

6-1-2000

## PATHOLOGICAL CHANGES AND FAECAL EXCRETION LEVELS SEEN IN BROILER CHICKS AFTER A SINGLE ORAL DOSE OF AFLATOXIN B1

Kanarat Harintharanon

Achariya Sailasuta

Anudep Rungsipipat

Anong Bintvihok

Jiroj Sasipreyajan

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### Recommended Citation

Harintharanon, Kanarat; Sailasuta, Achariya; Rungsipipat, Anudep; Bintvihok, Anong; and Sasipreyajan, Jiroj (2000) "PATHOLOGICAL CHANGES AND FAECAL EXCRETION LEVELS SEEN IN BROILER CHICKS AFTER A SINGLE ORAL DOSE OF AFLATOXIN B1," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 30: Iss. 2, Article 2.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol30/iss2/2>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทางอุจจาระของ อะฟลาทอกซินบี 1 ภายหลังให้ลูกไก่กระทงกินครั้งเดียว

กณารัตน์ हरินทรานนท์\* อัจฉริยา ไสละสูต\*\* อนุเทพ รังสีพิพัฒน์\*\*  
อนงค์ บิณฑวิหค\*\*\* จิโรจ ศติปริยจันทร์\*\*\*\*

## Abstract

Kanarat Harintharanon\* Achariya Sailasuta\*\* Anudep Rungsipipat\*\* Anong Bintvihok\*\*\*  
Jiroj Sasipreyajan\*\*\*\*

## PATHOLOGICAL CHANGES AND FAECAL EXCRETION LEVELS SEEN IN BROILER CHICKS AFTER A SINGLE ORAL DOSE OF AFLATOXIN B1

Three hundred Shaver starbo, broiler, 5-day-old chicks were divided into 3 groups and given in group 1 sterile water, group 2 olive oil and group 3 aflatoxin B1. The effect of aflatoxin B1 (5mg/kg) after the single oral dose was studied, observing clinical signs, blood chemistry, pathology, and excretion levels in faeces over a period of 10 days. Chicks in group 3 showed depression and decreased feed intake. Blood chemistry, especially blood urea nitrogen (BUN) was significantly different between the three groups although still in the normal range. Gross pathology revealed petechial hemorrhages developing on day 2 (87.5 %) and pale yellowish in color between days 3-9 (87.5-62.5%). The relative weight of the liver in group 3 was not significantly increased ( $p>0.05$ ) in comparison with groups 1 and 2. The kidneys were swollen and pale yellowish in color on days 2-3 (87.5-75%). Erosion and ulceration of the gizzard mucosa was seen between days 2-8 (87.5-62.5%). Histopathology showed centrilobular to panlobular, fatty degeneration, in moderate to severe degree and hepatic cells necrosis with bile duct proliferation between days 1-4. Hepatocytes showed regenerative changes with a mild degree of panlobular fatty degeneration between days 5-6. Hepatic cell cords were distorted, causing atrophy of the bile duct epithelium with fibroblastic scarring of hepatic tissue between days 7-8. Hepatocytes were completely regenerated by days 9-10. The Kidneys showed a mild to moderate degree of tubulonephrosis on days 2-3. The excretion of aflatoxin B1 in faeces was at its highest on day 1, decreased remarkably by day 3 and continuing to decreased until the end of the observations.

**Key words :** Excretion, pathology, broiler chicks, aflatoxin B1

- \* Poultry Division Section, Veterinary Service Division, Department of Livestock Development, Bangkok 10400  
\*\* Department of Veterinary Pathology,\*\*\* Department of Veterinary Pharmacology,\*\*\*\* Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

---

\* กลุ่มงานโรคสัตว์ปีก กองสัตวรักษ์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ 10400  
\* ภาควิชาพยาธิวิทยา \*\*\* ภาควิชาเภสัชวิทยา \*\*\*\* ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

## บทคัดย่อ

ถาวรรัตน์ หรินทรานนท์\* อัจฉริยา ไสละสูต\*\* อนุเทพ รังสีพิพัฒน\*\* อนงค์ บิณฑวิหค\*\*\*  
จิโรจ ศศิปริยจันทร์\*\*\*\*

### การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทางอุจจาระของอะฟลาท็อกซินบี 1 ภายหลังให้ลูกไก่กระทงกินครั้งเดียว

ลูกไก่กระทงพันธุ์เซฟเวอร์ สตาร์โบ อายุ 5 วัน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 100 ตัว กลุ่มที่ 1 ป้อนน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 ป้อนน้ำมันมะกอก เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 3 ป้อน อะฟลาท็อกซินบี 1 ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก เคมีเลือด พยาธิวิทยาและศึกษาปริมาณการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระ เป็นระยะเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่าลูกไก่กลุ่มที่ 3 ในวันที่ 2 มีอาการซึม กินอาหารลดลง ค่าเคมีเลือด โดยเฉพาะ ค่า BUN มีค่าแตกต่างในแต่ละกลุ่ม แต่ยังคงอยู่ในระดับปกติ ผลทางพยาธิวิทยา ในวันที่ 2 ตับมีจุดเลือดออก (87.5%) และในวันที่ 3-9 ตับมีสีเหลืองซีด (87.5-62.5%) ในวันที่ 2 และ 3 น้ำหนักตัวสัมพัทธ์ไม่เพิ่มขึ้น ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในวันที่ 2 และ 3 พบไตมีลักษณะบวมและสีค่อนข้างซีด (87.5-75%) ในวันที่ 2-8 กระเพาะบดมีแผลลอกหลุด (87.5-62.5%) ผลจุลพยาธิวิทยา ในวันที่ 1-4 เซลล์ตับเริ่มมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกกรอบเส้นเลือดดำกลางแล้วแผ่กระจายในระดับปานกลางถึงรุนแรงเซลล์ตับตาย ร่วมกับมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี ในวันที่ 5-6 เซลล์ตับเริ่มมีการเรียงตัวกลับสู่สภาพเดิม แต่ยังคงพบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกในระดับอ่อน ในวันที่ 7-8 เซลล์ตับเรียงตัวเป็นกลุ่มเบียดเซลล์เยื่อท่อน้ำดีให้เล็กลง และพบเซลล์ไฟโบรบลาสที่เจริญล้อมรอบเซลล์ตับ ในวันที่ 9-10 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นแถวคล้ายสภาพปกติ ใต้ในวันที่ 2-3 พบการเสื่อมของเซลล์เยื่อท่อน้ำดีอยู่ในระดับอ่อนถึงปานกลาง การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระ พบว่ามีการขับออกสูงสุดในวันที่ 1 และลดลงตามลำดับ

คำสำคัญ : การขับออก พยาธิวิทยา ลูกไก่กระทง อะฟลาท็อกซินบี 1

### บทนำ

อะฟลาท็อกซิน (aflatoxin) เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์เคมีพวกบิส-ฟูราโนคิวมาริน (bis-furanocoumarin) ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* ผลิตอะฟลาท็อกซินบี 1 และบี 2 และ *Aspergillus parasiticus* ผลิตอะฟลาท็อกซินบี 1 บี 2 จี 1 และจี 2 (Ellis et al., 1991) ในอาหารหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าวฟ่าง และมันสำปะหลัง เป็นต้น จากการ

เปรียบเทียบความรุนแรงของสารพิษจากเชื้อราของ องค์การอนามัยโลก อะฟลาท็อกซินจัดอยู่ในระดับรุนแรงที่สุด โดยเฉพาะชนิดบี 1 จะก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์และเป็นสาเหตุของมะเร็งตับ (ศุภกิจ, 2540)

อะฟลาท็อกซินบี 1 เป็นสารพิษจากเชื้อราซึ่งตรวจพบจากประเทศอังกฤษ ในปี 1960 ซึ่งเป็นสาเหตุจากการตายของไก่วงที่ไซ่กาคั่วลิสงนำเข้าจากประเทศบราซิลผสมอาหาร และเรียกโรคนี้นว่า Turkey x disease

พบว่าไก่วงตายเฉียบพลัน มีเลือดออกที่กล้ามเนื้อและอวัยวะภายใน ตับโต การขยายและเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี Lancaster et al. (1980) รายงาน โรคดังกล่าวเกิดจากการกินอาหารที่มีสารพิษจากเชื้อราปนเปื้อนและเรียกสารพิษนี้ว่าสารพิษอะฟลา Aspin และ Canaghan (1961) ได้รายงานอาการเป็นพิษในเป็ดทดลองในประเทศเคนยาและอุกานดาพบว่าตับเป็นอวัยวะที่ถูกทำลายมากที่สุด

การเกิดพิษอย่างเฉียบพลัน ของอะฟลาที่ออกซินพบอาการซึม เบื่ออาหาร ดีซ่าน และมีจุดเลือดออกทางจุลพยาธิวิทยาทำให้เกิดการตายของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรกในเซลล์ของตับ และจำนวนของท่อน้ำดีเพิ่มขึ้น (Bintvihok and Hayashi, 1991) ความรุนแรงขึ้นอยู่กับปริมาณสารพิษที่ได้รับ ระยะเวลา ชนิดสัตว์ เพศ อายุ สัตว์ที่มีความไวต่อการเกิดพิษสูง ซึ่งมีค่า  $LD_{50} < 1 \text{ mg/kg}$  คือ ปลาเทราต์ แมว และเป็ด (Leeson et al., 1995) สัตว์ปีกมีความไวมากกว่าในสุกรและ โค กระบือ สัตว์อายุน้อยมีความไวมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มที่ ลูกเป็ดมีความไวมากกว่าลูกไก่ และลูกนกกระทาตามลำดับ (อนงค์และคณะ, 2534)

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ได้รับผลสำเร็จในอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่ แต่ยังคงพบความสูญเสียทางด้านผลผลิตตลอดระยะเวลา 5 ปี ติดต่อกัน โดยเฉพาะในกลางปี พ.ศ. 2539 เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่หลายรายประสบปัญหาไก่อ่อนแอ มีโรคแทรก มีอัตราการตายและคัดทิ้งมีมากกว่า 13% ซึ่งเกิดขึ้นโดยต่อเนื่องและสัมพันธ์กับปริมาณสารพิษต่าง ๆ ซึ่งปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (วาริและอรุวรรณ, 2540) ซึ่งสารพิษเหล่านี้ทำความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมากในระดับที่สัตว์ไม่แสดงอาการ

วัตถุประสงค์ของรายงานนี้เพื่อศึกษาผลของอะฟลาที่ออกซินบี1 ในลูกไก่กระທงโดยการกินเพียงครั้งเดียวด้านการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก เคมิเลือด ทางพยาธิวิทยาและปริมาณของอะฟลาที่ออกซินบี 1 ที่ถูกขับออกทางอุจจาระในลูกไก่กระທง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### สารมาตรฐานอะฟลาที่ออกซินบี 1 (Sigma, USA)

ขนาด 50 มก. อยู่ในรูปเป็นผง นำมาละลายในน้ำมันมะกอก ปริมาณ 5 มล. แล้วผสมให้เข้ากัน

### ลูกไก่ทดลอง

ลูกไก่กระທงพันธุ์เซฟเวอร์ สตาร์โบ (shaver starbo) อายุ 1 วัน คณะ 300 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 100 ตัว โดยแบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว นำมาแยกเลี้ยงบนกรงลวดลึกพื้นที่ 0.6 ตารางเมตรด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับไก่เล็ก ซึ่งตรวจพบมีระดับของ อะฟลาที่ออกซิน 25.8 ppb โดยวิธี ELISA (ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์อนุญาตให้อาหารไก่สำเร็จรูปมีอะฟลาที่ออกซินไม่เกิน 100 ppb) ให้อาหารและน้ำไม่จำกัดในทุกกลุ่มทดลองเลี้ยงลูกไก่จนอายุได้ 5 วัน เพื่อปรับสภาพร่างกายมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 100 กรัม จึงเริ่มการทดลองดังนี้

ลูกไก่ทดลองกลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับการป้อนน้ำกลั่นและน้ำมันมะกอก ในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ต่อน้ำหนัก 100 กรัม ตามลำดับ

ลูกไก่ทดลองกลุ่มที่ 3 ได้รับอะฟลาที่ออกซินบี1 ในขนาด 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ( $LD_{50}$ ) (Smith and Hamilton, 1970) ทำการทดลองดังนี้

1. สังเกตอาการทางคลินิกของลูกไก่แต่ละกลุ่มเป็นเวลา 10 วัน โดยทุกวัน สุ่มตัวอย่างลูกไก่กลุ่มละ 8 ตัว (2 ตัวต่อ 1 ซ้ำ) นำมาชั่งน้ำหนัก
2. เก็บเลือดลูกไก่ กลุ่มละ 8 ตัว ทุกวันจนครบ 10 วัน นำมาตรวจค่าเคมีเลือด serum glutamic oxaloacetic-transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) และ blood urea nitrogen (BUN) (Benjamin, 1961)
- 3.ผ่าชันสูตรซากไก่ทุกวัน กลุ่มละ 8 ตัว เพื่อตรวจรอยโรคด้วยตาเปล่า (gross pathology) ชั่งน้ำหนักตับเพื่อคำนวณหาค่าน้ำหนักตับสัมพัทธ์และเก็บตัวอย่างอวัยวะได้แก่ ตับ ไต ลำไส้ ต่อมเบอรรชา ม้าม ต่อมไทมัส และกล้ามเนื้อ

เนื้อ เพื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาดังนี้

นำอวัยวะต่างๆ แช่ในน้ำยาคงสภาพ 10% ฟอรัมาลิน เตรียเนื้อเยื่อและฝังพาราฟิน โดยวิธีทางฮิสโตเทคนิค ตัดเนื้อเยื่อหนา 4 ไมครอน ย้อมด้วยสี Harris hematoxylin and eosin (HE) ย้อมสีพิเศษ Periodic acid Schiff (PAS) และ Masson's trichrome (MT)

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเคมี ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อเยือกแข็งภายใต้อุณหภูมิต่ำ ทำการย้อมด้วยสี oil red O เพื่อตรวจหาเม็ดไขมัน

4. เก็บอุจจาระของลูกไก่ทดลอง ก่อนทำการทดลอง 1 วัน ปริมาณ 50 กรัมทุกวันจนครบ 10 วัน นำอุจจาระมาสกัด อะฟลาท็อกซินบี 1 และทำให้บริสุทธิ์ (Hirano et al., 1992) และตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 ด้วยวิธี thin layer chromatography โดยใช้ densitometer (AOAC, 1990)

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ หากค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ ค่าเคมีเลือดของลูกไก่แต่ละกลุ่ม โดยวิธี general linear models และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี least square analysis (SAS Institute Inc, 1985)

### ผลการศึกษา

#### อาการทางคลินิก

ในวันที่ 1 หลังจากป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 พบว่าลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่ม ไม่แสดงอาการผิดปกติในวันที่ 2 กลุ่มที่ 3 ลูกไก่ตาย 1 ตัว และ 2 ตัวนอนหมอบ ซึม ส่วนใหญ่แสดงอาการซึมเคลื่อนไหวช้า กินอาหาร ลดลง ในวันที่ 3-10 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีอาการปกติ

#### ค่าเคมีเลือด SGOT SGPT และ BUN

ในวันที่ 1-10 ของลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) (รูปที่ 1A (รูปที่ 1A และ 1B) ค่า BUN ในวันที่ 4 ของลูกไก่กลุ่ม

ที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ( $p<0.05$ ) ในวันที่ 6 7 และ 9 ของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเพิ่มขึ้น ( $p<0.05$ ) (รูปที่ 1C)

#### ผลทางมหพยาธิวิทยา

(ตารางที่ 1) ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบจุดเลือดออกกระจายทั่วตัว (diffuse petechial hemorrhage) ด้บบมีสีเหลืองซีด ในวันที่ 3-9 ด้บบของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีสีเหลืองค่อนข้างซีดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีสีน้ำตาลแดงแต่ขนาดของด้บบไม่แตกต่างกันในวันที่ 10 ด้บบของลูกไก่กลุ่มที่ 3 จะกลับมาเป็นสีน้ำตาลแดงและขนาดเหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2 น้ำหนักตัวสัมพัทธ์ ในวันที่ 1 3 4 และ 7 น้ำหนักตัวสัมพัทธ์ของลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีความแตกต่างกัน ( $p<0.05$ ) (รูปที่ 2)

ในวันที่ 2 และ 3 ด้บบของลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบลักษณะบวมและสีค่อนข้างซีด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ในวันที่ 4 พบว่ากลุ่มที่ 3 ด้บบบวมเพียงเล็กน้อยแต่มีสีน้ำตาลแดง ในวันที่ 5-10 ไม่พบความผิดปกติ

ในวันที่ 2 และ 3 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 ภาวะบวมพบแผลลอกหลุดกระจายที่เยื่อกระดูก (gizzard erosion) ในวันที่ 4-8 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 ยังคงพบแผลลอกหลุดเยื่อกระดูก ภาวะบวม อวัยวะภายในอื่น ๆ ได้แก่ ลำไส้ ต่อมเบอริซ่า ม้าม ต่อมไทมัส และกล้ามเนื้อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

#### ผลทางจุลพยาธิวิทยา (ตารางที่ 2)

ด้บบ ในวันที่ 1 ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ด้บบพบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี มีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ (รูปที่ 4) ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ด้บบพบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกบริเวณของเส้นเลือดดำกลาง





(centrilobular fatty degeneration) และ แผ่กระจายทั่วไป (panlobular fatty degeneration) ในระดับอ่อนจากการย้อมสีพิเศษ oil red O พบไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับติดสีแดง พบการตายของเซลล์ตับ (hepatic cell necrosis) ร่วมกับการเสื่อมแบบมีหยดน้ำแทรกในไซโตพลาสซึม (hydropic degeneration) เซลล์เยื่อท่อน้ำดีมีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมขนาดใหญ่ (megalocytosis) และเพิ่มจำนวนมากขึ้น (bile duct epithelium proliferation) (รูปที่ 5)

ในวันที่ 2 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับสูง บริเวณ portal area พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี และจัดเรียงตัวคล้ายต่อม (adenomatosis) เซลล์ขนาดใหญ่ขึ้น นิวเคลียสขนาดใหญ่สีจางลง (nuclear vesiculation) ภายใต้ออกซิเจนอัดแน่นเห็นนิวคลีโอไลต์ชัดเจน (รูปที่ 6 และ 7) ในวันที่ 3 และ 4 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับปานกลาง บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี เซลล์มีขนาดแตกต่างกัน และจัดเรียงตัวคล้ายเยื่อท่อน้ำดีชั้นเดียว (รูปที่ 8) ในวันที่ 5 และ 6 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับอ่อนเกิดภาวะการกลับสู่สภาพเดิมของเซลล์ตับ (regeneration) เบียดเซลล์เยื่อท่อน้ำดีทำให้เซลล์ขนาดเล็กลง (รูปที่ 9) ในวันที่ 7 และ 8 เซลล์ตับมีขนาดใหญ่ขึ้นและเบียดเซลล์เยื่อท่อน้ำดีให้เล็กลงและเกิดเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับในระดับอ่อนจากการย้อมสีพิเศษ MT พบเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้ผลบวกติดสีน้ำเงินอ่อน (รูปที่ 10) ในวันที่ 9 และ 10 เซลล์ตับมีการเรียงตัวคล้ายกับภาวะปกติ เซลล์เยื่อท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลงและเกิดเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมรอบเซลล์ตับ (รูปที่ 11)

**ไต** ในวันที่ 1-10 ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์เยื่อท่อน้ำดีมีการเรียงตัวแบบ simple cuboidal epithelium

(รูปที่ 12) ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบมีการเสื่อมของเซลล์เยื่อท่อน้ำดีแบบมีหยดน้ำในไซโตพลาสซึม นิวเคลียสขยายใหญ่สีจางลง และมีการสะสมของสาร hyaline จากการย้อมสีพิเศษ PAS ติดสีชมพูแดง ในช่องว่างของท่อไต (รูปที่ 13) ในวันที่ 3 พบการบวมของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี ร่วมกับการสะสมของสาร hyaline ในช่องว่างของท่อไต ในวันที่ 4-10 ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

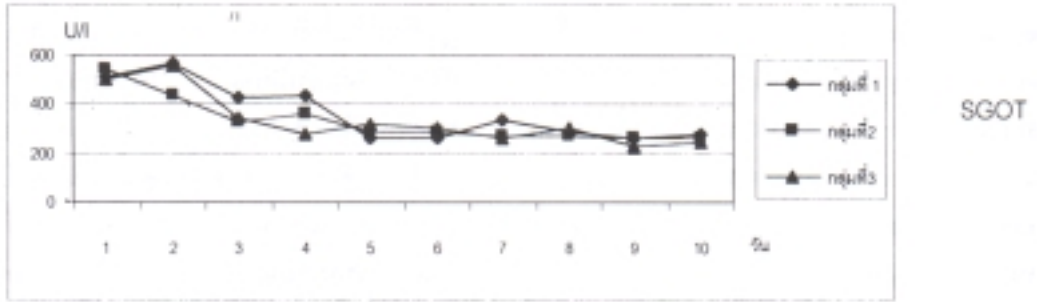
**กระเพาะบด** ในวันที่ 2 และ 3 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการลอกหลุด (erosion) ของชั้น keratin บนชั้นเยื่อของกระเพาะบด (รูปที่ 14) และ พบเซลล์อักเสบแทรกอยู่ บริเวณชั้นเยื่อของกระเพาะบดเป็นลักษณะแผลหลุม (ulcer) (รูปที่ 15) ในวันที่ 4-10 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อกระเพาะบด อวัยวะภายในอื่น ๆ ได้แก่ ลำไส้ ต่อมเบอรรี่ ซ้าม ต่อมไทมัสและกล้ามเนื้อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ

**ผลการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระ** ในวันที่เริ่มทำการทดลอง (วันที่ 0) ไม่พบการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ในวันที่ 1 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในระดับสูงสุด (17.7 ppb) และลดลงในวันที่ 3-9 ตามลำดับ ในวันที่ 10 พบปริมาณ 0.2 ppb ส่วนในกลุ่มที่ 1 และ 2 ในวันที่ 2-10 ไม่พบการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ดังแสดงในรูปที่ 3

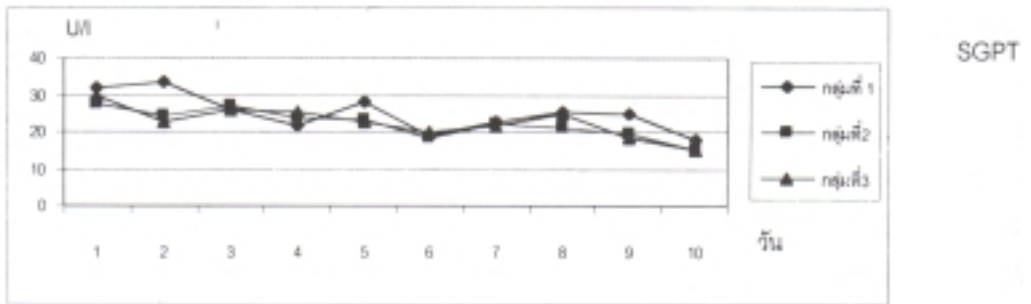
### วิจารณ์

ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบว่าในวันที่ 2 ลูกไก่ส่วนใหญ่แสดงอาการซึม เคลื่อนไหวช้า และกินอาหารลดลง เนื่องจากเป็นกลไกของร่างกายสัตว์ จากการที่ได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกายซึ่งมีผลต่อความอยากอาหาร (Rao and Joshi, 1993) พบการตาย 1 ตัว อาจเนื่องจากการได้รับสารพิษในปริมาณมากเกินไประดับการยอมรับของร่างกายหรือความเครียดซึ่งแตกต่างจากรายงานระดับความเป็นพิษของอะฟลาท็อก

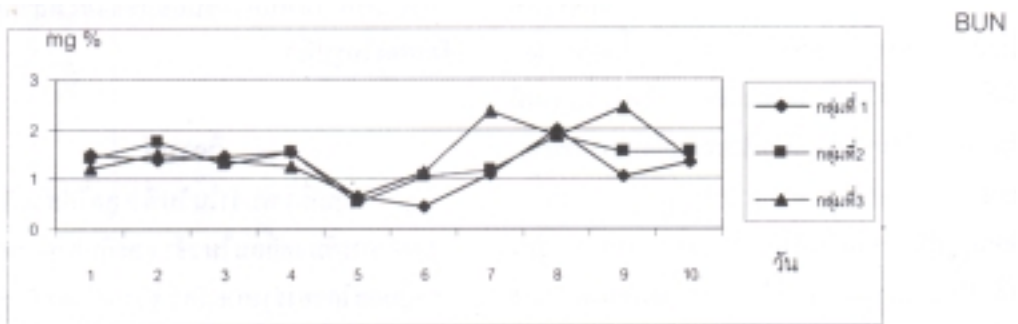




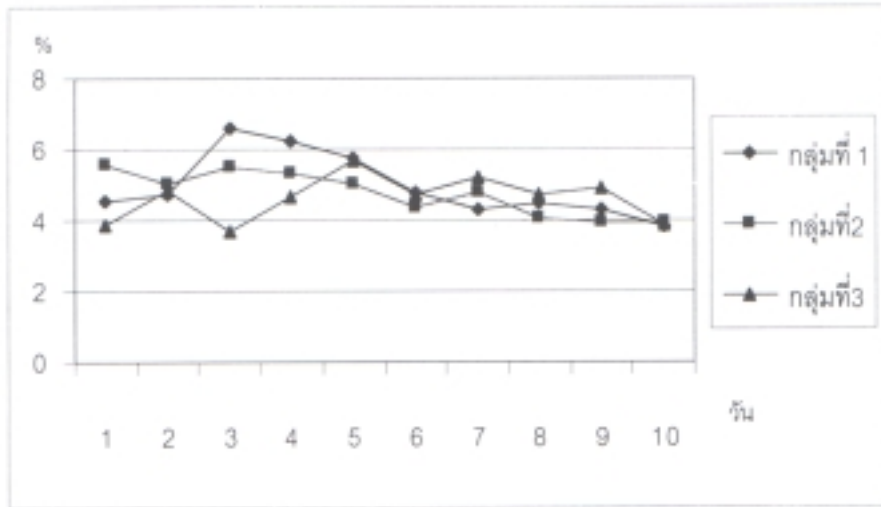
รูปที่ 1 A ค่า SGOT ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10



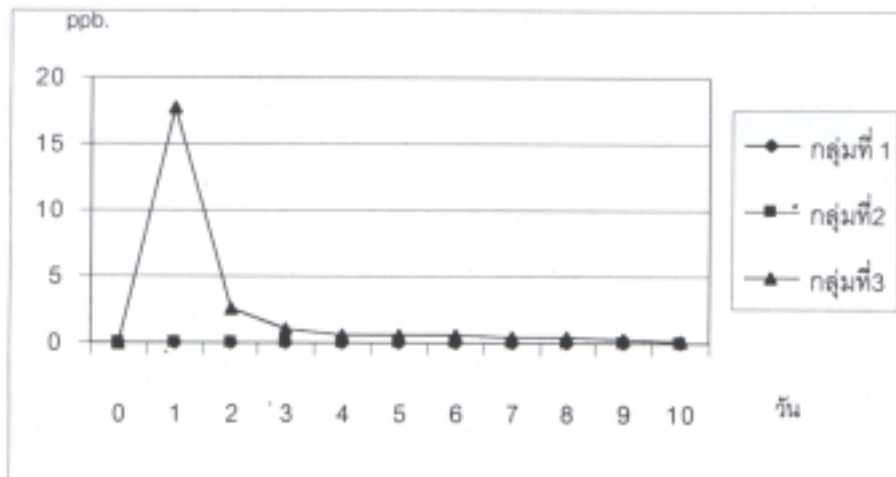
รูปที่ 1 B ค่า SGPT ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10



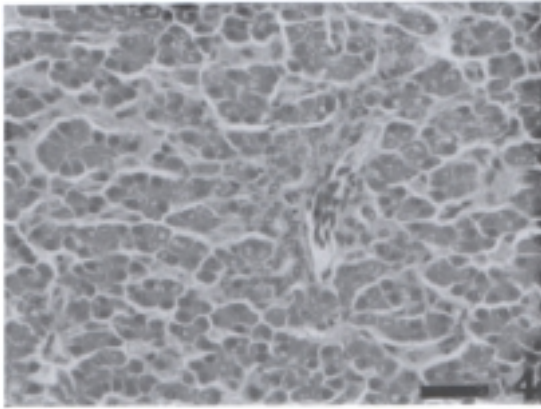
รูปที่ 1 C ค่า BUN ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10



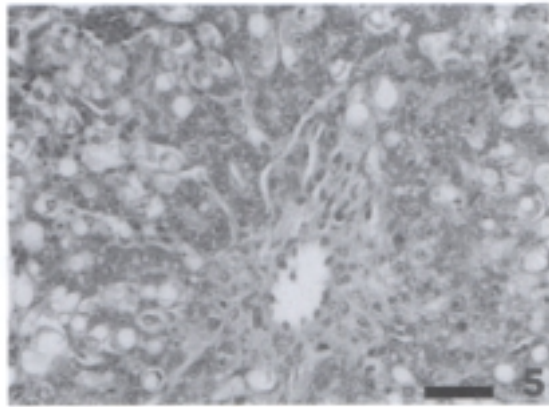
รูปที่ 2 แสดงค่าน้ำหนักดั่งสัมพัทธ์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10



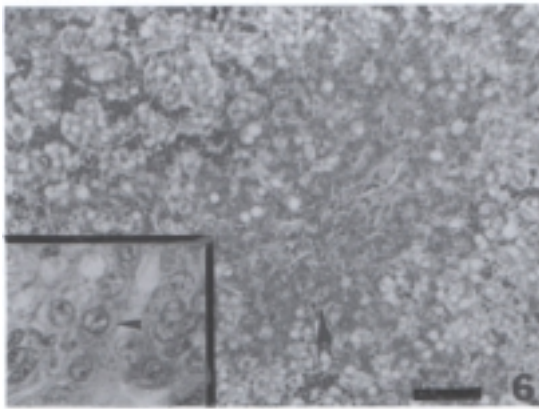
รูปที่ 3 แสดงปริมาณการขับออกของอะฟลาที่อกซินบี 1 ในอุจจาระของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10



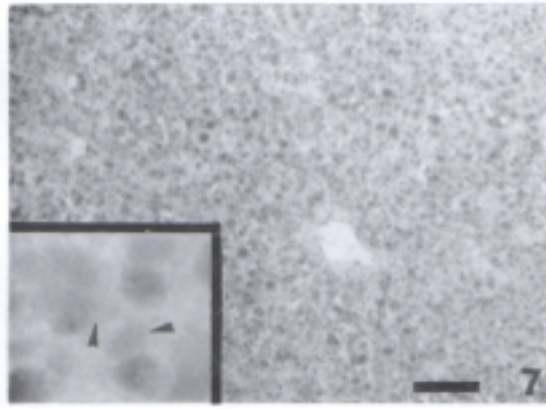
**รูปที่ 4** ผลทางจุลพยาธิวิทยา ในวันที่ 1 ดับของลูกไก่ กลุ่มควบคุม บริเวณ portal area เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบแถวคู่ พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม (H&E stain, bar = 100 μm)



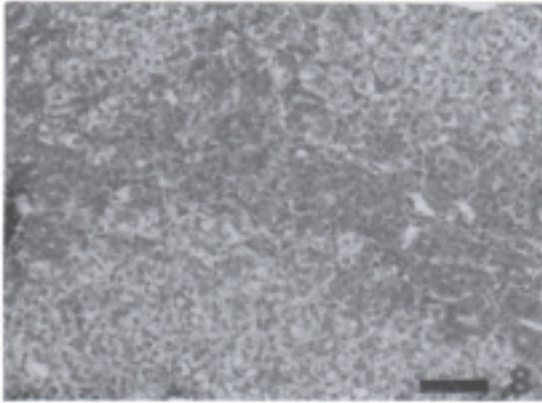
**รูปที่ 5** ในวันที่ 1 ดับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบ centrilobular and panlobular fatty degeneration (H&E stain, bar = 50 μm)



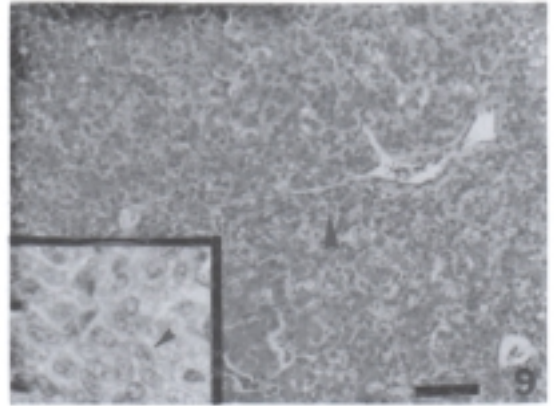
**รูปที่ 6** ในวันที่ 2 ดับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เชื้อนํูท่อนําคีในระดับปานกลาง (ลูกศร) และมีเลือดคั่งใน sinusoid แทรก : แสดงเซลล์เชื้อนํูท่อนําคีมีขนาดใหญ่นํู ท่อนําคีมีขนาดใหญ่นํู (megalocytosis) นิวเคลียสขนาดใหญ่สีจางลง (nuclear vesiculation) และพบเส้นใยโครมาตินอัดแน่นบริเวณขอบนิวเคลียส (ลูกศร) (H&E stain, bar = 100 μm)



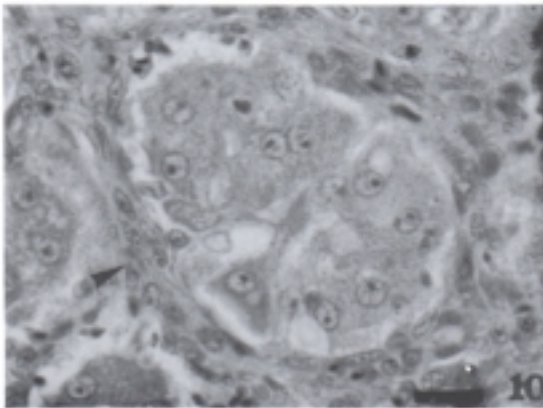
**รูปที่ 7** ในวันที่ 2 ดับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบ panlobular fatty degeneration แทรก : แสดงเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับข้อมติดสีแดง (ลูกศร) (oil red O stain, bar = 50 μm)



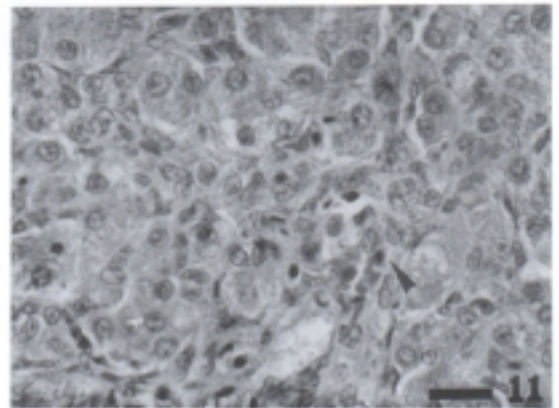
รูปที่ 8 ในวันที่ 4 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อหนุ่่อน้ำดีในระดับมาก (H&E stain, bar = 100  $\mu$ m)



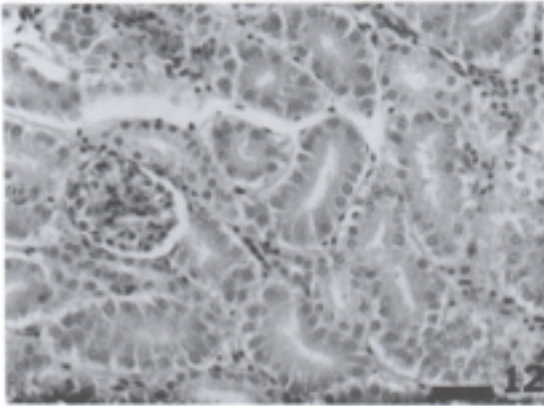
รูปที่ 9 ในวันที่ 5 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area เซลล์เยื่อหนุ่่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง(ลูกศร) แทรก : แสดงเซลล์เยื่อหนุ่่อน้ำดี มีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (ลูกศร) (H&E stain, bar = 100  $\mu$ m)



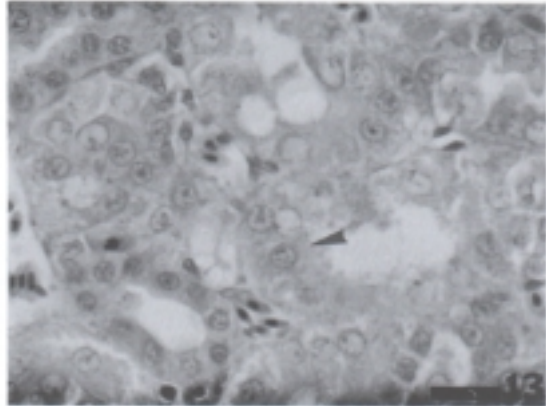
รูปที่ 10 ในวันที่ 7 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นกลุ่มเบียดเซลล์เยื่อหนุ่่อน้ำดีให้เล็กลง (ลูกศร) และการแทรกของเซลล์ไฟโบร بلاสที่ล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับ (H&E stain, bar = 25  $\mu$ m)



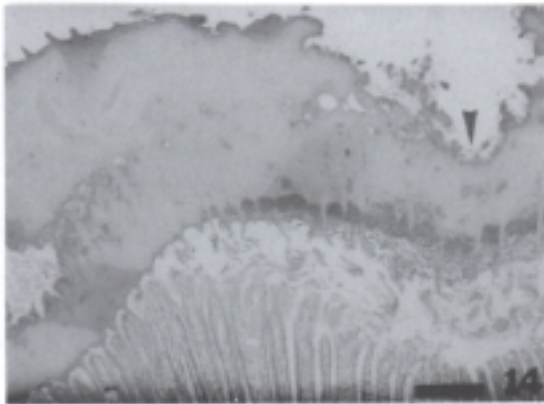
รูปที่ 11 ในวันที่ 9 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเรียงตัวคล้ายกับสภาพปกติเป็นแถวคู่ และเซลล์เยื่อหนุ่่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง (ลูกศร) (H&E stain, bar = 25  $\mu$ m)



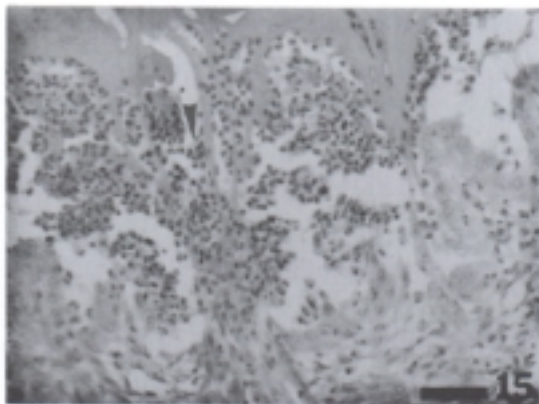
**รูปที่ 12** ผลทางจุลพยาธิวิทยาของไต ในวันที่ 2 ไตของกลุ่มควบคุม เซลล์เยื่อบุท่อไตมีการเรียงตัวแบบ simple cuboidal epithelium (H&E stain, bar = 50  $\mu$ m)



**รูปที่ 13** ในวันที่ 2 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์เยื่อบุท่อไตแบบ hydropic degeneration, nuclear vesiculation (ลูกศร) (H&E stain, bar = 25  $\mu$ m)



**รูปที่ 14** ผลทางจุลพยาธิวิทยาของกระเพาะบด ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะบดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการลอกหลุดของสาร keratin (ลูกศร) (H&E stain, bar = 100  $\mu$ m)



**รูปที่ 15** ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะบดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการแทรกของเซลล์อักเสบบริเวณชั้นเยื่อบุ ลักษณะแผลหลุม (ulcer) (ลูกศร) (H&E stain, bar = 50  $\mu$ m)

ชินขนาด 5 มก/กก โดยการกินที่ทำให้ลูกไก่อายุ 1 สัปดาห์ ด่าขร้อยละ 50 (Smith and Hamilton, 1970)

การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SGOT และ SGPT เนื่องจากการเสื่อมและตายของเซลล์ตับ แต่ไม่พบความแตกต่างเนื่องจากเซลล์ตับสามารถขับสารพิษออก และกลับคืนสู่สภาพเดิมได้อย่างรวดเร็วในช่วงเวลาสั้น ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Rao และ Joshi (1993) ในไก่กระทรงอายุ 1 วัน ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินบี 1 ขนาด 4 มก/กก เพียงครั้งเดียว พบว่าในวันที่ 3 ค่า SGPT เพิ่มขึ้นถึง 2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่า SGPT จะเพิ่มขึ้นในกรณีที่ได้รับสารพิษเรื้อรังในขนาด 3-6 ppm เป็นเวลา 42 วัน (Daffalla et al., 1987) ค่า BUN ในวันที่ 6 7 และ 9 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) แต่ยังคงอยู่ในระดับปกติ เนื่องจากการได้รับอะฟลาท็อกซินเพียงครั้งเดียวไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในไต ซึ่งสอดคล้องกับผลทางพยาธิวิทยา

ในวันที่ 2 พบจุดเลือดออกกระจายทั่วทั้งตัวร้อยละ 87.5 เนื่องจากลูกไก่ได้รับสารพิษใน ระดับสูงอยู่ในภาวะโลหิตเป็นพิษ (Muller et al., 1970) ในวันที่ 3-9 ตัวมีสีเหลืองซีด เนื่องจากการแทรกของไขมันในเซลล์ตับ (Merkley et al., 1987) ความเป็นพิษเฉียบพลันในไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินผสมอาหารขนาด 1.5 ppm 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ ค่าโคเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น (Carnaghan et al., 1996 ; Fernandez et al., 1995)

ในวันที่ 1-6 พบการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ตับและเยื่อบุท่อน้ำดี ( Espada et al., 1992; Rao and Joshi, 1993; Bintvihok et al., 1997) เซลล์ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายของอะฟลาท็อกซิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในนิวเคลียส (Lesson et al., 1995) ซึ่งมีเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ไซโตโครมพี-450 ในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และ เอนไซม์ไซโตโซล

ติกเทสในไซโตโซล ทำให้มีการสันดาปเกิดการเปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาท็อกซิน 1-8, 9 อีพ็อกไซด์ซึ่งไม่คงตัวจับกันแน่นกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือ โปรตีนอื่นๆ ทำให้การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือ โปรตีน ลดลงทำให้เซลล์ตับตาย ( Eaton and Groopman, 1994 ) การเสื่อมแบบมีไขมันเกิดจากการยับยั้งการขนส่งไขมันจากตับไปยังพลาสมา เนื่องจากอะฟลาท็อกซิน 1-8, 9 อีพ็อกไซด์ ขัดขวางการสังเคราะห์ไลโปโปรตีนจึงพบมีการสะสมของไขมันใน ไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ ในวันที่ 1-4 เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดใหญ่ และเพิ่มจำนวนมากขึ้นเพื่อเพิ่มหน้าที่ในการขับสารพิษออกทางน้ำดีไปสู่ทางเดินอาหาร

พบการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี เนื่องจากไตเป็นอวัยวะเป้าหมายของอะฟลาท็อกซินบี 1 โดยเฉพาะในหนูทดลอง พบการยับยั้งการสร้างอาร์เอ็นเอ และพบการสร้างอาร์เอ็นเอและพบการจับอะฟลาท็อกซินบี 1 กับดีเอ็นเอ สูงกว่าในตับถึง 6 เท่า (Balachandran Ramankrisnan, 1987; Espada et al., 1992) การพบแผลหลุมลอกหลุดที่เยื่อบุท่อน้ำดีเกิดจากการระคายเคืองและอักเสบ (Huff and Doerr, 1981) การขับออกมีปริมาณสูงสุด (17.7 ppb) ในวันที่ 1 และค่อยๆ ลดลงตามลำดับจนถึงวันที่ 10 ของการทดลองซึ่งพบน้อยที่สุด (0.2 ppb) มีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในตับอะฟลาท็อกซิน และเมตาโบไลต์ของที่ออกซินจะถูกขับออก 28% ภายใน 24 ชั่วโมง และ 1% จะถูกขับออกมากภายใน 7 วัน มีค่า half-life ประมาณ 66.82 ชั่วโมง (Sawhey et al., 1973) มีรายงานการนำอะฟลาท็อกซินที่ตกค้างในกระเพาะพัก กระเพาะบด ตับ และอุจจาระไปให้เป็ดกิน พบรอยโรคที่ ตับ แสดงถึงความคงตัวของความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินที่ตกค้างอยู่ในอวัยวะและอุจจาระ

## สรุป

ผลของอะฟลาที่ออกซินบี 1 ในไกกระທงที่ได้รับ โดยการกินเพียงครั้งเดียวในขนาด 5 มก/กก พบว่าค้บเป็นอวัยวะเป้าหมายที่ถูกทำลายมากที่สุด จากผลทางจุลพยาธิวิทยาของค้บพบการเสื่อมและการตายของเซลล์ค้บและการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อ หนุ่ท่อน้ำดีเซลล์ค้บต้องใช้เวลาประมาณ 8 วัน ในการฟื้นตัวเพื่อกลับเข้าสู่สภาพปกติ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการวินิจฉัย และพยากรณ์ โรคในไกกระທงที่ได้รับสารพิษจากเชื้อราปริมาณการขับออกของอะฟลาที่ออกซินบี 1 ทางอุจจาระจะขับออกสูงสุดในวันแรก และลดลงในวันต่อมาตามลำดับ

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อ.เทียมพบ กานเหลือง ที่ช่วยวิเคราะห์ ข้อมูลทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

วาริ สัจพันโรจน์ และ อรรรณ นวิภาพ 2540 (1970) เชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์การ ประชุม ทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบ ต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลง- กรณ์มหาวิทยาลัย : 53-60

ศุภกิจ อังศุภากร. 2540 (1970). โรคของสัตว์เศรษฐกิจ ที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อรา พ.ศ. 2540 : การ ประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบ ต่อสุขภาพสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลง- กรณ์มหาวิทยาลัย 40: 109-117.

อนงค์ บินทวิหค คารณิ เอื้อเพื่อ และประพิศ กล้าย นิต 2534 (1991). อิทธิพลของอะฟลาที่ออกซินที่เป็น อันตรายต่อไก่เนื้อและสารพิษที่ตกค้าง ใน เนื้อเยื่อของไก่ สัตวแพทยสาร 42(4): 209-217

Aspin, F.D. and Canaghan, R.B.A. 1961. The toxic- ity of certain groundnut meals for poul- try with special reference to their ef- fect on duckling and chickens. Vet. Rec. 73: 1215-1219.

Association of official Analytical Chem- ists "Official Method of Analysis" 15<sup>th</sup> ed. AOAC Arlington Virginia. P. 1201- 1203

Balachandran, C. and Ramakrisnan, R. 1987. An experimental study on the pathol- ogy of aflatoxicosis in broiler chicken. Indian Vet. J. 61: 911-914.

Benjamin, M.M. 1961. Outline of Veterinary Clini- cal Pathology 2<sup>nd</sup> ed., Ames, Iowa State University press. p. 58-60.

Bintvihok, A. and Hayashi, M. 1991. Effects of aflatoxin B1 in ducklings : effect on he- patic microsomal drug metabolizing enzyme. ACIAR Proceedings. 36:230- 232.

Bintvihok, A., Kiatipattanasakul, V. and Doi, K. 1997. Acute toxicity of aflatoxin B1 in three species of domestic fowls. J.Toxicol. Pathol. 10:911-914

Carnaghan, R.B.A., Lewis, G., Patterson, D.S.P. Allcroft, R. 1966. Biochemical and patholo- gical aspects of groundnut poisoning in chickens. Vet. Pathol. 3: 60-615

Daffalla, R., Yagi, A.I and Adam, S.E.I. 1987. Ex- perimental aflatoxicosis in hybro-type chicks : sequential changes in growth and semen constituents and histopathological changes. Vet. Hum. Toxicol. 29:222-226.

- Eaton, D.L. and Groopman, J.B. 1994. The toxicology of aflatoxins human health. veterinary and agricultural significance. San Diego, Academic press. 541 p.
- Espada, Y., Damingo, M., Gomez, J. and Calvo, M.A. 1992. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B1 in broiler chickens. Res. Vet. Sci. 53: 275-279.
- Fernandez, A., Veerde, M.T., Gascon, M., Ramos, J., Luco, D.F. and Chavez, G. 1995. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin containing feed. Avian Path. 23: 37-47.
- Hirano, K., Adachi, Y., Bintvihok, A., Ishibashi, S. and Kumazawa, N.H. 1992. An improved method for extraction and cleanup of aflatoxin B1 from liver. J. Vet. Med. Sci. 54: 567-569.
- Huff, W.E. and Doerr, J.A. 1981. Synergism between aflatoxin and ochratoxin A in broiler chicken. Poul. Sci. 60: 550-555.
- Lancaster, M.C., Washburn, K.W. and Wyatt, R. D. 1980. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature 192: 1095-1096.
- Lesson, S., Diaz, G. and Summers, J.D. 1995. Aflatoxins. In : Poultry Metabolic Disorder and Mycotoxins. Ontario, Guelph University Press. p. 249-298.
- Merkley, J.W., Maxwell, M.j., Phillips, J.G. and Huff, W.E. 1987. Hepatic fatty acids profiles in aflatoxin exposed in broiler chicken. Poul. Sci. 66: 59-67.
- Muller, R.D., Carlson, C.W., Semeniuk, G. and Harshfield, G.S. 1970. The response of chicks, ducklings, goslings, pheasants and poults to graded levels of aflatoxins. Poul. Sci. 66: 1346-1350.
- Rao, V.N. and Joshi, H.C. 1993. Effect of certain drugs on acute induced aflatoxicosis in chicken (4 mg aflatoxin B1/kg bwt.) Indian Vet. J. 70: 344-347.
- SAS Institute Inc. 1985. SAS User's guide; statistics, Version 5 edition. Box 8000 Cary, North Carolina. 956 p.
- Sawhey, D.s., Vadebra, D.V. and Baber, R.C. 1973. The metabolism of <sup>14</sup>C aflatoxin in laying hens. Poul. Sci. 52: 1302-1309.
- Smith, J.W. and Hamilton, P.B. 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. Poul. Sci. 48 : 207-215.