



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0035549

(51)⁸ A23K 1/00

(13) B

(21) 1-2018-01920

(22) 09/10/2015

(86) PCT/NO2015/050186 09/10/2015

(87) WO2017/061871 13/04/2017

(45) 25/05/2023 422

(43) 26/11/2018 368A

(73) AXICHEM AB (SE)

Södergatan 26, 211 34 Malmö, Sweden

(72) HELSING, Torsten (SE).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) THỨC ĂN CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT THUỘC LỚP CHIM CHỨA HỢP CHẤT
CAPSAICINOIT TỔNG HỢP ĐỂ PHÒNG NGỪA BỆNH LÂY NHIỄM
SALMONELLA

(57) Sáng chế đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim chứa hợp chất capsaicinoit tổng hợp để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh lây nhiễm *Salmonella*.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim, đặc biệt là thức ăn chăn nuôi gia cầm chứa hợp chất capsaicinoit tổng hợp để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh lây nhiễm *Salmonella* ở gà giò.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

AXICHEM AB là nhà cung cấp toàn cầu các hợp chất tương tự hợp chất tự nhiên và mục tiêu của AXICHEM AB là phát triển, sáng chế và tiêu thụ các hợp chất tương tự hợp chất tự nhiên. AXICHEM AB tập trung sản xuất phenylcapsaicin và dẫn xuất của nó, là hợp chất tương tự capsaicin tự nhiên. Do phenylcapsaicin được sản xuất bằng phương pháp tổng hợp, nên hợp chất này có nhiều tác dụng nổi trội hơn capsaicin tự nhiên chiết xuất từ ớt cay có chất lượng thay đổi. Hợp chất capsaicinoit tổng hợp có thể được sản xuất ở độ tinh khiết cao và số lượng lớn với chi phí hợp lý. Ngoài ra, capsaicin tự nhiên bị hạn chế về số lượng. Chiết xuất capsaicin tự nhiên tiêu chuẩn chứa ít nhất 3 chất đồng phân, có đặc tính chất hóa học khác nhau nhưng rất khó phân biệt. Do đó, khó thu nhận được chiết xuất capsaicin có độ tinh khiết và thành phần hoàn toàn đồng nhất để sử dụng.

Phenylcapsaicin không gây độc cho môi trường, do đó hợp chất này có thể được sử dụng thay thế trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Patent Châu Âu số EP1670310 và Patent Mỹ số US7446226 cấp cho AXICHEM AB đề cập đến phương pháp tổng hợp phenylcapsaicin; chế phẩm chứa phenylcapsaicin tổng hợp để sử dụng làm chế phẩm chống bẩn (WO2005025314).

Tình trạng tích tụ vi khuẩn *Salmonella* ở đường ruột của gia cầm là mối quan tâm chính đối với an toàn thực phẩm. *Salmonella* được phát tán khi gia cầm bài tiết *Salmonella* qua phân. Crhanova M, et.al.: *Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to Salmonella enterica serovar enteritidis infection*. *Infect Immun* 2011, 79(7):2755-2763.

Liên quan đến an toàn thực phẩm, việc kiểm soát *Salmonella* trong quá trình sản xuất sản phẩm từ động vật là yếu tố quan trọng. Gia cầm tạo ra ổ bệnh chứa *Salmonella*

và nhiều đợt bùng phát lây nhiễm *Salmonella* do tiêu thụ các sản phẩm từ gia cầm. *Salmonella* có thể tích tụ trong thức ăn và đường ruột của gia cầm. Liên quan đến an toàn thực phẩm, để giảm nồng độ *Salmonella*, thực sự cần giảm tích tụ *Salmonella* ở đường tiêu hóa của gia cầm và phát tán *Salmonella* bài tiết qua phân bằng cách cải tiến thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi hoặc bổ sung dung dịch nước uống.

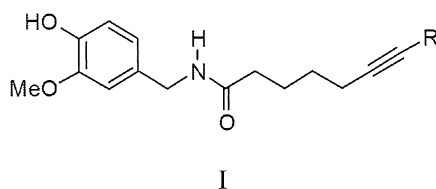
Ngoài việc trực tiếp gây ngộ độc thực phẩm, gia cầm bị lây nhiễm *Salmonella* cũng gây ô nhiễm trong quá trình vận chuyển và bảo quản, ở khu vực giết mổ, nhà hàng, khu vực chế biến thực phẩm và cửa hàng tạp hóa. Chi phí để khử khuẩn *Salmonella* là rất lớn và tốt hơn nếu phòng tránh được vấn đề này.

Bệnh lây nhiễm *Salmonella* là vấn đề nghiêm trọng đối với ngành công nghiệp chăn nuôi gia cầm trên toàn thế giới. Bệnh lây nhiễm *Salmonella* dẫn đến tổn thất kinh tế lớn cho toàn ngành, và cũng gây ra nhiều hậu quả tiêu cực khác.

Hiện nay, bệnh lây nhiễm *Salmonella* được điều trị bằng ba phương pháp khác nhau: điều trị bằng kháng sinh, bổ sung axit hữu cơ (axit lactic bậc một) vào dung dịch nước uống và điều trị bằng enzym. Toàn bộ các phương pháp này đều có nhiều nhược điểm bao gồm tính kháng kháng sinh (vấn đề rất nghiêm trọng); cũng như enzym và axit hữu cơ có tác dụng rất hạn chế. Hơn nữa, axit lactic cũng có thể gây ăn mòn hệ thống cung cấp dung dịch nước uống, và ảnh hưởng đến khả năng hấp thu và chất lượng của động vật thuộc lớp chim.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim chứa ít nhất một hợp chất có công thức (I):



trong đó R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm C₁-C₁₈ alkyl, triflometyl, C₃-C₁₂ xycloalkyl, phenyl, phenoxy, phenylthio, halogen; hoặc chất đồng phân hỗn hợp hoặc muối của nó.

Ví dụ cụ thể về hợp chất capsaicinoid theo sáng chế là hợp chất alkyn, trong đó R được định nghĩa nêu trên.

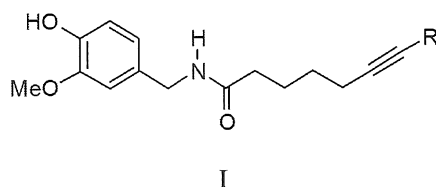
Sáng chế cũng đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim nêu trên để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh lây nhiễm *Salmonella* ở động vật thuộc lớp chim.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là đồ thị thể hiện kết quả đo nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 đo được (CFU/g-đơn vị tạo khuẩn lạc/g, trực y) ở nhóm đối chứng (chấm hình tròn) và nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin (chấm hình tam giác, trực x) ở ngày 20 (a) và ngày 29 (b).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim chứa ít nhất một hợp chất có công thức (I):



trong đó R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm C₁-C₁₈ alkyl, triflometyl, C₃-C₁₂ xycloalkyl, phenyl, phenoxy, phenylthio, halogen; hoặc chất đồng phân hỗn hợp hoặc muối của nó.

Tốt hơn nếu thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo sáng chế chứa phenylcapsaicin.

Tốt hơn nếu thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo sáng chế chứa hợp chất có công thức (I) ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 40mg/kg, tốt hơn nữa nếu thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo sáng chế chứa hợp chất có công thức (I) ở hàm lượng bằng 20mg/kg.

Sáng chế cũng đề cập đến thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim nêu trên để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh lây nhiễm *Salmonella* ở động vật thuộc lớp chim.

Động vật thuộc lớp chim được chọn từ nhóm bao gồm gia cầm, đặc biệt là gà giò; gia cầm đẻ trứng, đặc biệt là gà; gà tây; đà điểu; chim cú; gà gô trắng; vịt; ngỗng; chim hoang dã; chim thuần hóa và chim giống.

Thức ăn chăn nuôi này được chọn từ nhóm bao gồm thức ăn chế biến từ hạt giống, thức ăn chế biến từ ngô, thức ăn chế biến từ côn trùng, thức ăn chế biến từ kê, thức ăn chế biến từ yến mạch, thức ăn chế biến từ lạc và ở dạng hạt cốm, huyền phù đặc, dung dịch nước uống và nhũ tương.

Bệnh lây nhiễm *Salmonella* được chọn từ nhóm bệnh gây ra bởi *Salmonella* *Mongori*; *Salmonella* *Hadar*; *Salmonella* *Montevideo*; *Salmonella* *Epinay* và *Salmonella* *Enterica* từ các phân loài *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diazonae*, *houtenase* và *indica*.

Tốt hơn nếu bệnh lây nhiễm *Salmonella* gây ra bởi *Salmonella enteritidis*, đặc biệt là *Salmonella enteritidis* PT4.

Phenylcapsaicin có tác dụng phòng ngừa và lây lan *Salmonella* ở các cơ sở sản xuất gia cầm. Cơ chế tác dụng rất đơn giản: phenylcapsaicin có công thức (I) được bổ sung ở lượng nhỏ, thường nằm trong khoảng từ 5 đến 20ppm, vào thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim hoặc dung dịch nước uống dùng cho động vật thuộc lớp chim. Quá trình này sẽ làm giảm sự xuất hiện của *Salmonella* ở hệ tiêu hóa của động vật thuộc lớp chim riêng biệt, do đó cũng làm giảm lây lan *Salmonella* giữa các động vật thuộc lớp chim qua phân.

Cơ chế chính xác của tác dụng này hiện vẫn chưa được biết rõ. Tuy nhiên, phenylcapssaicin được cho là có tác dụng kháng khuẩn trực tiếp ở động vật thuộc lớp chim được sử dụng thức ăn chăn nuôi theo sáng chế, do đó làm giảm trực tiếp sinh trưởng của vi khuẩn. Cơ chế này hiện đang được kiểm chứng.

Cơ chế tác dụng khác được đề xuất là phenylcapsaicin góp phần làm biến đổi hệ vi sinh vật ở động vật thuộc lớp chim một cách thuận lợi. Cơ chế được đề xuất này có nghĩa là bệnh lây nhiễm *Salmonella* gián tiếp được ngăn ngừa ở động vật thuộc lớp chim, do phenylcapsaicin ảnh hưởng đến hệ vi sinh nội sinh, do đó làm giảm nồng độ vi khuẩn *Salmonella* ở hệ tiêu hóa của động vật thuộc lớp chim.

Nồng độ vi khuẩn *Salmonella* giảm một cách tự nhiên ở hệ tiêu hóa dẫn đến làm giảm bài tiết vi khuẩn qua phân, là con đường lây nhiễm sơ cấp giữa các động vật thuộc lớp chim.

Do đó, quá trình chăn nuôi động vật thuộc lớp chim bằng thức ăn chăn nuôi giàu phenylcapsaicin sẽ ngăn ngừa lây lan *Salmonella* ở các động vật thuộc lớp chim riêng biệt cũng như ngăn ngừa bệnh lây nhiễm giữa các động vật thuộc lớp chim.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất capsaicin làm chất xua đuổi động vật gặm nhấm có vú trong quá trình chăn nuôi ngoài trời động vật thuộc lớp chim và các động vật khác. Các hợp chất tổng hợp này được sản xuất ở độ tinh khiết cao và số lượng lớn với chi phí hợp lý hơn phương pháp chiết xuất hợp chất này từ ớt cay.

Hợp chất capsaicin tổng hợp này thích hợp để sử dụng trong nhiều ứng dụng, bao gồm sơn chống bẩn trong ngành hàng hải, chế phẩm kiểm soát dịch hại trong lĩnh vực nông lâm nông nghiệp và dược phẩm. Phenylcapsaicin cũng đã được kiểm chứng là có thể được sử dụng làm chất tăng cường sinh trưởng và chống vi sinh vật hữu hiệu trong thức ăn chăn nuôi gia cầm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Thử nghiệm đánh giá tác dụng của phenylcapsaicin, được bổ sung ở các lượng khác nhau vào thức ăn chăn nuôi gà giò, chống lại sự tích tụ và lây lan *Salmonella* đã được thực hiện. Ngoài tác dụng chống lây nhiễm *Salmonella*, tác dụng của phenylcapsaicin đến đặc tính sinh trưởng của gà giò cũng được đánh giá.

Thử nghiệm này được thực hiện để đánh giá tác dụng của thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa phenylcapsaicin ở các lượng khác nhau, là chất tương tự của capsaicin tự nhiên (dung dịch 1% trong dầu đậu tương) đến sự tích tụ và lây lan của *Salmonella enteritidis* ở đường ruột và đặc tính sinh trưởng của gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*. Thử nghiệm được thực hiện với 420 gà giò đực Ross 308 và kéo dài 30 ngày. Các gà giò thử nghiệm được nhốt trong 33 chuồng được bố trí theo dãy (14 gà giò/chuồng ở thời điểm bắt đầu).

Năm thử nghiệm điều trị được đánh giá, mỗi thử nghiệm được lặp lại sáu lần. Thiết kế thử nghiệm được thể hiện trên Bảng 1. Thử nghiệm điều trị I bao gồm các gà giò

không được lây nhiễm chủ động với *Salmonella enteritidis* và sử dụng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng. Gà giò trong các thử nghiệm điều trị II, III, IV và V đều được lây nhiễm chủ động với *Salmonella enteritidis* PT4 và sử dụng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng hoặc thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa tương ứng 20mg/kg, 28mg/kg hoặc 36mg/kg phenylcapsaicin. Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng sử dụng được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 1. Thiết kế thử nghiệm: gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*.

Nhóm	Số chuồng	Chế độ dinh dưỡng	Lây nhiễm chủ động bằng <i>Salmonella enteritidis</i>
I	6	Không (Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng)	Không
II	6	Không (Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng)	Có
III	6	20mg/kg phenylcapsaicin	Có
IV	6	28mg/kg phenylcapsaicin	Có
V	6	36mg/kg phenylcapsaicin	Có

Bảng 2. Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng được sử dụng: gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*.

		Giai đoạn ban đầu	Giai đoạn sinh trưởng
		0-15 ngày	15-30 ngày
Ngô	g/kg	317,6	191,3
Lúa mỳ	g/kg	250,0	400,0
Bột đậu tương CP 480 g/kg	g/kg	280,0	260,0
Bột cải dầu CP 335 g/kg	g/kg	50,0	50,0
Mảnh vụn protein khoai tây > 10 g/kg	g/kg	10,0	0,0
Dầu đậu tương	g/kg	52,0	65,0
Thức ăn sơ chế	g/kg	5,0	5,0
Bột vôi	g/kg	16,0	14,0
Monocanxiphosphat	g/kg	9,5	5,5
Muối	g/kg	2,0	2,1
Natribicarbonat	g/kg	3,0	2,5
Natuphos 10000G (enzym phytaza)	g/kg	0,05	0,05
Hostazym NSP-enzym	g/kg	0,10	0,10
Clinacox	g/kg	0,20	0,20
L-lysin HCl	g/kg	1,75	1,75
DL-metionin	g/kg	2,20	1,85
L-threonin	g/kg	0,45	0,50
L-valin	g/kg	0,15	0,15
Tổng cộng	g/kg	1000,0	1000,0
Giá trị dinh dưỡng (g/kg)			
Protein thô	g/kg	218	207
Chất béo thô	g/kg	74	83
Xơ thô	g/kg	29	29

Tro	g/kg	61	54
Dig. Lysin	g/kg	10,7	10,4
Dig. Metionin	g/kg	5,0	4,6
dig M+C	g/kg	8,0	7,6
Dig. Threonin	g/kg	6,9	6,7
Dig. Valin	g/kg	8,5	8,3
ME _{gà giò} ¹	MJ/kg	12,07	12,43
Ca	g/kg	9,4	8,0
P tổng số	g/kg	6,0	5,1
P trung bình	g/kg	4,0	3,3
Na	g/kg	1,7	1,6
Cl	g/kg	2,0	2,1
K	g/kg	8,9	8,5

Các gà giò được lây nhiễm qua thức ăn ở 15 và 16 ngày tuổi với *Salmonella enteritidis* PT4 kháng axit nalidixic (trung bình $3,7 \times 10^8$ CFU). Dựa trên kết quả giải phẫu cơ thể của 5 gà giò/chuồng ở 20 và 29 ngày tuổi, nồng độ *Salmonella enteritidis* ở manh tràng (tích tụ ở đường ruột) và lá lách (lây lan) được xác định. Đặc tính sinh trưởng của gà giò (mức độ gia tăng cân nặng, tỷ lệ hấp thu và chuyển hóa thức ăn) được xác định ở 15 và 30 ngày tuổi.

Đánh giá

Chế phẩm thử nghiệm

Dung dịch dầu đậu tương chứa 1% phenylcapsaicin được phân tích về nồng độ phenylcapsaicin.

Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi thử nghiệm

Các mẫu của mỗi thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi (4 thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi thử nghiệm dùng cho giai đoạn ban đầu và 4 thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi thử nghiệm dùng cho giai đoạn sinh trưởng) được phân tích về nồng độ phenylcapsaicin.

Các mẫu của mỗi thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi (4 thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi thử nghiệm dùng cho giai đoạn ban đầu và 4 thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi thử nghiệm dùng cho giai đoạn sinh trưởng) được phân tích về nồng độ chất khô, tro, protein thô, chất béo thô (HCL), xơ thô, canxi và phospho.

Lấy mẫu phân gà

Ở 13 ngày tuổi (trước khi cấy), phân gà ở mỗi chuồng được lấy mẫu và thu gom để xác định tình trạng *Salmonella enteritidis* ban đầu. Phân gà ở mỗi chuồng được thu thập trong khoảng thời gian 2 giờ bằng giấy sạch đặt bên dưới mỗi chuồng.

Lấy mẫu lá lách và manh tràng

Nồng độ *Salmonella enteritidis* trong manh tràng và lá lách được đo để đánh giá tương ứng khả năng tích tụ ở đường ruột và lây lan bằng cách giết chết ngẫu nhiên 5 gà giò/chuồng ở 20/21 và 29/30 ngày tuổi. Để thực hiện mục đích này, các gà giò được giết chết. Trong quá trình cấy, ở ngày 15/16, trong mỗi chuồng, năm gà giò được chọn ngẫu nhiên được đánh dấu trên cánh bằng thẻ màu xanh lá cây và năm gà giò được chọn ngẫu nhiên được đánh dấu trên cánh bằng thẻ màu xanh sẫm. Ở ngày 20/21, các gà giò được đánh dấu trên cánh bằng thẻ màu xanh lá cây được giết chết và ở 29/30 ngày tuổi, các gà giò được đánh dấu trên cánh bằng thẻ màu xanh sẫm được giết chết. Trước tiên, các gà giò được gây mê bằng hỗn hợp chứa sedamun và ketamin (5:3) bằng cách tiêm vào cơ ngực (liều: 1mL/kg cân nặng), sau đó giết chết bằng cách tiêm tĩnh mạch dung dịch nước T61 (chứa embutramide: 200mg/mL; mebezoniiumiodide: 50mg/mL; tetracainehydroclorua: 5mg/mL). Sau khi giết chết, các gà giò được cân, sau đó manh tràng và lá lách được thu thập. Sau khi thu thập, các mẫu được làm lạnh ngay ở nhiệt độ 2°C-8°C trước khi phân tích nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 kháng axit nalidixic.

Nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 ở manh tràng và lá lách được xác định sau khi pha loãng theo tỷ lệ thập phân các mẫu trong dung dịch đệm pepton. Các mẫu đã được pha loãng được cấy trên các đĩa thạch aga Brilliant Green chứa axit nalidixic (100µg/L). Các đĩa này được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ 37°C. Khuẩn lạc *Salmonella enteritidis* PT4 thông thường được đếm và nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 (CFU/g) trong các mẫu ban đầu được tính theo các phương pháp chuẩn.

Đặc tính sinh trưởng

Toàn bộ các gà giò trong mỗi chuồng được cân ở 0, 15 và 30 ngày tuổi để xác định cân nặng.

Khả năng hấp thu thức ăn được ghi lại trong mỗi chuồng ở 15 và 24 ngày tuổi.

Tỷ lệ gà giò chết trong mỗi chuồng được ghi lại hàng ngày.

Cân nặng, mức độ gia tăng cân nặng, khả năng hấp thu thức ăn, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn và tỷ lệ gà giò chết được tính toán trong các khoảng thời gian sau: 0-15 ngày, 15-30 ngày và toàn bộ thời gian thử nghiệm (0-30 ngày tuổi).

Theo dõi tình trạng sức khỏe của gà giò thử nghiệm

Tình trạng sức khỏe của gà giò thử nghiệm được theo dõi hàng ngày và các dấu hiệu bất thường được ghi lại cũng như nguyên nhân gây chết có thể xảy ra đối với gà giò chết hoặc gà giò được chọn để giải phẫu. Nhiệt độ và độ ẩm ở khu vực nuôi được ghi lại.

Phân tích thống kê

Đặc tính sinh trưởng và khối lượng lá lách

Dữ liệu đặc tính sinh trưởng và khối lượng lá lách được phân tích thống kê trong các thử nghiệm điều trị “được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*” (thử nghiệm điều trị II-V). Các thông số đánh giá được phân tích thống kê bằng phương pháp ANOVA sử dụng phần mềm thống kê GenStat (phiên bản thứ 17, VSN International Ltd., Hemel Hempstead, UK), sử dụng tỷ lệ hàng/dây làm hệ số khối, và thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi làm biến xác định theo mô hình thống kê được thể hiện dưới đây:

$$Y = \mu + \text{hàng}_i/\text{dây}_j + \text{thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi}_k + e_{ijkl}$$

trong đó:

Y = thông số đánh giá;

μ = trung bình có trọng số;

Tỷ lệ hàng/dây = hàng trong các chuồng nuôi ($i=1,2$) dưới dạng khối và trong dây hàng ($j=1,2,3$) dưới dạng phân khối;

Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi = tác dụng của thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi ($k=1 \dots 4$); và

e = phần sai số.

Trị số P của tác dụng điều trị và khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa ($P=0,05$) được xác định đối với mỗi thông số đánh giá. Tác dụng điều trị với trị số $P \leq 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 đo được

Để xác định mức độ khác biệt về nồng độ *Salmonella* (CFU/g) ở manh tràng của gà giò được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg, 28mg/kg hoặc 36mg/kg phenylcapsaicin so với nhóm đối chứng được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi không chứa phenylcapsaicin. Trước tiên, phép kiểm định chi bình phương Pearson được thực hiện trên các trị số nồng độ được đánh giá (thấp đến cao) giữa nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin. Do các trị số trống, phân tích này không thể thực hiện được trên các nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 28mg/kg và 36mg/kg phenylcapsaicin. Do các gà giò được nhốt trong các chuồng khác nhau, nên các chuồng cũng được xem là các yếu tố tác động ngẫu nhiên sử dụng mô hình tác động tuyến tính hỗn hợp tổng quát (GLMM), áp dụng hàm số glmmPQL từ thư viện MASS về hệ số R, giả định phân bố Poisson do số liệu. Sau đó, dữ liệu được phân tích loại trừ tác dụng của các chuồng bằng mô hình tuyến tính tổng quát áp dụng hàm số glm từ thư viện MASS về hệ số R, giả định một lần nữa phân bố Poisson. Phân tích được thực hiện trên dữ liệu từ cả hai ngày lấy mẫu (ngày 20 và ngày 29; tổng cộng), và trên dữ liệu từ ngày 20 và 29 riêng biệt. Ở ngày 20, trị số đối chứng cao nhất ($1,3 \times 10^7$ CFU/g) và hai trị số cao nhất ở nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 28mg/kg phenylcapsaicin ($1,3 \times 10^7$ và $1,2 \times 10^7$ CFU/g) cao hơn đáng kể so với trị số cao nhất kế tiếp ($1,1 \times 10^6$ và $4,0 \times 10^6$ CFU/g) tương ứng đối với nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 28mg/kg phenylcapsaicin, do đó được xem là trị số ngoại lệ. Do đó, phân tích được thực hiện trên dữ liệu còn lại sau khi loại trừ các điểm dữ liệu này.

Kết quả

Khối lượng lá lách của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* ở 20 và 29 ngày tuổi cao hơn đáng kể khối lượng lá lách của các gà giò không được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* tức là lây nhiễm thành công *Salmonella*. Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi có bổ sung phenylcapsaicin ở hàm lượng bằng 20mg/kg, 28mg/kg và 36mg/kg không ảnh hưởng đến khối lượng lá lách của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* ở 20 và 29 ngày tuổi.

Các gà giò được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin có nồng độ *Salmonella* thấp hơn đáng kể so với các gà giò đối chứng được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi không chứa phenylcapsaicin (trị số P

bằng 0,15 đối với cả hai ngày (20 và 29 ngày tuổi) và trị số P bằng 0,13 đối với ngày 29). Kết quả được thể hiện trong Bảng 3. Mức độ khác biệt về nồng độ vi khuẩn được đánh giá rất có ý nghĩa thống kê giữa nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin, với nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin có nồng độ *Salmonella* thấp hơn đáng kể so với nhóm đối chứng ở cả ngày 20 cũng như ngày 29. Kết quả được thể hiện trên Bảng 4 và Fig.1. Sự tích tụ *Salmonella enteritidis* PT4 ở manh tràng không bị ảnh hưởng bởi thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 28mg/kg và 36mg/kg phenylcapsaicin. Các kết quả này cho thấy rằng liều hữu hiệu là tối đa khoảng 20mg/kg phenylcapsaicin chứa không phải ở liều phenylcapsaicin cao hơn 20mg/kg.

Bảng 3.

Kết quả phân tích thống kê bằng mô hình tuyến tính hỗn hợp tổng quát (trong đó chuồng được xem là yếu tố tác động ngẫu nhiên sử dụng mô hình tác động tuyến tính hỗn hợp tổng quát (GLMM), áp dụng hàm số glmmPQL từ thư viện MASS về hệ số R) và mô hình tuyến tính tổng quát (không kiểm chứng tác động ngẫu nhiên của chuồng, áp dụng hàm số glm từ thư viện MASS về hệ số R) được sử dụng để đánh giá mức độ khác biệt về nồng độ vi khuẩn *Salmonella* (CFU/g) giữa các gà giò được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin và các gà giò được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi đối chứng không chứa phenylcapsaicin. Trị số ngoại lệ được xác định là trị số $> 1,0 \times 10^7$ CFU/g.

Dữ liệu đầu vào	Phép kiểm định R	Sai số chuẩn	df	Trị số t	Trị số P
Cả hai ngày (ngày 20 và 29)					
CFU/g tổng số đo được	glmpQL	3,521	106	0,223	0,82
	glm	3,521	116	0,229	0,82
CFU/g đo được; trị số ngoại lệ được đánh dấu	glmpQL	1,507	105	1,469	0,15
	glm	1,507	115	1,469	0,15
Ngày 20					
CFU/g tổng số đo được	glmpQL	1,444	10	1,240	0,24
	glm	1,444	58	1,240	0,22
CFU/g đo được; trị số ngoại lệ được đánh dấu	glmpQL	0,468	10	0,822	0,43
	glm	0,468	57	0,822	0,41
Ngày 29					
CFU/g tổng số đo được	glmpQL	1,580	10	1,646	0,13
	glm	1,580	58	1,646	0,11

Bảng 4

Kết quả phân tích thống kê bằng phép kiểm định chi bình phương Pearson để đánh giá mức độ khác biệt về nồng độ *Salmonella* đo được ở manh tràng.

Ngày	χ^2	df	Xác suất
Ngày 20	21,6	1	0,001
Ngày 29	6,67	1	0,01

Ở các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*, cân nặng và mức độ gia tăng cân nặng của các gà giò được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 36mg/kg phenylcapsaicin là thấp hơn đáng kể so với cân nặng và mức độ gia tăng cân nặng của các gà giò được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 0mg/kg, 20mg/kg hoặc 28mg/kg phenylcapsaicin. Mức độ gia tăng cân nặng thấp của các gà giò được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 36mg/kg dẫn đến tỷ lệ chuyển hóa thức ăn cao hơn so với các gà giò còn lại được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* được thử nghiệm điều trị. Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa phenylcapsaicin không ảnh hưởng đến khả năng hấp thu thức ăn hàng ngày của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*.

Trong giai đoạn sinh trưởng (15-30 ngày), sau khi thách thức bằng *Salmonella*, thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa phenylcapsaicin ở hàm lượng bằng 20mg/kg, 28mg/kg và 36mg/kg không ảnh hưởng đến tỷ lệ hấp thu và chuyển hóa thức ăn của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*. Mức độ gia tăng cân nặng có xu hướng thấp được quan sát thấy khi tăng liều phenylcapsaicin ($P=0,099$). Các gà giò được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa liều phenylcapsaicin cao nhất (36mg/kg) có mức độ gia tăng cân nặng thấp nhất và tỷ lệ chuyển hóa thức ăn cao nhất.

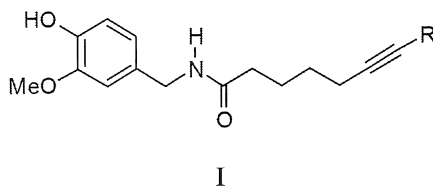
Cân nặng và mức độ gia tăng cân nặng của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 36mg/kg phenylcapsaicin thấp hơn đáng kể so với cân nặng và mức độ gia tăng cân nặng của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella* được điều trị bằng các thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 0mg/kg, 20mg/kg hoặc 28mg/kg phenylcapsaicin. Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa phenylcapsaicin không ảnh hưởng đến tỷ lệ hấp thu và chuyển hóa thức ăn hàng ngày của các gà giò được lây nhiễm chủ động với *Salmonella*.

Bàn luận

Thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin tạo ra mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 đo được ở manh tràng so với nhóm đối chứng. Kết quả này cho thấy thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin có tác dụng làm giảm nồng độ *Salmonella* ở gà giò.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim chứa ít nhất một hợp chất có công thức (I):



trong đó R là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm C_1 - C_{18} alkyl, triflometyl, C_3 - C_{12} xycloalkyl, phenyl, phenoxy, phenylthio, halogen; hoặc chất đồng phân hồ biến hoặc muối của nó.

2. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo điểm 1, trong đó R là phenyl.

3. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo điểm 1 hoặc 2, trong đó thức ăn chăn nuôi này chứa hợp chất có công thức (I) ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 40mg/kg.

4. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó thức ăn chăn nuôi này chứa hợp chất có công thức (I) ở hàm lượng khoảng 20mg/kg.

5. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó động vật thuộc lớp chim được chọn từ nhóm bao gồm gia cầm, đặc biệt là gà giò; gia cầm đẻ trứng, đặc biệt là gà; gà tây; đà điểu; chim cút; gà gô trắng; vịt; ngỗng; chim hoang dã; chim thuần hóa và chim giống.

6. Thức ăn chăn nuôi động vật thuộc lớp chim theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó thức ăn chăn nuôi này được chọn từ nhóm bao gồm thức ăn chế biến từ hạt giống, thức ăn chế biến từ ngô, thức ăn chế biến từ côn trùng, thức ăn chế biến từ kê, thức ăn chế biến từ yến mạch, thức ăn chế biến từ lạc và ở dạng hạt cốm, huyền phù đặc, dung dịch nước uống và nhũ tương.

Nồng độ *Salmonella enteritidis* PT4 đo được (CFU/g-đơn vị tạo khuẩn lạc/g, trục y) ở nhóm đối chứng (chấm hình tròn) và nhóm thử nghiệm được điều trị bằng thức ăn dinh dưỡng chăn nuôi chứa 20mg/kg phenylcapsaicin (chấm hình tam giác, trục x) ở ngày 20 (a) và ngày 29 (b)

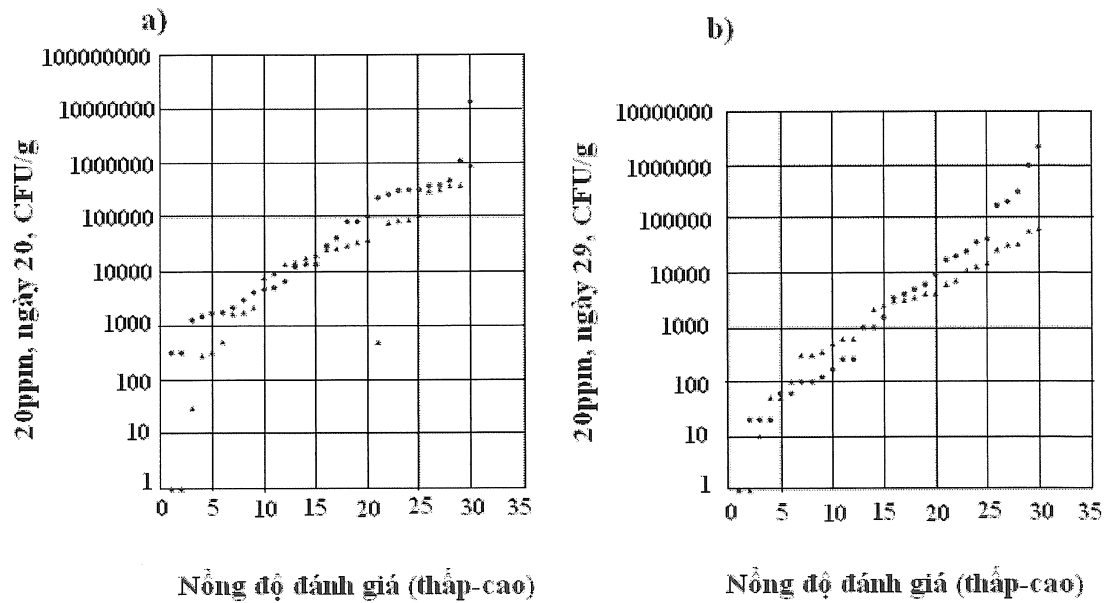


Fig.1