

NGHIÊN CỨU VAI TRÒ CỦA VI KHUẨN *Lactobacillus* sp. ĐẾN SỰ TĂNG CƯỜNG TỔNG HỢP MỘT SỐ CYTOKIN Ở GÀ

Nguyễn Thị Thu Hiền¹, Phạm Thị Tâm¹, Lê Thị Thu Hiền²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng tăng cường miễn dịch không đặc hiệu của các chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* B1.3, *Lactobacillus acidophilus* B1.8 ở gà được tiêm vắc-xin. Bằng phương pháp ELISA đánh giá mức độ tăng cường tổng hợp cytokin trong các mẫu huyết thanh của 3 lô gà (gà Ri, gà Lương Phương, gà Ross 308) có sử dụng vắc xin HVT/Rispens và bổ sung chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* B1.3, *Lactobacillus acidophilus* B1.8 cho thấy hai chủng vi khuẩn này có khả năng kích thích tăng tổng hợp IFN, β -IFN, γ -IFN, IL-4 và IL-12. Tại thời điểm 1, 2, 3 tháng tuổi, kết quả cho thấy, với cùng 1 liều 10^7 CFU vi khuẩn/con gà các lô gà được bổ sung tổ hợp hai chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* B1.3, *Lactobacillus acidophilus* B1.8 mức độ tổng hợp IFN và IL hơn so với các lô gà bổ sung 1 loài vi khuẩn, cụ thể: α -IFN, β -IFN, γ -IFN tăng 2-16, 2-4, 2-16 lần (hiệu giá 2048, 512, 2048); IL-4, IL-12 tăng 2-4, 2-8 lần (hiệu giá 512). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tổ hợp các chủng *Lactobacillus casei* B1.3 và *Lactobacillus acidophilus* B1.8 có thể được sử dụng hỗ trợ vắc xin HVT + CVI 988 (Rispens) để làm tăng hiệu quả phòng bệnh Marek ở gà.

Từ khóa: *Lactobacillus*, cytokine, gà Ri, gà Lương Phương, gà Ross 308, Marek.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Probiotics được định nghĩa là vi sinh vật sống có lợi, khi được vào cơ thể với một liều lượng thích hợp sẽ mang lại lợi ích cho vật chủ thông qua việc cải tiến các vi khuẩn đường ruột. Trong đó, các chủng probiotics thuộc loài *Lactobacillus* như: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* Shirota, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus acidophilus* có khả năng sản sinh ra các yếu tố điều hòa miễn dịch. Các chủng probiotics này có vai trò tăng cường đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu theo cơ chế hoạt hóa đại thực bào, các tế bào diệt tự nhiên (natural killer-NK) và các tế bào lympho T độc thông qua việc kích thích tổng hợp các cytokin [1]. Vì vậy, bổ sung các chủng probiotic organisms vào vật nuôi có thể giúp tăng cường bảo vệ vật nuôi với các bệnh truyền nhiễm do virus, vi khuẩn gây nên. Ở cơ chế này, các cytokin có vai trò miễn dịch như interferon (α -IFN, β -IFN, γ -IFN), interleukin (IL-12, IL-4) tăng đáng kể, giúp ngăn cản tiến trình phát triển của bệnh do virus gây ra.

Các nghiên cứu của Min và cộng sự, 2002, Long và cộng sự, 2005 đã chứng minh được rằng probiotic giúp tăng cường đáng kể đáp ứng miễn dịch của gia

cầm. Các chủng vi khuẩn này giúp tăng cường tổng hợp interferon-gamma (IFN- γ) là chất điều hòa miễn dịch giúp tăng cường khả năng đề kháng với virus, giúp hoạt hóa đại thực bào, ức chế sự nhân lên của virus trong tế bào miễn cảm, tăng cường hoạt động của phức hợp hòa hợp mô lớp II (MHC-II).

Một trong những căn bệnh khá phổ biến thường xuyên xảy ra trên đàn gà nuôi công nghiệp giai đoạn đờ, dò hậu bị và gà đẻ đến khi đạt đỉnh cao nhất, đặc biệt là đàn gà hương trứng đỏ là bệnh Marek, do vi rút *Gallid herpesvirus* gây ra với tỷ lệ mắc bệnh 10-50% và tỷ lệ tử vong có thể đến 100%. Cho đến nay bệnh Marek vẫn chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, việc phòng bệnh phải dùng vắc xin nhỏ cho gà. Vì vậy, trong nghiên cứu này bổ sung chủng probiotic *Lactobacillus* cho các nhóm gà Ri, gà Lương Phương, gà Ross 308 nhằm tăng khả năng bảo hộ của vắc xin phòng bệnh Marek.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Trứng gà sạch được mua từ Công ty Vắc xin và Sinh phẩm số 1 được ấp nở trong điều kiện sạch bệnh. Gà sau khi nở 1 ngày tuổi được sử dụng trong các thí nghiệm của nghiên cứu.

- Vắc xin nhũ giá MD - Vac CFL chủng CVI 988 Rispens và HVT do Hãng Zoetis Inc của Mỹ sản xuất, được nhập khẩu bởi Công ty TNHH TM & DP Sang, thành phố Hồ Chí Minh.

¹ Viện Đại học Mở Hà Nội

² Viện Nghiên cứu hệ gen. Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- Các chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* B1.3, *Lactobacillus acidophilus* B1.8 do Khoa Công nghệ Sinh học, Viện Đại học Mở Hà Nội cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nuôi cấy, tăng sinh vi khuẩn

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus* sp. được nuôi cấy trong môi trường MRS (Becton Dickinson, Mississauga, Canada) ở 37°C. Vi khuẩn nuôi qua đêm được ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút để thu sinh khối. Sinh khối được rửa 3 lần với dung

dịch PBS và pha loãng tới 4×10^7 CFU/ml trong dung dịch PBS.

2.2.2. Thiết kế thí nghiệm

Ba giống gà thí nghiệm 1 ngày tuổi gồm: gà Ri, Lương Phượng, Ross 308 được chia thành 5 lô. Ở các lô thí nghiệm, mỗi con gà được cho uống 10^7 CFU trong 10 ngày liên tiếp sau khi tiêm chủng vắc xin. Thí nghiệm được thực hiện trong 3 tháng, hàng tháng, lấy máu gà kiểm tra các yếu tố α -IFN, β -IFN, γ -IFN, IL-4, IL-12.

Lô thí nghiệm	Công thức thí nghiệm
1 (n=30)	HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3 (CT1).
2 (n=30)	HVT/Rispens + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8 (CT2).
3 (n=30)	HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8 (CT3).
4 Đối chứng dương (n=10)	Vắc xin đa giá HVT/Rispens, không sử dụng <i>Lactobacillus casei</i> B1.3 và <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8 (CT4).
5 Đối chứng âm (n=10)	Không sử dụng vắc xin, không sử dụng <i>Lactobacillus casei</i> B1.3 và <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8 (CT5).

2.2.3. Phương pháp ELISA phát hiện γ -IFN

γ -IFN trong máu gà thí nghiệm được phát hiện bán định lượng bằng Kit ELISA (code: CAC 1233. Invitrogen, Mỹ). Phương pháp được mô tả tóm tắt như sau: kháng thể chuẩn kháng γ -IFN của gà được gắn vào các giếng của đĩa ELISA ở 4°C trong 12-18 giờ. Các mẫu huyết thanh của gà thí nghiệm và kháng nguyên chuẩn được bổ sung vào đĩa sau khi đã loại bỏ kháng thể chuẩn. Phức hợp kháng nguyên-kháng thể được phát hiện bởi anti-chicken γ -IFN biotin trong điều kiện 2 giờ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc (700 rpm). Tiếp tục bổ sung dung dịch Streptavidin - HRP sau khi rửa đĩa phản ứng, thời gian ủ Streptavidin - HRP là 30 phút ở nhiệt độ phòng trên máy lắc (700 rpm). Kết quả phản ứng hiển thị bằng cơ chất TMB (Tetramethylbenzidine) và đọc trên máy ELISA với bước sóng 450 nm.

2.2.4. Phương pháp ELISA phát hiện β -IFN

Kit ELISA (code: Catalog No. LS - F4872. LSBio, Mỹ) được sử dụng để phát hiện β -IFN trong máu gà thí nghiệm. Phương pháp được tiến hành như sau: Kháng thể kháng β -IFN của gà được gắn vào các giếng của đĩa ELISA ở 37°C trong 2 giờ. Các mẫu huyết thanh của gà và kháng nguyên chuẩn được pha loãng, bổ sung vào đĩa sau khi loại bỏ dịch trong đĩa ở 37°C trong 1 giờ. Loại bỏ dịch, bổ sung dung dịch anti-chicken β -IFN Streptavidin - HRP ở trong 30

phút ở 37°C. Kết quả phản ứng hiển thị bằng cơ chất TMB (Tetramethylbenzidine) và đọc trên máy ELISA với bước sóng 450 nm.

2.2.5. Phương pháp ELISA phát hiện α -IFN

Kit ELISA (code: Catalog No. CSB - E10071Ch, Flarebio Biotech LLC, Mỹ) được sử dụng để phát hiện α -IFN trong máu gà thí nghiệm. Phương pháp được tiến hành như sau: Kháng thể đặc hiệu kháng α -IFN của gà được phủ trong các giếng của đĩa ELISA ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Mẫu huyết thanh của gà và kháng nguyên chuẩn được pha loãng, bổ sung vào các giếng ở 37°C trong 2 giờ. Loại bỏ dịch, không rửa đĩa, bổ sung dung dịch Biotin - anti-chicken IFN - α (1x) ở 37°C trong 1 giờ để phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể. Loại bỏ toàn bộ dịch, bổ sung dung dịch HRP - avidin (1x) vào mỗi giếng ở 37°C trong 1 giờ. Kết quả phản ứng hiển thị bằng cơ chất TMB (Tetramethylbenzidine) và đọc trên máy ELISA với bước sóng 450 nm.

2.2.6. Phương pháp ELISA phát hiện IL-4 (ELISA Kit, code: Catalog No. CSB - E06756Ch. Flarebio Biotech LLC, Mỹ)

Kit ELISA (code: Catalog No. CSB - E06756Ch. Flarebio Biotech LLC, Mỹ) được sử dụng để phát hiện IL-4 trong máu gà. Phương pháp được tiến hành như sau: Kháng thể đặc hiệu kháng IL-4 được phủ

sẵn trong đĩa phản ứng để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Bổ sung các mẫu huyết thanh đã pha loãng của gà và kháng nguyên chuẩn vào các giếng phản ứng ở 37°C trong 2 giờ. Loại bỏ dịch, không rửa đĩa, bổ sung dung dịch Biotin - anti - chicken IL-4 (1x) ở 37°C trong 1 giờ để phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể. Loại bỏ toàn bộ dịch, bổ sung dung dịch HRP - avidin (1x) vào mỗi giếng ở 37°C trong 1 giờ. Kết quả phản ứng hiển thị bằng cơ chất TMB (Tetramethylbenzidine) và đọc trên máy ELISA với bước sóng 450 nm.

2.2.7. Phương pháp ELISA phát hiện IL-12 (ELISA Kit, code: Catalog No. ABIN1563394, Blue Gene, Mỹ)

Kit ELISA (code: Catalog No. ABIN1563394, Blue Gene, Mỹ) được sử dụng để phát hiện IL-12 trong máu gà. Phương pháp được tiến hành như sau: Kháng thể đặc hiệu kháng IL-12 được phủ sẵn trong đĩa phản ứng để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Bổ sung các mẫu huyết thanh đã pha loãng của gà và kháng nguyên chuẩn vào các giếng phản ứng ở 37°C trong 90 phút. Loại bỏ dịch, không rửa đĩa, bổ sung kháng thể kháng chicken IL - 12 gắn Biotin ở

37°C trong 1 giờ. Loại bỏ toàn bộ dịch, bổ sung HRP Conjugate solution vào mỗi giếng ở 37°C trong 30 phút. Kết quả phản ứng hiển thị bằng cơ chất TMB (Tetramethylbenzidine) và đọc trên máy ELISA với bước sóng 450 nm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự mức độ tổng hợp các IFN

3.1.1. γ -IFN

γ - IFN tăng mạnh ở các lò gà Ri được tiêm vắc xin kết hợp với *Lactobacillus casei* B1.3+ *Lactobacillus acidophilus* B1.8: ở hai tháng đầu, mức độ tăng gấp 16 lần so với lò đối chứng âm và tăng gấp 4 - 8 lần so với các lò đối chứng dương. Đối với hai giống gà Lương Phượng và Ross 308, mức độ tăng của γ - IFN chỉ đạt 2 - 4 lần. Ở các lò thí nghiệm sử dụng đơn chủng *Lactobacillus casei* B1.3 hoặc *Lactobacillus acidophilus* B1.8, mức độ tăng tổng hợp γ - IFN kém hơn, chỉ đạt gấp 2 lần so với lò đối chứng dương và gấp 4 lần so với đối chứng âm (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp γ -IFN

Công thức thí nghiệm	Gà Ri						Gà Lương Phượng						Gà Ross 308					
	Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba	
	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	1024	8	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	2048	16	2048	16	1024	8	1024	8	1024	8	512	4	1024	8	1024	8	512	4
Đối chứng dương	256	2	512	4	256	2	256	2	512	4	256	2	256	2	512	4	256	2
Đối chứng âm	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1

3.1.2. β - IFN

Mức độ tổng hợp β - IFN tăng mạnh ở các lò gà được tiêm vắc xin kết hợp với *Lactobacillus casei* B1.3+ *Lactobacillus acidophilus* B1.8, số lần tăng đạt 3 - 4 lần so với lò đối chứng âm. Ở gà Ri chủng

Lactobacillus acidophilus B1.8 kích thích tổng hợp β - IFN mạnh gấp 3-4 lần so với lò đối chứng âm trong khi đó chủng *Lactobacillus casei* B1.3 tạo ra mức tăng gấp 2 lần so với lò đối chứng (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp các β - IFN

Công thức thí nghiệm	Gà Ri						Gà Lương Phượng						Gà Ross 308					
	Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba	
	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng
HVT/Rispens <i>Lactobacillus casei</i> B1.3	256	2	256	2	512	4	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
HVT/Rispens <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	384	3	512	4	512	4	256	2	512	4	512	4	256	2	256	2	256	2
HVT/Rispens <i>Lactobacillus casei</i> B1.3+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	512	4	512	4	384	3	512	4	512	4	384	3	384	3	384	3	384	3
Đối chứng dương	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
Đối chứng âm	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1

3.1.3. α - IFN

α - IFN được tổng hợp mạnh nhất ở các lò gà được sử dụng kết hợp vắc xin và tổ hợp 2 chủng *Lactobacillus casei* B1.3+ *Lactobacillus acidophilus* B1.8, mức độ tổng hợp α - IFN tăng gấp 8-16 lần so

với lò đối chứng âm. Khả năng kích thích tổng hợp α - IFN của *Lactobacillus acidophilus* B1.8 cao hơn *Lactobacillus casei* B1.3 và ở gà Ri mạnh hơn hai giống gà Lương Phượng và Ross 308 (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp α - IFN

Công thức thí nghiệm	Gà Ri						Gà Lương Phượng						Gà Ross 308					
	Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ ba	
	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng
HVT/Rispens <i>Lactobacillus casei</i> B1.3	1024	8	1024	8	512	4	1024	8	1024	8	512	4	1024	8	1024	8	512	4
HVT/Rispens <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	512	4	512	4	256	2	512	4	512	4	256	2	512	4	512	4	256	2
HVT/Rispens <i>Lactobacillus casei</i> B1.3+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	2048	16	2048	16	1024	8	2048	16	1024	8	1024	8	1024	8	1024	8	1024	8
Đối chứng dương	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
Đối chứng âm	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1

Phản ứng đầu tiên của đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu khi cơ thể nhiễm virus là sản sinh IFN type

1, bao gồm α - IFN, β - IFN và γ - IFN (Charles *et al* (2001) [2]. Nghiên cứu của Jarosinski (2001) [3] đã chứng minh được rằng IFN làm tăng đáng kể các tế

bào diệt tự nhiên (NK - nature killer) – Đó là các tế bào T_K khả năng tiêu diệt virus theo cơ chế độc tế bào. Bên cạnh đó, IFN - $\alpha/\beta/\gamma$ cũng là các cytokin có tác động hiệu quả đến đáp ứng miễn dịch đặc hiệu thông qua cơ chế điều hòa sự hoạt động của các tế bào lympho Th. Ảnh hưởng thuận giữa đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu và đáp ứng miễn dịch đặc hiệu mà hiệu quả của nó làm tăng khả năng phòng bệnh của vắc xin chính là hệ quả của việc có sản sinh IFN - $\alpha/\beta/\gamma$ hay không khi có sự kích thích của tác nhân kích thích tổng hợp IFN. Trong nghiên cứu này, các chủng *Lactobacillus casei* B1.3 và *Lactobacillus acidophilus* B1.8 giúp tăng cường tổng hợp các IFN type 1 ở mức đáng kể, kết quả này hoàn toàn phù hợp với các báo cáo trước đây của Jennifer *et al* (2011). Đối với bệnh Marek, IFN - γ đóng vai trò chủ đạo trong đáp ứng miễn dịch chống lại virus gây bệnh [5]. Loại IFN này ức chế quá trình nhân lên của MDV trong tế bào theo cơ chế hoạt hóa các tế bào có thẩm quyền miễn dịch sản xuất NO gây độc tế bào nhiễm virus và kích thích các tế bào lympho T độc (cytotoxic T cell - CTL) [6]. Với các cơ sở của các

nghiên cứu trước đây và kết quả nghiên cứu này cho thấy tổ hợp các chủng *Lactobacillus casei* B1.3 và *Lactobacillus acidophilus* B1.8 có thể được sử dụng hỗ trợ cùng với vắc xin HVT - Rispens để làm tăng hiệu quả phòng bệnh.

3.2. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp một số interleukin

3.2.1. IL - 4

Trong nghiên cứu này, IL - 4 của các lô gà thí nghiệm sử dụng đơn chủng *Lactobacillus casei* B1.3 hoặc *Lactobacillus acidophilus* B1.8 đã tăng gấp đôi so với đối chứng âm nhưng không tăng so với lô đối chứng dương. Ở lô gà sử dụng kết hợp hai chủng *Lactobacillus casei* B1.3 và *Lactobacillus acidophilus* B1.8, mức tổng hợp IL - 4 gấp 4 lần so với đối chứng âm và gấp 2 lần so với đối chứng dương. IL - 4 có vai trò hoạt hóa Th2 thành các tế bào có dấu ấn CD8+, khiến các tế bào này có chức năng của lympho T độc, gây đáp ứng miễn dịch tế bào [7]. Moran và cộng sự đã xác định được IN - 4 có chức năng ức chế virus ở cả pha nhân lên và pha cân bằng [8].

Bảng 4. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp IL - 4

Công thức thí nghiệm	Gà Ri						Gà Lương Phương						Gà Ross 308					
	Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3	
	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3	256	2	256	2	25	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3 + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	512	4	512	4	512	4	512	4	512	4	256	2	512	4	512	4	256	2
Đối chứng dương	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2	256	2
Đối chứng âm	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1	128	1

3.2.2. IL - 12p40

Qua thí nghiệm cho thấy, đáp ứng miễn dịch tạo IL - 12p40 xảy ra mạnh nhất ở các lô gà được tiêm vắc xin

HVT + CVI 988 (Rispens) và sử dụng tổ hợp chủng *Lactobacillus casei* B1.3 và *Lactobacillus acidophilus* B1.8, cụ thể: mức độ tăng ở gà Ri là 4 - 8 lần, gà Lương

Phượng là 2 - 4 lần, gà Ross 308 là 2 - 4 lần so với lô đối chứng âm. Ở gà Ri, mức độ tăng tổng hợp IL - 12p40 cao nhất ổn định trong 2 tháng đầu trong khi đó các giống gà Lương Phượng và Ross 308, mức độ tăng mạnh nhất ở tháng thứ nhất và giảm dần ở các tháng tiếp theo. Các thí nghiệm sử dụng chủng đơn lẻ không có hiệu quả làm tăng tổng hợp IL - 12p40 so với đối chứng dương. Interleukin 12 được sản xuất bởi các tế bào trình diện kháng nguyên (APC Antigen Presenting Cell) bao gồm các bạch cầu đơn nhân, đại

thực bào, lympho B, tế bào tua (dendritic cells) được tiếp xúc với virus, vi khuẩn và ký sinh trùng nội bào. Đây là cytokine có vai trò điều hòa miễn dịch, giúp kích thích sinh tổng hợp interferon - γ (IFN - γ), tham gia biệt hóa các tế bào lympho Th1 thành các tế bào lympho T có dấu ấn CD4+ vì vậy IL - 12 đóng vai trò quan trọng trong điều trị các bệnh do virus, vi khuẩn hoặc ung thư [9], Juanita và cộng sự đã chứng minh IL - 12 có khả năng ức chế mạnh mẽ sự nhân lên của virus bởi nó hoạt hóa các tế bào lympho T độc [10].

Bảng 5. Ảnh hưởng của các chủng *Lactobacillus* sp. đến sự tổng hợp IL- 12p40

Công thức thí nghiệm	Gà Ri						Gà Lương Phượng						Gà Ross 308					
	Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3		Tháng thứ nhất		Tháng thứ hai		Tháng thứ 3	
	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng	Hiệu giá	Số lần tăng
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3	256	4	128	2	128	2	128	2	128	2	64	1	64	1	64	1	64	1
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	256	4	256	4	128	2	256	4	128	2	64	1	128	2	64	1	64	1
HVT/Rispens + <i>Lactobacillus casei</i> B1.3 + <i>Lactobacillus acidophilus</i> B1.8	512	8	512	8	256	4	512	8	256	4	128	2	256	4	128	2	128	2
Đối chứng dương	256	4	128	2	128	2	128	2	128	2	128	2	64	1	64	1	64	1
Đối chứng âm	64	1	64	1	64	1	64	1	64	1	64	1	64	1	64	1	64	1

4. KẾT LUẬN

Hai chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* B1.3, *Lactobacillus acidophilus* B1.8 bổ sung trực tiếp qua đường miệng cho gà được tiêm vắc xin HVT/Rispens làm tăng khả năng kích thích tổng hợp các cytokin: α - IFN, β - IFN, γ - IFN, IL-4, IL-12p40 giúp nâng cao hiệu quả phòng bệnh và làm tăng tỷ lệ bảo hộ của vắc xin chống bệnh do virus đối với 3 giống gà: gà Ri, gà Lương Phượng, gà Ross 308.

- Bổ sung tổ hợp 2 chủng vi khuẩn mức độ tổng hợp cytokin cao hơn 1 loại vi khuẩn, tháng thứ nhất mức độ tăng cường là lớn nhất, tháng thứ hai và ba giảm dần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashraf R, Shah NP. (2014). Immune system stimulation by probiotic microorganisms. Food Sci Nutr. 54(7):938-56.

2. Charles E. Samuel. (2001). Antiviral Actions of Interferon. Clinical Microbiology Reviews, Vol.14, No.4, P 778-809).

3. Jarosinski KW¹, Jia W, Sekellick MJ, Marcus PI, Schat KA. (2001). Cellular responses in chickens treated with IFN-alpha orally or inoculated with recombinant Marek's disease virus expressing IFN-alpha. J Interferon Cytokine Res., 21(5):287-96.

4. Jennifer: Brisbin JT, Gong J, Orouji S, et al. Oral Treatment of Chickens with Lactobacilli Influences Elicitation of Immune Responses. *Clinical and Vaccine Immunology*: CVI. 2011;18(9):1447-1455. doi:10.1128/CVI.05100-11.

5. Gimeno, I. M. (2008). Marek's disease vaccines: A solution for today but a worry for tomorrow? Vaccine, 26, C31-C41. doi:10.1016/j.vaccine.2008.04.009.

6. Haq, K., Schat, K. A., & Sharif, S. (2013). Immunity to Marek's disease: Where are we now? *Developmental & Comparative Immunology*, 41(3), 439-446. doi:10.1016/j.dci.2013.04.001.
7. Dittmer U, Peterson KE, Messer R, Stromnes IM, Race B, Hasenkrug KJ. Role of Interleukin-4 (IL-4), IL-12 and Gamma Interferon in Primary and Vaccine-Primed Immune Responses to Friend Retrovirus Infection. *Journal of Virology*. 2001;75(2):654-660. doi:10.1128/JVI.75.2.654-660.2001.
8. Moran TM, Isobe H, Fernandez-Sesma A, Schulman JL (1996). Interleukin-4 causes delayed virus clearance in influenza virus-infected mice. *J Virol* 70:5230-5235.
9. Hamza T, Barnett JB, Li B. Interleukin 12 a Key Immunoregulatory Cytokine in Infection Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010;11(3):789-806. doi:10.3390/ijms11030789.
10. Monteiro JM, Harvey C, Trinchieri G. Role of Interleukin-12 in Primary Influenza Virus Infection. *Journal of Virology*. 1998;72(6):4825-4831.

STUDY ON THE ROLE OF *Lactobacillus* sp. TO ENHANCE THE SYNTHESIS OF SOME CYTOKINES IN CHICKENS

Nguyen Thi Thu Hien¹, Pham Thi Tam¹, Le Thi Thu Hien²

¹Ha Noi Open University

²Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

Summary

This study was conducted to investigate the strengthening of non-specific immune in vaccination chickens that were consumed *Lactobacillus casei* B1.3 and *Lactobacillus acidophilus* B1.8. By ELISA, several cytokines as IFN, β -IFN, γ -IFN, IL-4 and IL-12 were the chicken to stimulate synthesis in 3 batches of chickens (Ri, Luong Phuong, Ross 308) . At 1, 2 and 3 months of age, with the same dose of 10^7 CFU of *Lactobacillus casei* B1.3 and *Lactobacillus acidophilus* B1.8, the levels of IFN and IL in the batches of chicken were fed with two strains are more higher than those of a single bacterial species, namely: α - IFN, β - IFN, γ - IFN increased 2-16, 2-4, 2-16 folds; IL - 4, IL - 12 increased by 2-4, 2-8 folds. The results showed that the combination of *Lactobacillus casei* B1.3 and *Lactobacillus acidophilus* B1.8 could be used to rivalent vaccine HVT and CVI 988 Rspens to increase the effectiveness of Marek disease prevention in chickens.

Keywords: *Lactobacillus*, cytokine, Ri, Luong Phuong, Ross 308, Marek.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Văn Năm

Ngày nhận bài: 28/9/2018

Ngày thông qua phản biện: 29/10/2018

Ngày duyệt đăng: 5/11/2018