

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỊ CỦA KHÁNG THỂ LÒNG ĐỎ TRỨNG KHÁNG KHÁNG NGUYÊN 3-1E CỦA CẦU TRÙNG GÀ

*Huỳnh Văn Chương¹, Đinh Thị Bích Lan¹, Nguyễn Hữu Nam²,
Phùng Thăng Long³, Đặng Thanh Long¹, Lê Quốc Việt¹, Lê Đức Thọ¹,
Lê Công Thịnh¹, Đặng Thị Hương¹, Hoàng Thị Thùy Nhung¹, Phùng Lan Ngọc³*

TÓM TẮT

Chúng tôi đã nghiên cứu, chế tạo và đánh giá hiệu quả phòng trị của kháng thể lòng đỏ trứng kháng kháng nguyên 3-1E của cầu trùng gà. Gây miễn dịch cho gà bằng cách tiêm nhắc lại 3 lần, mỗi lần 1ml hỗn hợp bao gồm 50 µg kháng nguyên 3-1E tái tổ hợp, 300 µl tá chất Freund's, PBS vừa đủ. Bằng phương pháp đông khô đã thu được 6-7g bột lòng đỏ từ 1 quả trứng với hàm lượng kháng thể không dưới 12 mg/g bột. Sau khi hoàn nguyên với PBS theo tỷ lệ 1:9 (w/w), chế phẩm có hiệu giá kháng thể đặc hiệu đạt 1/128.000. Sử dụng bột lòng đỏ chứa kháng thể kháng 3-1E tái tổ hợp cho kết quả tốt trong phòng và trị bệnh cầu trùng do *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima* ở gà, như làm giảm tỷ lệ mắc bệnh, giảm tỷ lệ chết, giảm thải noãn nang, tăng tỷ lệ khỏi bệnh và tăng khả năng sinh trưởng của gà.

Từ khóa: Cầu trùng gà, Kháng nguyên tái tổ hợp 3-1E, Kháng thể IgY, Gây miễn dịch

Research on production and evaluation for prevention, treatment efficacy of egg yolk immunoglobulin against 3-1E antigene of chicken coccidia

*Huynh Van Chuong, Dinh Thi Bích Lan, Nguyen Huu Nam,
Phung Thang Long, Dang Thanh Long, Le Quoc Viet, Le Duc Thao,
Le Cong Thinh, Dang Thi Huong, Hoang Thi Thuy Nhung, Phung Lan Ngoc*

SUMMARY

This study aimed at production and evaluation for prevention-treatment efficacy of egg yolk immunoglobulin against 3-1E antigene of chicken coccidia. The experimental chickens were immunized by 3 repeated injection times, each injection dose was 1ml solution containing 50 µg of recombinant 3-1E antigene, 300 µl of Freund adjuvant and just enough PBS. By using lyophilized method, 6-7g of powder from 1 egg were obtained with antibody content was around 12mg/g. After reverting with PBS (1: 9, w/w) the solution presented specific antibody titer reaching 1/128.000. Using egg yolk powder containing antibodies against recombinant 3-1E antigene showed good results in prevention and treatment of coccidiosis that caused by *Eimeria acervulina*, *E.tenella*, *E.maxima* in chicken, such as: reducing morbidity, mortality, oocyst shedding as well as increasing recovery rate and growth performance.

Keywords: Chicken coccidiosis. Recombinant antigene 3-1E, IgY, Immunisation

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cầu trùng gà là một bệnh ký sinh trùng gây

thiệt hại nghiêm trọng cho ngành chăn nuôi gà trên toàn thế giới [11], trong đó có Việt Nam [1], [4]. Bệnh có tốc độ lây lan nhanh, gây chết với tỷ lệ cao ở gà con, làm giảm khả năng tăng trưởng cho toàn đàn và tăng tiêu tốn thức ăn [5].

¹ Viện Công nghệ sinh học - Đại học Huế

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Huế

Cho đến nay, phương pháp phòng trị bệnh cầu trùng ở gà chủ yếu là sử dụng thuốc kháng sinh, dẫn đến hiện tượng kháng thuốc, làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm và sức khỏe cộng đồng [8].

Vì vậy, chế tạo các chế phẩm có tác dụng phòng và trị bệnh cầu trùng là hết sức cần thiết.

Trong những thập niên qua, kháng thể lòng đỏ trứng đã được chứng minh là có vai trò quan trọng trong phòng và trị nhiều bệnh truyền nhiễm. Sử dụng kháng thể để điều trị là một trong những phương pháp thay thế kháng sinh hiệu quả. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chế tạo kháng thể lòng đỏ kháng kháng nguyên 3-1E tái tổ hợp và đánh giá hiệu quả của chế phẩm trong phòng và trị bệnh cầu trùng ở gà.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

- Oocyst (Noãn nang) cầu trùng (*Eimeria acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*) phân lập từ phân gà bị nhiễm cầu trùng (sau khi kiểm tra bằng phương pháp PCR).

- Kháng nguyên tái tổ hợp 3-1E do chúng tôi sản xuất [2], [3].

- Gà mái giống trứng Hy-Line, được tiêm đầy đủ các loại vaccin, không nhiễm bệnh cầu trùng.

- Tá chất Freund hoàn toàn và Freund không hoàn toàn (Sigma - Aldrich, Hoa kỳ).

- Hóa chất dùng trong phản ứng ELISA: Kháng nguyên 3-1E tái tổ hợp, Carbonate-Bicarbonate buffer (Sigma - Aldrich), Kháng thể thử kháng IgY có đánh dấu enzyme peroxidase (Promega), cơ chất OPD (O-phenylenediamine, Sigma - Aldrich) và một số hóa chất thông thường khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định liều lượng kháng nguyên thích hợp để gây miễn dịch

Gà mái thí nghiệm 18 con được chia thành

6 lô thí nghiệm: Lô 1 là lô đối chứng (không tiêm kháng nguyên), 5 lô nghiệm thử được gây đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên tái tổ hợp 3-1E ở các liều lượng khác nhau, lần lượt từ lô 2 đến lô 6 là 25; 50; 100; 150; 200 μ g. Kháng nguyên được pha trong 300 μ l chất bổ trợ (tá chất) và PBS vừa đủ để đạt thể tích tiêm là 1ml. Gà được tiến hành gây đáp ứng miễn dịch theo quy trình tiêm nhiều mũi nhắc lại vào cơ lườn. Mũi tiêm thứ hai cách mũi tiêm thứ nhất 10 ngày, mũi tiêm thứ ba cách mũi tiêm thứ hai 20 ngày. Ở mũi tiêm thứ nhất, kháng nguyên được pha với tá chất Freund hoàn toàn, ở mũi tiêm lần 2 và lần 3, kháng nguyên được pha với tá chất Freund không hoàn toàn. Sau khi gây miễn dịch cho gà, trứng được thu nhận theo từng lô vào các ngày thứ 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, sau đó tiến hành tách chiết kháng thể và thực hiện phản ứng ELISA để xác định lượng kháng thể IgY kháng kháng nguyên 3-1E trong từng lô gà. So sánh kết quả để tìm ra liều lượng kháng nguyên thấp nhất cho lượng kháng thể cao nhất.

2.2.2. Phương pháp ELISA xác định kháng thể

Cho vào mỗi giếng 100 μ l kháng nguyên cầu trùng (3-1E) tái tổ hợp đã pha với dung dịch Carbonate-Bicarbonate (5 μ g/ml). Mẫu chứa kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E được pha loãng bằng PBS 0,01 M vào các giếng. Kháng thể IgY đặc hiệu được phát hiện bằng cách bổ sung kháng thể thử kháng IgY cộng hợp (Horseradish peroxidase) và cơ chất OPD. Dừng phản ứng với 3M H_2SO_4 và đọc kết quả ở bước sóng 492nm.

2.2.3. Tách chiết IgY từ lòng đỏ trứng

Kháng thể IgY được tách chiết từ lòng đỏ trứng và tinh sạch dựa theo qui trình đã được Bizhanov [8] và Ko [11] mô tả có cải tiến. Sau khi được tách hết lòng trắng, lòng đỏ được rửa bằng nước cất và lăn trên khăn giấy đã vô trùng để loại lòng trắng bám dính. Hòa lòng đỏ trứng với nước cất (pH=6,0) theo tỷ lệ 1 lòng đỏ trứng: 9 nước cất, để ở 4°C qua đêm. Thu phần dịch nổi, lọc qua giấy lọc whatman No.1, bỏ cặn. Tủa dung dịch lọc chứa IgY với $(NH_4)_2SO_4$ với nồng độ 40% bão hòa ở 4°C trong 2 giờ. Ly tâm

bỏ dịch nổi thu phần cặn chứa IgY. Hòa tan phần cặn thu được trong 16 ml PBS và thẩm tích 24 giờ trong PBS 0,1 M để loại bỏ muối, thu IgY tinh khiết.

2.2.4. Đông khô bột lòng đỏ trứng

Bột lòng đỏ trứng được đông khô dựa theo qui trình đã được Thomas Jaekel [17] mô tả. Sau khi tách hết lòng trắng, lòng đỏ được bảo quản ở nhiệt độ -20°C trong 24 giờ và được đông khô bằng hệ thống đông khô trong 36 giờ.

2.2.5. Phương pháp đánh giá hiệu quả phòng bệnh

Thí nghiệm phòng bệnh được tiến hành trên 100 gà 30 ngày tuổi khỏe mạnh, không nhiễm bệnh cầu trùng, có khối lượng đồng đều. Gà được chia thành 2 lô. Lô đối chứng được ăn tự do thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh của Công ty Cargill. Lô thí nghiệm được ăn tự do thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh của Công ty Cargill trộn bột lòng đỏ chứa kháng thể kháng kháng nguyên 3-IE của cầu trùng với lượng 5g bột lòng đỏ trong 25 kg thức ăn; cho ăn liên tục trong 10 ngày. Gây nhiễm thực nghiệm bằng cách cho uống 10^5 noãn nang/ con. Tiếp tục cho gà ở lô thí nghiệm ăn thức ăn có trộn bột kháng thể thêm 5 ngày. Gà được theo dõi và so sánh về tỷ lệ mắc bệnh, tỷ lệ chết và khả năng tăng trọng giữa lô đối chứng và lô thí nghiệm.

2.2.6. Phương pháp đánh giá hiệu quả điều trị

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả điều trị của chế phẩm được tiến hành trên 200 gà 30 ngày tuổi khỏe mạnh, không nhiễm cầu trùng, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô (50 con/lô), tiến hành gây nhiễm 10^5 noãn nang/ gà, sau đó tiến hành điều trị bằng kháng thể hoặc kháng sinh. Liều lượng bột kháng thể dùng cho lô 1, 2, 3 lần lượt là 0,75g, 1,0 g và 1,25 g cho 50 con gà/ ngày (pha trong 1 lít nước cho gà uống tự do), uống 2 ngày liên tiếp. Lô 4 được uống thuốc đặc trị cầu trùng Baycox 2,5% với liều lượng 1ml hòa trong 1 lít nước, uống tự do trong 2 ngày. Các lô gà đều được bổ sung chất điện giải để phòng mất nước và được theo dõi về các chỉ

tiêu: Lượng oocyst thải ra trong phân sau khi điều trị, tỷ lệ khỏi bệnh và tăng trọng.

2.2.7. Phương pháp gây nhiễm

Gà được gây nhiễm bằng cách cho uống 100 μ l dung dịch chứa oocyst đã phát triển thành dạng gây nhiễm (10^6 oocyst/ml). Sau khi gây nhiễm, theo dõi biểu hiện của gà, khi thấy xuất hiện triệu chứng lâm sàng của cầu trùng thì lấy phân để xét nghiệm tìm oocyst [6].

2.2.8. Phương pháp kiểm tra oocyst trong phân gà

Oocyst cầu trùng được phân lập theo phương pháp lắng cặn và phù nổi [9], kiểm tra số lượng bằng buồng đếm Mc-Master [6] (theo tiêu chuẩn ngành 10TCN 726-2006) tại Phòng thí nghiệm Miễn dịch học và vacxin - Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế.

2.2.9. Phương pháp xử lý số liệu

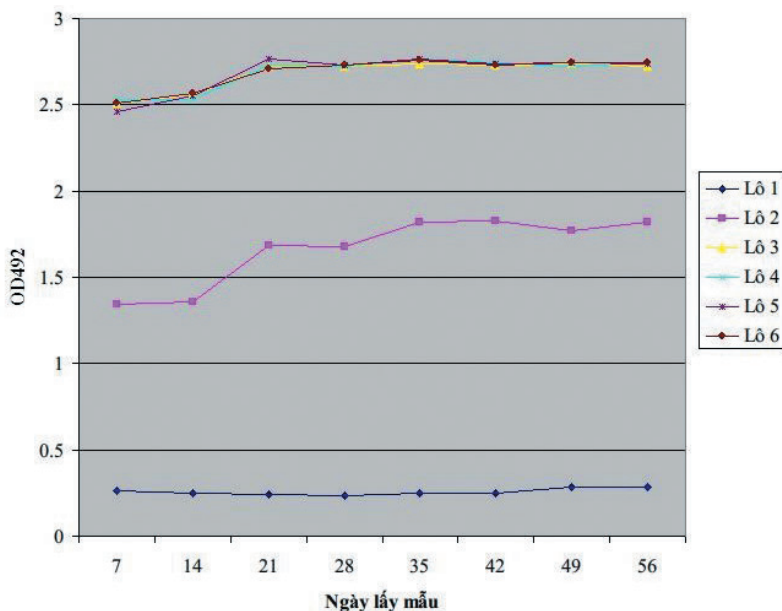
Số liệu thu thập được xử lý thống kê theo phương pháp phương sai (ANOVA) trên phần mềm Minitab phiên bản 14 và phương pháp Chi-square. Các kết quả được trình bày là giá trị trung bình và sai số của giá trị trung bình.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định liều lượng kháng nguyên thích hợp để gây miễn dịch cho gà

Sau khi gây miễn dịch cho gà, trứng được thu nhận theo từng lô gà vào các ngày thứ 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, sau đó tiến hành tách chiết kháng thể và thực hiện phản ứng ELISA để xác định lượng kháng thể IgY kháng kháng nguyên 3-IE. Kết quả được trình bày ở hình 1. So sánh lượng kháng thể thu được cho thấy các lô gà được tiêm kháng nguyên 3-IE với liều lượng từ 50 đến 200 μ g/con có lượng kháng thể trong lòng đỏ trứng cao tương đương nhau và duy trì ổn định cho đến kết thúc thời gian thí nghiệm là 56 ngày. Lô gà được tiêm kháng nguyên với liều lượng 25 μ g/ con cho lượng kháng thể thấp hơn nhiều so với các lô trên, lô đối chứng cho kết quả là âm tính. Như vậy lượng kháng nguyên thích hợp để gây tối miễn dịch cho gà là 50 μ g/con.

Kết quả ELISA xác định lượng kháng nguyên 3-1E thích hợp để gây tối miễn dịch cho gà



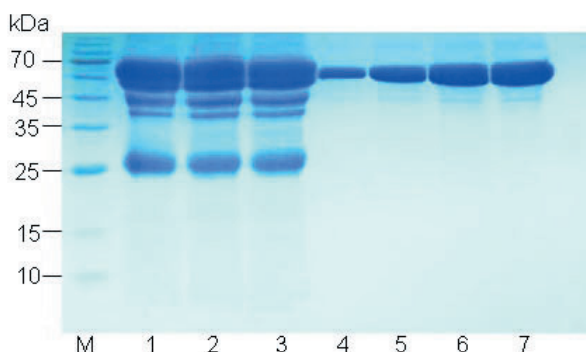
Hình 1. Kết quả ELISA khảo sát lượng kháng thể kháng 3-1E

Lô1: đối chứng-Không tiêm kháng nguyên, Lô 2, 3, 4, 5, 6: Tiêm kháng nguyên với liều 25µg/ gà, 50µg/ gà, 100µg/ gà, 150 µg/ gà và 200µg/ gà, tương ứng

3.2. Định lượng kháng thể IgY

Kháng thể sau khi tách chiết được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên gel (SDS-PAGE) trong điều kiện biến tính bằng β- mercaptoethanol để xác định nồng độ IgY tổng số. Kết quả ở hình 2 cho thấy trong dịch chiết từ lòng đỏ trứng gà có xuất hiện các băng protein với kích thước tương

ứng với chuỗi nặng (70 kDa) và chuỗi nhẹ (25 kDa) của kháng thể IgY. Đối chiếu với albumin chuẩn có khối lượng 500, 1000, 1500 và 2000 µg/ml, chúng tôi nhận thấy hàm lượng kháng thể IgY trong sản phẩm lòng đỏ có nồng độ 4 – 4,5 mg/ml. Như vậy, từ mỗi quả trứng chúng tôi thu được 80-90 mg kháng thể.



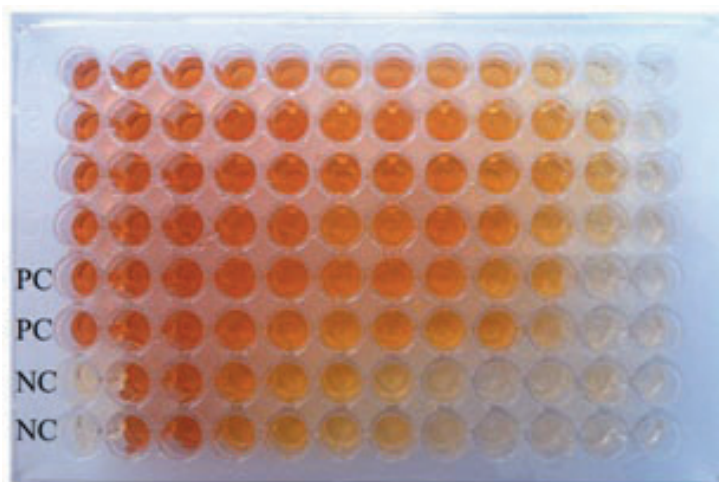
Hình 2. Ảnh điện di kháng thể IgY trên gel SDS-PAGE 12%

M: Thang protein chuẩn (10-170 kDa, BioBase); 1,2,3: Kháng thể lòng đỏ từ một quả trứng sau khi tách chiết được hòa trong 20ml PBS; 4, 5, 6, 7 lần lượt là albumin ở các nồng độ tương ứng: 500 µg/ml, 1000 µg/ml, 1500 µg/ml và 2000 µg/ml.

3.3. Xác định hiệu giá kháng thể trong chế phẩm lòng đỏ

Sau khi đông khô, từ 1 quả trứng chúng tôi thu được bình quân 6-7g bột. Bột lòng đỏ trứng sau khi hoàn nguyên trong dung dịch PBS theo tỷ lệ 1: 9 (w/w) được tiến hành phản ứng ELISA

để kiểm tra hiệu giá kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E. Kết quả kiểm tra 84 mẫu, chúng tôi thu được 4 mẫu đạt hiệu giá 1:128.000; 8 mẫu đạt hiệu giá 1:256.000; 72 mẫu đạt hiệu giá 1:512.000. Vậy chúng tôi kết luận, chế phẩm sau khi hoàn nguyên theo tỷ lệ 1: 9 đạt hiệu giá kháng thể đặc hiệu ít nhất là 1:128.000.



Hình 3. Ảnh kết quả ELISA một số mẫu kháng thể IgY3-1E

3.4. Đánh giá hiệu quả phòng bệnh của chế phẩm

Cho gà ăn thức ăn trộn bột lòng đỏ trong 10 ngày, sau đó tiến hành gây nhiễm thực nghiệm bằng cách cho uống 10^5 oocyst/gà. Gà được theo dõi tỷ lệ mắc bệnh vào ngày thứ 8, 9, 10 và tỷ lệ chết từ ngày thứ 8, 20 và 50 sau gây nhiễm.

Kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa 2 lô: lô gà thí nghiệm được cho ăn bột kháng thể vẫn khỏe mạnh, nhanh nhẹn, phát triển tốt, lông bóng mượt, phân khô; trong khi đó, gà ở lô đối chứng có biểu hiện ủ rũ, kém ăn, đi phân nhầy, có màu nâu-đỏ, xét nghiệm phân thấy có xoắn nang cầu trùng. Tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết của gà sau gây nhiễm được trình bày ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. So sánh tỷ lệ mắc bệnh cầu trùng ở gà được và không được phòng bệnh bằng kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E

Ngày kiểm tra (sau gây nhiễm)	Lô I (thí nghiệm)			Lô II (đối chứng)		
	Số gà kiểm tra	Số gà bệnh	Tỷ lệ bệnh cộng dồn (%)	Số gà kiểm tra	Số gà bệnh	Tỷ lệ bệnh cộng dồn (%)
Ngày thứ 8	50	5	10,00	50	42	84,00
Ngày thứ 9	45	0	10,00	8	1	86,00
Ngày thứ 10	45	0	10,00	7	1	88,00
Tổng	50	5	10,00	50	44	88,00

Tỷ lệ mắc bệnh cầu trùng (bảng 1) ở 2 lô gà có sự sai khác rõ rệt. Lô gà đối chứng không

được ăn bột kháng thể có tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết khá cao. Ngày thứ 8, thứ 9 và thứ 10 sau

Bảng 2 . So sánh tỷ lệ chết ở gà được và không được phòng bệnh bằng kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E

Ngày kiểm tra sau gây nhiễm	Lô I (thí nghiệm)			Lô II (đối chứng)		
	Số gà kiểm tra	Số gà chết	Tỷ lệ chết cộng dồn (%)	Số gà kiểm tra	Số gà chết	Tỷ lệ chết cộng dồn (%)
Ngày thứ 8	50	2	4,00	50	34	68,00
Ngày thứ 20	48	0	4,00	16	5	78,25
Ngày thứ 50	48	0	4,00	11	2	82,00
Tổng	50	2	4,00	50	41	82,00

khi gây nhiễm có 84% , 86% và 88% gà ở lô đối chứng có triệu chứng lâm sàng rõ rệt, trong khi đó tỷ lệ mắc bệnh ở lô thí nghiệm chỉ là 10% ở ngày thứ 8 và không có thêm gà bị bệnh ở những ngày tiếp theo. Tỷ lệ chết ở 2 lô gà (bảng 2) cũng sai khác có ý nghĩa biểu thị bằng tính toán thống kê. Ở lô gà không được ăn bột kháng thể, tỷ lệ chết vào các ngày 8, 20 và 50

sau gây nhiễm là 68; 78,25 và 82%, tương ứng. Trong khi đó, trong suốt thời gian thí nghiệm, tỷ lệ chết ở lô gà được ăn bột kháng thể chỉ là 4% và không có gà chết thêm trong suốt thời gian thí nghiệm tiếp theo. Kết quả ở các bảng trên đã chứng tỏ khả năng phòng bệnh của chế phẩm bột lòng đỏ chứa kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E cầu trùng.

Bảng 3. So sánh sinh trưởng của gà được / không được phòng bệnh bằng kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E

Khối lượng trung bình của gà (g/con)	Lô thí nghiệm		Lô đối chứng		P
	n	($\bar{m} \pm SE$)	n	($\bar{m} \pm SE$)	
30 ngày tuổi	50	359,20 $\pm$ 1,14	50	361,00 $\pm$ 1,04	0,10
90 ngày tuổi	48	1163,5 $\pm$ 7,10	9	1072,2 $\pm$ 39,20	<0,01
Tăng trọng toàn kỳ (g/con)	48	804,79 $\pm$ 7,27	9	708,9 $\pm$ 39,1	<0,01

Thí nghiệm được theo dõi trong 2 tháng, kết quả ở bảng 3 cho thấy có sự sai khác về khối lượng giữa lô thí nghiệm và lô đối chứng vào thời điểm 90 ngày tuổi. Lô được ăn bột kháng thể có khối lượng bình quân 1163,5 g/con, cao hơn so với lô đối chứng 1072,2 g/con. Tăng trọng bình quân toàn kỳ giữa 2 lô cũng sai khác có ý nghĩa ($P < 0,01$), tăng trọng bình quân ở lô thí nghiệm là 804,79 g/con, trong khi ở lô đối chứng là 708,9 g/con. Kết quả trên đã chứng tỏ khả năng phòng bệnh của chế phẩm bột lòng đỏ chứa kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E cầu trùng.

3.5. Đánh giá hiệu quả điều trị của chế phẩm

Thí nghiệm được tiến hành trên 4 lô gà, mỗi lô 10 con. Sau khi gây nhiễm, gà được điều trị

bằng kháng thể ở các liều lượng khác nhau hoặc bằng kháng sinh đặc trị cầu trùng. Kết quả điều trị được thể hiện ở bảng 4 và 5.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy lượng oocyst trong phân ở tất cả các lô gà đều giảm mạnh (trên 95%). Tuy nhiên, lượng oocyst ở lô 2 và lô 3 giảm mạnh hơn lô 1 và lô 4 (sai khác có ý nghĩa thống kê).

Kết quả ở bảng 5 cho thấy sau ngày điều trị thứ nhất, tỷ lệ khỏi bệnh đã có sai khác giữa các lô. Tuy nhiên sự sai khác này chưa có ý nghĩa thống kê. Sang đến ngày thứ 2, tỷ lệ khỏi bệnh đã có sai khác có ý nghĩa giữa các lô 1, lô 4 với các lô 2 và lô 3. Ở ngày thứ 3, tỷ lệ khỏi bệnh ở lô 2 và lô 3 đều đạt 100%, trong khi tỷ lệ này

Bảng 4. Lượng oocyst trong phân gà trước và sau điều trị

Lô thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Lượng oocyst/g phân		Tỷ lệ oocyst giảm (%)
		Trước điều trị (N1) ($\bar{m} \pm SE$)	Sau điều trị (N2) ($\bar{m} \pm SE$)	
Lô 1	10	13465 ^a $\pm$ 426	630 ^a $\pm$ 35,9	95,32
Lô 2	10	13385 ^a $\pm$ 352	490 ^b $\pm$ 18,0	96,34
Lô 3	10	13930 ^a $\pm$ 438	465 ^b $\pm$ 52,7	96,66
Lô 4	10	13925 ^a $\pm$ 412	625 ^a $\pm$ 29,1	95,51

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê

Bảng 5. Tỷ lệ khỏi bệnh của gà sau điều trị

Lô gà	Số gà TN	Số gà khỏi bệnh sau điều trị										Tổng số gà khỏi bệnh	Tỷ lệ khỏi bệnh (%)
		Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3		Ngày 4		Ngày 5			
		n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%		
Lô 1	50	7	14,0 ^{a,b}	26	52,0 ^a	40	80,0 ^a	48	96,0			48	96,0
Lô 2	50	12	24,0 ^b	47	94,0 ^b	50	100,0 ^b					50	100,0
Lô 3	50	13	26,0 ^b	47	94,0 ^b	50	100,0 ^b					50	100,0
Lô 4	50	5	10,0 ^a	25	50,0 ^a	40	80,0 ^a	46	92,0	47	94,0	47	94,0

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

chỉ đạt 80% ở lô 1 và lô 4. Tính đến ngày thứ 5, trong khi các lô được điều trị bằng kháng thể đạt tỷ lệ khỏi bệnh của lô 4 là thấp nhất (đạt 94%), 96 và 100%.

Bảng 6. Ảnh hưởng của kháng thể/kháng sinh lên sinh trưởng của gà

Khối lượng gà (g/con)	Lô 1		Lô 2		Lô 3		Lô 4	
	n	($\bar{m} \pm SE$)	n	($\bar{m} \pm SE$)	n	($\bar{m} \pm SE$)	n	($\bar{m} \pm SE$)
30 ngày tuổi	50	361 ^a $\pm$ 1,03	50	361 ^a $\pm$ 0,97	50	361 ^a $\pm$ 0,93	50	360 ^a $\pm$ 0,98
60 ngày tuổi	48	984 ^{ab} $\pm$ 7,02	50	991 ^a $\pm$ 7,24	50	994 ^a $\pm$ 6,95	47	972 ^b $\pm$ 6,73
120 ngày tuổi	48	1543 ^b $\pm$ 6,68	50	1582 ^a $\pm$ 7,92	50	1588 ^a $\pm$ 7,90	47	1540 ^b $\pm$ 6,70
Tăng toàn kỳ	48	1181^b $\pm$ 6,69	50	1220^a $\pm$ 8,30	50	1226^a $\pm$ 7,90	47	1180^b $\pm$ 6,81

Các chữ cái a, b trong cùng một hàng chỉ khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Bảng 6 cho thấy khối lượng ban đầu của gà ở các lô thí nghiệm là không có sai khác ($P > 0,05$). Sau khi gây nhiễm và điều trị, cả 3 lô gà được điều trị bằng kháng thể đều có tăng trọng nhanh hơn lô gà được điều trị bằng kháng sinh. Tuy nhiên, lúc gà 60 ngày tuổi chỉ có khối lượng của gà ở lô 2 và lô 3 có sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với lô 4 (điều trị bằng kháng sinh). Khối lượng gà lúc 120 ngày tuổi và tăng trọng trong toàn kỳ thí nghiệm chúng tôi nhận thấy có sự

khác biệt rõ giữa lô 2 hoặc lô 3 so với lô 1 hoặc lô 4 ($P < 0,05$), nhưng khi so sánh giữa lô 2 với lô 3, lô 1 với lô 4 thì không thấy sai khác có ý nghĩa thống kê. Như vậy, với liều kháng thể 1,0g và 1,25g cho 50 con, gà có tăng trọng tốt hơn so với gà được dùng kháng thể liều 0,75g/50 con và gà được điều trị bằng kháng sinh.

Kết quả trên cho thấy chế phẩm bột lòng đỏ trứng có chứa kháng thể kháng 3-1E có hiệu quả trong điều trị: làm giảm lượng oocyst trong

phân, tăng tỷ lệ khỏi bệnh, tăng khả năng sinh trưởng của gà. Chế phẩm này có hiệu quả cao khi sử dụng với liều lượng 1 g - 1,25 g cho 50 con gà.

Hiệu quả phòng trị bệnh cầu trùng của kháng thể lòng đỏ trứng của gà được gây tối miễn dịch cũng đã được ghi nhận trong nghiên cứu của nhiều tác giả [12], [14].

IV. KẾT LUẬN

Lượng kháng nguyên 3-1E tái tổ hợp thích hợp dùng để gây tối miễn dịch cho gà là 50µg/gà.

Sau khi đông khô, mỗi quả trứng gà cho 6-7g bột lòng đỏ đông khô với hàm lượng kháng thể khoảng 12 mg trong 1 g bột.

Bột lòng đỏ hoàn nguyên theo tỷ lệ 1: 9 (w/w) có hiệu giá kháng thể ít nhất là 1/128.000.

Sử dụng bột lòng đỏ chứa kháng thể kháng kháng nguyên 3-1E cho kết quả tốt trong phòng và trị bệnh cầu trùng do *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima* ở gà: làm giảm tỷ lệ mắc bệnh, giảm tỷ lệ chết, giảm thải phân, tăng tỷ lệ khỏi bệnh và tăng khả năng sinh trưởng của gà.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đinh Thị Bích Liên, Huỳnh Văn Chương, Đặng Thanh Long, Hoàng Tấn Quảng, Lê Đức Thọ, Lê Quốc Việt, Phùng Thăng Long. (2015), «Cải thiện mức độ biểu hiện kháng nguyên tái tổ hợp 3-1E của *Eimeria* trong *Escherichia coli* BL21 (DE3)». *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, 5 (25).
- Đinh Thị Bích Liên, Phùng Thăng Long, Đặng Thanh Long, Huỳnh Văn Chương, Hoàng Tấn Quảng, Lê Quốc Việt. (2015), «Tạo dòng và biểu hiện gene mã hóa kháng nguyên 3-1E từ *Eimeria* được phân lập tại Thừa Thiên Huế». *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. 7(22).
- Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Lê, Phạm Sĩ Lăng, Nguyễn Văn Quang, *Ký sinh trùng học thú y*. 2007, Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Đoàn Thị Thảo, Trần Đức Hoàn, Nguyễn Hữu Nam, Nguyễn Vũ Sơn. (2014), «Một số chỉ tiêu huyết học ở gà mắc bệnh cầu

trùng thực nghiệm». *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 4(12): p. 567-573.

- Bizhanov, G. and Vyshniauskis, G. (2000), “A Comparison of Three Methods for Extracting IgY from the Egg Yolk of Hens Immunized with Sendai Virus”. *Veterinary Research Communications*. 24(2): p. 103-113.
- Chapman HD. (1997), “Biochemical genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl”. *Avian Pathol*. 26: p. 221-224.
- Daugeschies A, Böse R, Marx J, Teich K, and KT., F. (2002), “Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts”. *Vet Parasitol*. 103(4): p. 299-308.
- Ko K.Y and Ahn D. (2006), “Preparation of Immunoglobulin Y from egg yolk using ammonium sulfate precipitation and ion exchange chromatography”. *Department of Animal Science*. 52: p. 176-182.
- Lillehoj HS and Lillehoj EP. (2000), “Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies”. *Avian Dis*. 44: p. 408-425.
- Lillehoj, H.S., Park, D. W., Jang, S. I., Morales, A., Garcí’a, D., Lucio, E., (2009), “Protective effect of hyperimmune egg yolk IgY antibodies against *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* infections”. *Veterinary Parasitology*. 163: p. 123-126.
- Thomas Jaekel, Kirsten Dautel, and Ternes, W. (2008), “Preserving functional properties of hen’s egg yolk during freeze-drying”. *Journal of Food Engineering* 87: p. 522-526.
- Xu, J., Ren, C., Wang, S., Liu, D., Cao, L., and Tao, J., (2013), “Protection Efficacy of Multivalent Egg Yolk Immunoglobulin against *Eimeria tenella* Infection in Chickens”. *Iran J Parasitol*. 8 (3): p. 449-458.

Nhận ngày 14-6-2016

Phản biện ngày 18-7-2016