

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA CHẾ PHẨM THẢO DƯỢC PREMIXHAD VÀ DOXYCYCLINE ĐẾN TỈ LỆ CHUYỂN HÓA THỨC ĂN VÀ KÍCH THƯỚC LÔNG NHUNG RUỘT NON TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Hoàng Trung Hưng^{1,2}, Vũ Văn Cường¹, Nguyễn Thị Minh Phương¹,
Đỗ Văn Hiếu³, Phương Thiện Thương⁴, Nguyễn Đức Hùng⁴, Nguyễn Bá Tiếp^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
²Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế
³Công ty Oishi VIJ Việt Nam
⁴Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc

*Tác giả liên hệ: nbtiep@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.03.2023

Ngày chấp nhận đăng: 04.08.2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm thảo dược PremixHad (PH) và Doxycycline đến thu nhận thức ăn, tỉ lệ chuyển hóa thức ăn và kích thước lông nhung biểu mô ruột non trên chuột nhắt trắng (Swiss albino) qua các chỉ số sinh trưởng và đo kích thước vi thể. Kết quả nghiên cứu cho thấy bổ sung PH trong thức ăn với các hàm lượng 1,25%; 2,5%; 5,0% và Doxycycline (2 g/lít nước) an toàn đối với chuột thí nghiệm. Liều bổ sung PH 1,25% cải thiện chỉ số tăng trọng của chuột. PH và Doxycycline làm tăng hiệu quả sử dụng thức ăn thông qua tác động làm giảm tỉ lệ chuyển hóa thức ăn (FCR). PH tác động tích cực đến chiều cao, chiều rộng và tỉ lệ chiều cao/chiều rộng của lông nhung tá tràng và không tràng nhưng không ảnh hưởng đến kích thước lông nhung hồi tràng. Doxycycline không ảnh hưởng đến các chỉ số trên nhưng làm giảm kích thước lông nhung hồi tràng của chuột thí nghiệm. Tóm lại, PH an toàn và có tác dụng tốt đối với sức khỏe đường ruột của chuột Swiss albino và cần được thực thử nghiệm trên các đối tượng vật nuôi để khẳng định tác dụng của chế phẩm.

Từ khóa: An toàn, chuột Swiss albino, Doxycycline, lông nhung ruột non, PremixHad.

Evaluation of Effects of Herbal Product PremixHad and Doxycycline on Feed Conversion Ratio and Small Intestinal Villus Measurements in Swiss albino Mice

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effectiveness of herbal product PremixHad and doxycycline on feed intakes, feed conversion ratios and villus measurements of small intestine in Swiss albino mice via growth parameters and morphological measurements. The results showed that PremixHad supplement in feed with concentrations of 1.25%; 2.5%; 5.0% and doxycycline (2g per liter of drinking water) were safe for the mice. Supplement concentration at 1.25% improved BW gain. PH and doxycycline increased feed efficiency via the decrease of FCR. PH showed good effects on height, width and height/width ratios of duodenal and jejunal villi but no effect on ileal villus sizes. Meanwhile, doxycycline decreased these parameters in the mouse ileum. It can be said that PH is safe with positive effects on the intestinal health of Swiss albino mice and should be tested in livestock animals to confirm the effectiveness.

Keywords: Doxycycline, PremixHad, safety, small intestinal villi, Swiss albino mice.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hơn nửa thế kỷ qua, kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi nhằm mục đích kích thích tăng trọng và cải thiện năng suất vật nuôi. Các

nhóm kháng sinh được sử dụng nhiều cho mục đích này gồm tetracycline, penicillin và aminoglycosides. Những kháng sinh này cũng được sử dụng phổ biến trên người (Scott & cs., 2019). Nhiều quốc gia đã hạn chế hoặc cấm hoàn

toàn việc bổ sung kháng sinh cho mục đích kích thích tăng trọng do những bằng chứng về tồn dư kháng sinh trong thực phẩm và sự tăng lên của tình trạng vi trùng kháng thuốc (Dibner & Richards, 2005; Markowiak & Ślizewska, 2018).

Các nhóm chế phẩm gồm peptide kháng khuẩn, bacteriophage, probiotic, axit hữu cơ, các enzyme, chiết xuất tinh dầu, khoáng hữu cơ và thảo dược ngày càng được sử dụng rộng rãi để thay thế kháng sinh (Thacker, 2013; Rahman & cs., 2022). Những chất này có tác dụng tích cực với vật nuôi đồng thời hạn chế được tình trạng kháng thuốc của vi trùng gây bệnh và cải thiện chất lượng môi trường. Do đó, nghiên cứu phát triển các nhóm chế phẩm này đạt nhiều tiến bộ trong ba thập kỷ qua. Các chất có nguồn gốc thực vật (phytochemicals) khi được bổ sung qua đường tiêu hóa cho vật nuôi, chúng có thể tác động đến đáp ứng sinh lý đường tiêu hóa và hệ vi khuẩn đường ruột (Tedeschi & cs., 2021). Hầu hết các chế phẩm thay thế kháng sinh được bổ sung theo đường miệng nên sau khi biến đổi ở dạ dày, chúng tác động trực tiếp đến ruột non và chịu sự tác động của từng phần ruột non. Niêm mạc ruột non cũng là nơi tiếp xúc trực tiếp với các yếu tố được đưa vào cùng thức ăn, nước uống và có thể qua hệ hô hấp. Chính vì vậy, bên cạnh chức năng tiêu hóa và hấp thu, ruột đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch và trạng thái sức khỏe thần kinh của cơ thể thông qua trục não - dạ dày ruột - hệ vi sinh vật đường ruột (Sangild, 2001). Do đó, cấu trúc vi thể của biểu mô niêm mạc ruột non là yếu tố quan trọng quyết định ảnh hưởng đến những chức năng này.

Để phát triển sản phẩm thay thế kháng sinh cần tiến hành các nghiên cứu thực nghiệm *in vitro* và *in vivo*. Sản phẩm PremixHad (PH) của công ty Oishi VIJ Việt Nam đã có chứng nhận sử dụng (Đỗ Văn Hiếu & cs., 2019) nhưng đang tiếp tục được hoàn thiện. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá một số ảnh hưởng của PH gồm tính an toàn, ảnh hưởng đến thu nhận thức ăn, chuyển hóa thức ăn và tác động đến niêm mạc ruột của vật nuôi. Các chỉ số được đánh giá trên chuột nhắt trắng. Tác dụng của chế phẩm được so sánh với tác dụng của Doxycycline, một kháng sinh thuộc nhóm

tetracycline được dùng phổ biến trong chăn nuôi và đã được thử nghiệm trên nhiều loại chuột nhắt (Redelsperger & cs., 2016).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

PremixHad chỉ chứa các thành phần thảo dược sử dụng cho phòng và hỗ trợ điều trị các bệnh đường tiêu hóa cho gia súc, gia cầm. Theo hồ sơ, chế phẩm chứa tinh chất từ bột nghệ, bột atiso, bột diệp hạ châu và các chất mang. Doxycycline hyclate là kháng sinh nguyên liệu dạng bột màu vàng do Công ty Novartic cung cấp được sử dụng làm đối chứng.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Đánh giá độ an toàn của chế phẩm PH trên chuột Swiss albino.

- Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm PH đến tăng khối lượng, thu nhận thức ăn, hiệu quả tiêu hóa thông qua hệ số chuyển hóa thức ăn (feed conversion ratio - FCR).

- Xác định biến đổi cấu trúc vi thể ruột non của chuột thí nghiệm qua các đặc điểm về tính toàn vẹn của biểu mô lòng ruột, kích thước lông nhung (chiều rộng và chiều cao lông nhung).

- Tác dụng của PH đến các chỉ số trên được so sánh với tác dụng của Doxycycline, một kháng sinh thuộc nhóm tetracyclin và được dùng phổ biến

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm *in vivo* được thực hiện nhằm đánh giá tác động của chế phẩm sinh học qua các chỉ số an toàn và tác động được học (Pehlivanovic & cs., 2019). Một trăm chuột nhắt trắng (Swiss albino) cái 1 tháng tuổi khỏe mạnh, trọng lượng từ 30 đến 40g, được phân thành 5 nhóm thí nghiệm (20 con/nhóm). Nhóm đối chứng (ĐC) được nuôi bằng thức ăn cơ bản do Trung tâm Động vật thí nghiệm Cimade (Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp). Các nhóm được bổ sung chế phẩm PH vào thức ăn với hàm lượng 1,25%; 2,5% và 5,0% được ký hiệu

Đánh giá tác dụng của chế phẩm thảo dược Premixhad và Doxycycline đến tỉ lệ chuyển hóa thức ăn và kích thước lông nhung ruột non trên chuột nhắt trắng

tương ứng là PH 1,25; PH 2,5; PH 5,0. Nhóm 5 (nhóm KS) được cho ăn thức ăn cơ bản và cho uống nước pha kháng sinh Doxycycline với tỉ lệ 2 g/1.000ml (Redelsperger & cs., 2016). Tất cả chuột được nuôi trong lồng nuôi chuyên dụng và tự do uống nước được lọc theo cơ chế thẩm thấu ngược (reverse osmosis). Theo dõi và chăm sóc chuột được thực hiện theo quy trình thường quy áp dụng tại Trung tâm Đánh giá động vật thí nghiệm. Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Bộ Y tế.

Lượng thức ăn thu nhận được theo dõi hàng ngày và trong toàn thời gian thí nghiệm. Hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) được tính bằng lượng thức ăn thu nhận (g)/trọng lượng cơ thể tăng lên (g) (Balasubramania & cs., 2021).

2.3.2. Phương pháp đánh giá an toàn

Theo dõi và đánh giá an toàn dựa trên đánh giá trạng thái thể chất, trạng thái thần kinh và biểu hiện chỉ thị về phúc lợi động vật được thực hiện theo Hawkins & cs. (2011).

2.3.3. Phương pháp thu mẫu

Các bước mổ khám, kiểm tra bệnh tích đại thể và lấy mẫu được thực hiện theo Rasmussen & McInne (2014). Ngày kết thúc thí nghiệm, chuột được làm chết bằng gây sốc với CO₂ và mổ khám kiểm tra bệnh tích đại thể. Sau khi loại bỏ màng treo ruột, các đoạn ruột non gồm tá tràng, không tràng và hồi tràng được xác định. Mẫu từ các đoạn ruột của 6 chuột thuộc mỗi nhóm được cất và bảo quản trong formol trung tính 10%.

2.3.4. Phương pháp làm tiêu bản vi thể

Các mẫu ruột được xử lý theo quy trình tẩm đục khối paraffin, cắt tiêu bản (độ dày 3µm) theo tiết diện ngang của mẫu ruột, nhuộm bằng Hematoxylin - Eosin (Rasmussen & McInne, 2014). Hình thái vi thể của ruột được đánh giá trên kính hiển vi Kniss MBL-2000T (Olympus, Japan). Kích thước lông nhung ruột non ở độ phóng đại 100 lần được đo gồm chiều cao lông nhung và chiều rộng lông nhung. Các lông nhung trên 6 vi trường của mỗi tiêu bản được đo chiều cao và chiều rộng. Chiều cao được đo tính từ điểm cao nhất tại đỉnh lông nhung kéo xuống

đến đáy lông nhung. Chiều rộng được đo vuông góc với chiều cao tại trung điểm chiều cao (Liu & cs., 2018). Từ mỗi slide chọn 6 lông nhung dài nhất và thẳng nhất để đo kích thước (Liu & cs., 2018; Pereira & cs., 2018). Phần mềm Infinity Analysis (Olympus, Japan) được sử dụng cho các phép đo.

2.3.5. Phương pháp phân tích số liệu

Các số liệu thu được được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. So sánh có ý nghĩa được khẳng định bằng T-test với phần mềm GraphPad Prism.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá an toàn của chế phẩm trên chuột nhắt trắng

Sau 8 tuần của thí nghiệm, tất cả chuột vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường, không gầy, mất trọng và đỏ, hoạt động nhanh nhẹn, không có hiện tượng chuột chết. Tất cả chuột không có biểu hiện bất thường. Kết quả này cho thấy chế phẩm an toàn với động vật thí nghiệm.

3.2. Ảnh hưởng đến tăng trọng và hiệu quả chuyển hóa thức ăn

3.2.1. Kết quả theo dõi ảnh hưởng đến tăng trọng

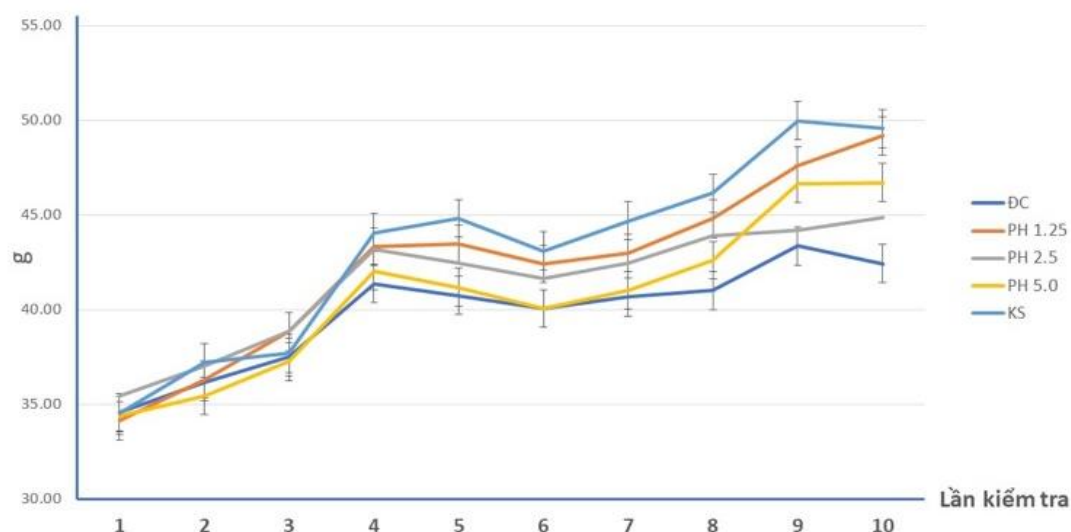
Kết quả theo dõi tăng trọng của chuột thí nghiệm (Hình 1) cho thấy các nhóm chuột đã bắt đầu có sự sai khác về khối lượng cơ thể sau hai tuần. Từ tuần 3 đến tuần 7, tất cả các nhóm được bổ sung chế phẩm hoặc bổ sung kháng sinh có khối lượng cơ thể cao hơn của nhóm đối chứng. Chênh lệch giữa nhóm ĐC và nhóm KS có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); không có sự sai khác giữa các nhóm bổ sung PH với nhóm KS. Đến cuối thí nghiệm, tất cả các nhóm được bổ sung PH hoặc Doxycycline đều có khối lượng cơ thể cao hơn chuột thuộc nhóm đối chứng ($P < 0,05$). Chuột được bổ sung PH với các thành phần thảo dược cũng tăng trọng cao hơn đối chứng. Như vậy, có thể thấy các thành phần trong chế phẩm có thể đã hỗ trợ cho quá trình tiêu hoá, chuyển hóa và hấp thu.

3.2.2. Ảnh hưởng đến lượng thức ăn thu nhận

Trong nghiên cứu này, lượng thức ăn thu nhận được của 5 nhóm chuột thí nghiệm được coi là một chỉ tiêu đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm (Bảng 1).

Kết quả theo dõi cho thấy, tuần đầu tiên, lượng thức ăn thu nhận trung bình của các nhóm chuột được bổ sung chế phẩm lần lượt là 6,82 g/con/ngày; 7,74 g/con/ngày và 7,64 g/con/ngày, cao hơn so với đối chứng (6,67 g/con/ngày) và nhóm được bổ sung kháng sinh (6,02 g/con/ngày). Điều này cho thấy thức ăn trộn chế phẩm ở các liều khác nhau không gây stress cho chuột. Dù sai khác giữa các nhóm chuột thí nghiệm chưa nhiều nhưng trong các

tuần sau đó, lượng thức ăn thu nhận của các nhóm được bổ sung chế phẩm và nhóm cho uống kháng sinh thường thấp hơn so với nhóm đối chứng. Có thể mùi hoặc vị của PH cũng như của KS đã ảnh hưởng đến thu nhận thức ăn trong thời gian đầu. Trung bình của 8 tuần, các nhóm PH 1,25; PH 2,5 nhóm KS thu nhận thức ăn ít hơn nhóm ĐC. Tuy nhiên, thu nhận trung bình của nhóm PH 5,0 cao hơn so với nhóm đối chứng. Do đó, có thể thấy, mặc dù chuột nhất là những động vật có khả năng nhạy cảm cao với thay đổi về mùi và vị (Blount & Coppola, 2020), PH và Doxycycline đều không ảnh hưởng đến thu nhận thức ăn của chuột ở liều thử nghiệm sau giai đoạn thích nghi ban đầu.



Ghi chú: Lần 1: Sau nuôi thích nghi 1 tuần, mỗi tuần cân kiểm tra 1 lần.

Hình 1. Khối lượng cơ thể chuột thí nghiệm

Bảng 1. Lượng thu nhận thức ăn (g/con/ngày)

Tuần	ĐC	PH 1,25	PH 2,5	PH 5,0	KS (Doxycycline)
1	6,67	6,82	7,74	7,64	6,02
2	7,21	6,44	6,63	7,17	7,03
3	5,82	5,25	5,2	6,42	5,05
4	4,74	4,56	4,5	5,07	4,38
5	4,84	4,62	4,66	4,61	4,62
6	5,00	4,65	4,72	4,59	4,80
7	5,80	5,59	5,75	5,09	5,45
8	5,32	5,95	5,98	5,51	5,75
Trung bình	5,68	4,97	5,02	5,76	5,39

Đánh giá tác dụng của chế phẩm thảo dược Premixhad và Doxycycline đến tỉ lệ chuyển hóa thức ăn và kích thước lông nhung ruột non trên chuột nhắt trắng

3.2.3. Ảnh hưởng đến hệ số chuyển hóa thức ăn

Kết quả đánh giá FCR của chuột thí nghiệm (Bảng 2) cho thấy sau 8 tuần theo dõi, chỉ số FCR của nhóm kháng sinh thấp nhất (22,57), tiếp theo là nhóm sử dụng PH 1,25, (23,45); nhóm PH 5,0 (29,17), PH 2,5 (37,86) và cao nhất là FCR của nhóm đối chứng (41,52). Như vậy, bổ sung chế phẩm đã làm giảm hệ số chuyển hóa thức ăn. Mức độ cải thiện hệ số FCR của PH gần tương đương với của Doxycycline. Như vậy, khi bổ sung chế phẩm PH, cũng như Doxycycline, có tác dụng giúp tăng hiệu quả sử dụng thức ăn.

FCR là mức độ tiêu tốn thức ăn cho một đơn vị sản phẩm (Chamber & cs., 1984). FCR có vai trò quan trọng quyết định hiệu quả kinh tế. Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm PH đến FCR của chuột trong thí nghiệm cũng nhắm tới mục đích này.

Các tài liệu nghiên cứu cho thấy bổ sung Curcumin (một hoạt chất có trong tinh bột nghệ) theo đường miệng cho chuột thí nghiệm và nhận thấy chất này có thể làm giảm các biểu hiện lâm sàng của tiêu chảy thực nghiệm (Kumar & cs., 2019). Tác động làm giảm nhu động ruột của Curcumin do thông qua ảnh hưởng đến khả năng đối kháng Ca^{2+} và ức chế tiết prostaglandin, ức chế trạng thái kích thích và làm chậm quá trình chuyển chất chứa trong ruột, góp phần làm tăng hiệu quả tiêu hóa. Như vậy, bổ sung chế phẩm PH chứa Curcumin (trong tinh chất bột nghệ) cũng có thể mang lại những tác động tích cực này. Ghosh & cs. (2014) cũng cho thấy Curcumin cải thiện chức năng phòng vệ của lớp biểu mô và làm giảm tính thấm của tế bào. Chất này cũng có tác dụng bảo vệ niêm mạc kết tràng (Martnezi & cs., 2017).

Ngoài Curcumin, Diệp hạ châu cũng có khả năng giảm co thắt và kháng viêm, từ đó có tác dụng tốt trong chuyển hóa.

Doxycycline là thành phần của nhiều tên thuốc thương mại dùng trong chăn nuôi hiện nay. Nhiều nhà cung cấp khuyến cáo bổ sung thuốc này vào thức ăn hay nước uống nhằm mục đích phòng bệnh đường hô hấp và bệnh đường tiêu hóa do nhiều loại vi khuẩn. Đã có rất nhiều nghiên cứu chứng minh những tác dụng đó trên người và trên động vật. Wang & cs. (2017) thí nghiệm trên mô hình chuột db/db, một dòng chuột được sử dụng trong nghiên cứu bệnh đái tháo đường, đã chứng minh Doxycycline ở liều thấp có khả năng kháng viêm, làm biến đổi thông số đường huyết và mỡ huyết dẫn đến tác dụng tích cực trong chuyển hóa. Tuy nhiên, nghiên cứu của Schulz & cs. (2011) trên chó được điều trị bằng Doxycycline cho thấy thuốc này gây ra các ảnh hưởng phụ gồm bỏ ăn hoặc chán ăn, một tỉ lệ thấp có biểu hiện tiêu chảy. Trong nghiên cứu này, Doxycycline không gây ra biểu hiện tiêu chảy của chuột.

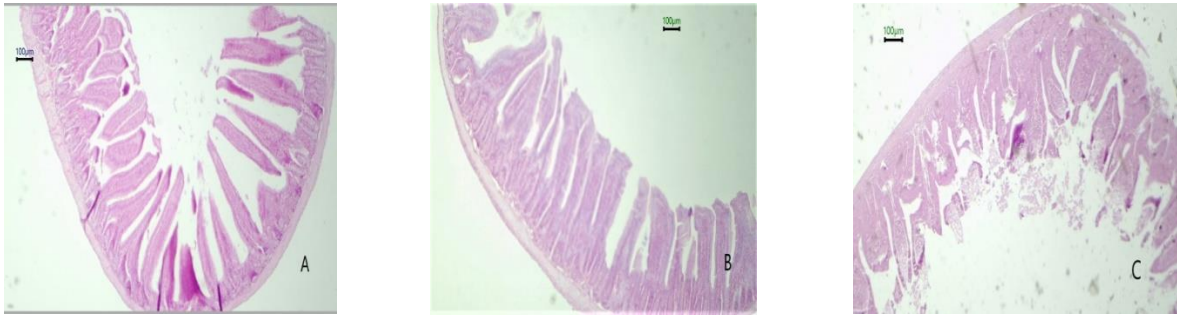
3.3. Hình thái vi thể ruột non chuột thí nghiệm

Thành ruột non của chuột không có hoặc rất hiếm khi tạo các gấp nếp vào trong lòng ruột. Các lông nhung nhô nổi trực tiếp với lớp đệm. Đa số lông nhung biểu mô ruột non của chuột ở các nhóm thí nghiệm đều có phần đỉnh nguyên vẹn, khe giữa các lông nhung rõ ràng (Hình 2). Như vậy, niêm mạc ruột non của chuột thí nghiệm ở trạng thái tốt, đảm bảo cho quá trình tiêu hóa thức ăn, hấp thụ dinh dưỡng và chức năng miễn dịch của ruột. Đây cũng chính là một trong những yếu tố quan trọng đảm bảo cho chuột khỏe mạnh, thu nhận thức ăn và sinh trưởng tốt.

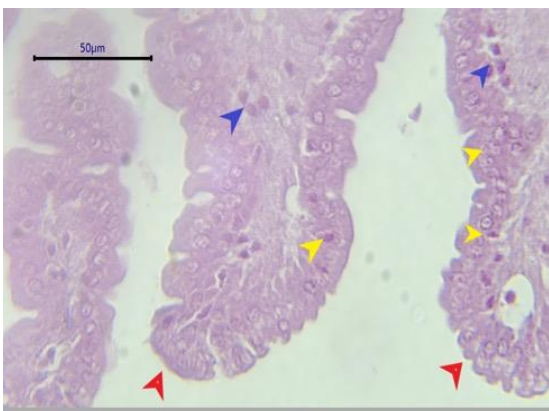
Bảng 2. Ảnh hưởng của chế phẩm đến hệ số chuyển hóa thức ăn của chuột thí nghiệm

Chỉ tiêu	ĐC	PH 1,25	PH 2,5	PH 5,0	KS
Lượng thức ăn (g/con/ngày)	5,68	4,97	5,02	5,76	5,39
Tăng khối lượng (g/con/ngày)	0,14	0,23	0,15	0,20	0,24
FCR	41,52 ^a	23,45 ^a	37,86 ^a	29,17 ^a	22,57 ^a

Ghi chú: Trong cùng hàng, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

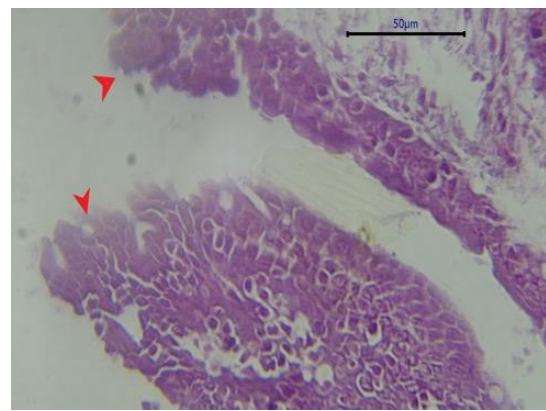


Hình 2. Ảnh đại diện cấu trúc thành ruột non của chuột thí nghiệm: Tá tràng chuột nhóm PH 1,25 (A); không tràng chuột nhóm PH 2,5 (B) và hồi tràng chuột nhóm ĐC (C)



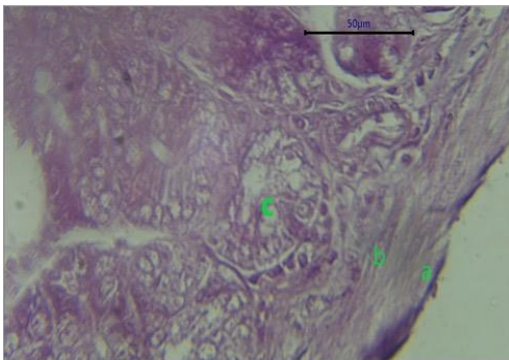
Ghi chú: Các lông nhung hình ngón tay có đỉnh rõ (đầu mũi tên đỏ); các tế bào biểu mô ruột có nhân ở đáy (đầu mũi tên vàng); trong lông nhung có các lympho (đầu mũi tên xanh)

Hình 3. Không tràng của chuột nhóm PH 2,5



Ghi chú: Một số lông nhung biến đổi hình thái, đặc biệt là phần đỉnh lông nhung (đầu mũi tên đỏ)

Hình 4. Không tràng của chuột nhóm ĐC



Ghi chú: a - lớp cơ dọc; b - lớp cơ vòng; c - lớp đệm.

Hình 5. Không tràng chuột nhóm PH 2,5



Ghi chú: Từ a đến f tương ứng với các lớp áo ngoài; cơ dọc; cơ vòng; hạ niêm mạc; cơ niêm; đệm. Mũi tên chỉ đỉnh lông nhung thuộc lớp biểu mô niêm mạc.

Hình 6. Hồi tràng của chuột nhóm PH 1,25

Đánh giá tác dụng của chế phẩm thảo dược Premixhad và Doxycycline đến tỉ lệ chuyển hóa thức ăn và kích thước lông nhung ruột non trên chuột nhắt trắng

Tá tràng chuột có lớp áo cơ mỏng. Lớp hạ niêm mạc mỏng; lớp cơ niêm nằm giữa lớp hạ niêm mạc và lớp đệm không rõ. Lớp đệm có các tuyến ruột. Lớp biểu mô niêm mạc có các lông nhung. Lông nhung có kích thước không đều nhau; khoảng cách giữa các lông nhung không đều; chiều rộng khe lông nhung cũng khác nhau (Hình 3). Không tràng của chuột có đặc điểm khác biệt là lông nhung đồng đều cả về chiều cao, chiều rộng và khoảng cách giữa các lông nhung (Hình 4 & 5).

Các lông nhung có hình dạng khác nhau. Khoảng cách giữa các lông nhung không đều (Hình 6). Như vậy, đặc điểm điển hình cấu tạo vi thể ruột non của chuột trong thí nghiệm này khác nhau ở các đoạn ruột nhưng ở trạng thái bình thường như mô tả của Arlin & Renee (2017).

Đánh giá hình thái vi thể cũng cho thấy không có sự khác biệt đặc điểm biểu mô niêm mạc của chuột thuộc 4 nhóm trong nghiên cứu này.

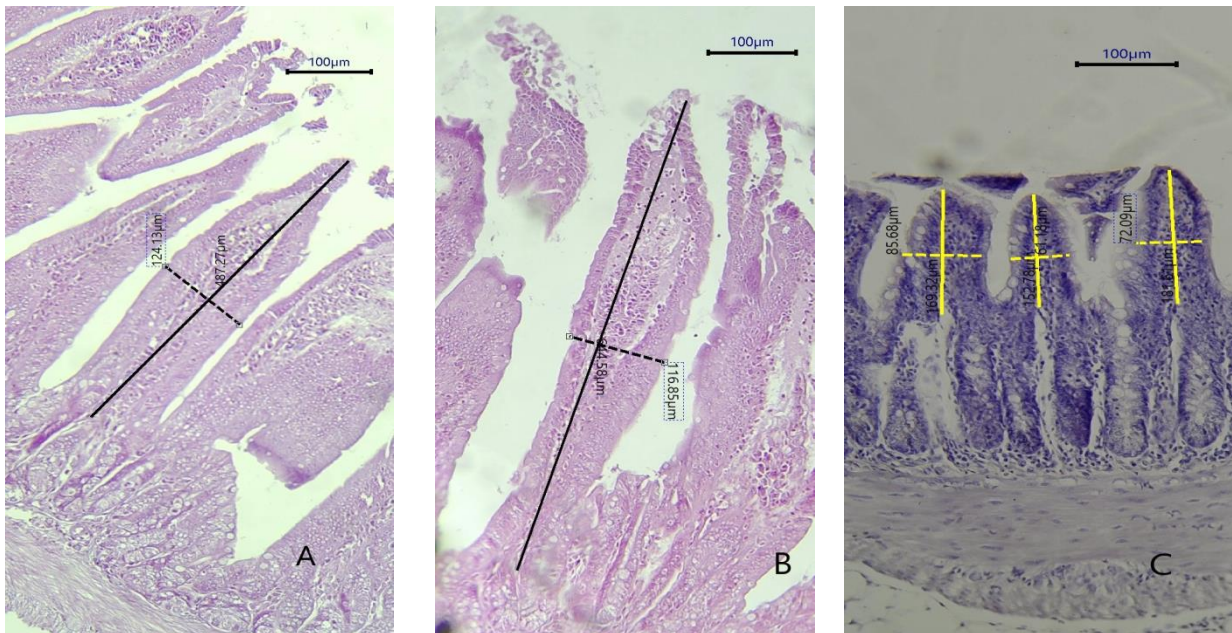
3.3.1. Kích thước lông nhung tá tràng

Các kích thước của lông nhung được đo dưới độ phóng đại 100 lần (Hình 7). Kết quả (Hình 8) cho thấy chiều cao lông nhung tá tràng của

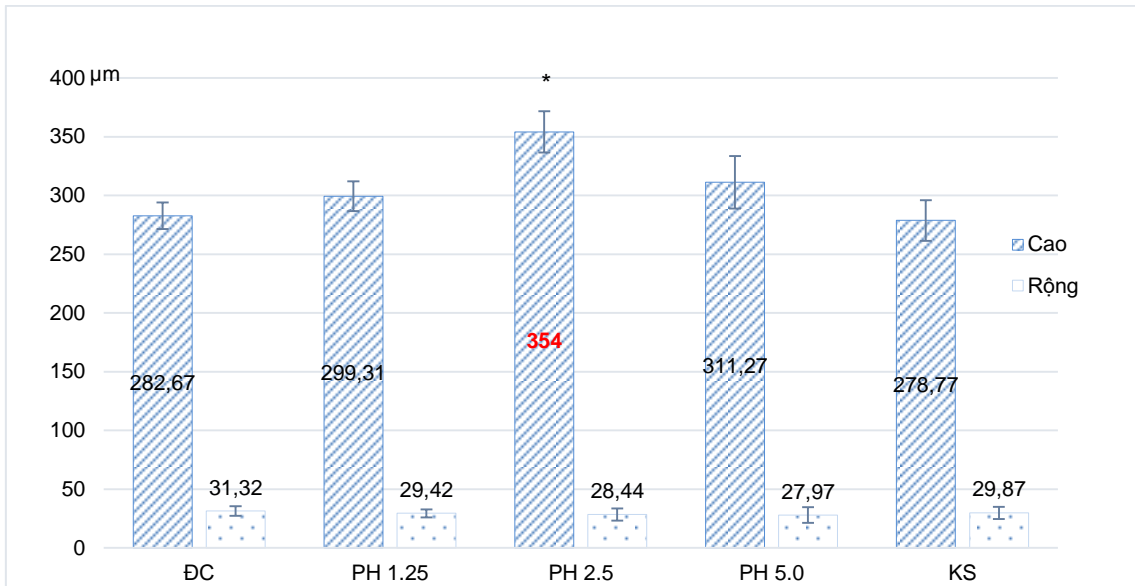
chuột nhóm PH 2,5 là $354,12 \pm 17,5\mu\text{m}$, cao hơn của các nhóm khác ($P < 0,05$). Tỉ lệ tăng lần lượt 25,27% và 27,02% so với của nhóm đối chứng và nhóm được bổ sung kháng sinh. Mức độ tăng thấp hơn so với của hai nhóm PH 1,25 và PH 5,0. Không có sự sai khác về chiều rộng lông nhung tá tràng giữa các nhóm. Tỉ lệ giữa chiều cao và chiều rộng lông nhung của tá tràng tăng ở chuột thuộc nhóm PH 2,5 so với nhóm ĐC và nhóm được bổ sung kháng sinh.

3.3.2. Kích thước lông nhung không tràng

Ở biểu mô không tràng, cả chiều cao và chiều rộng lông nhung của nhóm PH 5,0 đạt cao nhất. Chiều cao lông nhung của nhóm này là $469,65 \pm 15,55\mu\text{m}$, cao hơn của nhóm đối chứng; nhóm PH 1,25; PH 2,5 và nhóm bổ sung Doxycycline ($P < 0,05$) (tăng 27,15% so với nhóm đối chứng; 58% so với nhóm bổ sung kháng sinh). So sánh với các nhóm PH 1,25 và PH 2,5, tỉ lệ tăng tương ứng là 17% và 18%. Chiều rộng lông nhung không tràng của nhóm được bổ sung chế phẩm PremixHad tỉ lệ 5% tăng lần lượt 32%; 44%; 37% và 26% so với các nhóm đối chứng, nhóm bổ sung kháng sinh, nhóm PH 1,25 và nhóm PH 2,5.

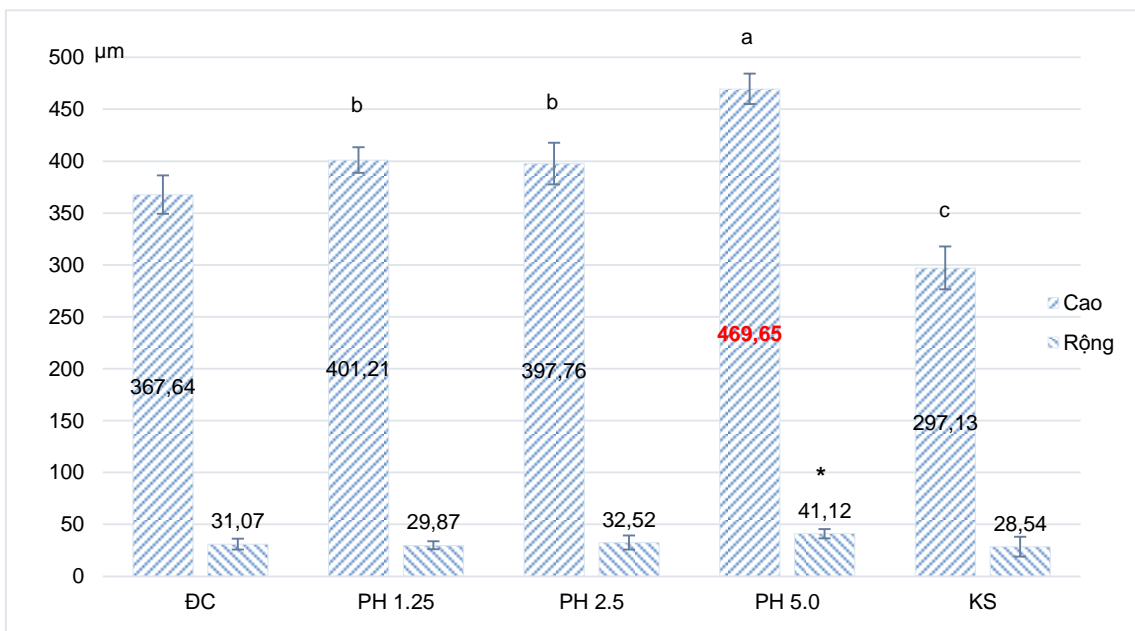


Hình 7. Đo chiều cao (đường nét liền) và chiều rộng (đường nét đứt) của lông nhung tá tràng (A), không tràng (B) và hồi tràng (C)



Ghi chú: Dấu * chỉ sai khác có ý nghĩa với các giá trị tương ứng của các nhóm còn lại ($P < 0,05$).

Hình 8. Chiều cao và chiều rộng lông nhung biểu mô tá tràng



Ghi chú” a; b; c; *: Sai khác có ý nghĩa với các giá trị tương ứng của các nhóm còn lại ($P < 0,05$).

Hình 9. Chiều cao và chiều rộng lông nhung biểu mô không tràng

Ngược lại với tác động của PH, Doxycycline làm giảm chiều cao lông nhung không tràng của chuột thí nghiệm. Tỷ lệ giảm chiều rộng lông nhung tá tràng do tác động của kháng sinh so với đối chứng là 19,18%. Nếu so sánh tỷ lệ giữa chiều cao và chiều rộng lông nhung, nhóm được bổ sung PH 1,25 có giá trị cao nhất (Hình 9).

3.3.3. Kích thước lông nhung hồi tràng

Tại hồi tràng, bổ sung PH với các tỷ lệ 1,25%; 2,5% và 5% không làm biến đổi chiều cao và chiều rộng lông nhung so với nhóm đối chứng. Trong khi đó, chuột được bổ sung Doxycycline có chiều cao lông nhung hồi tràng là $272,67 \pm 19,7\mu\text{m}$, giảm 8,87% so với của nhóm

đối chứng. Chiều rộng lông nhung hồi tràng cũng giảm 21,72% so với đối chứng do ảnh hưởng của Doxycycline (Hình 10).

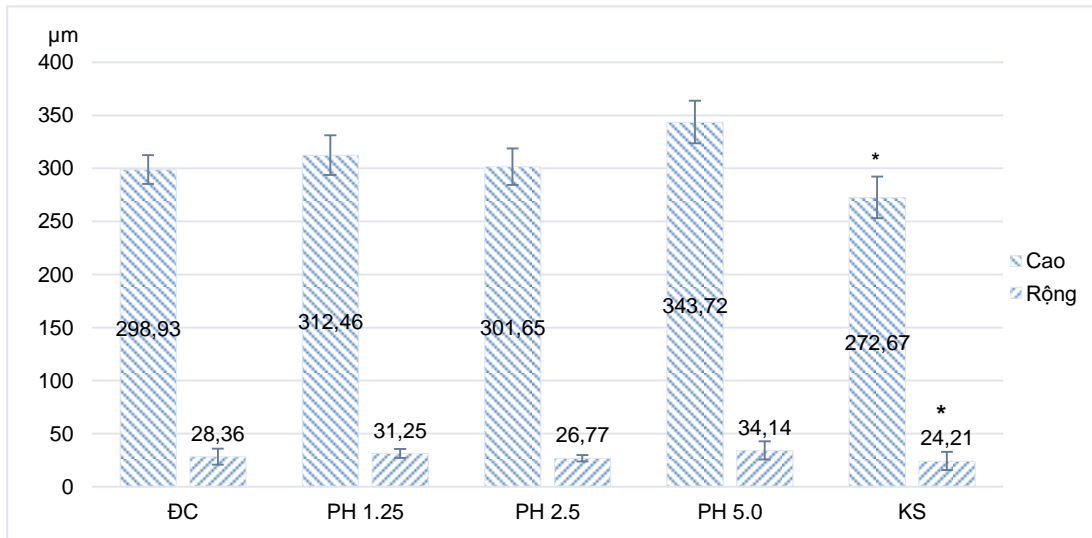
Theo Xing & cs. (2017), Doxycycline làm gián đoạn quá trình cân bằng protein và sinh lý của ty thể, ức chế tăng sinh của nhiều loại tế bào và gây ra quá trình chết theo chương trình (apoptosis). Quá trình thay thế các tế bào biểu mô ruột cũng bao gồm chết tế bào theo chương trình nên có thể Doxycycline đã gây tác động tiêu cực lên biểu mô ruột chuột thí nghiệm theo cơ chế này.

Theo Awad & cs. (2009), nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy khả năng thu nhận thức ăn chịu ảnh hưởng của chiều cao và độ dày của lông nhung, nhiều chế phẩm thay thế kháng sinh làm tăng chiều cao lông nhung biểu mô niêm mạc ruột. Ngoài ra chiều cao lông nhung còn liên quan tới độc tố (Awad & cs., 2006). Mặt khác, Chaaban & cs. (2022) đã chứng minh kháng sinh đưa vào theo đường ruột làm thay đổi sự phát triển bình thường của niêm mạc ruột, giảm chức năng niêm mạc ruột và tăng nguy cơ mắc viêm ruột hoạt tử ở chuột

Chiều cao và chiều rộng lông nhung là hai chỉ số chính biểu hiện tính toàn vẹn của biểu mô niêm mạc ruột và diện tích bề mặt - yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp thu chất dinh dưỡng. Đây là một trong hai cơ chế chính làm giảm tỉ lệ chuyển hóa thức ăn, từ đó giảm chi phí chăn nuôi. PH là sản phẩm bổ sung trong thức ăn,

chăn nuôi đã được phát triển và sử dụng vài năm trước (Đỗ Văn Hiếu & cs., 2019). Thử nghiệm tác dụng của chế phẩm đã được nghiên cứu trên lợn giai đoạn 60 đến 142 ngày tuổi. Kết quả cho thấy với liều 0,03% bổ sung trong thức ăn, PH đã làm giảm FCR, giảm các chỉ số liên quan đến tiêu chảy của lợn và giảm chi phí thuốc thú y. Tuy nhiên, thử nghiệm còn trong quy mô hạn chế. Hơn nữa, nếu cơ chế tác dụng của PH chưa được làm rõ, việc phối hợp PH với các chế phẩm khác sẽ gặp khó khăn. Chính vì vậy, trong quá trình hoàn thiện sản phẩm, các cơ chế tác động của PH sẽ được từng bước chứng minh. Nghiên cứu tác động của PH đến biểu mô ruột non là một trong các thí nghiệm nhằm đạt được mục tiêu này.

Tuy nhiên, từ các nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng kết hợp với các dữ liệu tổng hợp, Rahman & cs. (2022) cũng cho rằng các chế phẩm không phải kháng sinh vẫn khó thay thế hoàn toàn kháng sinh cho mục tiêu kích thích tăng trọng trong chăn nuôi lợn và gà. Kết hợp các chế phẩm với kháng sinh có thể mang lại hiệu quả tốt hơn mặc dù vẫn còn nhiều vấn đề cần được làm rõ. Hơn nữa, các câu hỏi về dược lý học của nhiều hợp chất từ thực vật vẫn chưa được trả lời. Chính vì vậy, các thử nghiệm khác làm rõ cơ chế tác dụng của PH sẽ bổ sung thêm dữ liệu trong hồ sơ chứng minh hiệu quả của sử dụng PH trong chăn nuôi.



Ghi chú: *: Sai khác có ý nghĩa với các giá trị tương ứng của các nhóm còn lại ($P < 0,05$).

Hình 10. Chiều cao và chiều rộng lông nhung biểu mô hồi tràng

4. KẾT LUẬN

Chế phẩm PH ở các liều thí nghiệm an toàn với chuột nhất trắng. Liều bổ sung 1,25% PH cải thiện chỉ số tăng trọng của chuột. Chế phẩm PH và Doxycycline làm tăng hiệu quả sử dụng thức ăn thể hiện qua tác động làm giảm tỉ lệ chuyển hóa thức ăn (FCR).

PremixHad tác động tích cực đến kích thước lông nhưng biểu mô tá tràng và không tràng nhưng không ảnh hưởng đến kích thước lông nhưng hồi tràng.

Doxycycline không ảnh hưởng đến kích thước lông nhưng tá tràng và không tràng nhưng làm giảm kích thước lông nhưng hồi tràng của chuột thí nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ với đề tài Mã số 01.2020M004.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arlin B.R. & Renee Z.D. (2017). Hepatobiliary System. in Comparative Anatomy and Histology (Second Edition). Academic Press.
- Awad W.A., Böhm J., Razzazi-Fazeli E., Ghareeb K. & Zentek J. (2006). Effect of Addition of a Probiotic Microorganism to Broiler Diets Contaminated with Deoxynivalenol on Performance and Histological Alterations of Intestinal Villi of Broiler Chickens. *Poultry Science*. 85(6): 974-979.
- Awad W.A., Ghareeb K., Abdel-Raheem S. & Böhm J. (2008). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*. 88(1):49-56. doi: 10.3382/ps.2008-00244.
- Balasubramania R., ShyamSundar N., Narayanan K.R. & Soranam R. (2021). Impact of Leuconostoc Pseudomesenteroides on the Growth Performance of Swiss Albino Mice Administered with Red Powder N (Bakery dye). *Journal of Probiotics & Health*. 9: 108.
- Blount A. & Coppola D.M. (2020). The effect of odor enrichment on olfactory acuity: Olfactometric testing in mice using two mirror-molecular pairs. *PLoS One*. 15(7): e0233250
- Dibner J.J. & Richards J.D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science*. 84: 634-643. doi: 10.1093/ps/84.4.634.
- Chaaban H., Patel M.M., Burge K., Eckert J.V., Lupu C., Keshari R.S., Silasi R., Regmi G., Trammell M., Dyer D., McElroy S.J. & Lupu F. (2022). Antibiotic Exposure Alters Intestinal Development and Increases Susceptibility to Necrotizing Enterocolitis: A Mechanistic Study. *Microorganisms*. 10: 519. doi.org/10.3390/microorganisms10030519.
- Đỗ Văn Hiếu, Phương Thiện Thương & Trần Danh Việt (2019). Ảnh hưởng của việc sử dụng chế phẩm thảo dược Premixhad trong khẩu phần ăn đến một số chỉ tiêu kinh tế, kỹ thuật của lợn thịt. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi*. 100: 51-59.
- Dosh R.H., Jordan-Mahy N., Sammon C. & Maitre C.L. (2019). Interleukin 1 is a key driver of inflammatory bowel disease demonstration in a murine IL-1Ra knockout model. *Oncotarget*. 10 (37): 3559-3575.
- Ghosh S.S., Bie J., Wang J. & Ghosh S. (2014) Oral supplementation with non-absorbable antibiotics or curcumin attenuates western diet-induced atherosclerosis and glucose intolerance in LDLR^{-/-} mice-role of intestinal permeability and macrophage activation. *PLoS One*. 9(9): e108577. doi: 10.1371/journal.pone.0108577.
- Hawkins P., Morton B.D., Burman O., Dennison N., Honess P., Jennings M., Lane S., Middleton V., Roughan J.V., Wells S. & Westwood K. (2011). A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: eleventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 45: 1-13.
- Kumar P. & Jain C. (2013). Comparative study of alpha amylase inhibitory activity of flavonoids of Vitex negundo Linn. and Andrographis paniculata Nees. *International Journal of Green Pharmacy*. doi: 10.4103/0973-8258.111602. 25-28.
- Liu Y., Choe J., Kim S., Kim B., Campbell J.M., Polo J., Crenshaw J.D., Pettigrew J.E. & Song M. (2018). Dietary spray-dried plasma improves intestinal morphology of mated female mice under stress condition. *Journal of Animal Science and Technology*. 60: 10.
- Markowiak P. & Śliżewska K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens*. 10: 21. doi: 10.1186/s13099-018-0250-0.
- Martnez C.A.R., Kadri C.J., Kanno D.T., Júnior A.J.T.A., Coy C.S.R & Pereira R.A. (2017). Claudin-3 and occludin content in the glands of colonic mucosa devoid from fecal stream. *Journal of Molecular Histology*. 46: 183-194.

Đánh giá tác dụng của chế phẩm thảo dược Premixhad và Doxycycline đến tỉ lệ chuyển hóa thức ăn và kích thước lông nhung ruột non trên chuột nhắt trắng

- McEwen S.A. & Fedorka-Cray P.J. (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases*. 34(Suppl 3): S93-S106. doi: 10.1086/340246.
- Pehlivanovic B., Dina F., Emina A., Ziga Smajic N. & Fahir B. (2019). Animal models in modern biomedical research. *Eur J Pharm Med Res*. 6(7): 35-8.
- Pereira e Silva A. Soares J.R.A., Mattos E.B.A., Josetti C., Guimarães I.M., Campos S.M.N. & Teixeir G.A.P.B. (2018). A histomorphometric classification system for normal and inflamed mouse duodenum - Quali-quantitative approach. *International Journal of Experimental Pathology*. pp. 1-10
- Rahman Md R.T., Fliss I. & Biron E. (2022) Insights in the Development and Uses of Alternatives to Antibiotic Growth Promoters in Poultry and Swine Production. *Antibiotics (Basel)*. 11(6): 766.
- Rasmussen L. & McInnes E. (2014). Chapter one: Necropsy of the mouse. *A Practical Guide to the Histology of the Mouse*, First Edition. John Wiley & Sons, Ltd. Published by John Wiley & Sons, Ltd. Companion.
- Redelsperger I.M., Taldone T., Riedel E.R., Lephherd M.L., Lipman N.S. & Wolf F.R. (2016). Stability of Doxycycline in Feed and Water and Minimal Effective Doses in Tetracycline Inducible System. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 55(4): 467-474.
- Sangild P.T. (2001). Transitions in the life of the gut and brain. In: J.E. Lindberg, B. Ogle (eds), *Digestive Physiology of Pigs*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 3- 17.
- Scott H.M., Acuff G., Bergeron G., Bourassa M.W., Gill J., Graham D.W., Kahn L.H., Morley P.S., Salois M.J. & Simjee S. (2019). Critically important antibiotics: Criteria and approaches for measuring and reducing their use in food animal agriculture. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 1441: 8-16.
- Schulz B.S., Hupfauer S., Ammer H., Sauter-Louis C. & Hartmann K. (2011) Suspected side effects of Doxycycline use in dogs - a retrospective study of 386 cases. *Veterinary Research* 169(9): 229. doi: 10.1136/vr.d4344.
- Tedeschi L.O., Mui J.P., Naumann H.D., Norris A.B., Ramirez-Restrepo C.A. & Mertens-Talcott S.U. (2021). Nutritional Aspects of Ecologically Relevant Phytochemicals in Ruminant Production. *Frontiers in Veterinary Science*. Vol. 8. doi.org/10.3389/fvets.2021.628445
- Xing Y., Zhu Liqi, Lin Jian, Qinghua Y. & Qian T. (2017). Doxycycline Induces Mitophagy and Suppresses Production of Interferon- α in IPEC-J2 Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 7(21): 1-11.
- Wang N., Tian X., Chen Y., Tan H.Y., Xie P.J., Chen S.J. 1, Fu Y.C., Chen Y.X, Xu W.C. & Wei C.J. (2017). Low dose Doxycycline decreases systemic inflammation and improves glycemic control, lipid profiles, and islet morphology and function in db/db mice. *Scientific Report*. 7: 14707.