

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN *BACILLUS SUBTILIS* BA-B2013 ĐỐI VỚI TĂNG TRỌNG VÀ SỐ LƯỢNG VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT CỦA GÀ

**Cam Thị Thu Hà, Phạm Hồng Ngân, Hoàng Minh Đức,
Vũ Thị Thu Trà, Nguyễn Thị Trang, Nguyễn Bá Hiên, Vũ Thị Ngọc**
Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá hiệu quả của chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đối với tăng trọng và số lượng một số vi khuẩn đường ruột của gà thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị tăng trọng bình quân theo ngày (ADG) của gà ở lô thí nghiệm có bổ sung chế phẩm chứa *Bacillus subtilis* Ba-B2013 với tỷ lệ 0,2% (20,32 g/con/ngày) cao hơn so với gà ở lô thí nghiệm có bổ sung chế phẩm chứa *Bacillus subtilis* Ba-B2013 với tỷ lệ 0,1% (20,18 g/con/ngày) ($P < 0,05$). Gà ở cả hai lô bổ sung chế phẩm vi sinh trên đều có hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) thấp hơn so với gà ở lô đối chứng ($P < 0,05$), FCR của gà ở lô đối chứng, lô bổ sung 0,1% và 0,2% chế phẩm vi sinh trên lần lượt là 3,63; 3,43 và 3,41. Số lượng vi khuẩn gây bệnh đường ruột của gà ở lô thí nghiệm giảm có ý nghĩa so với gà ở lô đối chứng, số lượng *E. coli* giảm từ $5,59 \log_{10}$ CFU/g xuống $3,95 \log_{10}$ CFU/g; số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. giảm từ $2,21 \log_{10}$ CFU/g xuống $1,55 \log_{10}$ CFU/g; số lượng vi khuẩn *C. perfringens* giảm từ $2,28 \log_{10}$ CFU/g xuống $1,80 \log_{10}$ CFU/g.

Từ khóa: *Bacillus subtilis* Ba-B2013, tăng trọng, vi khuẩn.

Effect of supplementation with *Bacillus subtilis* Ba-B2013 on growth performance and intestinal microflora of chickens

**Cam Thị Thu Hà, Phạm Hồng Ngân, Hoàng Minh Đức,
Vu Thị Thu Trà, Nguyễn Thị Trang, Nguyễn Bá Hiên, Vũ Thị Ngọc**

SUMMARY

This study was conducted to evaluate the effect of *Bacillus subtilis* Ba-B2013 on growth performance and intestinal microflora of chickens. The studied result showed that average daily weight gain (ADG) of chickens in the group supplementing *Bacillus subtilis* Ba-B2013 with 0.2% (20.32g/chicken/day) was significantly higher than ADG of chickens in the group supplementing the same probiotic with 0.1% (20.18g/chicken/day) ($p < 0.05$). Feed conversion rate (FCR) of chickens in both experimental groups were lower than FCR of chickens in the control group, FCR of chickens in the experimental groups supplementing *Bacillus subtilis* Ba-B2013 at 0.1% and 0.2% were 3.43 and 3.41, respectively. This FCR of chickens in the control group was 3.63. The intestinal microflora density of chickens in the experimental groups significantly decreased in comparison with intestinal microflora density of chickens in the control group. The number of *E. coli* decreased from $5.59 \log_{10}$ CFU/g to $3.95 \log_{10}$ CFU/g, *Salmonella* spp. decreased from $2.21 \log_{10}$ CFU/g to $1.55 \log_{10}$ CFU/g, *C. perfringens* decreased from $2.28 \log_{10}$ CFU/g to $1.80 \log_{10}$ CFU/g.

Keywords: *Bacillus subtilis* Ba-B2013, growth performance, bacteria.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bổ sung chế phẩm sinh học có chứa lợi khuẩn vào thức ăn chăn nuôi là một giải pháp mới thay thế kháng sinh nhằm phát triển chăn nuôi an toàn, bền vững. Probiotics có khả năng kích thích tính thèm ăn; cải thiện, thiết lập cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột; cải thiện khả năng tiêu hóa của vật nuôi. Đối với chăn nuôi gia cầm, việc sử dụng chế phẩm sinh

học đã trở thành một cách tiếp cận phổ biến trong những năm gần đây (Borojeni và cs., 2018). Ngoài ra, probiotics còn có khả năng kích thích các phản ứng miễn dịch dịch thể và tế bào của gà thịt (Koenen và cs., 2004). Tuy nhiên, mức độ ảnh hưởng có lợi của sản phẩm probiotics phụ thuộc vào các chủng probiotics, mức độ quản lý, phương pháp ứng dụng và môi trường nuôi (Sen và cs., 2012).

Bacillus subtilis là vi khuẩn sinh bào tử và chi này được coi là một trong những vi khuẩn probiotics thành công nhất trong dinh dưỡng gia cầm do khả năng chống chịu với phạm vi nhiệt độ rộng trong quá trình xử lý thủy nhiệt và tồn tại lâu ở nhiệt độ môi trường xung quanh (Mahmoud và cs., 2017). Bổ sung *Bacillus subtilis* vào khẩu phần ăn của gà thịt khi bị stress nhiệt đã được chứng minh là cải thiện tỷ lệ chuyển hóa thức ăn, nâng cao lông nhung tá tràng, mở rộng diện tích bề mặt mao nhung, tăng biểu mô hấp thụ và làm giảm số lượng của vi khuẩn *Clostridium* và *Coliforms* trong ruột non (Al-Fataftah và Abdelqader, 2014). Với những ưu điểm đó, *Bacillus subtilis* được sử dụng rộng rãi để sản xuất các chế phẩm sinh học. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đã được nghiên cứu có đặc tính sinh học ổn định có thể đưa vào khai thác, sử dụng trong thực tế. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đối với tăng trọng và một số vi khuẩn gây bệnh trong đường ruột gà để làm cơ sở cho việc ứng dụng chủng vi khuẩn này sản xuất chế phẩm sinh học bổ sung vào thức ăn chăn nuôi.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Kiểm tra một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013
- Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đến tăng trọng của gà
- Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đến một số vi sinh vật đường ruột của gà.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Trọng điểm công nghệ sinh học thú y và phòng

thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1 đến tháng 10 năm 2021.

2.3. Nguyên liệu

- Chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 có nguồn gốc từ Bỉ được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

- Môi trường sử dụng (Merck, Đức): Tryptic Soy Agar (TSA), Triple Sugar Iron Agar (TSI), Tryptone Bile X – glucuronide Agar (TBX), Xylose Lysine Deoxycholate (XLD), Sunfit Xycloserin (SC), Lactosa Sunfit (LS), môi trường lactosa-gelatin, Buffer Peptone Water (BPW), Potato Dextrose Agar (PDA), nutrient broth (NB).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Kiểm tra đặc tính sinh học của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013

Chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 được bảo quản bằng phương pháp lạnh sâu (-80°C) từ năm 2019 tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Trước khi tiến hành đưa vào sản xuất chế phẩm probiotic để thử nghiệm hiệu quả trên vật nuôi chúng tôi tiến hành kiểm tra lại một số đặc tính nuôi cấy và sinh hóa của vi khuẩn.

Nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 vào môi trường đặc trưng TSA, TSI, gelatin, thạch khoai tây, nuôi trong tủ ấm 37°C. Quan sát tính chất mọc trên các môi trường sau nuôi cấy 24h. Từ những khuẩn lạc trên môi trường TSA tiến hành thử các phản ứng sinh hóa.

2.4.2. Bố trí thí nghiệm

Sơ đồ bố trí thí nghiệm trên gà

Thí nghiệm	Bố trí thí nghiệm			Tổng
	Lô 1 (ĐC)	Lô 2	Lô 3	
TN 1	30	30	30	90
TN 2	30	30	30	90
TN 3	30	30	30	90
Tổng	90	90	90	270

- Vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 được chuyển tới Công ty trách nhiệm hữu hạn một thành viên đầu tư phát triển và dịch vụ Học viện Nông nghiệp Việt Nam để sản xuất chế phẩm, mật độ vi khuẩn *Bacillus subtilis* trong chế phẩm đạt 10^{10} CFU/g. Phối trộn chế phẩm với thức ăn theo tỷ lệ 1 kg và 2 kg cho 1 tấn thức ăn.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện trên đàn gà mía 2 tuần tuổi (270 con) chia thành 3 lô, thời gian theo dõi 90 ngày. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác, khách quan.

+ Lô 1 (đối chứng): sử dụng thức ăn không bổ sung chế phẩm

+ Lô 2: sử dụng thức ăn có bổ sung chế phẩm với tỷ lệ 0,1%

+ Lô 3: sử dụng thức ăn có bổ sung chế phẩm với tỷ lệ 0,2%.

- Các chỉ tiêu theo dõi: tăng trọng (ADG), lượng thức ăn tiêu thụ (ADFI), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và tỷ lệ tiêu chảy, tỷ lệ chết được đánh giá cuối giai đoạn nuôi.

- Sau thời gian 90 ngày, mô gà lấy mẫu phân ở trực tràng phân tích số lượng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* và *Clostridium perfringens*.

2.4.3. Kiểm tra một số vi khuẩn

- Định lượng *E. coli*: Pha loãng 1g mẫu theo cơ số 10, sau đó cấy trên thạch TBX (Tryptone Bile X – glucuronide Agar) ở 3 đậm độ pha loãng liên tiếp, nuôi

cấy 37°C sau 24h đọc kết quả. Những khuẩn lạc màu xanh trên môi trường TBX được thử phản ứng IMViC (Indol, Methyl red, Voges-Proskauer, Simmon Citrate) và nhuộm gram để khẳng định là vi khuẩn *E. coli*.

- Định lượng *Salmonella* (Malorny và cs., 2008): Pha loãng 1g mẫu theo cơ số 10 trong dung dịch BPW. Sau đó cấy 0,1ml vào thạch XLD ở 3 đậm độ pha loãng liên tiếp, nuôi cấy 37°C sau 24h đọc kết quả. Chọn những khuẩn lạc dạng S, màu hồng đỏ tâm đen cấy chuyển sang thạch Nutrient Agar và thử các phản ứng sinh hóa.

- Định lượng *Clostridium perfringens* (theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN4991:2005): 1g mẫu phân được pha loãng theo cơ số 10, sau đó cấy vào môi trường thạch Sunfit Xycloserin (SC) theo phương pháp rót thạch. Khi môi trường đông đặc lại thì rót thêm một lớp thạch SC dày 10ml, ủ trong điều kiện kỵ khí ở 37°C trong 20h ± 2h. Đếm các khuẩn lạc điển hình của *C. perfringens* trên các đĩa (khuẩn lạc màu đen). Chọn các khuẩn lạc điển hình để thử phản ứng sinh hóa: tính chất mọc trong môi trường Lactoza Sunfit (LS), môi trường lactoza-gelatin.

2.4.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê mô tả và thống kê so sánh bằng phần mềm thống kê SPSS 24.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính sinh học của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013

Bảng 1. Một số đặc tính nuôi cấy của vi khuẩn *Bacillus subtilis*

Môi trường kiểm tra	Số ống kiểm tra	Đặc tính nuôi cấy sinh học	Số ống biểu hiện đặc tính	Tỷ lệ (%)
Thạch nghiêng TSA	5	Xuất hiện những khuẩn lạc màu xám nhạt, rìa nhẵn gợn sóng, xù xì, bề mặt khô	5	100
Thạch đĩa TSA	5	Khuẩn lạc dạng tròn, rìa răng cưa không đều, có tâm sẫm màu vàng xám, sau 1-4 ngày bề mặt nhẵn nheo màu hơi nâu	5	100
Thạch khoai tây	5	Khuẩn lạc có màu vàng, khi cấy theo đường zic-zac thì khuẩn lạc mọc lan rộng như cành cây khô	5	100
Gelatin	5	Làm tan chảy gelatin, có những mảng lớn màu trắng khi lắc khó tan, không làm vẩn đục môi trường	5	100
TSI	5	Cả phần đáy môi trường chuyển sang màu vàng, mặt nghiêng của thạch chuyển sang màu hồng đậm, không sinh hơi	5	100
Nước thịt	5	Làm đục môi trường nước thịt, tạo màng nhẵn, lắng cặn kết lại như vẩn mây ở đáy khi lắc khó tan đều	5	100

Bảng 2. Một số đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *B. subtilis*

STT	Đặc tính sinh hóa	Số ống kiểm tra	Số ống dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Catalase	5	5	100
2	MR	5	5	100
3	VP	5	5	100
4	Khử citrate	5	5	100
5	Khử nitrate	5	5	100
6	Di động	5	5	100
7	Sinh Indol	5	5	100
8	Lên men glucose	5	5	100
9	Lên men maltose	5	5	100
10	Lên men lactose	5	5	100
11	Tan chảy gelatin	5	5	100
12	Phân giải tinh bột	5	5	100

Kết quả kiểm tra cho thấy vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 vẫn giữ được các đặc tính nuôi cấy và đặc tính sinh hóa đặc trưng như ban đầu. Điều đó cho thấy sự ổn định về đặc tính sinh học của chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đang được lưu giữ và có thể đưa vào khai thác và sử dụng.

3.2. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đến tăng trọng của gà

Sau 90 ngày thử nghiệm, kết quả cho thấy giá trị tăng trọng bình quân theo ngày (ADG) ở hai lô bổ sung chế phẩm cao hơn so với lô đối chứng và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Giá trị tăng trọng bình quân theo ngày ở lô bổ sung chế

phẩm với tỷ lệ 0,2% (20,32 g/con/ngày) cao hơn so với lô bổ sung chế phẩm với tỷ lệ 0,1% (20,18 g/con/ngày) ($P < 0,05$). Cả hai lô bổ sung chế phẩm đều có hệ số chuyển hóa thức ăn thấp hơn so với lô đối chứng ($P < 0,05$), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) lần lượt là 3,63; 3,43 và 3,41 đối với lô đối chứng, lô bổ sung chế phẩm với tỷ lệ 0,1% và lô bổ sung 0,2%. Kết quả thí nghiệm cho thấy khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 vào thức ăn có tác dụng kích thích quá trình sinh trưởng của gà. Kết quả của thí nghiệm làm cơ sở bước đầu cho việc khai thác sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đang được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Khoa Thú y trong sản xuất các chế phẩm sinh học bổ sung cho vật nuôi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 tới khả năng sinh trưởng của gà

Chỉ tiêu	Lô đối chứng	Lô bổ sung 0,1%	Lô bổ sung 0,2%
Tăng trọng - ADG (g/con/ngày)	18,96 ^a ± 0,05	20,18 ^b ± 0,07	20,32 ^c ± 0,05
Lượng thức ăn thu nhận hàng ngày - ADFI (g/con/ngày)	68,89 ± 0,65	69,22 ± 0,55	69,28 ± 0,41
Hệ số chuyển hóa thức ăn - FCR (Kg TA/Kg khối lượng)	3,63 ^a ± 0,06	3,43 ^b ± 0,09	3,41 ^b ± 0,11

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Phạm Kim Đăng và cs. (2016) khi bổ sung 0,3% chế phẩm chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* vào khẩu phần ăn của gà thịt lông màu, tăng trọng của gà thí nghiệm (20,14g/con/ngày) cao hơn có ý nghĩa với gà ở lô thí nghiệm (19,00g/con/ngày). Kết quả nghiên cứu của Zhenhua Gao tại Trung Quốc

khi tiến hành trên gà broiler trắng cho kết quả cao hơn, tăng trọng bình quân ở lô đối chứng là 44,29 g/con/ngày; thấp hơn lô bổ sung 100, 150, 200, 250 mg/kg thức ăn với tăng trọng tương ứng là 45,14; 47,81; 48,57 và 48,05g/con/ngày (Gao và cs., 2017).

Trong quá trình thí nghiệm, số gà chết hay mắc tiêu chảy cũng được ghi chép lại (bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của *Bacillus subtilis* Ba-B2013 tới tỷ lệ mắc tiêu chảy và tỷ lệ chết ở gà

Chỉ tiêu	Lô đối chứng	Lô bổ sung 0,1%	Lô bổ sung 0,2%
Tỷ lệ mắc tiêu chảy	6/90 (6,67%)	3/90 (3,33%)	4/90 (4,44%)
Tỷ lệ chết	5/90 (5,56%)	4/90 (4,44%)	4/90 (4,44%)

Kết quả cho thấy tỷ lệ mắc tiêu chảy trên gà ở lô thí nghiệm có giảm so với lô đối chứng. Lô bổ sung 0,1% chế phẩm và 0,2% chế phẩm có số gà mắc tiêu chảy lần lượt là 3,33% và 4,44%, so với lô đối chứng 6,67%. Tỷ lệ chết của gà ở lô đối chứng là 5,56%; trong khi đó tỷ lệ chết ở lô bổ sung 0,1% và 0,2% chế phẩm đều là 4,44%. Kết quả này cho thấy khi sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 có tác dụng làm giảm tỷ lệ tiêu chảy và tỷ lệ chết đối với gà.

3.3. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đến một số vi khuẩn đường ruột của gà

Việc kiểm tra tổng số từng loại vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* và *C. perfringens* trong đường tiêu hóa của vật nuôi cũng là một trong những căn cứ để đánh giá tác dụng của vi khuẩn *Bacillus subtilis*. Kết quả kiểm tra mẫu phân trực tràng gà cho thấy có sự khác biệt về tổng số vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella*, *C. perfringens* ở lô thí nghiệm và lô đối chứng ($P > 0,05$) (bảng 5).

Bảng 5. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 đến số lượng một số vi khuẩn đường ruột gà

Chỉ tiêu (log ₁₀ CFU/g)	Lô đối chứng	Lô bổ sung 0,1%
<i>E. coli</i>	5,59 ^a ± 0,28	3,95 ^b ± 0,23
<i>Salmonella</i>	2,21 ^a ± 0,26	1,55 ^b ± 0,25
<i>C. perfringens</i>	2,28 ^a ± 0,21	1,80 ^b ± 0,18

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Cụ thể, số lượng vi khuẩn *E. coli* giảm từ 5,59 log₁₀CFU/g ở lô đối chứng xuống 3,95 log₁₀CFU/g ở lô thí nghiệm có bổ sung chế phẩm chứa *Bacillus subtilis*; số lượng vi khuẩn

Salmonella spp. giảm từ 2,21 log₁₀CFU/g ở lô đối chứng xuống còn 1,55 log₁₀CFU/g ở lô thí nghiệm; số lượng vi khuẩn *C. perfringens* giảm từ 2,28 log₁₀CFU/g ở lô đối chứng xuống còn

1,80 log₁₀CFU/g ở lô thí nghiệm. Theo kết quả nghiên cứu của Zhenhua Gao và cs. (2017), số lượng vi khuẩn *E. coli* trong ruột của gà ở lô thí nghiệm là 6,63 log₁₀CFU/g và giảm có ý nghĩa ở các lô bổ sung thêm vi khuẩn *Bacillus subtilis*, bổ sung 200mg/kg thức ăn số lượng vi khuẩn giảm xuống 5,75 log₁₀CFU/g. Như vậy, bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 vào khẩu phần ăn có tác động tích cực, làm giảm số lượng một số vi khuẩn gây bệnh có trong đường ruột của gà, hạn chế ô nhiễm môi trường.

IV. KẾT LUẬN

Bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* Ba-B2013 vào khẩu phần ăn cho gà thấy tăng trọng bình quân theo ngày (ADG) tăng cao. ADG của gà ở lô bổ sung chế phẩm chứa *Bacillus subtilis* Ba-B2013 với tỷ lệ 0,2% là 20,32 g/con/ngày; lô bổ sung với tỷ lệ 0,1% là 20,18 g/con/ngày so với lô đối chứng là 18,96 g/con/ngày. Tỷ lệ gà mắc tiêu chảy và tỷ lệ gà chết trong giai đoạn nuôi cũng giảm xuống.

Số lượng một số vi khuẩn gây bệnh có trong đường ruột ở gà thí nghiệm giảm có ý nghĩa so với gà đối chứng; số lượng *E. coli* giảm từ 5,59 log₁₀CFU/g xuống 3,95 log₁₀CFU/g; số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. giảm từ 2,21 log₁₀CFU/g xuống 1,55 log₁₀CFU/g; số lượng vi khuẩn *C. perfringens* giảm từ 2,28 log₁₀CFU/g xuống 1,80 log₁₀CFU/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Al-Fataftah A.-R. và Abdelqader A., 2014. Effects of dietary *Bacillus subtilis* on heat-stressed broilers performance, intestinal morphology and microflora composition. *Animal feed science and technology*. 198: 279-285.
2. Boroojeni F. G., Vahjen W., Männer K., Blanch A., Sandvang D. và Zentek J., 2018. *Bacillus subtilis* in broiler diets with different levels of energy and protein. *Poultry science*. 97(11): 3967-3976.
3. Đăng P. K., Ndt N. H. T., Giang N. T. P. và Tiếp N. B., 2016. Ảnh hưởng của probiotics *Bacillus* dạng bào tử chịu nhiệt đến năng suất, vi khuẩn và hình thái vi thể biểu mô đường ruột gà thịt lông màu. Truy cập. 2(6): 2019.
4. Gao Z., Wu H., Shi L., Zhang X., Sheng R., Yin F. và Gooneratne R., 2017. Study of *Bacillus subtilis* on growth performance, nutrition metabolism and intestinal microflora of 1 to 42 d broiler chickens. *Animal Nutrition*. 3(2): 109-113.
5. Koenen M., Kramer J., Van Der Hulst R., Heres L., Jeurissen S. và Boersma W., 2004. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer-and meat-type chickens. *British poultry science*. 45(3): 355-366.
6. Mahmoud K., Obeidat B., Al-Sadi M. và Hatahet S. R., 2017. Effect of *Bacillus subtilis* supplementation and dietary crude protein level on growth performance and intestinal morphological changes of meat type chicken. *Livestock Science*. 195: 99-104.
7. Malorny B., Lofstrom C., Wagner M., Kramer N. và Hoorfar J., 2008. Enumeration of *Salmonella* bacteria in food and feed samples by real-time PCR for quantitative microbial risk assessment. *Applied and environmental microbiology*. 74(5): 1299-1304.
8. Sen S., Ingale S., Kim Y., Kim J., Kim K., Lohakare J., Kim E., Kim H., Ryu M. và Kwon I., 2012. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Research in Veterinary Science*. 93(1): 264-268.

Ngày nhận 13-12-2021

Ngày phản biện 15-2-2022

Ngày đăng 1-7-2022