

The correlation of gut microorganisms, stool condition, and piglet weight after dietary supplementation of essential oils and probiotics

Linh D. Nguyen*, Van T. T. Phan, Ngoc H. Le, Mai C. Duong, & Hien T. Le

Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 10, 2024

Revised: December 09, 2024

Accepted: December 15, 2024

Keywords

Bacillus

Clostridium

Gut microbiota

***Corresponding author**

Nguyen Duy Linh

Email:

nguyenduylinh3036@gmail.com

ABSTRACT

The study evaluated the correlation between specific gut microorganisms, fecal condition, and body weight in piglets fed essential oils and/or probiotics from 7 to 60 days of age. Fecal samples were collected from piglets at 7 days old (120 samples), 25 days old (weaning, 120 samples), and 60 days old (60 samples). The results indicated that during the first week, levels of coliforms, *E. coli*, and *Clostridium* peaked and subsequently declined gradually as the piglets grew. Significant changes in diet and living conditions occurring during the weaning period were found to disrupt the gut microbiota. During days 7 to 25 old, a negative correlation was identified between piglet weight and both fecal scores ($r = -0.3732$, $P < 0.001$) and the incidence of diarrhea ($r = -0.4599$, $P < 0.001$). Probiotic supplementation apparently improved gut health, as increased *Bacillus* levels were positively correlated with weight gain ($r = 0.2027$, $P < 0.05$). The *Lactobacillus*: coliforms ratio (L:C) did not significantly affect health indicators during this phase. However, it became important between 25 and 60 days, as the L:C ratio was negatively correlated with diarrhea incidence ($r = -0.5749$, $P < 0.001$) and *Clostridium* levels ($r = -0.3068$, $P < 0.05$). At 25 days, a positive correlation was observed between the L:C ratio and piglet weight ($r = 0.6282$, $P < 0.001$), alongside a negative correlation with *Clostridium* ($r = -0.3176$, $P < 0.001$). At 60 days, the L:C ratio similarly showed a positive relationship with weight ($r = 0.2756$, $P < 0.05$) and *Bacillus* ($r = 0.6617$, $P < 0.001$), significantly influencing the development of beneficial microorganisms.

Cited as: Nguyen, L. D., Phan, V. T. T., Le, N. H., Duong, M. C., & Le, H. T. (2025). The correlation of gut microorganisms, stool condition, and piglet weight after dietary supplementation of essential oils and probiotics. *The Journal of Agriculture and Development* 24(2), 61-72.

Mối tương quan của một số vi sinh vật đường ruột, tình trạng phân và trọng lượng heo con sau khi bổ sung tinh dầu và probiotic vào thức ăn

Nguyễn Duy Linh*, Phan Thị Thúy Vân, Lê Hữu Ngọc, Đường Chi Mai & Lê Thanh Hiền

Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 10/09/2024

Ngày chỉnh sửa: 09/12/2024

Ngày chấp nhận: 15/12/2024

Từ khóa

Bacillus

Clostridium

Hệ vi sinh vật đường ruột

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Duy Linh

Email:

nguyenduylinh3036@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá mối tương quan của một số vi sinh vật đường ruột, tình trạng phân và trọng lượng heo con được cho ăn thức ăn có bổ sung tinh dầu thiết yếu và probiotics từ 7 ngày tuổi đến 60 ngày tuổi. Thí nghiệm lấy 120 mẫu phân giai đoạn heo con 7 ngày tuổi, 120 mẫu ở 25 ngày tuổi (cai sữa) và 60 mẫu giai đoạn 60 ngày tuổi. Kết quả cho thấy, trong tuần đầu số lượng coliforms, *E. coli* và *Clostridium* đạt mức cao nhất rồi giảm dần khi heo lớn lên. Giai đoạn cai sữa dẫn đến nhiều thay đổi trong chế độ ăn và môi trường sống, làm rối loạn hệ vi sinh vật. Ở giai đoạn 7 - 25 ngày, có mối tương quan nghịch giữa trọng lượng heo con với điểm phân ($r = -0,3732$, $P < 0,001$) và tỷ lệ ngày con tiêu chảy ($r = -0,4599$, $P < 0,001$). Khi bổ sung probiotic có thể cải thiện sức khỏe đường ruột khi lượng *Bacillus* tăng lên có mối tương quan thuận giúp trọng lượng có thể tăng lên ($r = 0,2027$; $P < 0,05$). Tỷ lệ *Lactobacillus*:coliforms (L:C) không có ảnh hưởng rõ ràng đến các chỉ tiêu sức khỏe ở giai đoạn này nhưng quan trọng khi đến giai đoạn 25 - 60 ngày, tỷ lệ L:C có mối tương quan nghịch với tỷ lệ ngày con tiêu chảy ($r = -0,5749$, $P < 0,001$) và mức *Clostridium* ($r = -0,3068$, $P < 0,05$). Tại thời điểm 25 ngày, tỷ lệ L:C có mối tương quan thuận với trọng lượng heo ($r = 0,6282$, $P < 0,001$) và tỷ lệ nghịch với *Clostridium* ($r = -0,3176$, $P < 0,001$). Ở giai đoạn 60 ngày, tỷ lệ L:C cũng có mối liên hệ tích cực với trọng lượng ($r = 0,2756$, $P < 0,05$) và *Bacillus* ($r = 0,6617$, $P < 0,001$), đồng thời có ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển vi sinh vật có lợi.

1. Đặt Vấn Đề

Hệ vi sinh vật đường ruột của heo là một quần thể đa dạng, đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì chức năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng, sinh lý và miễn dịch do đó tìm hiểu hệ vi sinh vật đường ruột heo là điều cần thiết (Brestoff & Artis, 2013). Một hệ vi sinh vật cân bằng, ổn định, có khả năng chống chịu với những thay đổi nhỏ và có khả năng phục hồi là dấu hiệu của một sức khỏe tốt. Trong đó, quần thể vi sinh vật này

cũng bao gồm các sinh vật gây bệnh như *E.coli*, *Clostridium*, *Salmonella* (Fouhse & ctv., 2016). Trong xu hướng chăn nuôi heo hiện nay, cai sữa sớm, ghép bầy, chế độ ăn uống và môi trường tiêu khí hậu chuồng nuôi thay đổi (Wiseman, 2018) gây ra những tác động bất lợi thay đổi cấu trúc chức năng đường tiêu hóa đột ngột. Điều này ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến hệ vi sinh vật đường ruột, có khả năng giảm tiêu hóa và hấp thu các chất dinh dưỡng. Từ đó, xuất hiện

các bệnh đường ruột gây giảm tăng trưởng (Kim & Duarte, 2021).

Những năm gần đây, sự quan tâm về mối tương tác giữa sức khỏe và hệ vi sinh vật đường ruột đối với sự phát triển của heo ngày càng tăng (Zheng & ctv., 2021). Các nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các thành phần như tinh dầu và probiotic có thể cải thiện hệ vi sinh vật đường ruột, từ đó giảm thiểu tỷ lệ tiêu chảy, tăng cường sức khỏe và cải thiện hiệu quả chăn nuôi (Li & ctv., 2018; Luise & ctv., 2019). Tuy nhiên, việc xác định mối tương quan cụ thể giữa các loại vi sinh vật đường ruột, tình trạng phân và trọng lượng heo con khi bổ sung tinh dầu và probiotic vẫn là một vấn đề cần được làm rõ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá sự thay đổi của một số vi sinh vật có lợi và có hại trong đường ruột ở heo con từ 7 đến 60 ngày tuổi. Những phát hiện này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột và việc bổ sung probiotic và tinh dầu trong thức ăn nhằm cải thiện sức khỏe đường ruột, giảm nguy cơ tiêu chảy và nâng cao hiệu quả chăn nuôi ở heo con.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Phương pháp tiến hành

Một trang trại heo có quy mô 500 con heo nái, chọn ngẫu nhiên 30 heo nái đồng nhất về các biến như tuổi, lứa đẻ, trọng lượng cơ thể và hệ vi khuẩn đường ruột không có sự khác biệt để đảm bảo sức khỏe và tình trạng của chúng tương tự nhau. Tổng số 30 bầy gồm 397 heo con được heo nái sinh ra, chọn nuôi làm nghiên cứu, cho ăn chế độ ăn bổ sung tinh dầu chứa cinnamaldehyde and thymol (100 g/tấn thức ăn) và chế phẩm sinh học có chứa *Bacillus amyloliquefaciens* (1.000 g/tấn thức ăn) cho đến cai sữa (25 ngày tuổi). Sau đó, tiếp tục chọn lại 15 bầy gồm 168 heo con tiếp tục ăn chế độ ăn bổ sung cho đến 60 ngày tuổi.

Tình trạng phân của bầy được tính bằng trung bình điểm phân cá thể trong bầy mỗi ngày (buổi sáng) theo thang điểm từ 1 đến 5 (Hình 1).

Tỷ lệ ngày con tiêu chảy được đo lường bằng cách theo dõi từng bầy các lô thí nghiệm, đếm số lượng heo tiêu chảy, ghi chép lại theo từng ngày.



Hình 1. Thang điểm đánh giá phân (Espinosa & ctv., 2017).

$$\text{Tỷ lệ ngày con tiêu chảy \% (bầy)} = \frac{\text{Số ngày heo con tiêu chảy}}{\text{Tổng số ngày nuôi}}$$

Lượng thức ăn của heo con tiêu thụ hằng ngày theo bầy được xác định bằng cách theo dõi lượng thức ăn dư thừa sau khi ăn, ghi chép tính toán lại lượng thức ăn của bầy sau mỗi bữa ăn.

Trọng lượng của bầy được tính bằng trung bình tổng cá thể được cân. Theo dõi nhiều thời điểm (bắt đầu sinh ra, 7 ngày tuổi, 25 ngày tuổi, 60 ngày tuổi). Dùng cân 5 kg và cân 50 kg để cân khối lượng heo con.

2.2. Phân tích chỉ tiêu vi sinh vật

Mẫu phân heo con được thu thập lúc 7 ngày tuổi và 25 ngày tuổi (lấy ngẫu nhiên 3 heo con thu thập mẫu phân từ trực tràng heo mỗi chuồng), mỗi giai đoạn lấy 120 mẫu. Tiến hành cai sữa cho heo con tại thời điểm 25 ngày sau đó tiếp tục nuôi đến 60 ngày, thu thập 60 mẫu phân ở thời điểm 60 ngày tuổi. Tổng 300 mẫu phân được thu thập ở thời điểm buổi sáng, bảo quản ở 4 - 8°C, trọng lượng tối thiểu 10 g/mẫu phân rắn hoặc 10 mL/mẫu phân lỏng sau đó gửi về phòng thí nghiệm để tiến hành phân tích.

Số lượng coliforms và *E. coli*: Mẫu được đồng nhất và pha loãng trong NaCl 0,9% từ dung dịch có nồng độ 10^{-1} đến 10^{-10} . Hút 1 mL dung dịch đã pha loãng ở nồng độ 10^{-6} đến 10^{-10} cho vào ống nghiệm chứa dung dịch Lauryl Sulphate Broth (LTB) ủ trong tủ ấm ở nhiệt độ 37°C/24 giờ. Ống dung dịch chuyển đục, sinh hơi được xác định là dương tính. Dùng que cấy vòng, lấy 1 vòng tròn canh khuẩn LTB dương tính cấy vào môi trường lỏng chứa 5 mL Brilliant Green Bile Broth 2% (BGBB) ủ 37°C/24 giờ để định lượng coliforms và ống nghiệm chứa 5 mL dung dịch EC Broth ủ 44,5°C/24 giờ, những ống có dung dịch chuyển đục, sinh hơi cấy lên đĩa thạch Eosin Methylene Blue (EMB) ủ 37°C/24 giờ. Kiểm tra khuẩn lạc màu tím ánh kim trên môi trường, tiếp tục thử phản ứng sinh hóa Triple Sugar Iron Agar (TSI), Indol, MR, VP, Citrate. Số lượng vi khuẩn coliforms và *E. coli* được tính bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN) (TCVN 11039-3:2015) (VS, 2015).

Số lượng *Clostridium*: Hút 1 mL dung dịch mẫu đã pha loãng ở các mức nồng độ 10^{-2} - 10^{-6} chuyển sang ống nghiệm chứa 15 mL môi trường Tryptose Sulfite Cycloserine agar (TSC Agar). Parafin lỏng được phủ 1 mL lên bề mặt môi trường TSC. Ủ ống nghiệm trong bồn nước

ở nhiệt độ 80°C/10 phút, sau đó để nguội. Ống nghiệm được đặt trong tủ ấm ở nhiệt độ 37°C/24 giờ, đếm số lượng khuẩn lạc (TCVN 4991:2005) (VS, 2005).

Số lượng vi khuẩn *Lactobacillus*: Dùng micropipet hút 0,1 mL dung dịch mẫu đã pha loãng có nồng độ 10^{-3} - 10^{-6} nhỏ lên bề mặt đĩa thạch Man Rogosa Sharpe agar (MRS agar.) Dùng que trang tiết trùng trải đều mẫu khắp mặt thạch, mỗi nồng độ pha loãng được lặp lại 2 đĩa đặt trong bình ủ kỵ khí 37°C trong 48 - 72 giờ, sau đó đếm số lượng khuẩn lạc (TCVN 13046:2020) (VS, 2020b).

Số lượng *Bacillus*: Hút 1 mL dung dịch từ ống nước muối đã pha loãng ở nồng độ 10^{-1} cho vào ống nghiệm chứa 9 mL dung dịch muối pepton. Ủ dung dịch muối pepton vừa pha loãng ở nhiệt độ 80°C/10 phút. Dùng micropipet hút 0,1 mL dung dịch mẫu đã pha loãng có nồng độ 10^{-3} - 10^{-6} nhỏ lên bề mặt đĩa thạch Tryptone Soya Agar (TSA). Dùng que trang tiết trùng trải đều mẫu khắp mặt thạch, mỗi nồng độ pha loãng được lặp lại 2 đĩa ủ ở 37°C/24 giờ, sau đó đếm số lượng khuẩn lạc (TCVN 13043:2020) (VS, 2020a).

2.3. Xử lý số liệu

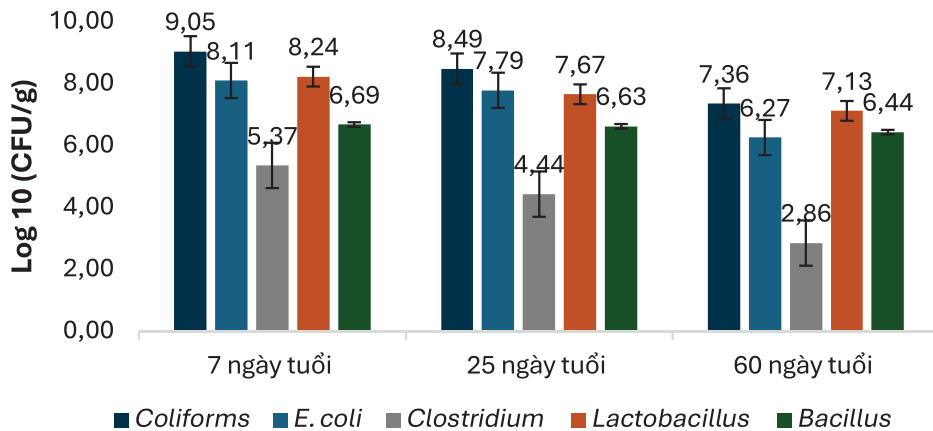
Số liệu được thu thập, lưu trữ bằng phần mềm Microsoft Excel 2019. Số lượng vi khuẩn được chuyển sang dạng Log₁₀ (CFU/g). Xử lý thống kê đánh giá mối tương quan, hồi quy các biến trọng lượng, điểm phân, tỉ lệ ngày con tiêu chảy, lượng coliforms, *Clostridium*, *Bacillus*, tỷ lệ *Lactobacillus*:coliforms (L:C) bằng phần mềm Stata (STATA 14, College Station, TX 77845).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Sự thay đổi một số vi sinh vật trong đường ruột heo con

Trong tuần đầu tiên sau khi sinh, heo con tiếp xúc với một lượng lớn vi khuẩn từ âm đạo và phân của heo mẹ, giúp định hình hệ vi sinh vật đường ruột của chúng ngay từ giai đoạn đầu

đời (Morissette & ctv., 2018). Khi heo con bú sữa non và sữa mẹ, các vi khuẩn này kích hoạt chức năng tiêu hóa và làm thay đổi môi trường vi sinh trong ruột (Liu & ctv., 2019).



Hình 2. Số lượng Coliforms, *E. coli*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacillus* heo con ở các thời điểm 7, 25 và 60 ngày tuổi.

Số lượng vi khuẩn coliforms, *E. coli*, và *Clostridium* trong ruột heo con 7 ngày tuổi lần lượt đạt $9,05 \pm 0,83$ log (CFU/g), $8,11 \pm 0,77$ log (CFU/g), và $5,37 \pm 1,3$ log (CFU/g), sau đó giảm dần khi heo lớn lên (Hình 2). Đến giai đoạn cai sữa, heo con gặp nhiều thay đổi như điều chỉnh chế độ ăn và thay đổi môi trường sống, cùng với căng thẳng do cai sữa, dễ gây rối loạn hệ vi sinh vật đường ruột. Sự thay đổi này cho thấy hệ vi sinh vật trong ruột của heo con sẽ biến đổi khác nhau tùy vào từng giai đoạn phát triển (Guevarra & ctv., 2019). Qua quá trình phân lập và định lượng vi sinh vật từ các mẫu phân, kết quả cho thấy số lượng vi sinh vật giảm dần theo thời gian, đặc biệt khi heo con đạt 60 ngày tuổi. Tuy nhiên, khi được bổ sung chế phẩm, số lượng *Bacillus* vẫn duy trì trên mức 6 log CFU/g (Hình 2) mức được các nghiên cứu khác đánh giá là cần thiết để đạt hiệu quả lâm sàng (Minelli & Benini, 2008; Bajagai & ctv., 2016). Số lượng nhóm vi khuẩn *E. coli* và *Clostridium* giảm so với thời điểm 7 ngày tuổi có thể đến từ năng bằm dín vào niêm mạc đường tiêu hóa và cạnh tranh loại

trừ mầm bệnh của probiotic (Ouwehand & ctv., 2002) và tác dụng kháng khuẩn của tinh dầu chứa cinnamaldehyde and thymol (Shen & ctv., 2020; Van Noten & ctv., 2020)

3.2. Mối liên hệ giữa một vi sinh vật đường ruột, tình trạng phân, trọng lượng heo con ở các giai đoạn

3.2.1. Giai đoạn 7 đến 25 ngày tuổi

Trong quá trình phân tích số liệu với mục tiêu đánh giá mối liên hệ giữa của một số vi sinh vật, điểm phân, trọng lượng, tỉ lệ ngày con tiêu chảy tính theo bầy trên heo 7 ngày đến 25 ngày sau khi bổ sung tinh dầu và probiotic nhằm mục đích tìm hiểu việc bổ sung tinh dầu và probiotic có làm giảm tỉ lệ tiêu chảy hay không, đồng thời cải thiện các chỉ số sức khỏe đường ruột ở heo con. Phân tích một số vi sinh vật khác nhau trong phân để đánh giá mối tương quan giữa chúng và các chỉ số sức khỏe như điểm phân (tình trạng phân), tỉ lệ tiêu chảy, theo dõi sự phát triển (trọng lượng). Phân tích mối tương quan bằng thống kê tương quan, hồi quy (Bảng 1).

Bảng 1. Mối tương quan giữa hệ vi sinh vật đường ruột và các chỉ tiêu quần thể ở heo con giai đoạn 7 đến 25 ngày tuổi

	Trọng lượng	Điểm phân	Tỉ lệ ngày con tiêu chảy	Log <i>Clostridium</i>	Log <i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus:coli-forms</i> (L:C)
Trọng lượng	1					
<i>P</i>						
Điểm phân	-0,3732	1				
<i>P</i>	< 0,001					
Tỉ lệ ngày con tiêu chảy	-0,4599	0,5281	1			
<i>P</i>	< 0,001	< 0,001				
Log <i>Clostridium</i>	0,0319	-0,0686	0,0342	1		
<i>P</i>	0,729	0,4565	0,7108			
Log <i>Bacillus</i>	0,2027	-0,0587	-0,177	0,208	1	
<i>P</i>	0,0264	0,5243	0,0531	0,0227		
L:C	-0,0268	0,1482	-0,0397	0,1009	0,1622	1
<i>P</i>	0,7711	0,1063	0,6668	0,2731	0,0767	

Kết quả nghiên cứu cho thấy có mối tương quan thuận giữa điểm phân và tỉ lệ ngày heo con bị tiêu chảy ($r = 0,5281$, $P < 0,001$), nghĩa là khi số ngày tiêu chảy ở heo con tăng thì điểm phân cũng cao hơn và ngược lại. Đồng thời, tồn tại mối tương quan nghịch đáng kể giữa trọng lượng với điểm phân ($r = -0,3732$) và tỉ lệ ngày tiêu chảy ($r = -0,4599$) khi điểm phân và tỉ lệ tiêu chảy giảm, trọng lượng của heo con có xu hướng tăng lên ($P < 0,001$). Ngoài ra, việc bổ sung probiotic giúp gia tăng lượng *Bacillus*, tạo ra mối tương quan thuận giúp trọng lượng heo con cải thiện ($r = 0,2027$, $P < 0,05$), phù hợp với vai trò lợi khuẩn của *Bacillus* trong hệ vi sinh đường ruột, thường được bổ sung vào thức ăn để tăng năng suất chăn nuôi (Mun & ctv., 2021).

Tỉ lệ *Lactobacillus:coliforms* (L:C) là chỉ số quan trọng để đánh giá cân bằng giữa vi khuẩn có lợi và có hại trong đường ruột, hỗ trợ theo dõi hiệu quả của probiotic (Adli & ctv., 2019). Tuy nhiên, chưa ghi nhận mối liên hệ rõ ràng giữa tỉ lệ L:C đối với trọng lượng, điểm phân, tỉ lệ ngày tiêu chảy, *Clostridium*, hay *Bacillus* ($P > 0,05$) trong giai đoạn này. Điều này có thể do ở giai đoạn bú mẹ, cấu trúc ruột và hệ vi sinh vật của heo con còn biến động, dễ chịu ảnh hưởng từ môi trường và hệ miễn dịch chưa hoàn thiện (Su & ctv., 2022). Do đó, tỉ lệ L:C chưa ảnh hưởng đáng kể đến trọng lượng heo con từ giai đoạn bú mẹ đến cai sữa.

3.2.2. Giai đoạn 25 đến 60 ngày tuổi

Ở giai đoạn này, điểm phân có mối tương quan nghịch với trọng lượng ($r = -0,2643$, $P < 0,05$) và tương quan thuận với hệ số chuyển hóa thức ăn FCR ($r = 0,263$, $P < 0,05$). Khi điểm phân thấp phản ánh sức khỏe đường tiêu hóa của đàn heo tốt, số lượng heo tiêu chảy ít hơn, giúp duy trì sức khỏe đường ruột ổn định, đồng thời tăng cường hiệu quả tiêu hóa và hấp thu thức ăn, từ đó hỗ trợ tăng cân cho heo.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan đáng kể giữa tỉ lệ L:C ở giai đoạn này với tỉ

lệ ngày con tiêu chảy ($r = -0,5749$, $P < 0,001$) và mức *Clostridium* ($r = -0,3068$, $P < 0,05$) (Bảng 2). Khi tỉ lệ L:C tăng lên, tỉ lệ ngày tiêu chảy và số lượng *Clostridium* giảm, tạo ra môi trường thuận lợi cho sức khỏe của heo con. Kết quả này nhất quán với các nghiên cứu trước đó, khi tỉ lệ L:C cao là dấu hiệu cho thấy đường ruột khỏe mạnh, từ đó làm giảm nguy cơ tiêu chảy và tỉ lệ ngày tiêu chảy (Do & ctv., 2022). Tỉ lệ L:C tăng giúp vi khuẩn có lợi trong đường ruột phát triển mạnh, cạnh tranh với các vi khuẩn gây bệnh như *E. coli* và *Clostridium* (Guevarra & ctv., 2018).

Bảng 2. Mối tương quan giữa hệ vi sinh vật đường ruột và các chỉ tiêu quần thể ở heo con giai đoạn 25 đến 60 ngày tuổi

	Trọng lượng	FCR	Điểm phân	Tỉ lệ ngày con tiêu chảy	Log <i>Clostridium</i>	log <i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus:co-liforms</i> (L:C)
Trọng lượng	1						
<i>P</i>							
FCR	-0,0139	1					
<i>P</i>	0,9161						
Điểm phân	-0,2643	0,2630	1				
<i>P</i>	0,0413	0,0423					
Tỉ lệ ngày con tiêu chảy	0,1355	-0,1007	0,0458	1			
<i>P</i>	0,302	0,4439	0,7282				
Log <i>Clostridium</i>	0,3788	0,1719	0,0985	0,1417	1		
<i>P</i>	0,0028	0,1891	0,454	0,2802			
Log <i>Bacillus</i>	0,0295	-0,2696	-0,0186	0,1823	-0,0679	1	
<i>P</i>	0,823	0,0372	0,8879	0,1633	0,6062		
L:C	-0,2281	0,1867	0,0497	-0,5749	-0,3068	- 0,159	1
<i>P</i>	0,0796	0,1531	0,7063	< 0,001	0,0171	0,2249	

Dựa trên mối tương quan có ý nghĩa giữa tỉ lệ L:C với tỉ lệ ngày con tiêu chảy và mức *Clostridium*, một mô hình hồi quy đã được xây dựng, trong đó

tỉ lệ L:C là biến độc lập, còn tỉ lệ ngày con tiêu chảy và log *Clostridium* là các biến phụ thuộc. Kết quả chi tiết được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Hồi quy về mối tương quan giữa tỉ lệ *Lactobacillus:coliforms* (L:C) với tỉ lệ ngày con tiêu chảy và Log *Clostridium* trên heo giai đoạn 25 ngày - 60 ngày

Biến phụ thuộc	Biến độc lập	Hệ số	P
Tỉ lệ ngày con tiêu chảy	L:C	-0,163254	< 0,001
	Hằng số	0,2895575	0
Log <i>Clostridium</i>	L:C	-0,330815	< 0,001
	Hằng số	6,425907	0,017

Tỉ lệ ngày tiêu chảy và mức *Clostridium* phụ thuộc đáng kể vào tỉ lệ L:C. Khi tỉ lệ này tăng, tỉ lệ ngày tiêu chảy và mức *Clostridium* đều giảm (Bảng 3). Do đó, để giảm tiêu chảy và hạn chế các bệnh do *Clostridium* ở heo con, cần có chiến lược điều chỉnh nhằm tăng tỉ lệ L:C, tức là gia tăng lợi khuẩn trong đường ruột heo một cách hợp lý.

3.3. Mối liên hệ giữa một vi sinh vật đường ruột, tình trạng phân, trọng lượng heo con tại các thời điểm

3.3.1. Thời điểm heo 25 ngày tuổi

Mối liên hệ giữa các chỉ tiêu vi sinh vật và trọng lượng được phân tích tại thời điểm lấy mẫu

ở từng cá thể heo 25 ngày tuổi. Kết quả cho thấy tỉ lệ L:C có mối tương quan thuận chặt chẽ với trọng lượng của heo ở giai đoạn này ($r = 0,6282$, $P < 0,001$). Sự gia tăng lợi khuẩn trong đường ruột giúp tăng cường chuyển hóa, hấp thu thức ăn và nâng cao hiệu quả chăn nuôi. Việc bổ sung probiotics vào khẩu phần ăn ở mức tối thiểu 10^6 CFU/g hoặc cao hơn đã được nhiều nghiên cứu chứng minh mang lại cải thiện đáng kể cho sức khỏe đường ruột và năng suất ở heo con (Minelli & Benini, 2008; Bajagai & ctv., 2016). Ngoài ra, kết quả cũng cho thấy mối tương quan nghịch giữa *Clostridium* với tỉ lệ L:C ($r = -0,3176$, $P < 0,001$) và trọng lượng ($r = -0,3015$, $P < 0,001$) ở heo 25 ngày tuổi (Bảng 4).

Bảng 4. Mối tương quan giữa hệ vi sinh vật đường ruột và các chỉ tiêu theo cá thể ở heo con giai đoạn 25 tuổi

	Trọng lượng	Log <i>Clostridium</i>	Log <i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus:coliforms</i> (L:C)
Trọng lượng	1			
P				
Log <i>Clostridium</i>	-0,3015	1		
P	0,0008			
Log <i>Bacillus</i>	-0,0179	-0,072	1	
P	0,8463	0,4347		
L:C	0,6282	-0,3176	0,0235	1
P	< 0,001	0,0004	0,7991	

Không ghi nhận mối tương quan giữa *Bacillus* và trọng lượng ở heo trong giai đoạn này. Điều này có thể do heo bị stress khi cai sữa, dẫn đến

giảm số lượng *Bacillus*, bị các vi khuẩn gây hại như *E. coli*, *Clostridium* và *Campylobacter* cạnh tranh gây ra tiêu chảy (Luo & ctv., 2022). Dựa

trên mối tương quan ý nghĩa giữa tỉ lệ L:C với trọng lượng và *Clostridium* tiến hành phân tích phương trình hồi quy, trong đó tỉ lệ L:C là biến

độc lập, còn trọng lượng và log *Clostridium* là các biến phụ thuộc (Bảng 5).

Bảng 5. Hồi qui về mối tương quan giữa tỉ lệ *Lactobacillus:coliforms* (L:C) với trọng lượng và log *Clostridium* trên heo 25 ngày

Biến phụ thuộc	Biến độc lập	Hệ số	P
Trọng lượng	L:C	5,434844	< 0,001
	Hằng số	0,9440199	0,103
Log <i>Clostridium</i>	L:C	-2,589871	< 0,001
	Hằng số	6,810394	0

Kết quả nghiên cứu cho thấy trọng lượng heo con 25 ngày tuổi có mối tương quan thuận và phụ thuộc vào tỉ lệ L:C ($P < 0,001$), trong khi *Clostridium* lại có mối tương quan nghịch và phụ thuộc đáng kể vào tỉ lệ này ($P < 0,001$). Tại thời điểm này, việc tăng tỉ lệ L:C có thể hỗ trợ tăng trọng lượng heo, mang lại lợi ích cho quá trình chăn nuôi. Đồng thời, sự gia tăng *Lactobacillus* tạo ra cạnh tranh vi sinh vật, giúp giảm số lượng vi khuẩn gây hại như *Clostridium*, qua đó làm giảm tỉ lệ tiêu chảy ở heo sau cai sữa. Nghiên cứu của Vigors & ctv. (2016) cũng ghi nhận mối tương quan chặt chẽ giữa nồng độ *Lactobacillus* với sức khỏe đường ruột, trong đó các vi khuẩn có lợi này hỗ trợ tiêu hóa chất dinh dưỡng, bảo vệ lớp màng nhầy (Valeriano & ctv., 2016) và cạnh tranh với các vi khuẩn cơ hội gây

bệnh đường ruột như *Clostridium*, *Salmonella*, và *E. coli* (Liu & ctv., 2014).

3.3.2. Thời điểm heo 60 ngày tuổi

Tại thời điểm 60 ngày tuổi, tỉ lệ L:C có mối tương quan thuận với trọng lượng heo con ($r = 0,2756$, $P < 0,05$) và tương quan thuận chặt chẽ với *Bacillus* ($r = 0,6617$, $P < 0,001$) (Bảng 6). Kết quả này cho thấy heo con đã phát triển một hệ vi sinh vật ổn định, phản ánh sức khỏe đường ruột tốt, với lợi khuẩn cao góp phần hỗ trợ tăng trọng lượng. Ngoài ra, *Bacillus* cũng có mối tương quan nghịch với *Clostridium* ($r = -0,27$, $P < 0,05$), cho thấy rằng *Bacillus* là một thành viên của cộng đồng lợi khuẩn đóng vai trò cạnh tranh sinh học, giúp giảm mật độ vi khuẩn *Clostridium* gây hại.

Bảng 6. Mối tương quan giữa các chỉ tiêu vi sinh vật và trọng lượng trên heo 60 ngày

	Trọng lượng	Log <i>Clostridium</i>	Log <i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus:coliforms</i> (L:C)
Trọng lượng	1			
P				
Log <i>Clostridium</i>	-0,1919	1		
P	0,1419			
Log <i>Bacillus</i>	0,1659	-0,27	1	
P	0,2051	0,037		
L:C	0,2756	-0,1499	0,6617	1
P	0,0331	0,2531	0	

Dựa vào mối tương quan ý nghĩa giữa tỉ lệ L:C với trọng lượng và log *Bacillus* tiến hành phân tích hồi qui với biến độc lập là tỉ lệ L:C,

biến phụ thuộc là trọng lượng và log *Bacillus* ở heo 60 ngày (Bảng 7).

Bảng 7. Hồi qui về mối tương quan giữa tỉ lệ *Lactobacillus:coliforms* (L:C) với trọng lượng và log *Bacillus* trên heo 60 ngày

Biến phụ thuộc	Biến độc lập	Hệ số	P
Trọng lượng	L:C	4,683514	< 0,001
	Hằng số	17,47041	0,033
Log <i>Bacillus</i>	L:C	3,499012	< 0,001
	Hằng số	3,018549	0,000

Kết quả cho thấy tỉ lệ L:C có ảnh hưởng đáng kể đến trọng lượng và mật độ *Bacillus* ở heo con 60 ngày tuổi. Đây là cơ sở khoa học để đề xuất giải pháp bổ sung *Bacillus* kết hợp với *Lactobacillus* trong khẩu phần ăn nhằm gia tăng lợi khuẩn đường ruột, giảm nguy cơ tiêu chảy và cải thiện hiệu quả tăng trưởng, qua đó nâng cao năng suất chăn nuôi.

4. Kết Luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy số lượng vi khuẩn có hại *E. coli* và *Clostridium* trong đường tiêu hóa heo con giảm dần theo thời gian, đặc biệt khi heo đạt 60 ngày tuổi. Số lượng *Bacillus* được bổ sung luôn duy trì ở mức cần thiết (> 6 log CFU/g) góp phần hạn chế vi khuẩn gây bệnh giúp cạnh tranh và ức chế mầm bệnh, cùng tác dụng kháng khuẩn của các tinh dầu. Kết quả thống kê cho thấy mối tương quan thuận giữa tỉ lệ L:C với trọng lượng heo, đồng thời tỉ lệ này cũng có tác động tích cực đến việc giảm tỉ lệ tiêu chảy và số lượng *Clostridium*. Điều này cho thấy vai trò quan trọng của các lợi khuẩn trong việc duy trì cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột, từ đó cải thiện sức khỏe đường tiêu hóa và tăng trưởng của heo.

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.

Lời Cảm Ơn

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn sự hỗ trợ và giúp đỡ của trại trong quá trình thực hiện và lấy mẫu. Đồng thời cảm ơn sự hỗ trợ của Phòng thí nghiệm nghiên cứu chăn nuôi và thú y Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM trong thực hiện phân tích mẫu của đề tài.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Adli, D. N., Chi, Y., Lee, J. W., & Sjöfjan, O. (2019). Supplementation mannan-rich fraction (MRF) and/or combination with probiotic-enhanced water acidifier on dietary male broiler at 28 on intestinal micro flora and ratio of *Lactobacillus/Coliform*. *Research Journal of Advanced Engineering and Science* 4(3), 427-429. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3459288>.
- Bajagai, Y. S., Klieve, A. V., Dart, P. J., & Bryden, W. L. (2016). *Probiotics in animal nutrition: Production, impact and regulation*. Rome, Italy: Food and Agricultural Organization of the United Nations.

- Brestoff, J. R., & Artis, D. (2013). Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nature Immunology* 14(7), 676-684. <https://doi.org/10.1038/ni.2640>.
- Do, T. T., Le, T. Q., & Tran, L. T. Q. (2022). Assessing intestinal health status through number of *Lactobacillus* and coliforms, *E. coli* in weaning piglets. *Journal of Veterinary Science and Technology* 29(7), 53-58.
- Fouhse, J. M., Zijlstra, R. T., & Willing, B. P. (2016). The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. *Animal Frontiers* 6(3), 30-36. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0031>.
- Guevarra, R. B., Hong, S. H., Cho, J. H., Kim, B. R., Shin, J., Lee, J. H., Kang, B. N., Kim, Y. H., Wattanaphansak, S., Isaacson, R. E., Song, M., & Kim, H. B. (2018). The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 9(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0269-6>.
- Guevarra, R. B., Lee, J. H., Lee, S. H., Seok, M. J., Kim, D. W., Kang, B. N., Johnson, T. J., Isaacson, R. E., & Kim, H. B. (2019). Piglet gut microbial shifts early in life: Causes and effects. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0308-3>.
- Kim, S. W., & Duarte, M. E. (2021). Understanding intestinal health in nursery pigs and the relevant nutritional strategies. *Animal Bioscience* 34(3), 338-344. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0010>.
- Liu, H., Zeng, X., Zhang, G., Hou, C., Li, N., Yu, H., Shang, L., Zhang, X., Trevisi, P., Yang, F., Liu, Z., & Qiao, S. (2019). Maternal milk and fecal microbes guide the spatiotemporal development of mucosa-associated microbiota and barrier function in the porcine neonatal gut. *BMC Biology* 17(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0729-2>.
- Liu, H., Zhang, J., Zhang, S., Yang, F., Thacker, P. A., Zhang, G., Qiao, S., & Ma, X. (2014). Oral administration of *Lactobacillus fermentum* 15007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(4), 860-866. <https://doi.org/10.1021/jf403288r>.
- Li, Y., Zhang, H., Su, W., Ying, Z., Chen, Y., Zhang, L., Lu, Z., & Wang, T. (2018). Effects of dietary *Bacillus amyloliquefaciens* supplementation on growth performance, intestinal morphology, inflammatory response, and microbiota of intra-uterine growth retarded weanling piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 9(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0236-2>.
- Luise, D., Bertocchi, M., Motta, V., Salvarani, C., Bosi, P., Luppi, A., Fanelli, F., Mazzoni, M., Archetti, I., Maiorano, G., Nielsen, B. K. K., & Trevisi, P. (2019). *Bacillus* sp. Probiotic supplementation diminish the *Escherichia coli* F4ac infection in susceptible weaned pigs by influencing the intestinal immune response, intestinal microbiota and blood metabolomics. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0380-3>.
- Luo, Y., Ren, W., Smidt, H., Wright, A. D. G., Yu, B., Schyns, G., McCormack, U. M., Cowieson, A. J., Yu, J., He, J., Yan, H., Wu, J., Mackie, R. I., & Chen, D. (2022). Dynamic distribution of gut microbiota in pigs at different growth stages: Composition and contribution. *Microbiology Spectrum* 10(3), e00688-21. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00688-21>.
- Minelli, E. B., & Benini, A. (2008). Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microbial Ecology in Health and Disease* 20(4), 180-183. <https://doi.org/10.1080/08910600802408095>.
- Morissette, B., Talbot, G., Beaulieu, C., & Lessard, M. (2018). Growth performance of piglets during the first two weeks of lactation affects the development of the intestinal microbiota. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 102(2), 525-532. <https://doi.org/10.1111/jpn.12784>.

- Mun, D., Kyoung, H., Kong, M., Ryu, S., Jang, K. B., Baek, J., Park, K. I., Song, M., & Kim, Y. (2021). Effects of Bacillus-based probiotics on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal health of weaned pigs. *Journal of Animal Science and Technology* 63(6), 1314-1327. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e109>.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002). Probiotics: An overview of beneficial effects. In Siezen, R. J., Kok, J., Abee, T., & Schasfsma, G. (Eds.). *Proceedings of The Seventh Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications* (279-289). Dordrecht, Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2029-8_18.
- Shen, C., Christensen, L. G., Rasmussen, P. B., & Kragh, K. M. (2020). In vitro immunomodulatory effects of thymol and cinnamaldehyde in a pig intestinal epithelial cell line (IPEC-J2). *Journal of Applied Animal Nutrition* 8(3), 127-134. <https://doi.org/10.3920/JAAN2020.0010>.
- Su, W., Gong, T., Jiang, Z., Lu, Z., & Wang, Y. (2022). The role of probiotics in alleviating postweaning diarrhea in piglets from the perspective of intestinal barriers. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12, 883107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.883107>.
- Valeriano, V. D., Bagon, B. B., Balolong, M. P., & Kang, D. K. (2016). Carbohydrate-binding specificities of potential probiotic Lactobacillus strains in porcine jejunal (IPEC-J2) cells and porcine mucin. *Journal of Microbiology* 54(7), 510-519. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6168-7>.
- Van Noten, N., Degroote, J., Van Liefferinge, E., Taminiau, B., De Smet, S., Desmet, T., & Michiels, J. (2020). Effects of thymol and thymol α -D-Glucopyranoside on intestinal function and microbiota of weaned pigs. *Animals* 10(2), 329. <https://doi.org/10.3390/ani10020329>.
- Vigors, S., O'Doherty, J. V., Kelly, A. K., O'Shea, C. J., & Sweeney, T. (2016). The effect of divergence in feed efficiency on the intestinal microbiota and the intestinal immune response in both unchallenged and lipopolysaccharide challenged ileal and colonic explants. *Plos One* 11(2), e0148145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148145>.
- VS (Vietnam Standards). (2020a). Standard No. TCVN 13043:2020 dated on December 31th, 2020. Animal feeding stuffs - Isolation and enumeration of presumptive Bacillus spp. Retrieved September 7, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+13043%3A2020>.
- VS (Vietnam Standards). (2020b). Standard No. TCVN 13046:2020 dated on December 31th, 2020. Animal feeding stuffs - Isolation and enumeration of Lactobacillus spp. Retrieved September 7, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+13046%3A2020>.
- VS (Vietnam Standards). (2005). Standard No. TCVN 4991-89 dated on 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens - Colony count technique. Retrieved September 7, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+4991%3A2005>.
- VS (Vietnam Standards). (2015). Standard No. TCVN 11039-3:2015 dated on December 31th, 2015. Food additive - Microbiological analyses - Part 3: Detection and enumeration of coliforms and E - coli by most probable number technique (Reference method). Retrieved September 7, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+11039-3%3A2015>.
- Wiseman, J. (2018). *Achieving sustainable production of pig meat (Volume 2)*. London, UK: Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.1201/9781351114349>.
- Zheng, L., Duarte, M. E., Sevarolli Loftus, A., & Kim, S. W. (2021). Intestinal health of pigs upon weaning: Challenges and nutritional intervention. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 628258. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628258>.