

ĐÁNH GIÁ TÍNH AN TOÀN VÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA VACXIN CLOS-COLI PHÒNG HỘI CHỨNG TIÊU CHẢY DO VI KHUẨN *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TYPE C VÀ *E. COLI* GÂY RA TRÊN LỢN

**Đặng Thành Tâm, Trần Thị Khánh Chi, Vũ Thị Hoài,
Nguyễn Thị Huyền Trang, Vũ Thị Lua, Nguyễn Thanh Ba**
Công ty cổ phần Dược và Vật tư thú y (Hanvet)

TÓM TẮT

Vacxin vô hoạt CLOS-COLI do công ty Hanvet sản xuất, sử dụng cho lợn nái phòng bệnh viêm ruột hoại tử do vi khuẩn *C. perfringens* type C và bệnh tiêu chảy, phù đầu do vi khuẩn *E. coli* gây ra trên lợn con đã được đánh giá tính an toàn và đáp ứng miễn dịch trên động vật thí nghiệm cũng như trên lợn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, vacxin này an toàn khi tiêm gấp 4 liều sử dụng trên lợn nái; sản sinh kháng thể kháng *E. coli* cao gấp 4-4,5 lần trước miễn dịch, hiệu giá kháng thể kháng độc tố *C. perfringens* type C đạt 3,8-4,0 log₂. Vacxin CLOS-COLI có hiệu quả phòng bệnh do vi khuẩn *C. perfringens* type C và vi khuẩn *E. coli* tương đương với vacxin nhập ngoại trên thị trường.

Từ khóa: Vi khuẩn *C. perfringens*, *E. coli*, vacxin vô hoạt CLOS-COLI, an toàn, đáp ứng miễn dịch.

Assessing immune response and safety of CLOS-COLI vaccine preventing diarrhea symptoms caused by *Clostridium perfringens* type C and *E. coli* in pigs

**Dang Thanh Tam, Tran Thi Khanh Chi, Vu Thi Hoai,
Nguyen Thi Huyen Trang, Vu Thi Lua, Nguyen Thanh Ba**

SUMMARY

Inactivated vaccine namely CLOS-COLI produced by Hanvet company, used to prevent necrotic enteritis caused by *C. perfringens* type C in sows and diarrhea, edema diseases caused by *E. coli* bacteria in piglets was tested for safety and immune response in the experimental animals as well as in the pigs. The studied results showed that vaccine was safe when injected with 4 fold doses in the sows; the titer of anti-*E. coli* antibodies was 4-4.5 times higher than that of pre-immunization, the titer of anti-toxin *C. perfringens* type C reached 3.8-4.0 log₂. The efficacy of CLOS-COLI vaccine in preventing diseases caused by *C. perfringens* type C and *E. coli* bacteria was similar with efficacy of the imported vaccine in the market.

Keywords: *C. perfringens*, *E. coli* bacteria, CLOS-COLI inactivated vaccine, safety, immune response.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng tiêu chảy ở lợn con, một trong những bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, không chỉ là vấn đề của Việt Nam mà là vấn đề nan giải của thế giới. Một trong những tác nhân quan trọng và phổ biến là do vi khuẩn *C. perfringens* type C và vi khuẩn *E. coli* thường trú trong đường ruột. Bệnh gây tiêu chảy, phù đầu, viêm ruột hoại tử, rối loạn đường tiêu hóa,... Khi mắc bệnh, lợn thường tiêu chảy ra máu, phân thối khắm lẫn keo nhầy, gây chết nhanh với tỷ lệ cao, từ 50-100%.

Những nghiên cứu về vacxin và sinh phẩm phòng trị hội chứng tiêu chảy ở lợn con, trong đó có bệnh viêm ruột hoại tử, tiêu chảy và sung phù đầu, là mối quan tâm của nhiều quốc gia.

Hiện nay, thị trường đã lưu hành một số chế phẩm sinh học như Suiseng của Hipra, Colidex-C của CZvaccines, LitterGuard LT-C của Pfizer, ProSystem CE của Intervet ... dùng tiêm cho lợn nái, phòng và trị bệnh do vi khuẩn *C. perfringens* type C và vi khuẩn *E. coli* cho lợn con; tất cả các sản phẩm đều phải nhập khẩu, giá thành cao.

Để góp phần giảm thiểu thiệt hại cho người chăn nuôi, công ty Hanvet đã nghiên cứu và tạo ra sản phẩm vaccin vô hoạt CLOS-COLI sử dụng cho lợn nái để phòng bệnh viêm ruột hoại tử do vi khuẩn *C. perfringens* type C và bệnh tiêu chảy, phù đầu do vi khuẩn *E. coli* gây ra trên lợn con. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá tính an toàn và đáp ứng miễn dịch của vaccin trên động vật thí nghiệm cũng như trên lợn, nhằm cung cấp thêm thông tin hữu ích về sản phẩm cho đồng nghiệp và người chăn nuôi.

II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Giống vi khuẩn *C. perfringens* type C và vi khuẩn *E. coli* được lưu giữ tại công ty Hanvet, đã được giám định tại Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc Thú y trung ương I.

Vaccin vô hoạt CLOS-COLI với bổ trợ keo phèn do công ty Hanvet sản xuất, mỗi liều vaccin có chứa trên 1.000 MLD giải độc tố vi khuẩn *C. perfringens* type C, 1log₂ AGID giải độc tố vi khuẩn *E. coli*, trên 8×10⁹ CFU kháng nguyên vi khuẩn *E. coli*.

Vaccin vô hoạt X (Mỹ) được lưu hành trên thị trường, mỗi liều vaccin chứa kháng nguyên *E. coli* K88, K99, 987P và F41; giải độc tố LT-toxin của *E. coli* LTb và b-toxin của *Clostridium perfringens* type C.

Môi trường BHI (Merck code 1.10493.0500), Cook meat medium (Oxoid, code CM0081), Cook meat broth (Sigma, code 60865-500), TSC (Merck, code 1.11972.0500) và các hóa chất khác phục vụ nuôi cấy vi khuẩn.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuồn nhất trắng khỏe mạnh có trọng lượng từ 18-20g.

Thỏ Newzeland White khỏe mạnh, trọng lượng từ 1,5 - 2 kg.

Lợn nái mang thai khỏe mạnh giai đoạn cuối

trước khi sinh 2-5 tuần; chưa được dùng vaccin và chế phẩm phòng bệnh liên quan đến vi khuẩn *C. perfringens* type C và *E. coli*, có huyết thanh âm tính với kháng thể kháng *C. perfringens* và *E. coli*.

2.3. Nội dung nghiên cứu

Đánh giá tính an toàn của vaccin trên chuột nhắt trắng, thỏ và lợn nái mang thai.

Đánh giá tính sinh miễn dịch của vaccin trên động vật thay thế bằng phương pháp trung hòa huyết thanh và khả năng bảo hộ bằng phương pháp công cường độc.

Đánh giá tính sinh miễn dịch dịch thể của vaccin trên lợn nái và khả năng truyền kháng thể từ lợn mẹ sang lợn con bằng phương pháp trung hòa.

So sánh đáp ứng miễn dịch trên lợn nái của vaccin CLOS-COLI với sản phẩm ngoại nhập trên thị trường.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chế tạo kháng nguyên *C. perfringens* type C

Giống vi khuẩn *C. perfringens* type C được nuôi cấy trên hệ thống lên men yếm khí rồi thu hoạch canh khuẩn. Kiểm tra tính thuần khiết, mật độ vi khuẩn và hàm lượng độc tố thu được. Tách chiết thu độc tố, tinh chế và giải độc ở điều kiện 37°C trong 3-5 ngày. Giải độc tố được bảo quản ở 2-8°C, kiểm tra vô trùng và an toàn trước khi sử dụng để phối trộn vaccin CLOS-COLI.

2.4.2. Chế tạo kháng nguyên *E. coli*

Giống vi khuẩn *E. coli* được nuôi cấy trên hệ thống lên men hiếu khí rồi thu hoạch canh khuẩn. Kiểm tra tính thuần khiết, mật độ vi khuẩn và hàm lượng độc tố thu được. Tiến hành vô hoạt và giải độc canh khuẩn thu hoạch được ở điều kiện 37°C/24h. Kháng nguyên được bảo quản ở 2-8°C, kiểm tra vô trùng và an toàn trước khi sử dụng để phối trộn vaccin CLOS-COLI.

2.4.3. Đánh giá tính an toàn và đáp ứng miễn dịch của vaccin

Tiến hành theo tiêu chuẩn cơ sở TCTP-

SP-026/00 ban hành năm 2021 của công ty Hanvet về kiểm nghiệm vaccin CLOS-COLI, trên cơ sở tham khảo các tiêu chuẩn:

- Tiêu chuẩn của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA) năm 2000 về kiểm nghiệm vaccin giải độc tổ *Clostridium perfringens* type C (CQ Press, 2020).

- Tiêu chuẩn European Pharmacopoeia 5.0 năm 2005 về kiểm nghiệm vaccin *Clostridium perfringens* dùng trong thú y (COE, 2004).

- Tiêu chuẩn CVP3/2010/MHYM/040 của

Dược điển thú y Trung Quốc năm 2010 về kiểm nghiệm vaccin vô hoạt phòng bệnh viêm ruột ở lợn con do vi khuẩn *C. perfringens* type C.

- Tiêu chuẩn TCVN 8685-3-2011, về kiểm nghiệm vaccin vô hoạt phòng bệnh *E. coli* trên lợn.

2.4.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16 với mô hình thống kê phân tích phương sai một nhân tố với mức ý nghĩa $P = 0,05$.

2.4.5. Bố trí thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm đánh giá tính an toàn của vaccin trên chuột nhắt trắng và thỏ

Nhóm	Đối tượng	Liều tiêm	Số lượng (con)	Trọng lượng	Chỉ tiêu theo dõi
An toàn	Chuột	1 ml/con	10	18-20g	Biểu hiện lâm sàng sau tiêm vaccin
	Thỏ	2 ml/con	5	1,5- 2kg	Trọng lượng của động vật sau khi kết thúc 7 ngày theo dõi
Đối chứng	Chuột	Không tiêm	10	18-20g	Biểu hiện lâm sàng, trọng lượng của động vật sau khi kết thúc 7 ngày theo dõi
	Thỏ	Không tiêm	5	1,5- 2kg	

Bố trí thí nghiệm đánh giá tính an toàn của vaccin trên lợn nái

Nhóm	Đối tượng	Liều tiêm	Số lượng (con)	Giai đoạn	Chỉ tiêu theo dõi
An toàn	Lợn nái	2 liều vaccin	10	Mang thai trước sinh 2-3 tuần	Biểu hiện lâm sàng, phản ứng trước và sau khi tiêm vaccin
		3 liều vaccin	10		Thế trạng từ khi bắt đầu thí nghiệm đến trước khi sinh
		4 liều vaccin	10		
Đối chứng		Không tiêm	5		Thế trạng từ khi bắt đầu thí nghiệm đến trước khi sinh

Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu lực thành phần *E. coli* trên chuột nhắt trắng

Nhóm	Liều tiêm	Liệu trình	Số lượng (con)	Trọng lượng	Chỉ tiêu theo dõi
Miễn dịch	1/10 liều vaccin	Miễn dịch 2 lần cách nhau 21 ngày	20	18-20g	Hiệu giá kháng thể tại thời điểm D21 và D35
Đối chứng		Không tiêm	10		Hiệu giá kháng thể tại thời điểm D0

Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu lực thành phần *C. perfringens* trên thỏ

Nhóm	Liều tiêm	Liệu trình	Số lượng (con)	Trọng lượng	Chỉ tiêu theo dõi
Miễn dịch	1/2 liều vaccin	Miễn dịch 1 lần	4	1,5- 2 kg	Hiệu giá kháng thể (HGKT) trung hòa và tỷ lệ bảo hộ sau công cường độc tại thời điểm D14
Đối chứng		Không tiêm	2		HGKT trung hòa và số lượng chết sau công cường độc tại thời điểm D14

Bố trí thí nghiệm đánh giá đáp ứng miễn dịch của vaccin trên lợn mẹ và lợn con

Nhóm	Đối tượng	Liều tiêm	Liệu trình	Số lượng (con)	Chỉ tiêu theo dõi
Miễn dịch	Lợn nái mang thai trước sinh 4-5 tuần	1 liều vaccin	Miễn dịch 2 lần, trước sinh 4-5 tuần và 2-3 tuần	10	HGKT của lợn mẹ trước miễn dịch và sau sinh HGKT trong sữa đầu HGKT của lợn con sau sinh trước bú và thời điểm D1, D3, D7, D10
Đối chứng			Không tiêm	5	

Bố trí thí nghiệm so sánh đáp ứng miễn dịch của 2 loại vaccin

Nhóm	Đối tượng	Liều tiêm	Liệu trình	Số lượng (con)	Chỉ tiêu theo dõi
Vaccin CLOS-COLI	Lợn nái mang thai trước sinh 4-5 tuần	1 liều vaccin	Miễn dịch 2 lần, trước sinh 4-5 tuần và 2-3 tuần	10	HGKT của lợn mẹ trước miễn dịch và sau sinh
Vaccin X (Mỹ)				10	

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**3.1. Tính an toàn của vaccin CLOS-COLI**

Sau khi tiêm 3 lô vaccin CLOS-COLI cho 3 nhóm động vật, toàn bộ các nhóm đều khỏe mạnh, ăn uống vận động bình thường, lông da mượt; không có phản ứng toàn thân cũng như

không có phản ứng cục bộ tại vị trí tiêm; thể trạng tương tự như nhóm đối chứng không tiêm. Hai nhóm chuột nhắt trắng và thỏ được kiểm tra trọng lượng trước và sau khi kết thúc thí nghiệm. Kết quả theo dõi tỷ lệ tăng trọng được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ tăng trọng của động vật thí nghiệm sau khi tiêm vaccin CLOS-COLI

Nhóm	Đối tượng	Trọng lượng trung bình (g)		Tỷ lệ tăng trọng (%)
		Trước khi tiêm vaccin	Kết thúc theo dõi	
AT1	Chuột	18,4±0,05	22,7±0,082	23,36
	Thỏ	1860±26	2185±4,80	17,47
AT2	Chuột	18,2±0,02	22,45±0,02	23,35
	Thỏ	1885±34	2210±9,80	17,24
AT3	Chuột	18,6±0,04	22,9±0,082	23,11
	Thỏ	1820±16	2145±10,50	17,85
Đối chứng	Chuột	18,1±0,09	22,32±0,073	23,31
	Thỏ	1876±38	2204±17,3	17,48

Đối với nhóm chuột nhắt trắng, sau khi kết thúc theo dõi tỷ lệ tăng trọng lần lượt là 23,36%; 23,35% và 23,11%; so với nhóm đối chứng là 23,31%. Như vậy, tỷ lệ tăng trọng của nhóm thí nghiệm và đối chứng là tương đương nhau. Đối

với nhóm thỏ, kết quả thu được cũng tương tự. Tỷ lệ tăng trọng của nhóm thí nghiệm lần lượt là 17,47%; 17,24%; 17,85%; còn nhóm đối chứng đạt 17,48%. Sử dụng mô hình thống kê phân tích phương sai một nhân tố cho thấy không có

sự khác biệt có ý nghĩa giữa trọng lượng của các nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng.

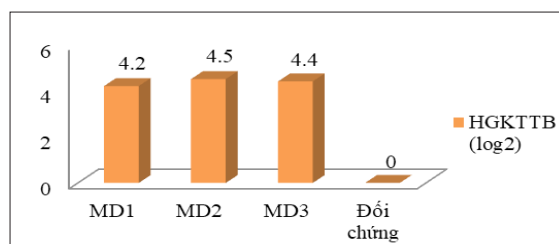
Ở nhóm lợn nái, với cả 3 liều tiêm (2, 3 và 4 liều vaccin; tương ứng với 4, 6 và 8 ml/con), toàn bộ số lợn từ khi bắt đầu thí nghiệm đến trước khi sinh đều khỏe mạnh, không có hiện tượng bị sảy thai hay bất kỳ phản ứng nào khác như ốm, sốt... Có thể thấy rằng, vaccin CLOS-COLI có độ an toàn rất cao, với liều tiêm gấp 4 lần liều vaccin, cũng không ảnh hưởng đến sức khỏe của động vật được tiêm.

Bảng 2. Hiệu giá kháng thể kháng *E. coli* trước và sau miễn dịch

Nhóm	Hiệu giá kháng thể sau miễn dịch lần 1 (log ₂)										
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	TB
MD1	3	4	4	3	6	5	4	6	2	5	4,2
MD2	5	3	5	6	4	3	4	5	6	4	4,5
MD3	4	5	4	6	5	3	2	4	5	6	4,4
Đối chứng	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: C: Chuột, TB: Trung bình

Theo TCVN 8685-3:2011, huyết thanh nhóm miễn dịch phải có hiệu giá ngưng kết với kháng nguyên của các chủng *E. coli* có trong vaccin tăng ít nhất 4 lần so với nhóm đối chứng. Kết quả kiểm tra cho thấy, hiệu giá kháng thể kháng *E. coli* trung bình ở các nhóm miễn dịch khác nhau là tương đương nhau, chỉ cần miễn dịch 1 lần đã kích thích sinh lượng kháng thể đủ khả năng bảo hộ miễn dịch dịch thể, đáp ứng được tiêu chuẩn kiểm nghiệm mà không cần phải chờ kết quả miễn dịch lần thứ hai. Hàm lượng kháng thể kháng *E. coli* của các nhóm miễn dịch được thể hiện qua biểu đồ 1.



Hình 1. Hiệu giá kháng thể kháng *E. coli* trung bình ở chuột trước và sau miễn dịch

3.2. Đáp ứng miễn dịch của vaccin CLOS-COLI trên động vật

3.2.1. Đáp ứng miễn dịch của kháng nguyên *E. coli* trên chuột nhắt trắng

Qua kiểm tra huyết thanh sau lần miễn dịch đầu tiên, chúng tôi nhận thấy thành phần *E. coli* đã kích thích sản sinh đáp ứng miễn dịch trên chuột nhắt trắng, hiệu giá kháng thể trung bình của nhóm miễn dịch cao hơn 4 lần nhóm đối chứng, hiệu giá ngưng kết trung bình đạt ít nhất 4,2 log₂. Kết quả trình bày trong bảng 2.

Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Zhao *et al.* (2022) sau khi miễn dịch vaccin đa giá có chứa độc tố SLS (STa-LTB-STb) và fimbriae (F4, F5, F6, F18, và F41) cho chuột nhắt trắng, kháng thể IgG đặc hiệu kháng SLS và kháng fimbriae trong huyết thanh của chuột được tiêm cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng.

3.2.2. Đáp ứng miễn dịch của kháng nguyên *C. perfringens* type C trên thỏ

Thỏ đối chứng và thí nghiệm được tiến hành lấy máu tại thời điểm D0. Sau tiêm vaccin 14 ngày, tiến hành lấy máu cả hai nhóm kiểm tra hiệu giá kháng thể trung hòa trước khi tiến hành thử thách miễn dịch với liều chí tử (công cường độc). Kết quả thu được ở bảng 3.

Kết quả kiểm tra bằng phương pháp trung hòa thời điểm D0 hàm lượng kháng thể trong máu ở cả nhóm miễn dịch và đối chứng đều âm tính. Tuy nhiên sau miễn dịch, thành phần *C. perfringens* type C gây đáp ứng miễn dịch rất tốt trên thỏ, hiệu giá kháng thể tăng mạnh, đạt

từ 3,8- 4,0 log₂. Như vậy khi miễn dịch, thành phần *C. perfringens* type C đã kích thích cơ thể sản sinh kháng thể trong máu đạt giá trị cao hơn so với tiêu chuẩn yêu cầu hiệu giá trung hòa trên chuột là 1 (0,1 ml huyết thanh trung hòa 1MLD độc tố). Bằng phương pháp thử thách miễn dịch, tỷ lệ bảo hộ trên thỏ miễn dịch ở cả 3 nhóm sử dụng vaccin đều đạt tỷ lệ sống 100%. Trong khi thỏ đối chứng sau khi tiêm, xuất hiện triệu chứng thần kinh như mất điều hòa vận động, sau đó nằm bẹp, co giật và chết vòng 1-2 giờ. Do chết rất nhanh nên kết quả mổ khám cho thấy thỏ đối chứng chỉ có hiện tượng nhồi huyết ở tim. Trong khi 3 nhóm thỏ miễn dịch vẫn khỏe mạnh, ăn

uống bình thường từ sau khi công cường độc cho đến hết thời gian theo dõi. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của một số nhóm nghiên cứu khác. Theo Springer và Selbitz (1999), khi miễn dịch vaccin giải độc tố *C. perfringens* type C cho thỏ, đã kích thích sản sinh kháng độc tố β trong huyết thanh thỏ với giá trị >10 IU/ml huyết thanh. Kết quả nghiên cứu của Zeng *et al.* (2011) đã chứng minh động vật thí nghiệm được miễn dịch các độc tố tái tổ hợp α (CPA), β 2/ β 1 (B2B1) và α / β 2/ β 1 (CPAB2B1) đều có đáp ứng miễn dịch mạnh khi được thử thách với độc tố *C. perfringens* type C có độc lực cao.

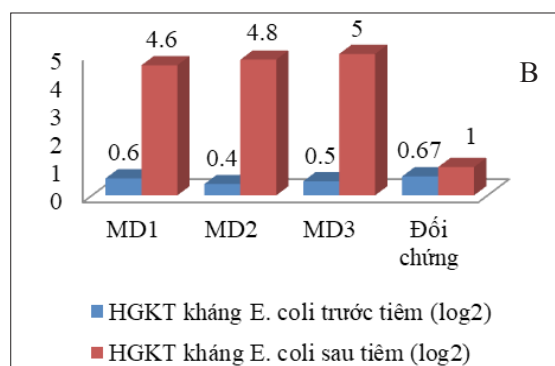
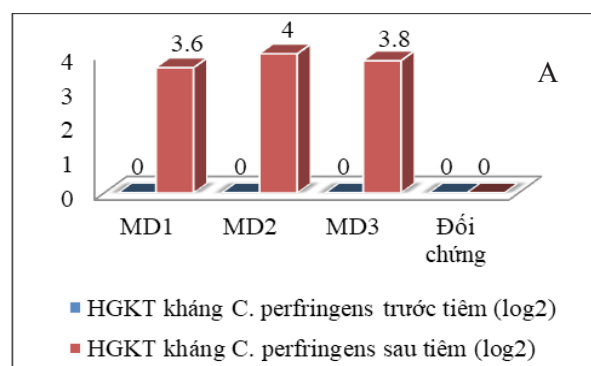
Bảng 3. Kết quả đánh giá đáp ứng miễn dịch của kháng nguyên *C. perfringens* type C trên thỏ

Nhóm	Hiệu giá kháng thể (log ₂)		Công cường độc	
	D0	D14	Số sống/Số công	Tỷ lệ bảo hộ (%)
MD1	-	3,8	4/4	100
MD2	-	4,0	4/4	100
MD3	-	4,0	4/4	100
Đối chứng	-	-	0/2	0

3.2.3. Đáp ứng miễn dịch trên lợn nái

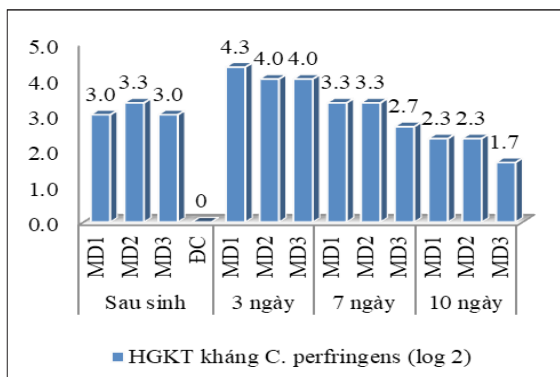
Đáp ứng miễn dịch của vaccin CLOS-COLI trên đối tượng lợn nái được chúng tôi đánh giá

thông qua theo dõi biến động hàm lượng kháng thể kháng *C. perfringens* cũng như kháng thể kháng *E. coli* trước và sau khi tiêm vaccin. Kết quả theo dõi được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Biến động hàm lượng kháng thể kháng *C. perfringens* (A) và kháng thể kháng *E. coli* (B) của lợn mẹ trước và sau khi tiêm vaccin

Qua kết quả kiểm tra kháng thể có trong máu lợn nái được miễn dịch đủ 2 mũi vaccin, có thể thấy rằng kháng thể sản sinh ra có hiệu giá tương đồng so với khi kiểm nghiệm trên động vật thay thế là thỏ và chuột. Đối với nhóm miễn dịch, hàm lượng kháng thể kháng *E. coli* thấp nhất đạt giá trị 4,6 log₂ tại thời điểm D28, tăng cao hơn 4 lần so với trước miễn dịch, đạt yêu cầu của tiêu chuẩn TCVN 8685-3:2011. Tương tự, kháng thể kháng *C. perfringens* type C nhóm miễn dịch đạt 3,6-4,0 log₂ tại thời điểm D28, trong khi đó nhóm đối chứng kháng thể vẫn âm tính. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Zeng *et al.* (2011), các kháng thể trung hòa đặc hiệu đối với độc tố *C. perfringens* đã được phát hiện trong huyết thanh và sữa non của lợn nái sau khi được tiêm phòng bằng các độc tố tái tổ



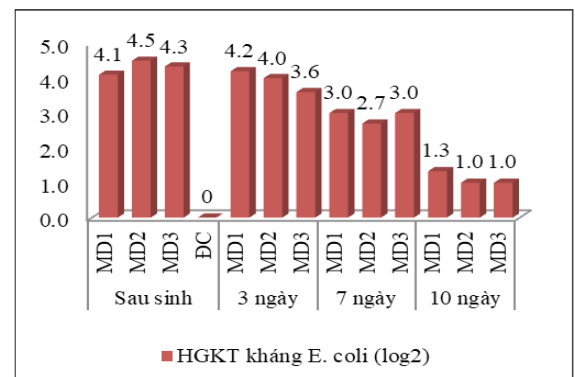
Hình 3. Hàm lượng kháng thể kháng *C. perfringens* của lợn con

Nhìn vào biểu đồ ta có thể thấy được sự khác biệt rõ rệt giữa lợn con được sinh ra từ lợn mẹ được tiêm phòng và lợn con được sinh ra từ lợn mẹ không được tiêm vaccin (đối chứng). Với lợn mẹ được tiêm vaccin, lợn con sau sinh trước bú đã nhận được một lượng kháng thể từ lợn mẹ truyền sang trong quá trình mang thai; tiếp đó sẽ được hấp thụ thêm kháng thể thụ động thông qua sữa, giúp cho lượng kháng thể trong máu luôn được duy trì, đạt mức cao nhất ở ngày thứ 3, sau đó giảm dần. Đến thời điểm 10 ngày sau sinh, lượng kháng thể trong máu vẫn duy trì đạt ngưỡng bảo hộ. Kháng thể *C. perfringens* ổn định với hiệu giá trung bình là 2log₂, tuy nhiên

hợp CPA, CPB2B1 và CPAB2B1. Đây là cơ sở cho việc phát triển vaccin thương mại chống lại bệnh tiêu chảy do độc tố vi khuẩn *C. perfringens* gây ra ở lợn.

3.2.4. Biến động hàm lượng kháng thể ở lợn con trên lợn nái được tiêm vaccin

Lợn mẹ sau khi được tiêm vaccin theo đúng liệu trình, cơ thể sẽ kích thích sản sinh ra kháng thể chủ động, kháng thể đó sẽ truyền sang lợn con qua sữa, giúp lợn con ngay sau khi sinh đã có nguồn kháng thể thụ động giúp phòng bệnh tốt hơn. Kết quả đánh giá lượng kháng thể lợn con nhận được từ lợn mẹ sau khi sinh, cũng như thời gian kháng thể còn duy trì trong máu, được trình bày trong hình 3 và 4.



Hình 4. Hàm lượng kháng thể kháng *E. coli* của lợn con

kháng thể *E. coli* giảm mạnh, hiệu giá trung bình chỉ còn 1log₂. Như vậy với lượng kháng thể thụ động nhận từ lợn mẹ thông qua máu và sữa, có thể giúp bảo vệ lợn con giảm thiểu nguy cơ nhiễm hội chứng tiêu chảy do vi khuẩn *C. perfringens* type C và *E. coli* gây ra.

Nhóm nghiên cứu của Riising *et al.* (2005) khi đánh giá hiệu quả của vaccin có chứa các yếu tố độc lực F4ab, F4ac, F5, F6 và giải độc tố không bền nhiệt (LT) dùng phòng bệnh tiêu chảy do *E. coli* gây ra ở lợn con, cũng có kết luận tương tự, vaccin rất hiệu quả trong việc bảo vệ lợn con sơ sinh chống lại bệnh tiêu chảy do

E. coli. 7 ngày sau thử thách với chủng cường độc tương ứng; 87,5% số lợn con từ những lợn nái được tiêm phòng vẫn không có dấu hiệu lâm sàng; trong khi chỉ có 28,0% số lợn con từ lợn nái không tiêm phòng vẫn khỏe mạnh và 1% số lợn con trong nhóm này chết.

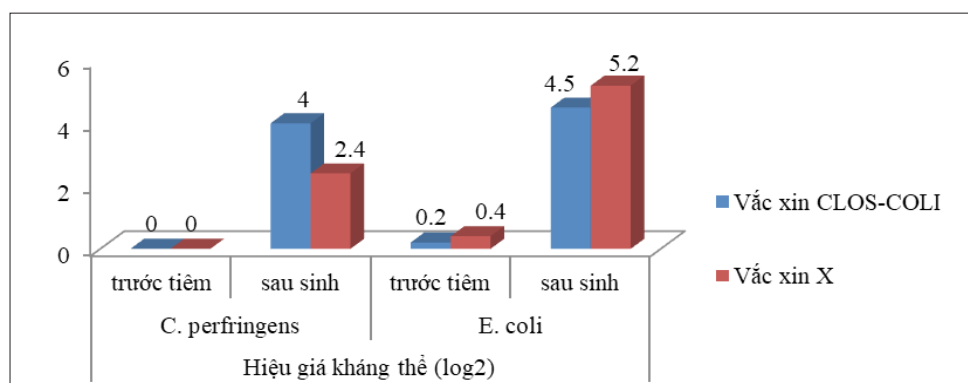
Trong nghiên cứu của Richard *et al.* (2019), lợn hậu bị sau khi tiêm hai mũi vaccin có hiệu giá kháng thể kháng độc tố β (CPB) rất thấp, 4/9 cá thể trong nghiên cứu không phát hiện được kháng thể trung hòa độc tố trong huyết thanh và trong sữa non, 5/9 cá thể kháng thể trung hòa độc tố nhưng ở mức thấp. Hiệu giá kháng thể kháng độc tố CPB tăng cao rõ rệt trong huyết thanh và sữa non của lợn nái đã đẻ nhiều lứa và đã được tiêm vaccin nhiều hơn 2 lần.

Trong nghiên cứu này, lợn thí nghiệm là lợn

nái trước đây chưa từng được tiêm vaccin nhưng sau khi tiêm 2 mũi vaccin, kháng thể kháng độc tố đã tăng cao và đồng đều ở tất cả lợn thí nghiệm. Mức kháng thể trong huyết thanh lợn con sinh ra từ những lợn nái này cũng có kháng thể cao tương ứng.

3.2.5. So sánh đáp ứng miễn dịch trên lợn nái giữa vaccin CLOS-COLI và vaccin X (Mỹ) trên thị trường

Hiệu quả của vaccin CLOS-COLI trên lợn nái mang thai được chúng tôi so sánh với vaccin X (Mỹ) được mua trên thị trường. Kết quả kiểm tra hàm lượng kháng thể kháng *C. perfringens* cũng như kháng thể kháng *E. coli*, trước miễn dịch và sau khi sinh của cả 2 nhóm thí nghiệm được trình bày ở hình 5.



Hình 5. Hàm lượng kháng thể khi miễn dịch vaccin CLOS-COLI và vaccin X

Kiểm tra bằng phương pháp trung hòa, hàm lượng kháng thể kháng *C. perfringens* type C có trong máu của cả 2 nhóm miễn dịch đều đạt giá trị cao hơn so với tiêu chuẩn yêu cầu hiệu giá trung hòa trên chuột là 1 (0,1 ml huyết thanh trung hòa 1 MLD độc tố). Khi miễn dịch với vaccin CLOS-COLI cho HGKT kháng *C. perfringens* trung bình $4\log_2$ cao gấp 1,67 lần so với nhóm tiêm vaccin X (Mỹ), HGKT chỉ đạt $2.4\log_2$. Kiểm tra kháng thể kháng *E. coli* bằng phản ứng ngưng kết, HGKT trong máu ở cả 2

nhóm sau miễn dịch đều tăng cao hơn 4 lần so với trước miễn dịch. Trong đó, HGKT kháng *E. coli* ở nhóm tiêm vaccin X đạt $5,2\log_2$; cao hơn 1,15 lần nhóm tiêm vaccin CLOS-COLI (chỉ đạt $4,5\log_2$). Như vậy, so sánh hàm lượng kháng thể trong máu lợn khi tiêm 2 loại vaccin trên chúng tôi thấy đều đáp ứng được tiêu chuẩn cơ sở TCTP-SP-026/00 của công ty Hanvet, vaccin CLOS-COLI có hiệu quả phòng bệnh và chất lượng tương đương sản phẩm ngoại nhập trên thị trường.

IV. KẾT LUẬN

Vaccine CLOS-COLI do công ty Hanvet sản xuất an toàn trên động vật thay thế, và an toàn trên lợn nái mang thai khi tiêm gấp 4 lần liều sử dụng.

Cả hai thành phần kháng nguyên *C. perfringens* type C và *E. coli* của vaccine đều gây đáp ứng miễn dịch tốt trên động vật thí nghiệm, tỷ lệ bảo hộ đạt 100%.

Khi tiêm vaccine cho lợn nái, đã kích thích sản sinh kháng thể kháng *E. coli* cao gấp 4-4,5 lần trước miễn dịch; hiệu giá kháng thể kháng độc tố *C. perfringens* type C đạt 3,8-4,0 log₂; đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm. Kháng thể từ lợn mẹ được tiêm phòng vaccine đầy đủ đã truyền sang lợn con, duy trì ở lợn con đến trên 10 ngày sau sinh, giúp phòng bệnh do vi khuẩn *C. perfringens* type C và *E. coli* gây ra.

Vaccine CLOS-COLI có hiệu quả phòng bệnh và chất lượng tương đương sản phẩm ngoại nhập trên thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. COE, 2004. *Clostridium perfringens* vaccine for veterinary use. *European Pharmacopoeia*, 747–749. http://library.njucm.edu.cn/yaodian/ep/EP5.0/09_monographs_on_vaccines_for_veterinary_use/Clostridium_perfringens_vaccine_for_veterinary_use.pdf
2. CQ Press., 2020. Animal and plant health inspection service. *Federal Regulatory Guide*, 593–598. <https://doi.org/10.4135/9781544377230.n44>
3. Richard, O. K., Grahofer, A., Nathues, H., & Posthaus, H., 2019. Vaccination against *Clostridium perfringens* type C enteritis in pigs: A field study using an adapted vaccination scheme. *Porcine Health Management*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0127-8>
4. Riising, H. J., Murmans, M., & Witvliet, M., 2005. Protection against neonatal *Escherichia coli* diarrhoea in pigs by vaccination of sows with a new vaccine that contains purified enterotoxigenic *E. coli* virulence factors F4ac, F4ab, F5 and F6 fimbrial antigens and heat-labile *E. coli* enterotoxin (LT) toxoid. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 52(6), 296–300. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2005.00857.x>
5. Springer, S., & Selbitz, H. J., 1999. The control of necrotic enteritis in sucking piglets by means of a *Clostridium perfringens* toxoid vaccine. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 24(3), 333–336. [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(99\)00050-4](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(99)00050-4)
6. Zeng, J., Deng, G., Wang, J., Zhou, J., Liu, X., Xie, Q., & Wang, Y., 2011. Potential protective immunogenicity of recombinant *Clostridium perfringens* α - β 2- β 1 fusion toxin in mice, sows and cows. *Vaccine*, 29(33), 5459–5466. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.059>
7. Zhao, H., Xu, Y., Li, G., Liu, X., Li, X., & Wang, L., 2022. Protective efficacy of a novel multivalent vaccine in the prevention of diarrhea induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* in a murine model. *Journal of Veterinary Science*, 23(1), 1–14. <https://doi.org/10.4142/JVS.21068>
8. TCVN 8685-3-2011. Quy trình kiểm nghiệm vaccine – Phần 3: Vaccine *E. coli* của lợn
9. Tiêu chuẩn CVP3/2010/MHYM/040 - Dược điển thú y Trung Quốc 2010.

Ngày nhận 5-1-2022

Ngày phản biện 13-2-2022

Ngày đăng 1-11-2022