

HIỆU QUẢ MỘT SỐ GIẢI PHÁP THAY THẾ KHÁNG SINH TRONG PHÒNG TIÊU CHẢY Ở LỢN

Phạm Minh Hằng, Phạm Thị Thu Thủy, Nguyễn Việt Không
Viện Thú y

TÓM TẮT

Để tìm ra giải pháp thay thế sử dụng kháng sinh trong phòng tiêu chảy ở lợn, chế độ ăn khác nhau và các biện pháp an toàn sinh học được áp dụng trong nghiên cứu này. Tổng số 72 con lợn cho ba lần thử nghiệm được chia thành 4 nhóm (6 lợn/nhóm) nuôi trong 28 ngày: Nhóm N (đối chứng âm); Nhóm P (thức ăn được bổ sung 0,1% colistin-đối chứng dương); Nhóm E (thức ăn được bổ sung EM), Nhóm G (thức ăn được bổ sung 1% chè xanh). Kết quả thử nghiệm cho thấy khối lượng lợn thu được ở cuối kỳ giữa 4 nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Tuy nhiên, lợn ở nhóm E có mức tăng trọng cao hơn so với các nhóm còn lại ở cả ba lần thử nghiệm. Không có lợn bị tiêu chảy, nhưng *Salmonella* spp. có mặt trong phân của lợn ở nhóm N và nhóm E ở lần thử nghiệm đầu tiên. Số lượng vi khuẩn hiếu khí và tổng số *E.coli*/Coliforms có trong phân lợn ở nhóm G (bổ sung trà xanh vào thức ăn) thấp hơn nhiều so với nhóm E (bổ sung EM vào thức ăn). Không phát hiện được virus PED, TGE và Rotavirus trong phân lợn ở tất cả các thử nghiệm. Như vậy, lợn được cho ăn thức ăn bổ sung trà xanh hoặc EM và được nuôi trong môi trường an toàn sinh học thì không cần bổ sung thêm kháng sinh vào chế độ ăn để đạt tăng trưởng tối đa và giảm tỷ lệ tiêu chảy.

Từ khóa: Tiêu chảy, kháng sinh, lợn, chè xanh, vi khuẩn, virus.

Effects of some solutions replacing antibiotics in preventing pig diarrhea

Pham Minh Hang, Pham Thi Thu Thuy, Nguyen Viet Khong

SUMMARY

In order to find out the solutions replacing antibiotics in preventing diarrhea for post-weaning piglets, combinations of diet modification and biosecurity measures were used in this study. A total of 72 pigs for three trials were randomly allotted to 4 dietary groups (6 pigs for each group) for a trial in 28 days: Group N (basal diet alone, negative control); Group P (basal diet with 0,1% colistin, positive control); Group E (basal diet with effective microorganisms -EM), group G (basal diet with 1% green tea). The experimental results indicated that the final body weight of pigs among the 4 groups was not significant difference ($p > 0,05$). However, the weight gain of pigs in the group E showed higher than those in the other groups of all three trials. No incidence of diarrhea, but *Salmonella* spp. presented in pig feces of the group N and group E in the first trial. The count of aerobic bacteria, *E.coli* and Coliforms in pig feces of the group G (supplementing polyphenol green tea in the diet) were lower than those of the group E (supplementing EM in the diet). None of fecal viruses: PED, TGE and rotavirus was detected in pig feces of all trials. The results of this study indicated that the pigs fed EM and polyphenol green tea supplementing in the diets and raised in a biosecurity environment do not require dietary antibiotic supplementation in order to maximize the growth and reduce diarrheal incidences.

Keywords: Diarrhea, antibiotics, pig, green tea, bacteria, virus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lợn, đặc biệt lợn sau cai sữa thường hay mắc tiêu chảy dẫn đến kém ăn và giảm cân, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe và chức

năng của đường ruột. Thông thường, một số loại kháng sinh thúc đẩy tăng trưởng (liều dưới điều trị) được sử dụng để phòng tiêu chảy và tăng cường khả năng sinh trưởng ở lợn con. Tuy

nhiên, việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi làm tăng khả năng kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh và có thể góp phần gây ra tình trạng kháng kháng sinh ở người, do vi khuẩn kháng thuốc có thể lây lan từ động vật sang người thông qua chuỗi thức ăn (Hu et al., 2013). Để thay thế kháng sinh, các vật liệu khác nhau như probiotic, prebiotics, axit hữu cơ, kẽm và chiết xuất thực vật đã được thử nghiệm như là lựa chọn thay thế có hiệu quả.

Probiotics, được định nghĩa là các vi khuẩn sống có khả năng tác động đến sức khỏe của lợn khi được tiêu thụ với số lượng thích hợp để thúc đẩy sự phát triển của lợn con cai sữa (Gaggia et al., 2010). Bên cạnh đó việc sử dụng probiotics còn cần thiết để phòng ngừa hoặc điều trị tiêu chảy do vi sinh vật gây ra. Việc phòng bệnh có hiệu quả đối với lợn con cai sữa khi bổ sung probiotics vào chế độ ăn hàng ngày (Bednorz et al., 2013).

Polyphenol là thành phần hoạt động chính của lá chè xanh bao gồm ba dẫn xuất khác nhau: (-) epicatechin-3-gallate (ECG), (-) epigallocatechin (EGC), và (-) epigallocatechin-3-gallate (EGCG). Nhiều nghiên cứu trong hơn 20 năm qua đã chỉ ra rằng polyphenol chè xanh có tác dụng ức chế một số loại vi khuẩn như *Salmonella* spp, *Clostridium* spp, *Vibrio Cholerae* O1, *Streptococcus mutans*, *E.coli* O₁₅₇ (Kawamura và Takeo, 1989; Yamamoto et al., 1989; Toda et al., 1992; Ciraj et al., 2001; Cui et al., 2012) và một số loại virus như Influenza, Enterovirus, Rotavirus, Adenovirus, (Mukoyama et al., 1991; Park et al., 2011; Weber et al., 2003). Tuy nhiên việc khai thác, ứng dụng lá chè xanh tại Việt Nam với mục đích chữa trị bệnh mới chỉ dừng lại ở kinh nghiệm dân gian đơn giản. Các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào dùng chè làm thực phẩm, có một số nghiên cứu sử dụng chè vào phòng trị bệnh ở người, nhưng chưa có nghiên cứu sử dụng polyphenol từ chè vào mục đích phòng bệnh cho vật nuôi.

Trong nghiên cứu này, với mục đích tìm ra giải pháp thay thế sử dụng kháng sinh trong phòng tiêu chảy ở lợn, đặc biệt lợn sau cai

sữa, chúng tôi đã kết hợp việc bổ sung các chế phẩm sinh học (EM, polyphenol chè xanh) vào thức ăn và áp dụng các biện pháp kỹ thuật hạn chế các yếu tố nguy cơ trong chăn nuôi lợn tại thực địa.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Chế phẩm EM dạng nước
- Bột chè xanh
- Kháng sinh colistin
- Lợn thí nghiệm:
 - + Trọng lượng trung bình lợn thí nghiệm đợt 1: $10,5 \pm 0,7$ kg/con
 - + Trọng lượng trung bình lợn thí nghiệm đợt 2: $24,2 \pm 1,2$ kg/con
 - + Trọng lượng trung bình lợn thí nghiệm đợt 3: $52,8 \pm 2$ kg/con
- Môi trường nuôi cấy vi sinh vật: Brilliance *E.coli/Coliform* selective agar (Oxoid), Plate count agar (Merk), Buffered peptone water (Merk), Rappaport-Vassiliadis broth (Oxoid), Xylose lysine desoxycholate agar (Merk), PBS (Invitrogen)
- Kít chẩn đoán virus PED, TGE và Rotavirus: Anigen Rapid PED-Ag Test Kit, Anigen Rapid TGE-Ag Test Kit, Anigen Rapid Rota-Ag Test Kit (Bionote - Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

72 lợn chia làm 4 nhóm, mỗi nhóm được nuôi nhắc lại 3 lần, mỗi lần 6 lợn/nhóm đảm bảo nguyên tắc ngẫu nhiên hoàn toàn (Completely randomized design). Bố trí thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Các chỉ tiêu nghiên cứu:

- + Trọng lượng lợn
- + Tình trạng tiêu chảy ở lợn
- + VSV trong phân lợn

Bảng 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

TT	Nhóm	Số lượng lợn/lô	TA bổ sung chế phẩm EM dạng dung dịch uống	TA bổ sung chế phẩm chè xanh (1%)	TA bổ sung kháng sinh (Colistin 0,1%)	Thời gian theo dõi
1	Nhóm E	6	6	0	0	1 tháng
2	Nhóm G	6	0	6	0	1 tháng
3	Nhóm N	6	0	0	0	1 tháng
4	Nhóm P	6	0	0	6	1 tháng

2.2.2. Phương pháp lấy mẫu

Tại mỗi ô chăn nuôi, mẫu phân lợn được thu thập từ 5 vị trí trên phần nền chuồng có phân lợn (gồm 4 góc và 1 vị trí ở giữa). Mỗi vị trí thu thập khoảng 5g phân, sau đó trộn đều thành mẫu đại diện cho ô chuồng và cho vào trong túi nilon vô trùng. Mẫu được đánh số và bảo quản lạnh trong thùng đá khô, sau đó vận chuyển về phòng thí nghiệm ngay trong ngày.

2.2.3. Phương pháp phân tích mẫu

- *Phương pháp pha loãng mẫu* (FDA: Bacteriological Analytical Manual)

Pha loãng mẫu phân theo tỷ lệ 1/10 bằng cách lấy 25g phân cho vào túi dập mẫu chứa 225ml dung dịch Buffer Pepton water. Lấy 1ml của hỗn hợp pha loãng nói trên tiếp tục pha loãng mẫu theo dãy nồng độ từ 10^{-1} đến 10^{-8} bằng PBS.

- *Phương pháp phân lập vi khuẩn tổng số* (FDA: Bacteriological Analytical Manual)

Dùng pipet hút 100 μ l dung dịch từ mỗi ống của dãy pha loãng nhỏ lên trên bề mặt đĩa thạch Plate count agar. Láng đều mặt thạch bằng que cấy thủy tinh hình tam giác. Mỗi nồng độ pha loãng nuôi cấy trên 2 đĩa và ở nhiệt độ 37°C/ 24h.

- *Phương pháp phân lập E.coli và Coliform* (theo hướng dẫn của nhà sản xuất-Oxoid)

Dùng pipet hút 100 μ l dung dịch từ mỗi ống của dãy pha loãng nhỏ lên trên bề mặt đĩa thạch Brilliance *E.coli/Coliform* selective agar (Oxoid). Láng đều mặt thạch bằng que cấy thủy tinh hình tam giác (mỗi nồng độ pha loãng cấy trên 2 đĩa). Nuôi cấy vi khuẩn ở nhiệt độ 37°C/ 24h. Đọc kết quả: Trên đĩa thạch, *Coliform* có màu hồng, *E.coli* có màu tím và các vi khuẩn khác có màu nhạt hơn

hoặc màu xanh da trời.

- *Phương pháp tính vi khuẩn tổng số* (FDA: Bacteriological Analytical Manual)

Công thức tính vi khuẩn tổng số:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times (d)]}$$

N = Số khuẩn lạc/g phân
 $\sum C$ = Tổng số khuẩn lạc trên các đĩa đếm
 n_1 = Số lượng đĩa thạch ở nồng độ pha loãng thứ nhất
 n_2 = Số lượng đĩa thạch ở nồng độ pha loãng thứ hai
 d = Độ pha loãng thứ nhất

- *Phương pháp xác định Salmonella* (WHO-Global Salmonella-Surv, 2003)

Tiền tăng sinh: Dung dịch hỗn hợp phân và Peptone water pha loãng 1/10 bên trên được ủ ở 37°C 16-20h

Tăng sinh: Cấy chuyển 1ml dung dịch tiền tăng sinh sang môi trường Rappaport-Vassiliadis (10ml) ủ ở 42°C 18-24h.

Từ môi trường tăng sinh, dùng khuyên cấy cấy chuyển khuẩn dịch (canh tăng sinh) lên bề mặt môi trường phân lập (XLD) sao cho có thể tạo được những khuẩn lạc tách rời. Lật ngược đĩa, ủ ở 37°C trong 24-48h

Trên môi trường XLD: Khuẩn lạc *Salmonella* điển hình trong suốt, hơi nhuộm màu đỏ do sự thay đổi của chất chỉ thị trong môi trường, phần lớn có tâm đen.

- *Phương pháp xác định virus PED, TGE và Rotavirus* (Theo hướng dẫn của nhà sản xuất-Bionote)

Thực hiện theo các bước

1. Sử dụng que tăm bông trong test kit để lấy mẫu phân tại trực tràng của lợn.

2. Cho que tăm bông vào lọ mẫu có chứa 1ml dung dịch pha loãng (được cung cấp trong bộ test kit).

3. Khuấy xoay tròn que tăm bông trong dung dịch pha loãng đến khi phân tan hết (khoảng 10 giây).

4. Lấy dụng cụ xét nghiệm trong túi bạc, đặt ở nơi bằng phẳng và khô ráo.

5. Sử dụng ống nhỏ giọt có sẵn, rút lấy dung dịch có phân được pha loãng ở lọ mẫu.

6. Nhỏ 4-5 giọt dung dịch vào lỗ tròn trên dụng cụ thử nghiệm.

7. Phản ứng xảy ra khi có đường màu tím chạy dọc trên bảng kết quả (nằm ở giữa dụng cụ xét nghiệm) ngay cạnh lỗ tròn chứa dung dịch có phân được pha loãng. Sau 1 phút nếu không thấy có sự di chuyển của màu tím, nhỏ thêm 1 giọt dung dịch có phân được pha loãng.

8. Đọc kết quả sau 5-10 phút.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh vật học trên phần mềm thống kê Microsoft excel 2010.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

- Thí nghiệm được tiến hành tại một hộ chăn nuôi ở thôn Dược Hạ, xã Tiên Dược, Sóc Sơn, năm nào hộ chăn nuôi này cũng có lợn bị tiêu chảy. Đây cũng là hiện tượng rất phổ biến của nhiều hộ chăn nuôi lợn ở Sóc Sơn. Thí nghiệm được bố trí theo điều kiện tự nhiên có sẵn (không gây nhiễm lợn thí nghiệm).

Các giải pháp kỹ thuật được áp dụng:

+ Mật độ nuôi (theo Tiêu chuẩn Việt Nam

-TCVN 3772: 1983): 6 lợn/4m²

+ Thức ăn: Thức ăn tự trộn từ nguyên liệu được mua từ những nguồn đảm bảo, không mốc, mọt, mốc và được bổ sung thêm probiotics (EM) hoặc polyphenols chè xanh hoặc kháng sinh

+ Vệ sinh chuồng trại: Hằng ngày

+ Tiêu độc khử trùng: Định kỳ 1 tuần/lần

+ Xử lý chất thải chăn nuôi: Bio-gas

+ Tiêm phòng: tiêm đầy đủ các loại vacxin phòng bệnh bắt buộc

+ Củng nhập, củng xuất lợn

+ Cách ly lợn mới mua về

- Chọn liều thích hợp đối với chế phẩm polyphenol chè xanh: Theo Ohno et al., 2013; Fan et al., 2015 với tỷ lệ 1%, chè xanh trong thức ăn của lợn có tác dụng làm tăng trưởng và tăng chất lượng thịt ở lợn. Trong nghiên cứu của Ohno et al., 2013 còn cho thấy việc bổ sung chè xanh vào thức ăn cho lợn trong 8 tuần không có hiện tượng kháng thuốc. Do đó, chúng tôi thử nghiệm sử dụng chế phẩm bổ sung vào khẩu phần ăn hàng ngày cho lợn.

3.1. Hiệu quả của các giải pháp kỹ thuật đến sinh trưởng của lợn

Kết quả theo dõi sinh trưởng của lợn được trình bày ở bảng 2.

Kết quả bảng 2 cho thấy ở cả ba lần thí nghiệm, trọng lượng trung bình các lô lợn sau bốn tuần thí nghiệm không có sự sai khác nhau ($p > 0.05$). Mặc dù lợn ở lô E (được bổ sung probiotics-EM) có trọng lượng thu được cuối kỳ của cả 3 lần thí nghiệm là cao nhất: 14,8kg; 28,9kg; và 34,5kg. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây của Bednorz et al., 2013; Pan et al., 2017 cho thấy việc cải thiện hiệu suất tăng trưởng của probiotics cũng tương tự như kháng sinh.

Bảng 2. Hiệu quả của các giải pháp kỹ thuật đến tăng trưởng của lợn

Thí nghiệm	Nhóm E (EM)	Nhóm G (Chè xanh)	Nhóm N (ĐC âm)	Nhóm P (ĐC dương)	P-value
TN 1					
Tuần 2	14,1±1	13,9±0,7	15±1	14,7±0,6	0,12
Tuần 4	24,8±1,2	24±1,4	23,6±1,1	24,2±0,8	0,27
TL thu được (kg)	14,8	14,3	13,6	14,5	
TN 2					
Tuần 2	37,6±1	37,4±1,1	37±1,8	37,5±2	0,91
Tuần 4	53,7±1,1	52,2±1,3	51,6±2	52,6±2,2	0,92
TL thu được (kg)	28,9	28,5	28	28,4	
TN 3					
Tuần 2	69,2±1,5	69,3±1,5	69±2	69±2,3	0,81
Tuần 4	88,2±1,7	86,5±2,1	85,5±1,9	86,9±2,4	0,63
TL thu được (kg)	34,5	34,3	33,9	34,3	

Ghi chú: TN (thí nghiệm); TL (trọng lượng), tuần 2 và 4 được tính từ thời điểm bắt đầu thí nghiệm

3.2. Hiệu quả của các giải pháp kỹ thuật đến tiêu chảy ở lợn

Bảng 3. Kết quả đánh giá tình trạng tiêu chảy ở lợn thí nghiệm

TN	Nhóm E (EM)				Nhóm G (Chè xanh)				Nhóm N (ĐC âm)				Nhóm P (ĐC dương)			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
TN 1																
Tuần 1	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0
Tuần 3	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 4	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0
TN 2																
Tuần 1	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 2	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 3	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 4	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
TN 3																
Tuần 1	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 2	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 3	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Tuần 4	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0

Để khảo sát hiệu quả của các giải pháp kỹ thuật đối với tiêu chảy ở lợn tại thực địa, chúng tôi theo dõi tình trạng phân lợn. Tình trạng phân lợn được ghi lại hai lần một ngày bằng cách sử dụng hệ

thống: điểm 0: phân chắc, khô, đồng đều và khuôn (phân bình thường); điểm 1: phân nhão; điểm 2: phân lỏng; và điểm 3: phân lỏng có nước (Hu et al., 2015). Tiêu chảy được tính là tổng điểm hàng

ngày của hai lần và ≥ 2 . Kết quả theo dõi tình trạng phân ở lợn thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Thí nghiệm 1 (lợn sau cai sữa) cả 4 lô đều có hiện tượng lợn đi phân nhão (1 điểm). Tuy nhiên hiện tượng này chỉ diễn ra trong một thời gian ngắn (1 hoặc 2 ngày), lợn vẫn ăn uống bình thường, không có biểu hiện sút cân, còi cọc. Ở các thí nghiệm 2 và 3, lợn ở độ tuổi vỗ béo nên không có lô nào có lợn đi phân nhão hoặc bị tiêu chảy. Điều này có thể do tuổi của lợn tăng (giai đoạn vỗ béo) nên tỷ lệ tiêu chảy giảm so với sau cai sữa.

3.3. Hiệu quả của các giải pháp kỹ thuật đến vi sinh vật trong phân lợn

Kết quả phân tích vi sinh vật đường tiêu hóa trong phân lợn thí nghiệm được trình bày ở bảng 4, hình 1 và 2.

Qua kết quả bảng 4 có thể nhận thấy, các chỉ số vi sinh vật có sự biến động tăng hoặc giảm nhẹ trong từng thời điểm kiểm tra ($p > 0,05$), nhưng có sự chênh lệch tương đối ổn định giữa các lô với nhau. Cụ thể lô N (ĐC âm) luôn có chỉ số VSV tổng số và *E.coli* và *Coliform* tổng số cao nhất qua ba lần thí nghiệm nhắc lại: lần 1 ($7 \log^{10}$ CFU/g phân và $5,8 \log^{10}$ CFU/g phân); lần 2 ($7,1 \log^{10}$ CFU/g phân và $5,4 \log^{10}$ CFU/g phân); và lần 3 ($6,8 \log^{10}$ CFU/g phân và $5,7 \log^{10}$ CFU/g phân). Lô P (ĐC dương- bổ sung kháng sinh) có các chỉ số VSV tổng số và *E.coli* và *Coliform* tổng số thấp nhất trong các lần thí nghiệm nhắc lại: lần 1 ($5,1 \log^{10}$ CFU/g phân và $3,7 \log^{10}$ CFU/g phân); lần 2 ($4,9 \log^{10}$ CFU/g phân và $3,5 \log^{10}$ CFU/g phân); và lần 3 ($4,9 \log^{10}$ CFU/g phân và $3,8 \log^{10}$ CFU/g phân). Ở lần thí nghiệm thứ 1, cả hai lô đều có hiện tượng lợn đi phân nhão (bảng 3). Tuy nhiên nguyên nhân lợn đi phân nhão ở lô N do có mặt *Salmonella* spp. (hình 1) và lô P có thể do ảnh hưởng của kháng sinh lên hệ vi sinh vật đường ruột.

Các chỉ số VSV ở lô E (bổ sung probiotics -EM) cho thấy EM ảnh hưởng không nhiều đến hệ VSV đường ruột khi VSV tổng số và *E.coli* và *Coliform* tổng số gần giống với lô ĐC âm: lần 1 ($6,6 \log^{10}$ CFU/g phân và $5,3 \log^{10}$ CFU/g phân); thí nghiệm 2 ($6,41 \log^{10}$ CFU/g phân và $4,8 \log^{10}$ CFU/g phân); và thí nghiệm 3 ($6,7 \log^{10}$ CFU/g phân và $5 \log^{10}$ CFU/g phân). Ở tuần thứ 4 thí nghiệm 1, *Salmonella* spp. được xác định có mặt trong phân lợn bị đi nhão (Hình 2). Lô G (bổ sung polyphenol chè xanh) cho thấy tác động tích cực của chế phẩm lên việc kìm hãm sự phát triển của các vi sinh vật

đường ruột, cụ thể là *E.coli*, *Coliform*, *Salmonella* spp. gần giống như kháng sinh. Chỉ số *E.coli* và *Coliform* tổng số: lần 1 ($4,3 \log^{10}$ CFU/g phân); thí nghiệm 2 ($4,1 \log^{10}$ CFU/g phân); và thí nghiệm 3 ($4,4 \log^{10}$ CFU/g phân). Trong phân lợn bị đi nhão của lô thí nghiệm này, không có mặt *Salmonella* spp. (hình 2).

Kết quả này của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Ohno et al., 2013 khi cho thấy tác dụng tăng trưởng và ức chế vi khuẩn của chế phẩm chè xanh gần tương đương với kháng sinh. Điều này cũng gợi ý rằng EM và polyphenol chè xanh có thể là phụ gia thức ăn thích hợp thay thế kháng sinh.

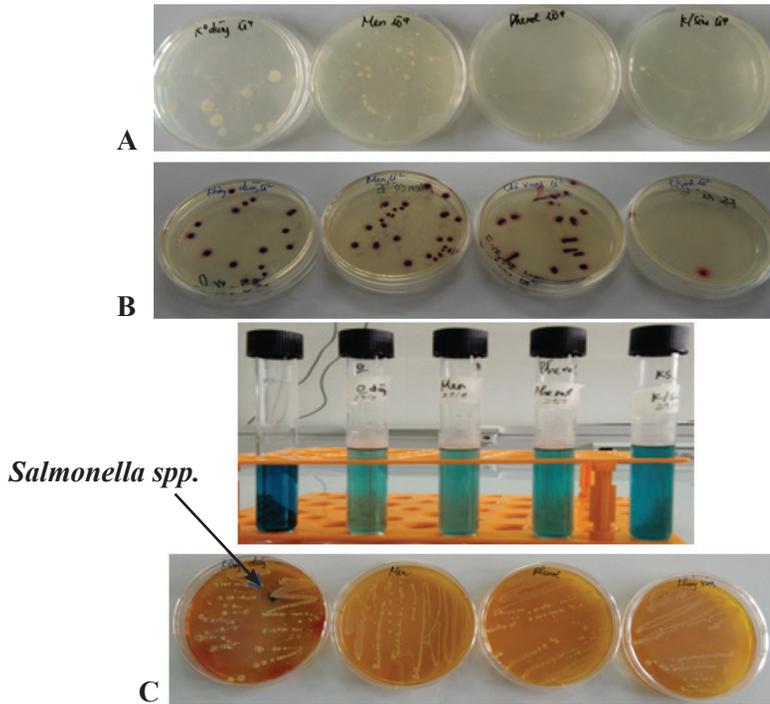
Kết quả kiểm tra sự có mặt của virus PED, TGE và Rotavirus trong phân lợn của cả bốn lô trong ba đợt thí nghiệm đều âm tính.

Bổ sung kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi từ lâu đã được xem như một phương pháp hiệu quả nhằm tăng năng suất trong chăn nuôi bởi tác dụng sinh học của nó. Bổ sung kháng sinh trong thức ăn có thể ức chế các vi sinh vật có hại trong đường ruột, tăng khả năng hấp thụ thức ăn. Hiệu quả phòng bệnh và tăng trọng đều tốt. Tuy nhiên việc lạm dụng các chất kháng sinh trong chăn nuôi dẫn đến các tác động tiêu cực do sự xuất hiện của vi khuẩn kháng với nhiều loại thuốc kháng sinh. Một số nghiên cứu đã chứng minh sự thay đổi trong hệ vi sinh đường ruột của lợn sau khi bổ sung chế độ ăn uống với kháng sinh (Looft et al., 2012). Hơn nữa, sự gia tăng về sự phong phú và đa dạng của các gen kháng thuốc đã được mô tả ngay cả đối với các kháng sinh không dùng cho động vật (Looft et al., 2014). Vì vậy, trong những năm gần đây, sự quan tâm ngày càng tăng trong việc phát triển các sản phẩm như là lựa chọn thay thế cho thuốc kháng sinh. Những lựa chọn thay thế này phải kết hợp tác động tích cực trong hệ vi sinh đường ruột với sự cải thiện về khả năng miễn dịch, tình trạng sức khỏe và hiệu suất tăng trưởng của động vật. Probiotics đã được đề xuất là ứng cử viên tốt cho việc tìm kiếm này. Tuy nhiên, các chế phẩm sinh học này là vi sinh vật thường xuyên phải cạnh tranh với hệ vi sinh vật tự nhiên và phải cư trú ở đường ruột để thực hiện tác dụng lâu dài. Ngoài ra, một số loài vi khuẩn sử dụng như probiotics có thể dễ bị nhiễm các gen kháng do các quá trình chuyển gen ngang tự nhiên, chẳng hạn như chuyển đổi, liên hợp hoặc chuyển nạp (Verraes et al., 2013). Do vậy, để phòng Hội chứng tiêu chảy ở lợn có hiệu quả, ngoài giải pháp sử dụng các chế phẩm sinh học

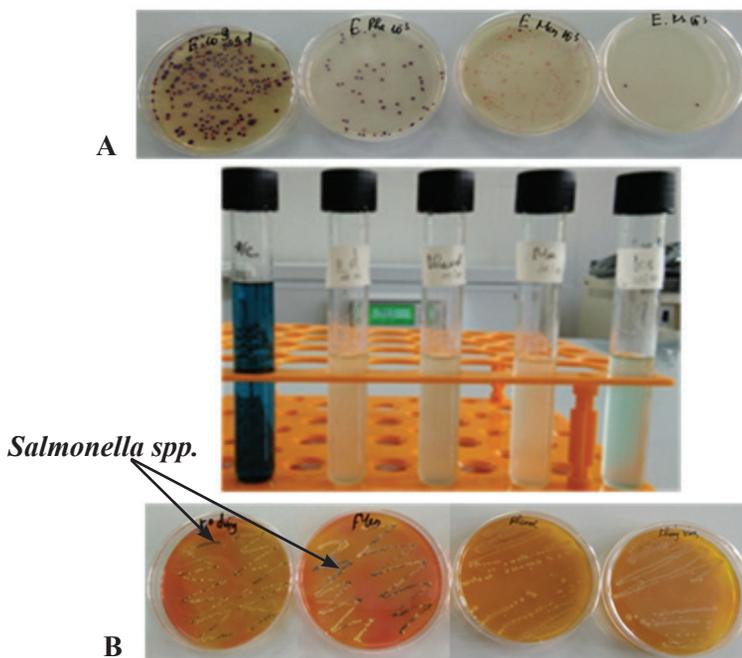
Bảng 4. Kết quả phân tích vi sinh vật đường tiêu hóa trong phân lợn thí nghiệm

Thí nghiệm	Vi sinh vật (Log ¹⁰ CFU/g)				
	Tuần	Nhóm E	Nhóm G	Nhóm N	Nhóm P
TN 1					
VK tổng số	2	6,1	5,6	6,6	4,3
	4	7	6,8	7,4	5,8
TB		6,6	6,2	7	5,1
<i>E.coli</i> và <i>Coliform</i> tổng số	2	4,6	4	5,2	3
	4	6	4,6	6,3	4,34
TB		5,3	4,3	5,8	3,7
<i>Salmonella</i> spp.	2	Không	Không	Có	Không
	4	Có	Không	Có	Không
PED virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
TGE virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
Rotavirus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
TN 2					
VK tổng số	2	6,4	6,2	7,3	4,8
	4	6,42	6,1	6,9	5
TB		6,41	6,2	7,1	4,9
<i>E.coli</i> và <i>Coliform</i> tổng số	2	4,7	4,1	5,5	3,6
	4	4,9	4,1	5,3	3,3
TB		4,8	4,1	5,4	3,5
<i>Salmonella</i> spp.	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
PED virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
TGE virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
Rotavirus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
TN 3					
VK tổng số	2	6,5	6,4	6,9	4,7
	4	6,9	6,2	6,7	5,1
TB		6,7	6,3	6,8	4,9
<i>E.coli</i> và <i>Coliform</i> tổng số	2	4,9	4,4	5,4	3,7
	4	5,1	4,3	5,9	3,9
TB		5	4,4	5,7	3,8
<i>Salmonella</i> spp.	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
PED virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
TGE virus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không
Rotavirus	2	Không	Không	Không	Không
	4	Không	Không	Không	Không

Ghi chú: So sánh giữa các lô thí nghiệm của cả 3 lần thí nghiệm đều có $P > 0,05$; VK tổng số: Vi khuẩn tổng số; TB: trung bình.



Hình 1. Phân tích vi sinh vật ở lợn nuôi tuần thứ 2 thí nghiệm
 A: Vi sinh vật tổng số trên thạch (Plate count agar), B: *E. coli* và Coliform tổng số (Brilliance *E. coli*/coliform selective agar), C: Xác định sự có mặt của *Salmonella* spp. (XLD agar)



Hình 2. Phân tích vi sinh vật ở lợn nuôi tuần thứ 4 thí nghiệm 1
 A: *E. coli* và Coliform tổng số (Brilliance *E. coli*/coliform selective agar), B: Xác định sự có mặt của *Salmonella* spp. (XLD agar)

thay thế kháng sinh như EM hay chiết xuất thực vật như polyphenols chè xanh thì còn cần phải cải thiện chăn nuôi an toàn sinh học. Điều quan trọng ở đây là các yếu tố nguy cơ chính được xác định và thông tin sau đó được sử dụng để phát triển một kế hoạch phòng bệnh cụ thể. Để thành công, kế hoạch phòng bệnh cần phải kết hợp một số biện pháp an toàn sinh học như đã được thực hiện trong nghiên cứu này.

IV. KẾT LUẬN

- Không có sự khác biệt đáng kể về hiệu suất chăn nuôi giữa các nhóm lợn trong cả ba đợt thí nghiệm ($p > 0.05$). Tuy nhiên lợn ở nhóm E (được bổ sung probiotics-EM) có trọng lượng trung bình cuối kỳ cao hơn các nhóm còn lại ở cả ba lần thí nghiệm.

- Hiệu quả về phòng tiêu chảy: không có lợn bị tiêu chảy, nhưng *Salmonella* spp. có mặt trong phân lợn của nhóm N và nhóm E ở lần thí nghiệm đầu tiên.

- Không phát hiện được virus PED, TGE và Rotavirus trong phân lợn ở cả ba lần thí nghiệm.

- Như vậy, lợn được cho ăn thức ăn bổ sung trà xanh hoặc EM và được nuôi trong môi trường an toàn sinh học, không cần bổ sung thêm kháng sinh vào chế độ ăn để đạt tăng trưởng tối đa và giảm tỷ lệ tiêu chảy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bednorz, C., Guenther, S., Oelgeschläger, K., Kinnemann, B., Pieper, R., Hartmann, S., Tedin, K., Semmler, T., Neumann, K., Schierack, P., Bethe, A., and Wieler, L. H. (2013). Feeding the probiotic *Enterococcus faecium* strain NCIMB 10415 to piglets specifically reduces the number of *Escherichia coli* pathotypes that adhere to the gut mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*, 79: 7896–7904.
2. Ciraj, A. M., Sulaim, J., Mamatha, B., Gopalkrishna, B. K., and Shivananda, P. G. (2001). Antibacterial activity of black tea (*Camellia sinensis*) extract against *Salmonella* serotypes causing enteric fever. *Indian J. Med. Sci.*, 55: 376-381
3. Cui, Y., Kim, S. H., Kim, H., Yeom, J., Ko, K., Park, W., and Park, S. (2012). AFM probing the mechanism of synergistic effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) with cefotaxime against extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *PLoS One.*, 7(11): e48880
4. Fan, Z., Xiao, Y., Chen, Y., Wu, X., Zhang, G., Wang, Q., and Xie, C. (2015). Effects of catechins on litter size, reproductive performance and antioxidative status in gestating sows. *Animal Nutrition*, 4: 271-275

5. Hu, Y., Yang, X., Qin, J., Lu, N., Cheng, G., Wu, N., Pan, Y., Li, J., Zhu, L., Wang, X., Meng, Z., Zhao, F., Liu, D., Ma, J., Qin, N., Xiang, C., Xiao, Y., Li, L., Yang, H., Wang, J., Yang, R., Gao, G. F., Wang, J., and Zhu, B. (2013). Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nature Communications*, 4: 2151
6. Hu, Y., Dun, Y., Li, S., Zhang, D., Peng, N., Zhao, S., and Liang Y (2015). Dietary *Enterococcus faecalis* LAB31 improves growth performance, reduces diarrhea, and increases fecal *Lactobacillus* number of weaned piglets. *PLoS One.* 10(1): e0116635
7. Looft, T., Johnson, T. A., Allen, H. K., Bayles, D. O., Alt, D. P., Stedtfeld, R. D., Sul, W. J., Stedtfeld, T. M., Chai, B., Cole, J. R., Hashsham, S. A., Tiedje, J. M., and Stanton, T. B. (2012). In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *PNAS*, 109(5): 1691–1696
8. Looft, T., Allen, H. K., Cantarel, B. L., Levine, U. Y., Bayles, D. O., Alt, D. P., Henrissat, B., and Stanton, T. B. (2014). Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations. *ISME J.*, 8(8): 1566-1576
9. Ohno, A., Kataoka, S., Ishii, Y., Terasaki, T., Kiso, M., Okubo, M., Yamaguchi, K., and Tateda, K. (2013). Evaluation of *Camellia sinensis* catechins as a swine antimicrobial feed additive that does not cause antibiotic resistance. *Microbes Environ.*, 28(1): 81-86
10. Pan, L., Zhao, P. F., Ma, X. K., Shang, Q. H., Xu, Y. T., Long, S. F., Wu, Y., Yuan, F. M., and Piao, X. S. (2017). Probiotic supplementation protects weaned pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 challenge and improves performance similar to antibiotics. *J. Anim. Sci.* 95(6) : 2627-2639
11. Park, M., Yamada, H., Matsushita, K., Kaji, S., Goto, T., Okada, Y., Kosuge, K., and Kitagawa, T. (2011). Green tea consumption is inversely associated with the incidence of influenza infection among schoolchildren in a tea plantation area of Japan. *J. Nutr.*, 141: 862-870
12. Verraes, C., Van Boxstael, S., Van Meervenue, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., de Schaezen, M. A., Van Huffel, X., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J., Dewulf, J., and Herman, L. (2013). Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*, 10: 2643–2669
13. Weber, J. M., Ruzidana-Umunyana, A., Sicar, S., and Cowan, J. (2003). Adenovirus infection is inhibited *in vitro* by green tea catechins. *J. Clin. Virol.*, 28: S91.

Ngày nhận 28-7-2019

Ngày phản biện 22-8-2019

Ngày đăng 1-11-2019