجربة التي قدم لها الخميرة مع غذائها منذ بداية التجربة وحتى النهاية حيث كانت ($P=0.01 < 0.05$). والنتائج موضحة في الجدول (٢).

الجدول رقم ٢: مقارنة معايير أضداد مرض الجراب المعدي لطيور مجاميع التحدي عمر الطيور (٣٤) يوماً بعد أسبوع من التحدي.

المقاييس الإحصائية	معايير الأضداد لمجموعة شاهد التحدي	معايير الأضداد لمجموعة تجربة التحدي
المتوسط الحسابي	3801.66	6088.66
الانحراف المعياري	158.928	101.508
الوسيط الحسابي	3870	6233
الحد الأدنى للمعايير بالقيمة المطلقة	3620	6230
الحد الأعلى للمعايير بالقيمة المطلقة	3915	6403



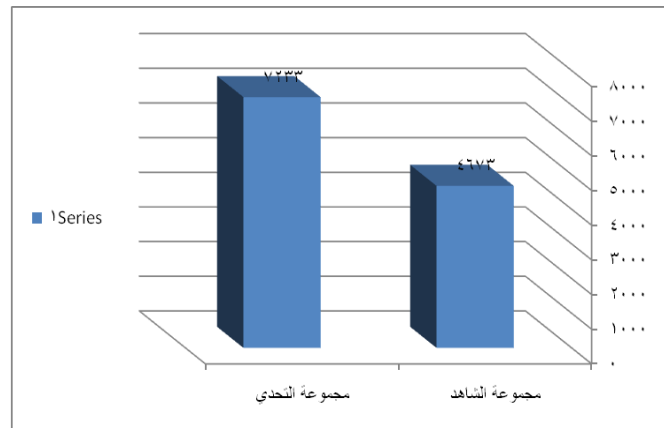
المخطط رقم (١) المتوسط الحسابي لمعايير أضداد مرض الجراب المعدي لطيور مجاميع التحدي عمر الطيور (٣٤) يوماً بعد أسبوع من التحدي

مقارنة معايير الأضداد لمجاميع طيور التحدي بعمر ٤٢ يوماً باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق :
One way – Analysis of Variance (AOV)

بمقارنة معايير الأضداد المناعية النوعية لمرض الجراب المعدي بين مجاميع الدراسة الخاصة باختبار التحدي حيث كان عمر الطيور (٤٢) يوماً أي بعد أسبوعين من إجراء التحدي تبين وجود فروق معنوية بين مجموعة الشاهد التي لم يقدم لها مع غذائها خميرة البيرة، ومجموعة التجربة التي قدم لها الخميرة مع غذائها منذ بداية التجربة وحتى النهاية حيث كانت ($P=0.002 < 0.05$). والنتائج موضحة في الجدول رقم (٣).

الجدول رقم ٣: مقارنة معايير أضداد مرض الجراب المعدي لطيور مجاميع التحدي عمر الطيور (٤٢) يوماً أي بعد أسبوعين من التحدي.

المقاييس الإحصائية	معايير أضداد مجموعة شاهد التحدي	معايير أضداد مجموعة التجربة التحدي
المتوسط الحسابي	4673	7233
الانحراف المعياري	219.2	131.52
الوسيط الحسابي	4673	7233
الحد الأدنى للمعايير بالقيمة المطلقة	4518	7140
الحد الأعلى للمعايير بالقيمة المطلقة	4828	7326



المخطط رقم (٢) المتوسط الحسابي لمعايير أضداد مرض الجراب المعدني لطيور مجاميع التحدي عمر الطيور (٤٢) يوماً أي بعد أسبوعين من التحدي

DISCUSSION

المناقشة

قدمت هذه الدراسة فكرة واضحة عن الاستجابة المناعية التي تبديها الطيور لدى استخدام المحسنات المناعية (خميرة الخبز أو البيرة *Brewer's yeast*) عند أحداث عدوى تجريبية (اختبار التحدي) بفيروس مرض خطير يصيب الدواجن ويؤثر على جهازها المناعي وهو مرض التهاب الجراب المعدني.

وعند مقارنة معايير الأضداد المناعية لمرض التهاب الجراب المعدني بين مجموعة طيور الشاهد التي أجري لها عدوى تجريبية، و لم يضاف إلى غذائها خميرة البيرة، و مجموعة طيور التجربة التي أضيف إلى غذائها خميرة البيرة طوال فترة التربية . بعمر (٣٤) يوماً والتي تم خمجها بفيروس الجمبورو تبين وجود فروق معنوية حيث كانت $p=0.01$ حيث بلغت المتوسطات الحسابية لمعايير الأضداد المناعية لمرض الجمبورو في مجموعة الشاهد (٣٨٠١)، بينما كانت القيم في مجموعة طيور التجربة (٦٠٨٨)، هذا ما يفسر لنا أن المحسن المناعي، وهو خميرة البيرة ساهمت في رفع مناعة الطيور التي تم خمجها بفيروس الجمبورو، مما ساهم على قدرتها على تحمل الإصابة بالعدوى فكانت معايير الأضداد المناعية النوعية لمرض الجمبورو في طيور التجربة التي تلقت مع غذائها الخميرة، أعلى من تلك في الشاهد التي لم تتلق مع غذائها الخميرة و توافقت الدراسة مع الباحثين (Navarro *et al.*, 1996) حيث أكدوا أن إضافة النيكلوتيدات النووية المناعية لها تأثير محفز للجهاز المناعي ويؤدي لإنتاج أضداد مناعية كما توافق مع الباحثين (Hirai and Shimakura., 1974) الذين أكدوا انخفاض معايير الأضداد المناعية ومستويات الحماية عند إجراء عدوى تجريبية بمرض الجراب المعدني لطيور بعمر ٤ أو ٦ أسابيع .

وعند مقارنة معايير الأضداد المناعية لمرض التهاب الجراب المعدني بين مجموعة طيور الشاهد، التي أجري لها عدوى تجريبية ومجموعة طيور التجربة بعمر (٤٢) يوماً والتي تم خمجها أيضاً بفيروس الجمبورو تبين وجود فروق معنوية حيث كانت $p=0.002$ حيث بلغت المتوسطات الحسابية لمعايير الأضداد المناعية لمرض الجمبورو في مجموعة الشاهد (٤٦٧٣) بينما كانت تلك القيم في مجموعة طيور التجربة (٧٢٣٣) هذا يفسر لنا أن (خميرة البيرة)، ساهمت في رفع قدرة الطيور على تحمل الإصابة بالعدوى التجريبية (التحدي) وكان هذا جلياً من خلال معايير الأضداد المناعية، بين مجموعة الدراسة والشاهد وهذا يتوافق مع نتائج الباحثين (Hirai and Shimakura., 1974).

توافقت هذه الدراسة أيضاً مع (Onifade and Babatunde, 1998) حيث أن إضافة خميرة الخبز تزيد مقاومة الطائر للأمراض المعدية، و أيضاً مع (Navarro *et al.*, 1996) حيث أكد أن إضافة النيكلوتيدات النووية المناعية لها تأثير محفز للجهاز المناعي، ويؤدي لإنتاج أجسام مضادة مناعية كما أنه يحسن إنتاج الأضداد (Ig) بشكل عام.

وتوافقت هذه النتائج مع العديد من الأبحاث السابقة التي استخدمت خميرة الخبز كمحسن للمناعة وللنمو حيث وجد (Yalcin *et al.*, 1993 and Yadav *et al.*, 1994) اتفاقاً مع هذه الدراسة.

وتوافقت مع الباحث (DormitorioA *et al.*, 2005) الذي تناول في دراسته العديد من المحسنات المناعية ومحسنات النمو كالعصيات اللبنية وبعض الخمائر ولاحظ ان جميعها يعمل على تحريض الاستجابة المناعية وبدرجات متفاوتة وبطرق آلية متقاربة التأثير على الجهاز المناعي.

CONCLUSION**الاستنتاج**

مما سبق نجد أنه تم الحصول على أفضل النتائج للاستجابة المناعية لدى إعطاء المحسنات المناعية مثل خميرة البيرة لدى أحداث عدوى تجريبية حيث أنها عززت ودعمت وأزرت الجسم في أحداث استجابة مناعية عالية من خلال تشكيل اجسام مضادة مناعية مقاومة للإصابة بفيروس التهاب الجراب المعدي

REFERENCES**المراجع**

- Adjei, A.A.; Takamine, F.; Yokoyama, H.; Shiokawa, K.; Matsumoto, Y. and Asto, L. (1993):* The effects of oral RNA and Intraperitoneal Nucleoside- Nucleotide Administration on Methillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infection in Mice. *Journal of Parenter Enteral Nutrition*. Vol. 17, No. 148-52.
- Aggett, R.; Leach, J.L.; Rueda, R. and Maclean, W.C. (2002):* Innovation in Infant Formula Development: A Reassessment of Ribonucleotides. *Nutrition Journal*, Vol. 19, No. 375-84.
- Bhattacharjee, J.K. (1970):* Microorganisms Potential Sources of food. *Adv. Appl. Microbiol.* Vol. 13., No. 139.
- Cameron, A. (1999):* Survey Tool Box for Livestock Diseases: A practical Manual and Software Package for Active Surveillance in Developing Countries. Australian Centre for International Agricultural Research. Australia.
- Carter, H.E. and Phillips, G.E. (1944):* The nutritive Value of yeast Protiaus. *Fed. Proc.* Vol.3, No.123.
- Carver, J.D. and Walker, W.A. (1995):* The role of Nucleotides in Human Nutrition. *Natural Biochemical Journal*, Vol. 6, No. 58-72.
- Cruichshank, G. (2002):* Gut microflora the key to healthy broiler growing. *Poultry World*, July, 14.
- Dormitorio A, T.V.; J.J. Giambrone AC; K. Guo A. and D.J. Jackwood B. (2007):* Molecular and Phenotypic Characterization of Infectious Bursal Disease Virus Isolates. *Avian Diseases* 51(2):597-600.
- Erf, G.F. (2004):* Cell-mediated immunity in poultry. *PoultSci*, 83:580-590.
- Hirai, K. and Shimakura, S. (1974):* f infectious bursal disease. virus *Viral* 14: 957-964. Isaacson, R.E. (eds.) *Gastrointestinal microbiology* No 2.P 537-587. Chapman and Hall, New York.
- Lee, L.H. and Lin, Y.P. (1992):* Amonoclonal antibody capture enzyme – linked Immunosorbent assay for Detecting antibodies to infectious bursal disease virus. *Journal of virological methods*, 36: 13-23.
- Mickolos, D.A.; Fewyer, G.A. and Crotty, D.A. (2003):* DNA Science. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Publisher, John Inglis. USA.
- Navarro, J.; Ruiz-Bravo, A.; Jimenz-Varela and M. Gil, A. (1996):* Modulation of Antibody-Forming Cell and Mutagen- Driven Lymph proliferative Response by Dietary Nucleotide in Mice. *Immunology Journal*, Vol. 53, No. 141.
- Onifade, A.A. and Babatunde, G.M. (1998):* Comparison of the utilization of palm kernel meal, brewers' dried grains and maize offal by broiler chicks. *Br. Poult .Sci.*, 39: 245-250
- Pick, E. and Mizel, D. (1981):* Rapid Microassays for the Measurement of Superoxide and Hydrogen Peroxidase Production by Macrophages in Culture Using an Automatic Immunoassay Reader. *Journal of Immanuel Methods*, Vol: 46:211-26.
- Statistics (1998):* Analytical Software, Guideline manual, Version, 2.0. USA.
- Stone, C. (1998):* Yeast products in the feed industry. Ed. By Mills, d. Inc. Cedar Rapids, Iowa., p. 10-11.
- Van Buren, C.T.; Klkarni, A.D.; Schandle, V.B. and Rudolph, F.B. (1983):* The Influence of Dietary Nucleotides on Cell-Mediated Immunity. *Transplantation Journal*, Vol. 36, No. 350-2.
- Wu, C.C. Dorairajan, T. and Lin, T.L. (2000):* Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 74: 145-152.

- Yadav, B.S.; Srivastava, R.K. and Shukla, P.K. (1994):* Effect of supplementation of the broiler ration with live yeast culture on nutrient utilization and meat production. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 11 (4): 225-227
- Yalcin, S.; Onol, A.G.; Kocal, D. and Ozcan, I. (1993):* The use of baker's yeast as a protein source in broiler ration. *Doga, Turk- Veterinerlik-ve-Hayvancilik-Dergisi*, 17 (4): 305-309.
- Yamauchi, K.; Hales, N.W.; Robinson, S.M.; Niehoff, M.L.; Ramesh, V. and Pellis, N.R. (2002):* Dietary Nucleotides Prevent Decrease in Cellular Immunity in Ground-Based Microgravity Analog. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 93, No. 161-6.
- Yamauchi, K.; Adjei, A.A.; Ameho, C.K.; Chan, Y.C. and Kulkarni, A.D. Sata. (1996):* A nucleoside-Nucleotide Mixture and Its Components Increase Lymphoproliferative and Delayed Hypersensitivity Responses in Mice. *Journal of Natural*, Vol. 126, No. 1571-7.
- Zander, D.V. (1978):* In *Disease of Poultry* (7 ed) Iowa State University Press. PP.3.