

## Structure, function, and potential application of F18 in vaccine development

Uy H. G. Vu, Trang T. X. Le, & Hieu Tran-Van\*

Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science,  
Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: May 18, 2023

Revised: July 03, 2023

Accepted: July 11, 2023

#### Keywords

Enterotoxigenic *Escherichia coli*  
(ETEC)

F18

FedF

Post-weaning diarrhea

#### \*Corresponding author

Tran Van Hieu

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

### ABSTRACT

Post-weaning diarrhea is one of the most common diseases in pigs, affecting pigs in the first two weeks after weaning, causing significant economic losses. The main cause of this disease is Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), which is characterized by two pathogenic factors: fimbriae and enterotoxins. These fimbriae are considered to mediate bacterial adhesion through binding to the receptor present in the pig intestine. Several studies indicate that F4 and F18 fimbriae account for a high percentage of the fimbriae in ETEC and are detected in most of the isolated ETEC strains. Currently, oral vaccines are a potential preventive measure used with the ability to generate IgA, stimulate the mucosal immune system, and be widely noticed by researchers. However, the vaccines are only effective against ETEC-F4 and less effective against ETEC-F18, so more research is needed to improve the effectiveness of ETEC-F18 vaccines in the future. In this review, we presented the structure, function, and potential application of the F18 in vaccine development.

**Cited as:** Vu, U. H. G., Le, T. T. X., & Tran-Van, H. (2023). Structure, function, and potential application of F18 in vaccine development. *The Journal of Agriculture and Development* 22(5), 47-56.

## Cấu trúc, chức năng và tiềm năng ứng dụng của F18 trong phát triển vắc-xin

Vũ Hoàng Gia Uy, Lê Thị Xuân Trang & Trần Văn Hiếu\*

Khoa Sinh Học - Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên,  
Đại Học Quốc Gia TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 18/05/2023

Ngày chỉnh sửa: 03/07/2023

Ngày chấp nhận: 11/07/2023

#### Từ khóa

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)

F18

FedF

Tiêu chảy sau cai sữa

#### \*Tác giả liên hệ

Trần Văn Hiếu

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

### TÓM TẮT

Tiêu chảy sau cai sữa là một trong những bệnh phổ biến nhất ở heo, ảnh hưởng đến heo trong hai tuần đầu sau cai sữa, gây thiệt hại kinh tế nặng nề. Nguyên nhân chính gây bệnh này là vi khuẩn Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), đặc trưng bởi hai yếu tố gây bệnh: tiêm mao và độc tố ruột. Các tiêm mao được xem là yếu tố trung gian cho sự bám dính của vi khuẩn thông qua việc liên kết với thụ thể có ở ruột heo. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, tiêm mao F4 và F18 chiếm tỉ lệ cao trong các loại tiêm mao ở ETEC, được phát hiện ở hầu hết các chủng ETEC được phân lập. Hiện nay, vắc-xin dạng uống đang là biện pháp phòng bệnh tiềm năng được sử dụng với khả năng tạo được IgA, kích thích hệ miễn dịch niêm mạc và đang được nhiều nhà nghiên cứu chú ý đến. Tuy nhiên, các vắc-xin chỉ hiệu quả đối với ETEC-F4 và kém hiệu quả đối với ETEC-F18; vì vậy, việc cần thêm nhiều nghiên cứu để nâng cao hiệu quả vắc-xin phòng bệnh ETEC-F18 là điều cần thiết trong tương lai. Trong tổng quan này, chúng tôi sẽ trình bày về cấu trúc, chức năng và các tiềm năng ứng dụng của F18 trong vắc-xin.

### 1. Đặt Vấn Đề

Tiêu chảy sau cai sữa (post-weaning diarrhea, PWD) ở heo con là một trong những bệnh thường gặp, gây thiệt hại kinh tế nặng nề đối với ngành chăn nuôi heo, ảnh hưởng đến hơn 54% người chăn nuôi heo trên toàn thế giới, chi phí điều trị trung bình hơn 5 đô la/heo (Rhouma & ctv., 2017; Gold, 2020). Khi bị bệnh PWD, heo sẽ bị mất nước, tiêu chảy nhiều, dẫn đến giảm tới 10 - 12% khối lượng cơ thể heo con trong vòng 6 giờ, khiến chúng kém phát triển và có thể gây chết đột ngột do sốc giảm thể tích, suy tim, tỷ lệ tử vong lên đến 20 - 30% nếu không được điều trị (Holland, 1990; Rhouma & ctv., 2017). Các nguyên nhân gây bệnh có thể kể đến như tuổi

cai sữa, điều kiện chuồng trại, Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC),... Trong đó, ETEC được xác định là yếu tố khó kiểm soát nhất do chúng kháng hầu hết các loại kháng sinh như tetracycline, apramycin, neomycin, spectinomycin, và erythromycin. Do đó, ETEC được xem là nguyên nhân chính gây PWD ở heo (Fairbrother & ctv., 2005; Rhouma & ctv., 2017).

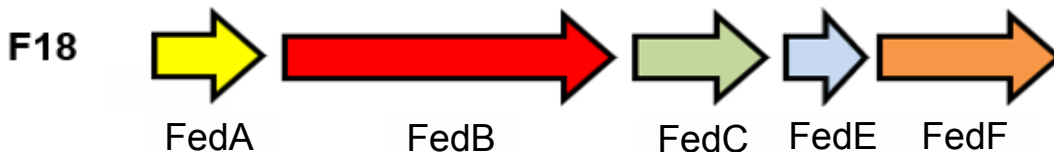
Enterotoxigenic *Escherichia coli* đặc trưng bởi 2 yếu tố gây bệnh: tiêm mao và độc tố. Tiêm mao là nhân tố quan trọng giúp ETEC có thể bám vào lớp biểu mô ở ruột heo sau đó sản xuất các độc tố gây tiêu chảy: độc tố nhạy nhiệt (heat-labile toxin, LT), và độc tố bền nhiệt (heat-stable toxin, ST) bao gồm STa và STb (Frydendahl, 2002;

Fairbrother & ctv., 2005). Theo nghiên cứu của Frydendahl (2002), F18 và F4 là tiêm mao chủ yếu được phân lập từ chủng ETEC gây bệnh, chiếm tỉ lệ lần lượt là 39% và 45% trong tổng số loại tiêm mao ở ETEC. Hiện nay, việc sử dụng kháng sinh hoặc bổ sung oxit kẽm trong khẩu phần ăn của heo đang là biện pháp được sử dụng để kiểm soát PWD (Rhouma & ctv., 2017). Tuy nhiên, việc cho heo ăn với liều lượng kẽm cao dẫn đến ô nhiễm kim loại nặng trong đất, gây ra những hậu quả nghiêm trọng về môi trường (Rhouma & ctv., 2017; Vangroenweghe & Boone, 2022). Ngoài ra, việc sử dụng kháng sinh dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh cũng như ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng, chẳng hạn như kháng colistin, một loại kháng sinh được sử dụng rộng rãi để kiểm soát PWD ở heo (Holman & Chénier, 2015; Rhouma & ctv., 2017). Hiện nay, vắc-xin đường uống được chứng minh là hiệu quả trong việc phòng PWD với khả năng

tiết kháng thể IgA. Tuy nhiên, các vắc-xin chỉ hiệu quả đối với ETEC-F4 và kém hiệu quả đối với ETEC-F18 (Tiels & ctv., 2007; Melkebeek & ctv., 2013). Trong tổng quan này, chúng tôi sẽ thảo luận về cấu trúc, chức năng và tiềm năng ứng dụng của F18 trong việc phát triển vắc-xin phòng ETEC-F18.

## 2. Cấu Trúc F18

Tiêm mao F18 có bản chất là protein với chiều dài khoảng 1 - 2 μm, bao phủ trên bề mặt vi khuẩn, chúng là trung gian cho sự bám dính của vi khuẩn với tế bào ruột ở heo (Hahn & ctv., 2000). Tiêm mao F18 được mã hóa bởi 5 gen (Hình 1): FedA (tiểu đơn vị chính) và các tiểu đơn vị nhỏ FedB (usher), FedC (chaperone), FedF (tiểu đơn vị kết dính), FedE (tiểu đơn vị liên kết giữa FedA và FedF) (Fairbrother & ctv., 2005; Dubreuil & ctv., 2016).



**Hình 1.** Các gen của tiêm mao F18. Gen mã hóa tiểu đơn vị chính (vàng), usher (đỏ), chaperone (xanh lá), tiểu đơn vị liên kết (xanh dương) và tiểu đơn vị kết dính (cam) (Barth & ctv., 2011).

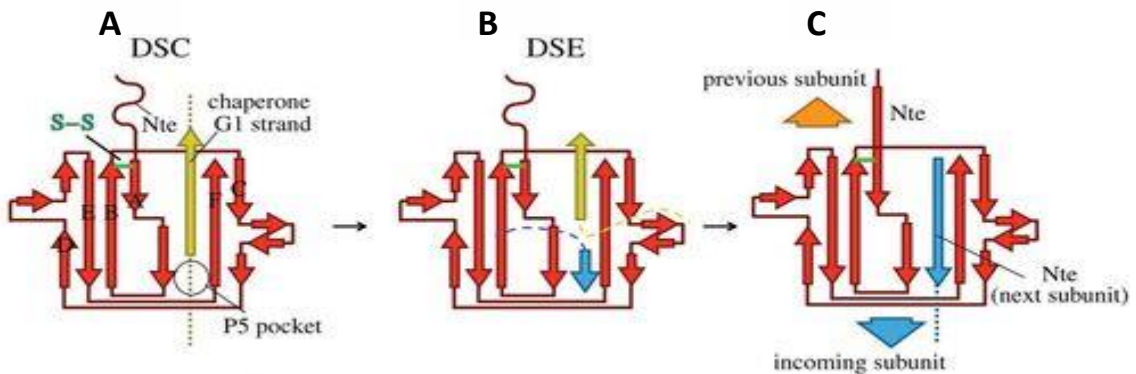
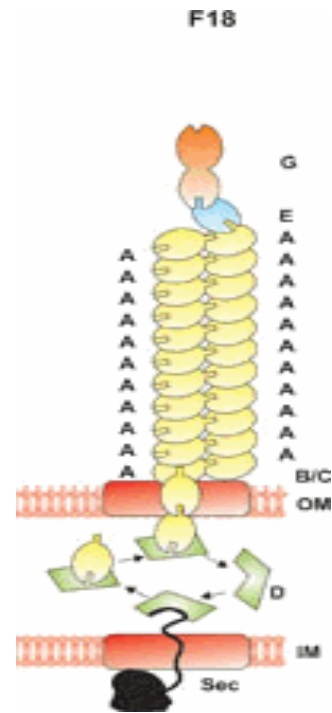
Tiêm mao F18 được lắp ráp bởi con đường chaperone - usher (CU), là con đường dành riêng cho việc lắp ráp các tiêm mao ở vi khuẩn Gram âm. FedC là chaperone chu chất và FedB là một protein màng ngoài hay còn gọi là usher cũng tham gia vào con đường này (Zav'yalov & ctv., 2010; Moonens & ctv., 2014; Werneburg & ctv., 2015). Đầu tiên, con đường bài tiết (secretion pathway) cho phép các tiểu đơn vị mới vừa hình thành đi qua màng trong và tiến vào chu chất, sau đó tương tác với chaperone chu chất để hình thành phức hợp, quá trình lắp ráp F18 bắt đầu từ tiểu đơn vị kết dính FedF, theo sau lần

lượt là tiểu đơn vị liên kết và tiểu đơn vị chính (Busch & Waksman, 2012; Werneburg & ctv., 2015) (Hình 2). Các chaperone cho phép các tiểu đơn vị gấp cuộn lại đúng thông qua cơ chế DSC (donor-strand complementation) (Phan & ctv., 2011; Busch & ctv., 2015). Cơ chế DSC là quá trình chaperone cung cấp sợi β hay còn gọi là sợi G1 để hoàn thành nếp gấp của các tiểu đơn vị, do chúng thiếu đi sợi β và tạo thành một đường “rãnh”, việc bổ sung sợi β giúp bảo vệ các tiểu đơn vị tránh bị phân hủy bởi các protease, ngoài ra còn để tránh các “rãnh” tự do có thể liên kết với nhau trong chu chất (Hình 3-A) (Sauer & ctv.,

2004; Waksman & Hultgren, 2009; Busch & ctv., 2015). Để có thể hình thành tiêm mao F18 trên màng ngoài của tế bào, usher xúc tác làm thay đổi tương tác giữa tiểu đơn vị - chaperone thành tương tác giữa tiểu đơn vị - tiểu đơn vị thông qua cơ chế DSE (donor-strand exchange), đây là quá trình thay thế sợi  $\beta$  được thêm bởi chaperone chu chất bằng đầu N (N-terminal extension-Nte) của tiểu đơn vị tiếp theo, giúp cho các tiểu đơn vị có thể liên kết với nhau thông qua túi P5;

đồng thời, usher này còn có các miền giúp di chuyển và neo chặt các tiêm mao trên bề mặt tế bào (Hình 3-B) (Busch & ctv., 2015; Werneburg & ctv., 2015). Ngoài ra, usher còn có khả năng nhận biết sự khác nhau giữa các phức hợp tiểu đơn vị - chaperone, do đó có thể lắp ráp các tiểu đơn vị khác nhau đúng theo thứ tự (Moonens & ctv., 2014; Busch & ctv., 2015; Werneburg & ctv., 2015).

**Hình 2.** Quá trình sinh tổng hợp tiêm mao F18. Sec: Con đường bài tiết, D: chaperone, A: tiểu đơn vị chính, E: tiểu đơn vị liên kết, G: tiểu đơn vị kết dính, B/C: usher (Dubreuil & ctv., 2016).

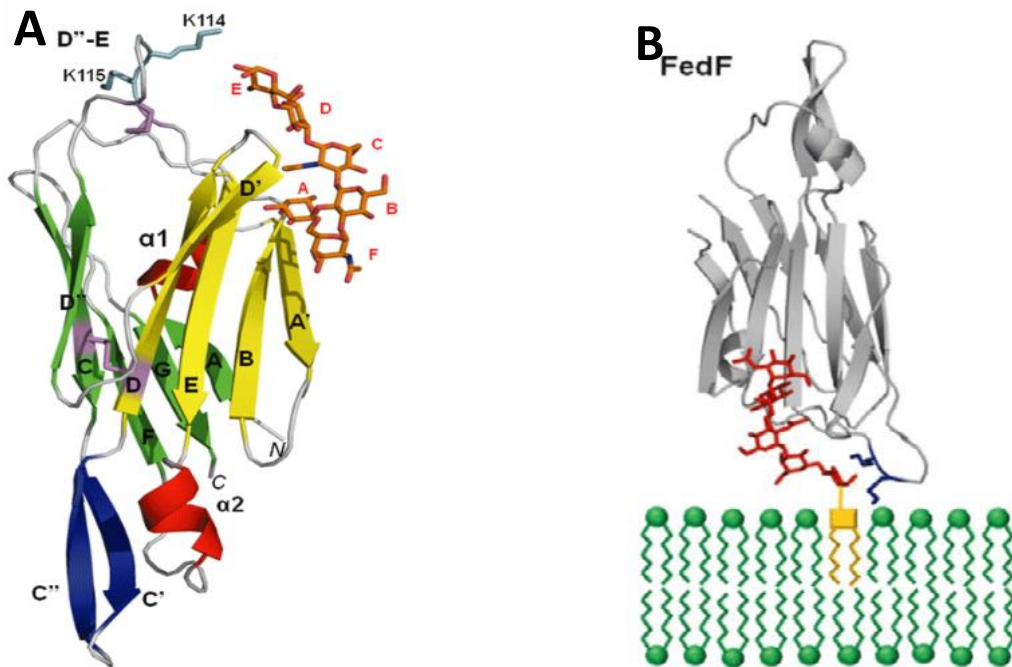


**Hình 3.** Quá trình hình thành tiêm mao thông qua cơ chế DSC (donor-strand complementation) và DSE (donor-strand exchange). (A): Cơ chế DSC, các phiến  $\beta$  của tiểu đơn vị (đỏ) được cung cấp sợi  $\beta$  (vàng); (B): Cơ chế DSE, sợi  $\beta$  (vàng) được thay thế bởi Nte (xanh dương); (C): Cấu trúc hoàn chỉnh của tiểu đơn vị khi thay thế hoàn toàn sợi  $\beta$  bằng Nte (Busch & ctv., 2015).

### 3. Chức Năng F18

Như đã đề cập ở phần trên, tiêm mao F18 được xem là yếu tố trung gian giúp ETEC liên kết với thụ thể trên ruột non của heo, sau đó giải phóng một hoặc nhiều độc tố gây tăng tiết nước và chất điện giải, cuối cùng dẫn đến mất nước, tiêu chảy hoặc có thể tử vong do bài tiết quá nhiều. FedF là tiểu đơn vị kết dính đặc hiệu với thụ thể trên tế bào biểu mô ruột ở heo, cụ thể là miền đầu N (N-terminal domain - NTD) của FedF chịu trách nhiệm cho việc liên kết với thụ thể (Moonens & ctv., 2012; Rhouma & ctv., 2017). Các thử nghiệm và dữ liệu cấu trúc đã chỉ ra rằng 165 axit amin đầu tiên của FedF xếp thành miền lectin liên kết với thụ thể glycosphingolipid trên tế bào ruột non của heo (Moonens & ctv., 2012). FedF liên kết với thụ thể glycosphingolipid bằng cách hình thành tương

tác với các sợi  $\beta$  B, E, D, D' thông qua liên kết hydro. Ngoài ra, cấu trúc FedF còn có vòng lặp D''-E chứa hai gốc lysine tích điện dương (K114 & K115), tuy không tham gia trực tiếp vào tương tác với thụ thể nhưng được chứng minh là có vai trò quan trọng (Hình 4-A) (Moonens & ctv., 2012; Moonens & ctv., 2014). Hai gốc lysine này liên kết với lớp phospholipid bằng tương tác tĩnh điện, giúp bổ sung ái lực và ổn định liên kết giữa FedF và thụ thể glycosphingolipid (Hình 4-B) (Moonens & ctv., 2012). Một số nghiên cứu đã tiến hành đột biến các liên kết của glycan với FedF cũng như hai gốc tích điện dương của lysine thành trung tính, kết quả là làm giảm đáng kể khả năng bám dính của vi khuẩn lên tế bào ruột. Do đó, chúng được chứng minh là cần thiết cho quá trình tương tác giữa vi khuẩn với tế bào ruột heo (Moonens & ctv., 2012; Moonens & ctv., 2014).

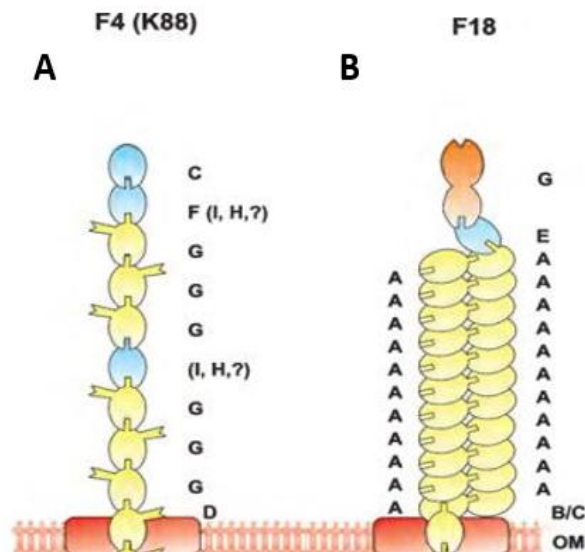


**Hình 4.** Tương tác của FedF với ruột heo. (A), tương tác của FedF với glycosphingolipid (hình que), các phiến  $\beta$  (xanh lá, vàng và xanh dương) và các xoắn  $\alpha$  (đỏ) của FedF; (B), tương tác của vòng lặp D''-E (xanh dương) với biểu mô ruột (xanh lá), thụ thể glycosphingolipid (vàng, đỏ), nhóm glycan (đỏ) (Moonens & ctv., 2012).

#### 4. Tiềm Năng Ứng Dụng F18 Trong Vắc-xin

Có 2 dạng vắc-xin phổ biến được sử dụng hiện nay là vắc-xin dạng tiêm và dạng uống. Trong đó, vắc-xin dạng uống có thể kích thích miễn dịch hệ thống và miễn dịch màng nhầy tiết kháng thể IgA, đóng vai trò như một lớp phòng thủ, hoạt động bằng cách bao phủ bề mặt niêm mạc của đường tiêu hóa, hô hấp, sinh dục, ... ngăn cản sự gắn kết của mầm bệnh với các lớp biểu mô của niêm mạc thông qua việc liên kết đặc hiệu với kháng nguyên mầm bệnh và được chứng minh là có hiệu quả trong việc chống lại PWD (Woof & Kerr, 2006; Vangroenweghe & Boone, 2022). Khi bắt đầu giai đoạn cai sữa ở heo con quá trình cung cấp IgA từ sữa heo mẹ sẽ bị dừng lại và khi đó vắc-xin dạng uống được xem là một lựa chọn tiềm năng trong việc cung cấp IgA phòng bệnh ở đường ruột (Rhouma & ctv., 2017; Gia & ctv., 2020). Hiện nay, đã có nhiều nghiên cứu vắc-xin

phòng ETEC gây bệnh và các thử nghiệm lâm sàng được thực hiện để kiểm tra hiệu quả vắc-xin, một trong số đó đã được thương mại hóa ở Châu Âu và Canada (Melkebeek & ctv., 2013; Nadeau & ctv., 2016). Tuy nhiên, các vắc-xin này chỉ hiệu quả trong việc bảo vệ heo trước sự xâm nhiễm của ETEC-F4 nhưng không hiệu quả đối với ETEC-F18 (Melkebeek & ctv., 2013; Moonens & ctv., 2014). Nguyên nhân là do có sự khác biệt giữa tiểu đơn vị kết dính của tiêm mao F4 và F18. Tiểu đơn vị kết dính của tiêm mao F4 là FaeG và cũng là tiểu đơn vị chính do đó có số lượng bản sao nhiều, giúp ổn định cấu trúc tiêm mao (Hình 5-A). Tiểu đơn vị kết dính của tiêm mao F18 là FedF với số lượng bản sao ít và tương tác yếu với tiểu đơn vị chính FedA (Hình 5-B), do đó dễ dàng bị đứt ra khỏi F18 và bị phân hủy khi tồn tại đơn lẻ trong môi trường ruột, dẫn đến vắc-xin phòng ETEC-F18 kém hiệu quả (Tiels & ctv., 2007; Verdonck & ctv., 2007).



**Hình 5.** Cấu trúc tiêm mao của F4 và F18. (A): Cấu trúc tiêm mao F4, G: tiểu đơn vị chính FaeG, C, F: các tiểu đơn vị nhỏ; (B): Cấu trúc tiêm mao F18, G: tiểu đơn vị kết dính FedF, A: tiểu đơn vị chính (Dubreuil & ctv., 2016).



Vì vậy, cần có biện pháp giúp tăng hiệu quả của vắc-xin trong việc phòng ETEC-F18 xâm nhiễm. Nhóm nghiên cứu của Mai & ctv. (2020) đã biểu hiện tiêm mao F18 toàn phần dung hợp với trình tự neo tự nhiên của *S. cerevisiae* trên bề mặt tế bào nấm men *Pichia pastoris* nhằm biểu hiện nhiều nhất kháng nguyên. Hệ thống này giúp bảo vệ sự nguyên vẹn của kháng nguyên khỏi điều kiện khắc nghiệt của hệ tiêu hóa và sử dụng như một loại vắc-xin uống phòng bệnh ETEC. Với kết quả biểu hiện thành công F18 trên bề mặt tế bào nấm men *P. pastoris* đã mở ra tiềm năng ứng dụng vào việc phát triển vắc-xin hiệu quả với giá thành rẻ.

Hiện nay, tình trạng heo con bị nhiễm ETEC-F4 hoặc ETEC-F18 được phát hiện với tỉ lệ 0,4%, trong khi heo nhiễm chủng ETEC mang cả tiêm mao F4, F18 được phát hiện với tỉ lệ lên đến 4,6%, phân lập từ 280 heo bị PWD, từ đó cho thấy các vắc-xin phòng ETEC-F4 hoặc ETEC-F18 không đạt hiệu quả tốt (Luppi & ctv., 2016). Do đó, nghiên cứu của Tiels & ctv. (2008) đã dung hợp thành công vùng FedF của F18 với protein liên kết maltose (maltose-binding protein, MBP), sau đó kết hợp với tiêm mao F4 toàn phần giúp protein tái tổ hợp có thể bám lên niêm mạc ruột, tạo ra đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Ở thí nghiệm này, 5 nhóm heo dương tính với F4, F18 ETEC được thực hiện thí nghiệm, bao gồm nhóm điều trị bằng MBPFedF (số lượng 6 con), nhóm điều trị bằng MBPFedF và F4 không kết hợp (số lượng 6 con), nhóm điều trị bằng MBPFedF kết hợp F4 (số lượng 6 con) và 2 nhóm đối chứng âm không bổ sung MBPFedF và F4 (số lượng 11 con). Kết quả cho thấy chỉ có nhóm điều trị bằng MBPFedF kết hợp với F4 tạo ra kháng thể đặc hiệu kháng tiêm mao F18 và tiêm mao F4, lượng vi khuẩn ETEC-F18 trong phân được ghi nhận trong 10 ngày từ nhóm này giảm đáng kể (từ 107 vi khuẩn có trong 1 gram phân xuống còn 101) sau lần tiêm chủng thứ ba. Sự kết hợp là tiềm năng để trở thành ứng cử viên trong việc phát triển vắc-xin chống được

cả ETEC-F4 và ETEC-F18 trong tương lai. Tuy nhiên, vẫn chưa quan sát được khả năng bảo vệ hoàn toàn cũng như tính ổn định của vắc-xin do khả năng tồn tại kém của FedF trong dạ dày, cụ thể ở pH=3 lượng MBPFedF giảm đáng kể và không được phát hiện sau 60 phút.

Như đã đề cập ở phần trên, F4 và F18 là tiêm mao phổ biến gây bệnh PWD. Tiêm mao F4 gồm có 3 biến thể là F4ab, F4ac, và F4ad, trong đó F4ac được xem là biến thể chính gây bệnh PWD, trong khi đó biến thể của tiêm mao F18 là, F18ac và F18ac thường liên quan đến vi khuẩn ETEC gây bệnh PWD (Rhouma & ctv., 2017). Do đó, nhóm nghiên cứu của Nadeau & ctv. (2017), đã thiết kế vắc-xin nhị giá dạng uống bằng cách kết hợp biến thể kháng nguyên của F4 (F4ac) và biến thể kháng nguyên của F18 (F18ac) tạo miễn dịch chủ động bảo vệ heo. Ở thí nghiệm này, hai mô hình được sử dụng là heo bị nhiễm ETEC-F18 (số lượng 48 con) và bị nhiễm ETEC-F4 (số lượng 40 con), mỗi mô hình được chia đều làm hai nhóm: nhóm 7 ngày sau tiêm chủng và nhóm 21 ngày sau tiêm chủng. Kết quả cho thấy rằng, ở mô hình ETEC-F18, 75% heo đối chứng (không tiêm vắc-xin) bị tiêu chảy từ trung bình đến nặng và không có heo tiêm phòng nào bị tiêu chảy sau 7 ngày tiêm chủng. Tương tự ở nhóm 21 ngày sau tiêm, không có heo tiêm phòng nào tiêu chảy từ vừa đến nặng; ngoài ra, khối lượng cũng tăng lên đáng kể ở nhóm 7 ngày và 21 ngày tương ứng là 0,16 kg/ngày và 0,39 kg/ngày. Ở mô hình ETEC-F4, các đối chứng (không tiêm vắc-xin) chỉ bị tiêu chảy nhẹ không quá nghiêm trọng đến sức khỏe, do đó khó xác định được thời gian bảo vệ cụ thể, điều này có thể giải thích là do ETEC-F4 ít có khả năng xâm nhiễm đường ruột ở những con heo già hơn, tuy nhiên vẫn quan sát được sự bảo vệ của vắc-xin khỏi ETEC-F4. Không những thế, vắc-xin nhị giá còn tạo ra kháng thể IgM và IgA bảo vệ heo khỏi biến thể F18ac mà còn kháng chéo với biến thể F18ab. Tuy nhiên, sự bảo vệ với các biến thể còn lại của F4ab và F4ad vẫn chưa được ghi nhận.

Duan & ctv. (2020) đã thiết kế vắc-xin đa trị phòng ETEC-F4, F5 (K99), F6 (987P), F18, F41, bằng cách sử dụng phương pháp MEFA (multiepitope fusion antigen). Ở thí nghiệm này, vắc-xin đa trị được tạo ra bằng cách sử dụng tiểu đơn vị kết dính của 5 tiêm mao F4, F5, F6, F18, F41, cụ thể FaeG của tiêm mao F4 và FedF của tiêm mao F18 là khung sườn để gắn epitope của tiểu đơn vị FanC của tiêm mao F5, tiểu đơn vị FasA của tiêm mao F6 và Fim41a tiểu đơn vị của fimbria F41. Để đánh giá khả năng sinh miễn dịch của protein MEFA, 3 nhóm chuột (mỗi nhóm 15 con) được tiêm chủng, bao gồm: nhóm 1 (được tiêm với liều lượng 50 µg protein FaeG–Fim41a–FanC–FasA MEFA kết hợp với 50 µg FedF–FasA–Fim41a–FanC), nhóm 2 (100 µg protein FaeG–FedF–FanC–FasA–Fim41a MEFA), và nhóm 3 là nhóm đối chứng (tiêm 200 µL dung dịch PBS). Sau đó, thu huyết thanh để kiểm tra, thực hiện các thử nghiệm *in vitro* để đánh giá khả năng kháng của kháng thể đối với 5 tiêm mao trên. Kết quả cho thấy rằng những con chuột được tiêm bởi vắc-xin này đã đáp ứng miễn dịch tạo ra các kháng thể kháng ETEC có các tiêm mao kể trên và ức chế được sự bám dính của chúng lên tế bào biểu mô ruột non của heo. Đặc biệt nhóm 2 tạo khả năng sinh miễn dịch cũng như ức chế sự bám dính tốt nhất. Ở nhóm 2, chủng ngừa FaeG–FedF–FanC–FasA–Fim41a cho thấy giảm kết dính đáng kể giữa các tế bào IPEC-1 với các chủng F4, F18, F5, F6, F41 ETEC lần lượt là 70%, 71 %, 75%, 72% và 65%, đối với các tế bào IPEC-J2 lần lượt là 58%, 76%, 84%, 69% và 62%. Tuy vẫn chưa có các thử nghiệm *in vivo* trên heo để có thể đánh giá độ hiệu quả, nhưng vắc-xin đa trị hứa hẹn sẽ là biện pháp tiềm năng trong tương lai với việc sản xuất các kháng thể có khả năng phản ứng chéo với các tiêm mao gây bệnh từ các chủng ETEC khác nhau, cung cấp sự bảo vệ toàn diện cho heo chống lại PWD.

Qua đó, ta có thể thấy rằng, tiềm năng ứng dụng vào vắc-xin của các tiêm mao nói chung và F18 nói riêng là vô cùng quan trọng. Các nghiên

cứu trên đã mang đến những tác động mạnh mẽ trong việc phát triển vắc-xin phòng PWD cũng như tác động tích cực đến ngành chăn nuôi heo trong và ngoài nước.

## 5. Kết Luận

Enterotoxigenic *Escherichia coli* là nguyên nhân chính gây nên PWD ở heo, trong đó tiêm mao F18 là nhân tố có vai trò quan trọng trong quá trình hình thành bệnh ở heo. Với cấu trúc được cấu tạo từ 5 tiểu đơn vị, F18 có khả năng bám vào tế bào ruột ở heo thông qua tiểu đơn vị FedF, từ đó tiết các độc tố gây tiêu chảy khiến cho heo bài tiết quá mức dẫn đến tử vong. Trong tổng quan này, chúng tôi đã tổng hợp, trình bày sơ lược cấu trúc, quá trình sinh tổng hợp, chức năng cũng như tiềm năng ứng dụng của tiêm mao F18 trong việc phát triển vắc-xin. Tuy hiện nay vẫn chưa có biện pháp nào hiệu quả để phòng chống ETEC-F18 ở heo, nhưng đã có nhiều nghiên cứu nhằm cải thiện hiệu quả vắc-xin phòng ETEC-F18, từ đó hướng đến việc sản xuất, thương mại hóa trong tương lai.

## Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

## Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Barth, S., Schwanitz, A., & Bauerfeind, R. (2011). Polymerase chain reaction-based method for the typing of F18 fimbriae and distribution of F18 fimbrial subtypes among porcine Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* in Germany. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23(3), 454-464. <https://doi.org/10.1177/1040638711403417>.
- Busch, A., Phan, G., & Waksman, G. (2015). Molecular mechanism of bacterial type 1 and P pili assembly. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 373(2036), 20130153. <https://doi.org/10.1098/rsta.2013.0153>.



- Busch, A., & Waksman, G. (2012). Chaperone-usher pathways: diversity and pilus assembly mechanism. *Philosophical Transactions of the Royal Society London. Series B, Biological Sciences* 367(1592), 1112-1122. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0206>.
- Duan, Q., Pang, S., Wu, W., Jiang, B., Zhang, W., Liu, S., Wang, X., Pan, Z., & Zhu, G. (2020). A multivalent vaccine candidate targeting enterotoxigenic *Escherichia coli* fimbriae for broadly protecting against porcine post-weaning diarrhea. *Veterinary Research* 51(1), 93. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00818-5>.
- Duan, Q., Wu, W., Pang, S., Pan, Z., Zhang, W., & Zhu, G. (2020). Coimmunization with two enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) fimbrial multiepitope fusion antigens induces the production of neutralizing antibodies against five ETEC fimbriae (F4, F5, F6, F18, and F41). *Applied and Environmental Microbiology* 86(24), e00217-00220. <https://doi.org/10.1128/AEM.00217-20>.
- Dubreuil, J. D., Isaacson, R. E., & Schifferli, D. M. (2016). Animal enterotoxigenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus* 7(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2016>.
- Fairbrother, J. M., Nadeau, É., & Gyles, C. L. (2005). *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Animal Health Research Reviews* 6(1), 17-39. <https://doi.org/10.1079/ahr2005105>.
- Frydendahl, K. (2002). Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Veterinary Microbiology* 85(2), 169-182. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(01\)00504-1](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00504-1).
- Gold, M. (2020). *Post-weaning diarrhea in pigs farming*. Retrieved April 15, 2023, from <https://msgold.eu/en/diseases/pigs/post-weaning-diarrhea>.
- Hahn, E., Wild, P., Schraner, E. M., Bertschinger, H. U., Häner, M., Müller, S. A., & Aebi, U. (2000). Structural analysis of F18 fimbriae expressed by porcine toxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Structural Biology* 132(3), 241-250. <https://doi.org/10.1006/jsbi.2000.4323>.
- Holland, R. E. (1990). Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clinical Microbiology Reviews* 3(4), 345-375. <https://doi.org/10.1128/CMR.3.4.345>.
- Holman, D. B., & Chénier, M. R. (2015). Antimicrobial use in swine production and its effect on the swine gut microbiota and antimicrobial resistance. *Canadian Journal of Microbiology* 61(11), 785-798. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0239>.
- Luppi, A., Gibellini, M., Gin, T., Vangroenweghe, F., Vandenbroucke, V., Bauerfeind, R., Bonilauri, P., Labarque, G., & Hidalgo, A. (2016). Prevalence of virulence factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs with post-weaning diarrhoea in Europe. *Porcine Health Management* 2, 20. <https://doi.org/10.1186/s40813-016-0039-9>.
- Mai, G. Q., Le, T. V. N., & Tran, H. V. (2020). Cloning and surface expression of F18 fimbria on *Pichia pastoris*'s cell wall. *Can Tho University Journal of Science* 56(6), 139-145. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.152>.
- Melkebeek, V., Goddeeris, B. M., & Cox, E. (2013). ETEC vaccination in pigs. *Veterinary Immunology Immunopathology* 152(1-2), 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.09.024>.
- Moonens, K., Bouckaert, J., Coddens, A., Tran, T., Panjikar, S., Kerpel, M. D., Cox, E., Remaut, H., & Greve, H. D. (2012). Structural insight in histo-blood group binding by the F18 fimbrial adhesin FedF. *Molecular Microbiology* 86(1), 82-95. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2012.08174.x>.
- Moonens, K., Kerpel, M. D., Coddens, A., Cox, E., Pardon, E., Remaut, H., & Greve, H. D. (2014). Nanobody mediated inhibition of attachment of F18 fimbriae expressing *Escherichia coli*. *PLoS One* 9(12), e114691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114691>.

- Nadeau, E., Fairbrother, J. M., Zentek, J., Belanger, L., Tremblay, D., Tremblay, C. L., Röhe, I., Vahjen, W., Brunelle, M., Hellmann, K., Cvejic, D., Brunner, B., Schneider, C., Bauer, K., Wolf, R., & Hidalgo, A. (2017). Efficacy of a single oral dose of a live bivalent *E. coli* vaccine against post-weaning diarrhea due to F4 and F18-positive enterotoxigenic *E. coli*. *Veterinary Journal* 226, 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.07.004>.
- Nadeau, E., Tremblay, D., Bélanger, L., Cvejic, D., Bauer, K., Schneider, C., Hellmann, K., & Hidalgo, A. (2016). Field efficacy of Coliprotec® F4, live oral vaccine against post-weaning diarrhoea caused by F4-enterotoxigenic *E. coli* (F4-ETEC), in German pig farms. In Lima Alvares da Silva, C. (Ed.), *Proceedings of the 24<sup>th</sup> International Pig Veterinary Society Congress* (PO-PC02-007). Dublin, Ireland: International Pig Veterinary Society.
- Phan, G., Remaut, H., Wang, T., Allen, W. J., Pirker, K. F., Lebedev, A., Henderson, N. S., Geibel, S., Volkan, E., Yan, J., Kunze, M. B. A., Pinkner, J. S., Ford, B., Kay, C. W. M., Li, H., Hultgren, S. J., Thanassi, D. G., & Waksman, G. (2011). Crystal structure of the FimD usher bound to its cognate FimC-FimH substrate. *Nature* 474(7349), 49-53. <https://doi.org/10.1038/nature10109>.
- Rhouma, M., Fairbrother, J. M., Beaudry, F., & Letellier, A. (2017). Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica* 59(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0299-7>.
- Sauer, F. G., Remaut, H., Hultgren, S. J., & Waksman, G. (2004). Fiber assembly by the chaperone-usher pathway. *Biochimica et Biophysica Acta* 1694(1-3), 259-267. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.02.010>.
- Tiels, P., Verdonck, F., Coddens, A., Ameloot, P., Goddeeris, B., & Cox, E. (2007). Monoclonal antibodies reveal a weak interaction between the F18 fimbrial adhesin FedF and the major subunit FedA. *Veterinary Microbiology* 119(2-4), 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.08.032>.
- Tiels, P., Verdonck, F., Coddens, A., Goddeeris, B., & Cox, E. (2008). The excretion of F18+ *E. coli* is reduced after oral immunisation of pigs with a FedF and F4 fimbriae conjugate. *Vaccine* 26(17), 2154-2163. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.01.054>.
- Vangroenweghe, F. A. C. J., & Boone, M. (2022). Vaccination with an Escherichia coli F4/F18 vaccine improves piglet performance combined with a reduction in antimicrobial use and secondary infections due to *Streptococcus suis*. *Animals* (Basel). 12(17), 2231. <https://doi.org/10.3390/ani12172231>.
- Verdonck, F., Tiels, P., Gog, K. V., Goddeeris, B. M., Lycke, N., Clements, J., & Cox, E. (2007). Mucosal immunization of piglets with purified F18 fimbriae does not protect against F18+ *Escherichia coli* infection. *Veterinary Immunology Immunopathology* 120(3-4), 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.06.018>.
- Waksman, G., & Hultgren, S. J. (2009). Structural biology of the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis. *Nature Review Microbiology* 7(11), 765-774. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2220>.
- Werneburg, G. T., Henderson, N. S., Portnoy, E. B., Sarowar, S., Hultgren, S. J., Li, H., & Thanassi, D. G. (2015). The pilus usher controls protein interactions via domain masking and is functional as an oligomer. *Nature Structural & Molecular Biology* 22(7), 540-546. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3044>.
- Woof, J. M., & Kerr, M. A. (2006). The function of immunoglobulin A in immunity. *The Journal of Pathology* 208(2), 270-282. <https://doi.org/10.1002/path.1877>.
- Zav'yalov, V., Zavialov, A., Zav'yalova, G., & Korpela, T. (2010). Adhesive organelles of Gram-negative pathogens assembled with the classical chaperone/usher machinery: structure and function from a clinical standpoint. *FEMS Microbiology Reviews* 34(3), 317-378. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00201.x>.