

Xác định liều điều trị của chế phẩm KT04 -bột kháng thể lòng đỏ trứng đối với bệnh tiêu chảy do *E.coli* ở lợn con sau cai sữa

*Nguyễn Đình Đăng¹, Nguyễn Thị Hồng Thắm²,
Nguyễn Ngọc Kiên¹, Nguyễn Việt Không³*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định liều điều trị của chế phẩm bột kháng thể lòng đỏ trứng kháng đặc hiệu F4-pili của *E.coli*, trong đó 1 gam thành phẩm khi hoàn nguyên trong 1 ml PBS có 3 x 1: 640 hiệu giá Ab-ELISA. Đối tượng điều trị là lợn con sau cai sữa mắc tiêu chảy do F4 *E.coli* tại thực địa với hiện trạng có ít nhất 11/30 (36,67 %) mẫu phân có *E.coli* dung huyết, trong đó có 68,75% chủng phân lập mang gen mã hóa F4-pili xác định bằng PCR và ít nhất 1 loại độc tố đường ruột LT/STa/Stb xác định bằng multiplex PCR. Liều điều trị của chế phẩm lòng đỏ trứng KT04 với đối tượng lợn con tiêu chảy tại thực địa này là 1gam/kg thể trọng, cho kết quả ổn định sau 3 lần lập lại với tỷ lệ lành bệnh 70%, sai số giữa các lô không đáng kể. Kết quả này chứng tỏ chế phẩm KT04 (khi không kết hợp với thuốc hỗ trợ khác) có hiệu quả đặc trị đối với lợn con tiêu chảy sau cai sữa do F4 *E.coli*. Kết quả này mở ra hướng phát triển các sinh phẩm đặc trị, sử dụng kháng thể đặc hiệu kháng pili tinh khiết của các chủng *E.coli* nội địa, nâng cao hiệu quả điều trị và giảm thiểu sử dụng kháng sinh.

Từ khóa: Lợn con sau cai sữa, Tiêu chảy, *E.coli*, Bột kháng thể lòng đỏ trứng, Liều điều trị,

Determination of treatment dose of product KT04 - yolk powder for diarrhea due to *E.coli* in post-weaning piglets

*Nguyễn Đình Đăng¹, Nguyễn Thị Hồng Thắm²,
Nguyễn Ngọc Kiên¹, Nguyễn Việt Không³*

Summary

In this study, we carried out the determination of treatment dose of yolk product specifically against the *E.coli* F4-pili, in which 1 gram of product when resuspended in 1 ml PBS gave the titer of 3 x 1: 640 in Ab-ELISA. The objectives were the post-weaning piglets that have diarrhea in the real field, where there was at least 11/30 (36,67 %) fecal sample bearing hemagglutinating colonies, of which 68,75% carried genes encoding F4-pili determined by PCR and at least one of the enterotoxin genes (LT/STa/STb) determined by multiplex PCR. The treatment dose of yolk product KT04 for the abovementioned post-weaning piglets was 1gam/kg body weight, repeatedly resulted in the cure rate of 70%, variations between different groups were negligible, indicating that the KT04 (alone, not in any combination) have curable effect specifically to the diarrhea due to *E.coli* in post-weaning piglets. The results in this study put forward the potentiality for the development of specific treatment bio-products derived from specifically antibody against the purified pili of local *E.coli* strain, improving the treatment efficacy and minimize the use of antibiotics.

Key words: Post-weaning piglet, Diarrhea, *E.coli*, Yolk powder, Treatment dose

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lợn con tiêu chảy sau cai sữa chủ yếu do *E.coli* có serotyp K88 [11] hoặc gần đây là F4 *E.coli* khi gọi theo đặc tính kháng nguyên ở đầu typ pili của vi khuẩn, yếu tố bám dính vào thụ thể ở niêm mạc đường ruột, sản sinh độc tố đường ruột (LT, STa, STb) gây tiêu chảy [13, 15, 16, 19]. Tại Việt Nam, F4 *E.coli* cũng là một trong những nguyên nhân chính gây tiêu chảy ở lợn con [4, 5].

Để tránh sử dụng kháng sinh lan tràn gây nguy hại đến kháng thuốc và sức khỏe cộng đồng, các chế phẩm sinh học thay thế kháng sinh đã và đang được ưu tiên sử dụng [7, 10]. Chế tạo kháng thể lòng đỏ trứng là một trong những công nghệ sinh phẩm (kháng thể dị loài) điều trị [12, 14, 18], gần đây và đã trở thành phổ biến trong điều trị lợn con tiêu chảy ở Việt Nam (nội địa và

1. Chi cục thú y Hà Nội

2. Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y trung ương I

3. Viện thú y

ngoại nhập) [1, 2, 3, 6]. Tuy nhiên, kháng thể đặc hiệu trong các sinh phẩm hiện sử dụng thường kháng kháng nguyên toàn khuẩn. Gần đây, các kỹ thuật tách kháng nguyên pili trong đề tài trọng điểm cấp bộ của Viện Thú y đã được thiết lập và dự án *E.coli* ở lợn con tiêu chảy đã xác định được các chủng gây bệnh chủ yếu ở lợn con tiêu chảy cho phép chế tạo kháng thể lòng đỏ trứng sử dụng pili tinh chế.

E.coli F4 lưu hành tại các vùng sinh thái có tính kháng nguyên không hoàn toàn giống nhau [17], do vậy chế tạo kháng thể từ chủng lưu hành tại Việt Nam luôn có lợi điểm về sự phù hợp chủng gây bệnh. Tuy nhiên mỗi sinh phẩm cần được đánh giá hiệu quả tác động thực tế [8, 9] và tại đó liều sử dụng có hiệu quả được xác định.

Trong nghiên cứu này, để đáp ứng yêu cầu điều trị đặc hiệu bệnh lợn con sau cai sữa, sau khi chế tạo kháng thể lòng đỏ trứng gà kháng đặc hiệu F4 pili của *E.coli*, chúng tôi tiến hành xác định liều điều trị của chế phẩm tại địa bàn có sự tham gia của *E.coli* chủng F4 ở lợn cai sữa mắc tiêu chảy.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

-Chế phẩm kháng thể lòng đỏ trứng KT04 do Bộ môn Hóa sinh-Miễn dịch-Bệnh lý, Viện Thú y cung cấp có hiệu giá kháng thể kháng đặc hiệu pili F4 của *E.coli* tại hiệu giá 1:640 khi hoàn nguyên chế phẩm ở 0,33 g trong 1 ml PBS.

-Lợn con cai sữa (28 đến 35 ngày tuổi) giống lai lai kinh tế Yorkshire- Landrace.

-Phân được lấy trực tiếp từ trực tràng của lợn con. Mẫu được ghi rõ ký hiệu, tính biệt, ngày tuổi và ngày lấy mẫu. Phân lập *E.coli* trên môi trường thạch máu và thạch McConkey, xác định đặc tính sinh vật hóa học sử dụng môi trường 3 ống nghiệm như thường quy.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

-Phương pháp PCR xác định chủng F4 *E.coli*: Tách DNA vi khuẩn sử dụng phương pháp shock nhiệt, tiến hành PCR và multiplex PCR như thường quy sử dụng các sinh phẩm và hóa chất: Gotaq Green MasterMix (Cat. # M5122, Promega); Dnase-, Rnase- Free water (Cat. #P119C, Promega) ; Agarose (Cat. #A9539 Sigma-Aldrich) vào 40 ml dung dịch 1 x TAE (Cat. #24710-030, Gibco), Ethidium Bromide (Cat. #E-1385, Sigma-Aldrich). Các cặp mồi đặc hiệu cho F4 pili và mỗi loại gen độc tố đường ruột như sau:

<i>Gen</i>	<i>Trình tự nucleotid</i>	<i>Sản phẩm (bp)</i>
F4	GCA CAT GCC TGG ATG ACT GGTG CGT CCG CAG AAG TAA CCC ACCT	499
LT	ATT TAC GGC GTT ACT ACT CTC TTT TGG TCT CGG TAC GAT AGT	272
STa	TCC GTG AAA CAA CAT GAC GG ATA ACA TCC AGC ACA GGC AG	158
STb	GCC TAT GCA TCT ACA CAA TC TGA GAA ATG GAC AAT GTC CG	133

- Phương pháp xác định liều điều trị bao gồm 3 bước: (i) Xác định liều 50% lành bệnh, (ii) Xác định giới hạn trên liều điều trị và (iii) Kiểm chứng liều điều trị.

-Phương pháp xác định liều lành bệnh tiêu chảy 50% sử dụng chế phẩm lòng đỏ trứng được thiết kế và xác định theo cách tính của Reed and Muench (1938) trong đó chế phẩm KT04 được chuẩn bị cho 4 nhóm liều (1,0; 0,5; 0,25 và 0,125 gam/P thể lượng). Để xác định liều điều trị, chúng tôi sử dụng liều tăng cao, đánh giá ngưỡng trên liều điều trị. Để kiểm chứng liều điều trị, thí nghiệm được chia lô, xác định hiệu quả và độ ổn định theo liều đã được xác định.

-Phương pháp điều trị và theo dõi lợn điều trị: Khi phát hiện ca bệnh, lợn được đánh dấu, ghi số tai, cân trọng lượng, dùng ngay liều 1 theo phác đồ chỉ dẫn. Thí dụ phác đồ điều trị: Liều 1g/kg P [Bột lòng đỏ trứng KT04 (Số lô KT04 091012)], cho uống 2 lần/ngày. Theo dõi điều trị,

ghi tình trạng lợn ở các mức: tiêu chảy, thuyên giảm, lành. Sau 4 liều điều trị liên tiếp nếu triệu chứng giảm, tiếp tục điều trị bằng KT04 đến liều thứ 6, nếu triệu chứng không giảm ở liều thứ 4, chuyển phác đồ điều trị tổng hợp và ghi nhận là không khỏi bệnh. Trong thí nghiệm này dùng để đánh giá hiệu quả khi chỉ sử dụng chế phẩm KT04, chúng tôi không dùng kết hợp với kháng sinh và các chất điện giải; sau khi lành bệnh nếu có tái phát, ghi rõ ngày tái phát và chuyển phác đồ điều trị tái phát trong đó liều điều trị được tăng gấp đôi.

Thí nghiệm được tiến hành tại Trại lợn giống Cầu Diễn - Công ty Nhà nước một thành viên Giống gia súc Hà Nội; Phòng thí nghiệm Bộ môn Hóa sinh Miễn dịch Bệnh lý - Viện Thú y, từ tháng 5 năm 2009 đến tháng 10 năm 2010.

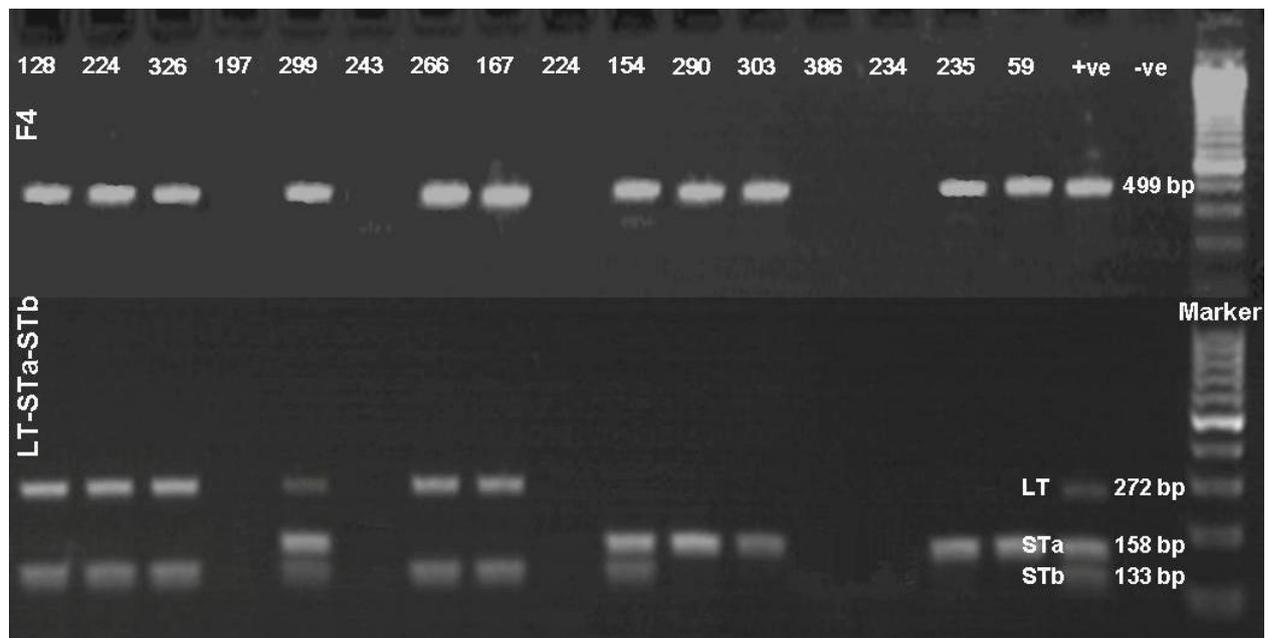
III. Kết quả và thảo luận

Để xác định liều điều trị thực tế đối với lợn con tiêu chảy sau cai sữa thí nghiệm trước hết xác định nguyên nhân *E.coli* của lợn con tiêu chảy, sau đó lần lượt tiến hành (i) xác định liều điều trị lành bệnh 50% lợn con tiêu chảy của chế phẩm; (ii) xác định liều điều trị và (iii) Kiểm chứng liều điều trị.

Xác định lợn con tiêu chảy do *E.coli* F4

Trước khi xác định liều điều trị, chúng tôi đã tiến hành xác định nguyên nhân F4 *E.coli* gây tiêu chảy tại điểm nghiên cứu. Ở mỗi ô chuồng có lợn con sau cai sữa bị tiêu chảy, thu thập mẫu phân của 2 lợn dùng để phân lập *E.coli* và phân tích kháng thể kháng *E.coli*. Mẫu phân trước hết được cấy đồng thời trên 2 loại môi trường thạch máu và thạch MacConkey. Trên thạch MacConkey, 100% số mẫu đều cho khuẩn lạc màu đỏ cánh sen, kết quả xác định đặc tính sinh vật hóa học chứng tỏ tất cả mẫu phân tiêu chảy đều có *E.coli*. Trên môi trường thạch máu, 16 trong số 30 mẫu (53,33%) có khuẩn lạc dung huyết, một trong những đặc tính độc lực của *E.coli* gây bệnh.

Chúng tôi tiến hành xác định sự có mặt của các chủng *E.coli* F4 bằng phương pháp PCR trên 16 mẫu *E.coli* dung huyết. Multiplex PCR được thực hiện đồng thời để xác định sự có mặt các yếu tố độc lực LT, STa và STb, sử dụng các cặp mồi đặc hiệu như trình bày ở phần vật liệu và phương pháp. Kết quả 2 xét nghiệm yếu tố độc lực bằng PCR được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Kết quả PCR xác định các yếu tố độc lực của F4 *E.coli*.

Kết quả xác định gen mã hóa F4 pili ở khung trên hình 1 cho biết có 11/16 mẫu cho vạch vạch đặc hiệu 499 bp như đối chứng dương, chứng tỏ 11 trong số 16 mẫu *E.coli* dung huyết có gen mã hóa cho F4 pili (68,75%). Kết quả multiplex PCR ở khung dưới hình 1 cho thấy các

chúng phân lập khác nhau cho một đến ba vạch sản phẩm PCR tương ứng với đối chứng dương LT (272 bp), STa (158 bp) và STb (133 bp). Các chủng *E.coli* phân lập dương tính PCR với F4 (khung trên) đều mang ít nhất 1 gen mã hóa cho độc tố đường ruột LT, STa hoặc STb (khung dưới); có 4 chủng mang chỉ 1 gen mã hóa STa, 1 chủng mang 2 gen mã hóa cho STa và STb, 5 chủng mang gen 2 gen mã hóa LT và STb và 1 chủng mang gen mã hóa cả 3 độc tố.

Kết quả giám định gen học bằng PCR và multiplex PCR sử dụng các cặp mồi đặc hiệu cho phép kết luận có 68,75% các trường hợp *E.coli* dung huyết cho dương tính F4 pili, đồng thời tất cả các chủng *E.coli* F4 đều mang ít nhất 1 trong 3 loại độc tố đường ruột STa, STb và LT.

Với kết quả phân lập 100% mẫu phân có chứa *E.coli* với 53,33% chủng phân lập gây dung huyết, trong đó có 68,75% chủng phân lập thuộc về *E.coli* F4 mang gen độc tố đường ruột, có thể kết luận có ít nhất 36,67% (11/30) các trường hợp lợn con tiêu chảy sau cai sữa có sự tham gia của F4 *E.coli*.

Kết quả xác định liều điều trị lành bệnh 50%

Trong thí nghiệm xác định liều điều trị lành bệnh 50% lợn con tiêu chảy sau cai sữa, dãy liều tăng gấp đôi từ 0,125 đến 1 gam/kgP đã được sử dụng. Thí nghiệm trên 5 lợn cho mỗi lô, lặp lại 1 lần, tổng hợp kết quả về tỷ lệ lành bệnh được ghi nhận ở bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ lành bệnh của KT04 điều trị lợn con tiêu chảy

TT	Liều (gam/kgP)	Số điều trị	Số lành bệnh	% tích lũy
1	1	10	7	84,21
2	0,5	10	5	52,94
3	0,25	10	3	21,05
4	0,125	10	1	4,00

Trong bảng 2, đối tượng điều trị là lợn con sau cai sữa, giống lai kinh tế Đại Bạch-Yorshire- Móng Cái, cai sữa ở 28 ngày tuổi, mắc tiêu chảy ở các ngày tuổi từ 29 đến 35, ở điều kiện thực địa với sự có mặt của ít nhất 36,67% F4⁺*E.coli* mang gen mã hóa độc tố đường ruột STa, STb và LT, xác nhận bằng PCR (như đã trình bày ở phần trên).

Lợn lành bệnh/không khỏi bệnh được ghi nhận như sau: lợn con tiêu chảy được điều trị theo liệu trình chỉ định 2 liều /ngày, không can thiệp thêm kháng sinh hoặc bất kỳ chất điện giải khác, sau 4 liều nếu triệu chứng bệnh không giảm, chuyển phác đồ khác, được tính là không lành bệnh, nếu triệu chứng thuyên giảm, điều trị tiếp đến liều thứ 6, nếu không lành bệnh, chuyển phác đồ khác, cũng được tính là không lành bệnh; ngược lại lợn ngưng tiêu chảy được tính là số lành bệnh.

Kết quả ở bảng 2 cho biết số lợn lành bệnh tăng dần theo liều nhưng không đạt 100%; liều điều trị 50% số lợn con tiêu chảy được tính toán là 0,47 gam/kgP (làm tròn 0,5 gam cho 1 kg thể trọng).

Kết quả xác định liều điều trị

Căn cứ vào liều điều trị lành bệnh 50% lợn con tiêu chảy ở thực địa, để xác định liều điều trị có hiệu quả thực tế, chúng tôi sử dụng các liều tăng gấp 2 và 4 lần nghĩa là 1 gam và 2 gam cho 1 kg thể trọng. Phác đồ điều trị và theo dõi can thiệp, nguyên tắc tính tỷ lệ lành bệnh tương tự như ở thí nghiệm xác định liều 50%. Kết quả điều trị lành bệnh lợn con tiêu chảy bằng KT04 tăng liều được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ lành bệnh của KT04 liều cao điều trị lợn con tiêu chảy

Lô	Số điều trị	Số lành bệnh	Tỷ lệ	Ghi chú
1g/1 kg P	32	23	71,88	1 con tái phát sau 3 ngày
2g/1 kg P	30	21	70,00	

Kết quả điều trị ở bảng 3 cho biết (i) tỷ lệ lành bệnh đối với liều 1g/1 kg P là 71,88% và

liều 2g/1 kg P là 70%, được coi là tương đương (sai khác nhỏ không có ý nghĩa thống kê);

(ii) chế phẩm KT4 không điều trị khỏi 100% tiêu chảy sau cai sữa. Việc tăng liều điều trị chỉ làm tăng tỷ lệ lành bệnh đến ngưỡng nhất định gọi là ngưỡng trên của chế phẩm KT04. Khi sử dụng chỉ chế phẩm KT04, không có phối hợp với thuốc khác, ngưỡng trên hiệu quả điều trị đạt mức 70-71%. Việc tăng liều điều trị chỉ làm tăng hiệu quả ở dưới mức liều 1 gam/ kg P (bảng 2). So với liều 2g/1 kg P, mức liều 1 gam/kg P có hiệu quả tương đương nhưng có 1 trường hợp tái phát sau 3 ngày lành bệnh.

(iii) Từ kết quả thí nghiệm ở bảng 2 và bảng 3 và những phân tích trên đây, có thể kết luận liều điều trị có hiệu quả lợn con tiêu chảy tại thực địa của chế phẩm KT04 theo phác đồ thí nghiệm là 1 gam cho 1 kg thể trọng.

(iv) Những lợn con tiêu chảy không lành bệnh sau điều trị đều được can thiệp bằng kháng sinh liều cao tiêm bắp và chất điện giải hỗ trợ. Đa số lợn con tiêu chảy lành bệnh sau 2-3 lần tiêm. Theo con số thống kê của trại chăn nuôi Cầu Diễn, tỷ lệ lợn con tiêu chảy điều trị không khỏi và chết là khoảng 1-2%. Kết quả can thiệp kháng sinh và tỷ lệ điều trị không khỏi chứng tỏ ngoài nguyên nhân *E. coli* gây tiêu chảy còn có những nguyên nhân khác (vi khuẩn khác, vi khuẩn kháng thuốc, vi rút...).

Kết quả kiểm chứng liều điều trị

Trong điều kiện thực địa, trước khi có thể đánh giá chế phẩm điều trị ở mức rộng hơn, chúng tôi tiến hành lập lại thí nghiệm với 2 liều điều trị đã xác định như trình bày ở phần trên: liều điều trị lành bệnh 50% và liều điều trị sẽ chỉ định cho phác đồ KT04, nghĩa là liều 0,5 gam/kgP và liều 1 gam/kgP. Mỗi liều được áp dụng cho 10 lợn tiêu chảy, lập lại 3 lần để đánh giá sự ổn định của liệu trình. Kết quả theo dõi lợn lành bệnh theo lô được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ lành bệnh của KT04 theo liều ở 3 lô thử nghiệm

TT	Liều (gam/kgP)	Lô 1 (n=10)		Lô 2 (n=10)		Lô 3 (n=10)		Tổng (N=30)	
		Lành bệnh	%	Lành bệnh	%	Lành bệnh	%	Lành bệnh	Tỷ lệ %
1	0,5	5	50	4	40	6	60	15	50
2	1,0	7	70	7	70	7	70	21	70

Kết quả ở bảng 4 cho biết (i) liều 0,5gam/kgP theo phác đồ chỉ định cho tỷ lệ lành bệnh 50%, biến động giữa 3 lô là không đáng kể; (ii) Ở liều điều trị 1 gam/ kg P, kết quả điều trị ở cả ba lô đều là 7/10 (70%); (iii) Kết quả điều trị thử nghiệm lập lại 3 lần với liều 0,5 gam/kg P cho kết quả lành bệnh 15/30 (50%) và kết quả điều trị ở liều 1 gam/ kg P cho kết quả lành bệnh 21/30 (70%), với sai số giữa các lô không đáng kể, là hoàn toàn phù hợp với kết quả thí nghiệm xác định liều trình bày ở các phần trên. Kết quả này tái xác nhận hiệu quả điều trị của chế phẩm KT04 theo liều lượng và phác đồ chỉ định là ổn định và có thể áp dụng thực tiễn.

IV. Kết luận

Với chế phẩm KT04 đã được xác định hiệu giá kháng thể, trên đối tượng lợn con tiêu chảy sau cai sữa do *E.coli* tại thực địa, thí nghiệm xác định liều và kiểm chứng cho phép kết luận: “Liều điều trị tiêu chảy do *E.coli* ở lợn con cai sữa của chế phẩm KT04 là 1 gam cho mỗi kg thể trọng, trong đó 0,33 gam KT04, khi hoàn nguyên trong 1 ml PBS, cho hiệu giá kháng thể đặc hiệu kháng pili F4 đạt 1: 640 Ab-ELISA”.

Liều điều trị 1 gam / kg thể trọng chế phẩm KT04, khi không kết hợp với các thuốc khác và sử dụng 2 lần/ngày, có hiệu quả điều trị lành bệnh 70-71% lợn con sau cai sữa mắc tiêu chảy do *E.coli* sau trung bình $4,30 \pm 0,94$ liều.

Kiến nghị

Đề nghị tiếp tục nghiên cứu áp dụng sinh phẩm trong điều trị và điều trị dự phòng theo các hướng: đánh giá hiệu quả khi phối hợp với kháng sinh, các sinh phẩm lỏng đồ trứng đặc hiệu với

các căn bệnh khác và thuốc điều trị triệu chứng nhằm có được phác đồ hiệu quả nhất, góp phần từng bước giảm thiểu kháng sinh.

V. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Xuân Bình, Lê Văn Tạo và Trần Thị Hạnh.(2003) “Nghiên cứu chế tạo bột kháng thể lòng đỏ trứng gà (YP-99) và hiệu quả điều trị tiêu chảy do *E.coli* ở lợn con theo mẹ”. *Báo cáo khoa học Chăn nuôi Thú y 2002-2003.*, 219-323 .
2. Trần Thị Hạnh và Đặng Xuân Bình.(2002) “Chế tạo thử nghiệm chế phẩm sinh học phòng trị bệnh tiêu chảy phân trắng lợn con do *E.coli* và *Cl.perferingens*”. *Tạp chí KHKT thú y.* **10**, 19-28 .
3. Nguyễn Thiên Thu và cs.(2003) Nghiên cứu sản xuất kháng thể kháng thể khác loài từ lòng đỏ trứng gà phòng bệnh ỉa chảy do *E.coli* và *Salmonella* ở lợn con. *Báo cáo khoa học chăn nuôi thú y.* 73-74 .
4. Đỗ Ngọc Thúy, Trott D., Wilkie I., và Cù Hữu Phú (2004), Đặc tính kháng nguyên và vai trò gây bệnh của vi khuẩn Enterotoxigen *Escherichia coli* gây bệnh lợn con ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Báo cáo khoa học chăn nuôi thú y 2002-2003.* Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội. 59-69 .
5. Lê Văn Tạo, Khương Bích Ngọc, Nguyễn Thị Vui và Đoàn Băng Tâm (1991). “Khả năng bám dính và sản sinh kháng nguyên K88 của một số giống *E.coli* phân lập từ lợn con bị bệnh phân trắng”. *Công trình nghiên cứu khoa học kỹ thuật 1990-1991.* 82-88 .
6. Lê Văn Tạo, Nguyễn Ngã, Nguyễn Thiên Thu, Nguyễn Văn Quang và Đào Duy Hưng. (2001) “Nghiên cứu sản xuất kháng thể khác loài từ lòng đỏ trứng gà phòng trị bệnh *Colibacillosis* cho lợn con”. *Tạp chí KHKT thú y.* **8** (1), 21-26.
7. Tạ Thị Vịnh và Đặng Thị Hoà. (2002) “Một số kết quả sử dụng các chế phẩm sinh học để phòng bệnh tiêu chảy của lợn con”. *Tạp chí KHKT thú y.* **9** (4), 54-56 .
8. Chernysheva, L. V., Friendship, R. M., Gyles, C. L., & Dewey, C. E.(2003) Field trial assessment of the efficacy of specific egg-yolk antibody product for control of postweaning *E. coli* diarrhea. *Vet Ther.* **4**, 279-284 .
9. Erhard, M. H., Bergmann, J., Renner, M., Hofmann, A., & Heinritzi, K.(1996) [Prophylactic effect of specific egg yolk antibodies in diarrhea caused by *Escherichia coli* K88 (F4) in weaned piglets]. *Zentralbl.Veterinarmed.A* **43**, 217-223 .
10. Fairbrother, J. M., Nadeau, E., & Gyles, C. L. (2005) *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim Health Res Rev* **6**, 17-39.
11. Jones G.W & Rutter.J.M.(1972) Role of the K88 Antigen in Pathogenesis of Neonatal Diarrhea caused by *Echerichia Coli* in Piglets. *American Society for Microbiology,* **6**, 918-927 .
12. Marquardt, R. R. et al. (1999) Passive protective effect of egg-yolk antibodies against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88+ infection in neonatal and early-weaned piglets. *FEMS Immunol Med Microbiol* **23**, 283-288
13. Nisbet, D.(2002) Defined competitive exclusion cultures in the prevention of enteropathogen colonisation in poultry and swine. *Antonie Van Leeuwenhoek* **81**, 481-486 .
14. Owusu-Asiedu, A., Nyachoti, C. M., & Marquardt, R. R.(2003) Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg

- yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. *J Anim Sci.* **81**, 1790-1798 .
15. Takeda, Y., Honda, T., Sima, H., Tsuji, T., & Miwatani, T. (1983) Analysis of antigenic determinants in cholera enterotoxin and heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* **41**, 50-53 .
 16. Van den, B. W., Cox, E., Oudega, B., & Goddeeris, B. M. (2000) The F4 fimbrial antigen of *Escherichia coli* and its receptors. *Vet Microbiol.* **71**, 223-244 .
 17. Yan, X. *et al.* (2009) Distribution of *Escherichia coli* F4 adhesion phenotypes in pigs of 15 Chinese and Western breeds and a White Duroc x Erhualian intercross. *J Med Microbiol* **58**, 1112-1117.
 18. Yokoyama H, Peralta R, & *et al.* (1992) Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against Experimental Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in Neonatal piglets. *Infection and immunity*, Mar, 998-1007 .
 19. Zhang, W., Zhao, M., Ruesch, L., Omot, A., & Francis, D. (2007) Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains recently isolated from young pigs with diarrhea in the US. *Vet Microbiol* **123**, 145-152 .