

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทางอุจจาระ
ของอะฟลาท็อกซินบี 1 ภายหลังจากให้ลูกไก่กระทิงกินครั้งเดียว



นางคนารัตน์ หรินทรานนท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-343-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1 2 พ.ย. 2546

I 19165867

THE PATHOLOGICAL CHANGES AND EXCRETION IN FECES OF
AFLATOXIN B1 AFTER A SINGLE DOSE ORALLY IN BROILER CHICKS



Ms. Kanarat Harintharanon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master Science in Veterinary Pathobiology

Department of Veterinary Pathology

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 1999

ISBN 974-334-343-1

คนารัตน์ นรินทรานนท์ : การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทางอุจจาระของอะฟลาท็อกซินบี 1 ภายหลังให้ลูกไก่กระทงกินครั้งเดียว (The Pathological Changes and Excretion in Feces of Aflatoxin B1 after a Single Dose Orally in Broiler Chicks) อ. ที่ปรึกษา : รศ.สพ.ญ.ดร. อัจฉริยา ไชยะสูต , อ. ที่ปรึกษาร่วม : , รศ.สพ.ญ.ดร.อนงค์ บิณฑวิหค , อ. ที่ปรึกษาร่วม : , รศ.น.สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรีย์จันทร์ , 93 หน้า. ISBN 974-334-343-1

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก พยาธิวิทยา โลหิตวิทยา เคมีเลือดและศึกษาปริมาณการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระเป็นระยะเวลา 10 วัน ในลูกไก่กระทงที่ป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ขนาด 5 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว โดยแบ่งลูกไก่ทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ป้อนน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 ป้อนน้ำมันมะกอก เป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ 3 ป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1

ผลการวิจัยพบว่าลูกไก่กลุ่มที่ป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ในวันที่ 2 มีอาการซึม กินอาหารลดลง ค่าโลหิตวิทยาประกอบด้วยค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ค่าลิมโฟไซต์ ค่าเฮตเทอโรฟิล ค่าโมโนไซต์ ค่าอีโอซิโนฟิล และค่าเบโซฟิล มีค่าเปลี่ยนแปลงบ้างในแต่ละกลุ่ม แต่ยังคงอยู่ในระดับปกติ เช่นเดียวกับค่าเคมีเลือด โดยเฉพาะค่า BUN ซึ่งมีค่าแตกต่างในแต่ละกลุ่ม แต่ยังคงอยู่ในระดับปกติ ผลการศึกษาทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า ในวันที่ 2 ตับมีจุดเลือดออก (87.5%) และในวันที่ 3-9 ตับมีสีเหลืองซีด (62.5%-87.5%) ในวันที่ 2 และ 3 น้ำหนักตัวสัมพัทธ์ไม่เพิ่มขึ้น (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ในวันที่ 2 และ 3 ตับมีลักษณะบวมและสีเหลืองซีด (75%-87.5%) และในวันที่ 2-8 กระจกตาบวมมีแผลหลุมลอกหลุด (62.5%-87.5%) ในวันที่ 1-4 เซลล์ตับเริ่มมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกรอบเส้นเลือดดำกลางแล้วแผ่กระจายแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับปานกลางถึงรุนแรง เซลล์ตับตาย ร่วมกับมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุน้ำดี ในวันที่ 5-6 เซลล์ตับเริ่มมีการเรียงตัวกลับสู่สภาพเดิม แต่ยังคงพบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกในระดับอ่อน ในวันที่ 7-8 เซลล์ตับเรียงตัวเป็นกลุ่มและเบียดเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีให้เล็กลงและพบเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมเซลล์ตับ ในวันที่ 9-10 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นแถวคู่คล้ายสภาพปกติ ส่วนไตในวันที่ 2-3 พบการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุท่อไตในระดับอ่อนถึงปานกลาง การขับถ่ายของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระพบว่าในวันที่ 1 มีการขับถ่ายสูงสุด ลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 และลดลงตามลำดับจนสิ้นสุดการทดลอง

ภาควิชา พยาธิวิทยา
 สาขาวิชา พยาธิชีววิทยา
 ปีการศึกษา 2542

ลายมือชื่อนิสิต *As W*
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *De*
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *Ang*
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *...*

##3970187931 : MAJOR PATHOBIOLOGY

KEYWORD: BROILER CHICKS/ AFLATOXIN B1 / PATHOLOGY / EXCRETION

KANARAT HARINTHARANON : THE PATHOLOGICAL CHANGES AND EXCRETION IN FECES OF AFLATOXIN B1 AFTER A SINGLE DOSE ORALLY IN BROILER CHICKS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. ACHARIYA SAILASUTA ,D.V.M. Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. ANONG BINTVIHOK ,D.V.M. Ph.D., AND ASSOC. PROF. JIROJ SASIPREEYACHAN. ,D.V.M. Ph.D. 93 pp. ISBN 974-334-343-1

The objectives of this research are to study the effect of aflatoxin B1 (5mg/kg) after a single dose orally in broiler chicks on clinical signs , pathology , hematology , blood chemistry and excretion in feces for 10 days. The experimental broiler chicks were divided into 3 groups as giving sterile water , olive oil and aflatoxin B 1 in group 1 , 2 and 3 respectively.

The results were : In group 3 showed depression and decreasing of feed consumption. Hematology included hemaocrit , hemoglobin , total red blood cells , total white blood cells , lymphocytes , heterophils , monocytes , eosinophils and basophils were difference between three groups but still in normal range. As well as blood chemistry especially BUN were difference between three groups but still in normal range . Gross pathology , liver showed petechial hemorrhage on day 2 (87.5%) , pale yellowish - color on day 3-9 (62.5%-87.5%). The relative weight of liver in group 3 were not significantly increased ($P>0.05$) in comparison to group1 and 2. Kidneys were swelling and pale yellowish - color on day 2-3 (75%-87.5%). Erosion and ulceration of gizzard mucosa was demonstrated on day 2-8 (62.5%-87.5%). Histopathology showed centrilobular fatty degeneration to panlobular fatty degeneration in moderate to severe degree , hepatic cells necrosis with bile duct proliferation on day 1-4. Hepatic cells showed regenerative changes with mild degree panlobular fatty degeneration on day 5-6. Hepatic cell cords were distorted arrangement rendering atrophy of bile duct epithelium cells with fibroblastic scarring in hepatic tissue on day 7-8. Hepatic cells were completely regenerated on day 9-10. Kidneys showed tubulonephrosis in mild to moderate degree on day 2-3. The excretion of aflatoxin B1 in feces was the highest on day 1 , then were remarkedly decreased from day 3 and gradually decreased till the end of observation.

ภาควิชา พยาธิวิทยา

สาขาวิชา พยาธิชีววิทยา

ปีการศึกษา 2542

ลายมือชื่อผู้นิสิต..... *As W*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Assoc. Prof. Achariya Sailasuta*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *Assoc. Prof. Anong Bintvihok*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *Assoc. Prof. Jiroj Sasipreeyachan*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่อง densitometer ในการตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน

ขอขอบพระคุณ อ.น.สพ.ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ ที่ให้คำแนะนำในการดูแลทางจุลพยาธิวิทยา และข้อคิดเห็นต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์บัณฑิตศึกษา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณ อ. น.สพ. ธีรยุทธ แก้วอมตวงศ์ อ. น.สพ. มนกันต์ อินทรกำแหง อ. น.สพ.พิภพ สดสี และ น.สพ. ไพศาล หมั่นเดช ที่ช่วยในการทดลอง ทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณคุณอมรรัตน์ ทศนกิจ คุณพรพิมล มีโย เจ้าหน้าที่ภาควิชาพยาธิวิทยา เจ้าหน้าที่ภาค วิชาเภสัชวิทยา และหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ อ. เทียมพบ ก้านเหลือง ที่ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

คนารัตน์ หรินทรานนท์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ณ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
3. วัสดุและวิธีการ.....	17
4. ผลและวิจารณ์.....	20
5. สรุปผลการทดลอง.....	70
รายการอ้างอิง.....	71
ภาคผนวก.....	79
ประวัติผู้เขียน.....	93

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญญัตินี้

ตาราง	หน้า
1. ค่า LD ₅₀ อะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาดให้กินเพียงครั้งเดียวในสัตว์ชนิดต่างๆ.....	13
2. เปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริตของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	22
3. เปรียบเทียบค่าฮีโมโกลบินของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	23
4. เปรียบเทียบค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	24
5. เปรียบเทียบค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	26
6. เปรียบเทียบค่าลิมโฟไซต์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	27
7. เปรียบเทียบค่าเฮมาโทโรฟิลของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	28
8. เปรียบเทียบค่าโมโนไซต์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	30
9. เปรียบเทียบค่าอีโอซิโนฟิลของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	31
10. เปรียบเทียบค่าเบโซฟิลของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	32
11. เปรียบเทียบค่า SGOT ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	34
12. เปรียบเทียบค่า SGPT ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	35
13. เปรียบเทียบค่า BUN ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	36
14. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของตับลูกไก่ทดลอง ในวันที่ 1 – 10.....	40
15. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของไตลูกไก่ทดลอง ในวันที่ 1 – 10.....	41
16. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของกระเพาะปัสสาวะ ลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	42
17. เปรียบเทียบน้ำหนักตับสัมพัทธ์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	44
18. การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	51
19. การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10(ต่อ).....	52
20. การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10(ต่อ).....	53
21. การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไตและกระเพาะปัสสาวะ ลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	54
22. เปรียบเทียบปริมาณการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ ลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 – 10.....	61

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของอะพลาทีอกซินที่พบในธรรมชาติ.....	14
2. Metabolic pathway ของอะพลาทีอกซินปี 1.....	15
3. แสดงการเกิดพิษและการเกิดมะเร็งของอะพลาทีอกซินปี 1.....	16
4. ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	25
5. ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ค่าลิมโฟไซต์ และค่าเฮตเทอโรฟิล ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	29
6. ค่าโมโนไซต์ ค่าอีโอซิโนฟิล และค่าเบโซฟิลของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	33
7. ค่า SGOT ค่า SGPT และค่า BUN ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	37
8. แสดงลักษณะของตับทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า.....	43
9. ค่าน้ำหนักตับสัมพัทธ์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	45
10. แสดงลักษณะของไตและกระเพาะปัสสาวะทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า.....	46
11. แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรก.....	55
12. แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาการเพิ่มจำนวนขึ้นของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี.....	56
13. แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาการเรียงตัวกลับสู่สภาพเดิมของเซลล์ตับ.....	57
14. แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของไตลูกไก่ทดลอง.....	58
15. แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของกระเพาะปัสสาวะลูกไก่ทดลอง.....	59
16. ปริมาณการขับออกของอะพลาทีอกซินปี 1 ในอุจจาระ ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1-10.....	62

บทที่ 1

บทนำ



ความก้าวหน้าในวิธีการเลี้ยงไก่ โดยเน้นวิธีการเลี้ยงแบบหนาแน่น (intensive rearing system) มีการคัดเลือกพันธุ์ไก่ให้มีผลผลิตและอัตราการแลกเนื้อสูง รวมไปถึงให้ไก่ได้กินอาหารมาก เพื่อเร่งการเจริญเติบโต พบว่าการเลี้ยงไก่ปัจจุบันจะประสบปัญหาสุขภาพอ่อนแอ มีโรคติดเชื้อมาตรใหม่เกิดขึ้นเช่น โรคต่อมเบอริซอักเสบ (infectious bursal disease) โรคติดเชื้อรีโอไวรัส (reovirus infection) และโรคเลือดจางในไก่ (chicken anemia virus) โรคเหล่านี้เป็นโรคใหม่ ซึ่งพบในวิธีการเลี้ยงไก่ในปัจจุบัน ถึงแม้ว่าจะผลิตวัคซีนเพื่อสร้างภูมิป้องกันโรคได้ แต่ความสูญเสียแต่ความสูญเสียก็ยังคงพบตลอดตามแต่สถานการณ์. จากการติดตามปัญหาเหล่านี้โดยใกล้ชิด พบว่าในอาหารและวัตถุดิบนั้นจะมีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราหลายชนิดในปริมาณต่างๆ กัน เกรียงศักดิ์ (2540) ได้รายงานว่าอาหารในไก่พันธุ์และไก่กระทรง พบสารพิษจากเชื้อราปนเปื้อนอย่างน้อย 5 ชนิด เช่น สารพิษอะฟลา (aflatoxin) สารพิษฟูโมนิซิน (fumonisin) สารพิษโวมิ (vomitoxin) หรือ ดอน (DON, deoxynivalinol) สารพิษออกคราโทอกซินเอ (ochratoxin A) และสารพิษที 2 (T-2, trichothecene - 2) เป็นต้น

การพบสารพิษเหล่านี้มากขึ้นเนื่องจากเหตุผลต่างๆคือ นักวิชาการที่ศึกษาสาเหตุของโรคตรวจไม่พบตัวก่อโรค แต่กลับพบว่ามีสารพิษจากเชื้อราในอาหาร รวมทั้งการกักตุนวัตถุดิบอาหารสัตว์ ซึ่งจำเป็นจะต้องมีการเก็บไว้ให้เพียงพอต่อการผลิต ถึงแม้ว่าจะผ่านกรรมวิธีหลายอย่างที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบ เช่น การควบคุมระดับความชื้นของวัตถุดิบให้อยู่ระดับต่ำกว่า 13 เปอร์เซ็นต์ และมีการเติมสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (mold inhibitor) ด้วย แต่ปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อราในวัตถุดิบก็ยังคงพบได้บ่อยๆ การกักตุนวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปริมาณมากและระยะเวลาการกักตุนที่ยาวนานขึ้นให้เพียงพอต่อการผลิตสัตว์อย่างต่อเนื่อง เป็นสิ่งที่เอื้ออำนวยต่อการที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษในวัตถุดิบมีมากขึ้น (เกรียงศักดิ์, 2540)

อะฟลาโทอกซิน (aflatoxin) เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์เคมีพวกไบส-ฟูราโนควิมาริน (bis-furanocoumarin) ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ซึ่งขึ้นในอาหารหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ถังลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าวฟ่าง และ

มันสำปะหลัง เป็นต้น อะฟลาท็อกซินที่พบในธรรมชาติเช่น อะฟลาท็อกซินบี 1 บี 2 จี 1 จี 2 (รูปที่ 1) *A. flavus* จะผลิตอะฟลาท็อกซินบี 1 และ บี 2 และ *A. parasiticus* จะผลิตอะฟลาท็อกซินบี 1 บี 2 จี 1 และ จี 2 (Ellis et al., 1991)

อุณหภูมิของประเทศไทยที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อราที่ *A. flavus* สามารถสร้างอะฟลาท็อกซินได้คือ 12 – 41 °C ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25 – 32 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 86 – 87 % สารพิษจากเชื้อราสามารถเกิดได้ทุกขั้นตอนของการผลิต หากมีการเจริญของเชื้อราตั้งแต่ระหว่างการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา ในคลังสินค้า หรือในขณะลำเลียงเพื่อนำมาผลิตอาหารสัตว์ จากการวิเคราะห์วัตถุอันตรายสัตว์ในปี พ.ศ. 2539 พบว่าข้าวโพดมีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินสูงถึง 80 ppb. และกากถั่วลิสงที่นำเข้ามาจากประเทศอินเดียมีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินสูงถึง 342 ppb. (ภัทนีย์ , 2540) จากการสำรวจอาหารสัตว์ในปี พ.ศ. 2518 – 2523 ในอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินสูงถึง 6.7 – 934 ppb. (Bintvihok , 1997)

สารพิษอะฟลาท็อกซินนี้เป็นที่รู้จักกันดีในวงการปศุสัตว์ เพราะเป็นสารพิษที่สร้างปัญหาภัยอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์มากที่สุด จากการจำแนกเปรียบเทียบความรุนแรงของสารพิษจากเชื้อราขององค์การอนามัยโลก อะฟลาท็อกซินจัดอยู่ในระดับรุนแรงที่สุด (extremely toxic) (ศุภกิจ , 2540) โดยเฉพาะชนิด บี 1 จะก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์มากที่สุดและเป็นสาเหตุการเกิดมะเร็งและเนื้องอกที่ตับในสัตว์ (จักรกริสน์ , 2540)

อะฟลาท็อกซินบี 1 เป็นสารพิษจากเชื้อราตัวแรกที่โลกรู้จักและพบโดยกลุ่มนักวิจัยจากอังกฤษ (MRC , medical research council) ในปี พ.ศ.2503 สาเหตุจากการตายของไก่วงที่ใช้กากถั่วลิสงนำเข้าจากประเทศบราซิลผสมอาหาร ทำให้ไก่วงตายมากกว่า 100,000 ตัว และเรียกโรคนี้ว่า โรคเอ็กซ์ในไก่วง (Turkey x disease) พบว่าไก่วงจะมีการตายโดยเฉียบพลัน รอยโรคที่พบจากการผ่าซาก พบว่ามีจุดเลือดออกที่กล้ามเนื้อ อวัยวะภายใน ตับโต มีการขยายตัวและเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี พวกที่รอดตายจะแคระแกร็น อ่อนแอ จากการตรวจเพาะเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคก็ไม่พบว่ามีตัวก่อโรคที่เป็นสาเหตุสำคัญ ต่อมา

Lancaster และคณะ (1961) ได้พิสูจน์ว่าสาเหตุนี้เกิดจากการที่ไก่วงกินอาหารที่มีสารพิษจากเชื้อราปนเปื้อน และเรียกสารพิษนี้ว่าสารพิษอะฟลา ในระยะเวลาต่อมา ในประเทศเคนยาและอูกานดา Aspin และ Carnahan (1961) ได้นำเอาถั่วลิสงมาเลี้ยงเปิดทดลองเกิดอาการเป็นพิษเช่นเดียวกับไก่วง โดยมีอาการซึม ปีกตก คอตก ขาอ่อน เพลีย และตายในที่สุด ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของอวัยวะต่างๆ พบว่าตับเป็นอวัยวะที่พบรอยโรคมากที่สุด

อะฟลาท็อกซินสามารถทำอันตรายทั้งมนุษย์และสัตว์หลายชนิด (Pier et al., 1977) การเกิดพิษอย่างเฉียบพลันจะเกิดอาการซึม เบื่ออาหาร ดีซ่าน (icterus) และมีจุดเลือดออกที่กล้ามเนื้อ (Osweiler et al., 1983) และผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าเกิดการตายของเซลล์ตับ (hepatic cell necrosis) มีเม็ดไขมันแทรกในเซลล์ตับ (fatty degeneration) และการเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี (bile duct proliferation) (Bintvihok et al., 1991) ความรุนแรงของสารพิษชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารพิษที่ได้รับ ระยะเวลา ชนิดสัตว์ เพศ อายุของสัตว์ สัตว์แต่ละชนิดมีความไวต่อการเกิดพิษจากอะฟลาท็อกซินแตกต่างกัน สัตว์ที่มีความไวสูงต่ออะฟลาท็อกซิน ซึ่งมีค่า LD₅₀ < 1 mg/kg คือ ปลาเทราต์ แมว และเป็ด (Leeson et al., 1995) สัตว์ปีกมีความไวต่อการเป็นพิษมากกว่าในสุกร โค และกระบือ สัตว์อายุน้อยมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มที่แล้ว ลูกเป็ดมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าลูกไก่และลูกนกกระทาตามลำดับ (ศุภกิจ , 2526 ; อนงค์และคณะ , 2534)

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ประสบผลสำเร็จอย่างมากในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเกษตรกรรมพื้นบ้านมาเป็นเกษตรอุตสาหกรรม และที่ประสบผลสำเร็จดียิ่งคืออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ จากสถิติของแผนงานกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มีการเลี้ยงไก่ทั่วประเทศในปี พ.ศ. 2542 ถึง 780 ล้านตัว คิดเป็นผลผลิตเนื้อไก่ 848,000 ตัน ซึ่งอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่นอกจากจะเลี้ยงไว้บริโภคในประเทศแล้ว ยังสามารถนำเงินตราจำนวนมากเข้าประเทศ จากการส่งออกเนื้อไก่แช่แข็งในปี พ.ศ.2542สามารถส่งออกเนื้อไก่ได้ถึง 260 เมตริกตันคิดเป็นมูลค่า 26,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าปริมาณการเลี้ยงสัตว์

หรือผลผลิตสัตว์ เช่น ไก่ โดยเฉพาะไก่เนื้อที่มีปริมาณการผลิตที่เพิ่มมากขึ้น โดยมีการนำเอา
 วิทยาการแผนใหม่มาผลิตพันธุ์สัตว์ที่ดีให้ผลผลิตสูง แต่ก็พบว่าผลผลิตสัตว์ที่ผลิตได้ใน
 ปัจจุบันไม่ได้ผลตรงตามเป้าหมาย และประสบความสูญเสีย ถึงแม้ว่าจะใช้มาตรการต่างๆ
 เช่น การทำวัคซีนป้องกันโรค การควบคุมสุขศาสตร์ภายในฟาร์ม พบว่ามีความสูญเสียตลอด
 ระยะเวลา 5 ปีติดต่อกัน โดยเฉพาะในกลางปี พ.ศ. 2539 เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่หลายรายประสบ
 ปัญหา ไก่อ่อนแอ มีโรคแทรก อัตราการตายและคัตทิ้งมีมากกว่า 13 เปอร์เซ็นต์ เหตุการณ์
 เหล่านี้เกิดขึ้นโดยต่อเนื่องและสัมพันธ์กับปริมาณของสารพิษต่างๆซึ่งปนเปื้อนในวัตถุดิบ
 อาหารสัตว์ (วารีและอรรณ , 2540) สารพิษเหล่านี้ทำความเสียหายทางเศรษฐกิจมาก
 ในระดับที่สัตว์ไม่แสดงอาการ เพราะจะมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคของร่างกายสัตว์ เช่นการ
 กินอาหารปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินในขณะที่สัตว์ได้รับวัคซีนจะมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโรค
 จากการทดลองให้วัคซีนอหิวาต์ในไก่ และวัคซีนไข้นางแดงในสุกร (อินทิตรา , 2540)

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของอะฟลาท็อกซินปี 1 ในลูกไก่กระทงโดยการกิน
 เพียงครั้งเดียว วัตถุประสงค์คือ

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก ทางพยาธิวิทยา ทางโลหิตวิทยา และ
 เคมีเลือด ในลูกไก่กระทงที่ได้รับอะฟลาท็อกซินปี 1 เพียงครั้งเดียว
2. เพื่อศึกษาปริมาณของอะฟลาท็อกซินปี 1 ที่ถูกขับออกทางอุจจาระในลูกไก่
 กระทง

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อะฟลาท็อกซินบี 1 เป็นสารที่ทำให้เกิดเป็นพิษสูง (LD_{50} 1- 50 mg/kg) (ตารางที่ 1) ซึ่งความเป็นพิษของท็อกซิน จะขึ้นอยู่กับ ขนาด และเวลา จะทำให้เกิดอาการแบบเฉียบพลันหรือเรื้อรัง การเป็นพิษแบบเฉียบพลันทำให้เกิดอาการทางคลินิก คือ ซึม เบื่ออาหาร ดีซ่าน (เกรียงศักดิ์ , 2540) ผลทางจุลพยาธิวิทยา มีการตายของเซลล์ตับและมีการขยายใหญ่และเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี (Osweiler *et al.* , 1983) ส่วนอาการแบบเรื้อรังโดยการได้รับท็อกซินจำนวนน้อยแต่ต่อเนื่องเป็นเวลานาน พบว่าในโค สุกร และสัตว์ปีก มีน้ำหนักลดลงในโคนมจะมีน้ำนมลดลงด้วย นอกจากนี้ในสุกรและสัตว์ปีกยังพบว่าอัตราการแลกเปลี่ยนลดลงด้วย (Smith and Ross , 1991) ผลทางจุลพยาธิวิทยา พบการตายของเซลล์ตับ การขยายใหญ่และเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี (Osweiler *et al.* , 1983) อะฟลาท็อกซินบี 1 ซึ่งเป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อตับนั้นจะมีระดับซึ่งน้อยกว่าค่า LD_{50} ถึงครึ่งเท่า (Leeson *et al.* , 1995) อะฟลาท็อกซินจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด เกิดขบวนการสันดาปและลดความเป็นพิษที่ตับซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1. ส่วนที่ 1 (Phase I reactions) ประกอบด้วยขบวนการออกซิเดชัน (oxidation) รีดักชัน (reduction) และ ไฮโดรไลซิส (hydrolysis)
2. ส่วนที่ 2 (Phase II reactions) ซึ่งเป็นเมตาโบไลต์ของส่วนที่ 1 รวมกับ เอ็มไซม์ในตับเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย

1. Phase I reactions

เอนไซม์พี-450 ที่อยู่ในเอนโดพลาสมิครีติคูลัม จะทำให้เกิดกระบวนการ Hydroxylation , O-demethylation และ Epoxydation (รูปที่ 2) Hydroxylation โดยใช้เอนไซม์พี-450 ไมโครโซมของตับ (microsomal p-450) เปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็น อะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 คิว 1 และบี 2เอ ซึ่งเป็นพิษน้อยกว่าและละลายได้ในน้ำ PattersonและRoberts (1970) รายงานว่าในตับของลูกไก่ หนูตะเภา และหนูถีบจักร สามารถเมตาโบไลต์อะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 ประมาณ 5 - 10 % เท่านั้น ส่วนใหญ่แล้วจะพบอะฟลาท็อกซินบี 2เอ มากกว่า ซึ่งอะฟลาท็อกซินบี 2เอ นี้จะเป็นพิษต่อตัวอ่อนของลูกไก่น้อยกว่าขนาด LD_{50} ของอะฟลาท็อกซินบี 1 ถึง 100 เท่า

O-demethylation โดยใช้เอนไซม์พี-450 ในไมโครโซมของตับ เปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็น อะฟลาท็อกซินพี 1 ซึ่งพบได้ในหนูแรท หนูเม้าส์ หนูตะเภา และกระต่าย แต่อย่างไรก็ตามไม่พบขบวนการนี้ในสัตว์ปีก (Patterson, 1973; Hsieh *et al.*, 1977)

Epoxidation เอนไซม์พี-450 ในไมโครโซมของตับช่วยให้มีการสันดาปเกิดการเปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาท็อกซิน 1-8,9 อีพ็อกไซด์ ซึ่งไม่คงตัวและสามารถไปเกาะหรือจับตัวกันอย่างแน่นกับโมเลกุลใหญ่ในเซลล์ เกิดเป็นอะฟลาท็อกซินบี 1 จับแน่นกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนอื่นๆ การจับตัวกันแน่นนี้ถือเป็นขั้นตอนจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งในปฏิกิริยาที่มีผลต่อการเกิดพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) และการก่อมะเร็งตับของอะฟลาท็อกซินบี 1 (อนงค์, 2540)

Reduction โดยใช้เอนไซม์ไซโตโซลรีดักเตสในตับ (cytosol reductase enzyme) เปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาท็อกซิโคล (aflatoxicol) ซึ่งเป็นขั้นตอนลดความเป็นพิษ เนื่องจากความรุนแรงของการเป็นพิษหรือการก่อมะเร็งจากเมตาโบไลต์มีฤทธิ์น้อยกว่าอะฟลาท็อกซินบี 1 (อนงค์, 2540)

Phase II reactions

ปฏิกิริยา conjugation (conjugation) ของเมตาโบไลต์ของอะฟลาท็อกซิน ซึ่งเป็นขั้นตอนลดความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน อนงค์ (2540) รายงานว่าการรวมตัวของอะฟลาท็อกซินบี 1-8,9 อีพ็อกไซด์กับกลูตาไทโอน โดยอาศัยเอนไซม์ไซโตโซลกลูตาไทโอน เอสทรานสเฟอเรส (cytosol glutathione - S - transferase) เกิดเป็นกลูคูโรไนด์ (glucuronide) หรืออะฟลาท็อกซินบี 1 - กลูตาไทโอน (aflatoxin B1 - glutathione) Chipley และคณะ (1974) รายงานว่าในไก่ที่ได้รับ ^{14}C อะฟลาท็อกซินบี 1 เมตาโบไลต์ส่วนใหญ่ที่ได้จะเป็นอะฟลาท็อกซินบี 2 เอ ซึ่งจะ conjugate กับเปปไตด์ หรือกรดอะมิโน ส่วนน้อยจะพบอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 conjugate กับ กลูโคโรไนด์

ขบวนการกำจัดอะฟลาท็อกซินออกจากร่างกาย (Elimination)

การใช้สารไอโซโทปซึ่งติดที่อะฟลาท็อกซินในไก่ พบว่าท็อกซินและเมตาโบไลต์ของท็อกซิน ส่วนมากจะถูกกำจัดออกทางน้ำดี และส่วนน้อยทางไตและทางเดินอาหาร Sawhey และคณะ (1973) รายงานว่าการให้คาร์บอนติดฉลาก (^{14}C) ที่อะฟลาท็อกซินในไก่ไซฟันธ์์ เลคฮอร์น พบว่าอะฟลาท็อกซินและเมตาโบไลต์จะถูกขับออกอย่างรวดเร็วผ่านรวมทางอุจจาระและปัสสาวะ (urinary-fecal excretion route) ซึ่งจะถูกขับออก 28 % ภายใน 24

ข้าวโม่ง 71 % จะถูกขับออกมาภายใน 7 วัน ซึ่งอัตราส่วนของการขับออกของอะฟลาท็อกซินผ่านทางน้ำดี ปัสสาวะ และอุจจาระ คิดเป็น 70:15:15 ตามลำดับ (Harland และ Cardelino, 1975)

ภาวะการเกิดพิษของอะฟลาท็อกซิน (Toxicodynamic : Mechanism of Action of Aflatoxin)

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าอะฟลาท็อกซินบี1 เป็นสารพิษที่ร้ายแรงที่สุดในการก่อมะเร็งที่ตับในหนูและปลาเทราต์ นอกจากนี้แล้วยังทำให้เกิดมะเร็งที่ตับในสัตว์ชนิดอื่นด้วย (Hsieh, 1985) ซึ่งอะฟลาท็อกซินสามารถรวมตัวกับ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนของเซลล์ตับ (รูปที่ 3) ในรูปของอะฟลาท็อกซิน 1-8,9 อีพ็อกไซด์ และออร์แกนเนลที่สำคัญคือนิวเคลียสของเซลล์ตับ (hepatocyte) ถึงแม้ว่าภาวะการเกิดมะเร็งของอะฟลาท็อกซินบี 1 ยังไม่มีการทราบกลไกอย่างแน่ชัด แต่พบว่าเกี่ยวข้องกับ proto-oncogene และ anti-oncogene mutation เกิด DNA adduct ซึ่งการที่ ดีเอ็นเอรวมตัวกับอะฟลาท็อกซิน 1-8,9 อีพ็อกไซด์เป็นตัวบ่งชี้ทำให้เกิดการมิวเตชันของยีน McMahone และคณะ (1986) รายงานว่าอะฟลาท็อกซิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ C-Ki-ras gene ที่ codon 12 (GAA) ของ glycine ในตับของหนู นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงใน C-Ha-ras และ C-myc oncogene ในเซลล์ตับของหนูด้วย (Tashiro et al., 1986) Aguilera และคณะ (1993) รายงานว่าอะฟลาท็อกซินบี 1 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก G→T ที่ codon 245 ของ p53 tumor suppressor gene ของเซลล์ตับของมนุษย์

ภาวะอะฟลาท็อกซิโคซิสในไก่กระตัง

ได้มีการศึกษาผลของอะฟลาท็อกซินในไก่กระตังกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งการทดลองครั้งแรกโดย Asplin และ Carnaghan (1961) ได้ทดลองโดยใช้กากถั่วลิสงปนที่พบแล้วว่ามีพิษของอะฟลาท็อกซินสูงในเบ็ด ให้ลูกไก่กินเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลพบว่าลูกไก่ไม่มีความไวสูงต่อพิษของอะฟลาท็อกซิน ส่วนใหญ่จะทำให้การเจริญเติบโตลดลง ต่อมา Archibald และคณะ (1962) ได้ทดลอง โดยให้ไก่กระตังกินกากถั่วลิสง ซึ่งไม่ทราบปริมาณของอะฟลาท็อกซินเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตลดลงและตับมีสีซีดแต่ขนาดไม่ขยายใหญ่ แต่อย่างไรก็ตาม Carnaghan และคณะ (1966) ได้ทดลองในลูกไก่อายุ 1 วัน ให้กินกากถั่วลิสงซึ่งมีปริมาณของอะฟลาท็อกซินบี 1 ประมาณ 10 ppm. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าลูกไก่เมื่ออายุได้ 7 วัน จะมีขนาดเล็กลงการเจริญเติบโตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออายุได้ 4 สัปดาห์ น้ำหนักตับสัมพัทธ์มีค่ามากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ตับมีลักษณะเหลืองนํม

ขยายใหญ่ สีซีด และผลทางจุลพยาธิวิทยาพบว่ามีความผิดปกติของเซลล์ตับ มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ซึ่งพบได้ในชั่วโมงที่ 86 หลังจากให้ท็อกซิน และพบเม็ดไขมันแทรกในเซลล์ตับเป็นเวลา 21 วัน หลังจากนั้นตับจะกลับสู่สภาพปกติภายใน 7-8 สัปดาห์

Schroeder และคณะ (1972) ได้ทดลองในไก่กระต่ายอายุ 1 วัน โดยให้อะฟลาท็อกซินขนาด 0 0.4 0.8 1.6 และ 3.2 mg/kg เพียงครั้งเดียว (single dose) ผ่านทางกระเพาะโดยตรง ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงเป็นเวลา 46 วัน พบว่าไก่เพศผู้ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินในขนาด 3.2 mg/kg มีการเจริญเติบโตลดลงในวันที่ 4 และ 11 ผลการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินทุกขนาดในตับ พบว่ามีการเสื่อมของเซลล์ตับ มีการขยายใหญ่ของท่อน้ำดี และมีกลุ่มของลิมโฟไซต์แทรกในเนื้อเยื่อตับ ในวันที่ 46 ของการทดลองไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินขนาด 3.2 mg/kg ตรวจไม่พบรอยโรคที่ตับ แต่ในไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินขนาด 0.8 และ 1.6 mg/kg ยังคงพบมีท่อน้ำดีขยายใหญ่ขึ้นเล็กน้อย (mild degree of bile duct hyperplasia)

Huff และคณะ (1986) ได้ศึกษาผลของอะฟลาท็อกซินที่มีผลต่อไก่กระต่าย โดยผสมอะฟลาท็อกซินในอาหารขนาด 0 1.25 2.5 และ 5.0 ppm. ให้ไก่กระต่ายกินตั้งแต่อายุ 1 วัน จนถึง 3 สัปดาห์ พบว่าในไก่ที่ได้รับในขนาด 2.5 ppm. และ 5 ppm. น้ำหนักตัวของไก่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 6 และวันที่ 17 ของการทดลอง น้ำหนักสัมพัทธ์ของ กระเพาะแท้ กระเพาะบด ม้าม ไต และตับเพิ่มขึ้นในวันที่ 6-21 ของการทดลอง ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบิน จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 12 และในวันที่ 21 ของการทดลอง ซีรั่มอัลบูมินและโปรตีนจะลดลง ในวันที่ 3-6 ของการทดลอง ซีรั่มยูริก แอซิด ไตรกลีเซอไรด์ โคลเลสเตอรอล และแลคเตดดีไฮโดรจีเนส จะลดลง ในวันที่ 12-21 ของการทดลอง

ผลของอะฟลาท็อกซินต่ออาการทางคลินิกและการเจริญเติบโต

อาการของโรค Turkey x disease พบว่ามีอาการเบื่ออาหาร ซึม นอนหมอบ การทรงตัวผิดปกติ ตัวที่ตายจะมีอาการทางประสาทแบบโอพิสโทโทนิส (opisthotonus) เช่น คอโค้ง (arched neck) ตัวบิดกลับ ขาเหยียดไปข้างหน้า (Hamilton et al., 1972) อาการทางประสาทที่พบส่วนใหญ่จะพบในเป็ดและไก่วง

Rao และ Joshi (1993) ได้ทำการทดลองโดยป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาด 4 mg/kg ในไก่อายุ 1 วันกินเพียงครั้งเดียว ไก่จะมีอาการซึมกินน้ำและอาหารลดลงภายใน 2 - 4 วัน มีอาการไม่มีแรง เช่น ปีกตกลง ขาอ่อน นอกจากนี้แล้วยังพบว่าไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินยังมีเยื่อเมือกซีดกว่าปรกติเนื่องมาจากที่อกซินมีผลทำให้การดูดซึมของ carotenoids ที่ลำไส้ลดลง (Tyczkowski and Hamilton , 1987 ; Schaeffer *et al.*, 1988)

ผลของอะฟลาท็อกซินต่อการเจริญเติบโต ขึ้นอยู่กับขนาดของที่อกซินและระยะเวลาที่ให้ ซึ่ง Doerr และ คณะ (1983) ได้ทดลองให้อะฟลาท็อกซินขนาด 0.065 - 2.7 ppm. ผสมอาหารให้ไก่กระทงกินตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 7 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตและน้ำหนักลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Daffalla และคณะ (1987) รายงานการให้อะฟลาท็อกซินในขนาด 0.5 ppm. ในลูกไก่อายุ 7 วัน จนถึง 4 สัปดาห์ ทำให้ไก่อมีน้ำหนักลดลง และกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.01$)

Reddy และคณะ (1984) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซินขนาด 0.75 - 1 ppm. ในไก่กระทงกินตั้งแต่ 1 วัน จนถึง 21 วัน พบว่าน้ำหนักและการกินอาหารลดลง แต่ถ้าให้ขนาด 1 ppm. เป็นเวลา 7 วัน หรือ 14 วัน ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่

Giambrone และคณะ (1985) ได้ทดลองให้อะฟลาท็อกซินบี 1 ในรูปของแคปซูล ในไก่กระทงอายุ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าให้ขนาด 0.5 และ 1 ppm. น้ำหนักไก่เฉลี่ยภายใน 5 สัปดาห์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

Ram และคณะ (1988) ได้ทดลองโดยให้อะฟลาท็อกซินขนาด 1 ppm. และ 4 ppm. ในไก่กระทงอายุ 1 วันจนถึง 12 สัปดาห์ สังเกตการเจริญเติบโตทุก 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อไก่อมีอายุ 4 8 และ 12 สัปดาห์ มีน้ำหนักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลของอะฟลาท็อกซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา

Huff และคณะ (1986) ได้ทดลองให้อะฟลาท็อกซินในขนาด 1.25 2.5 และ 5 ppm. ผสมอาหารในไก่กระทงให้ตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 3 สัปดาห์ ทำการผ่าซากไก่ทุกๆ 3 วัน ในวันที่ 3 6 9 12 15 17 และ 21 วัน พบว่าเมื่อให้อะฟลาท็อกซินในขนาด 5 ppm. น้ำหนักสัมพัทธ์ของกระเพาะแท้ กระเพาะบด ไต และ ม้าม มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ส่วนน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับลดลงในวันที่ 6 หลังป้อนอะฟลาท็อกซิน ขนาด 5 ppm. และในวันที่ 9 หลังป้อนในขนาด 2.5 ppm. หลังจากนั้นน้ำหนักสัมพัทธ์จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 12 และ 17 โดยให้ขนาด 5 ppm. และ 2.5 ppm. เช่นเดียวกับกับ Smith และ Hamilton (1970) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซินขนาด 2.5 5 และ 10 ppm. เป็นเวลา 3 สัปดาห์ น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และม้ามมีขนาดเพิ่มขึ้น จากการชันสูตรซากไก่ที่ให้ในขนาดสูงตั้งแต่ 2.5 ppm. ขึ้นไปพบว่า ตับจะมีสีซีด ขยายใหญ่ ตับอ่อนและ ไตขยายใหญ่ แต่ต่อมเบอริซามีขนาดเล็กลง

Daffalla (1987) ได้ทดลองโดยป้อนอะฟลาท็อกซินปี 1 ขนาด 0.5 ppm. ผสมอาหารให้ไก่กระทงอายุ 1 วัน กินติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์และหยุดให้เพื่อดูระยะฟื้นตัวเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากการผ่าซากพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 มีจุดเลือดออกที่กล้ามเนื้อตับและหัวใจ มีการคั่งของเลือดที่ตับ ไต และ ม้าม สัปดาห์ที่ 2 และ 3 พบหย่อมเลือดออก ที่กล้ามเนื้อตับและหน้าอก น้ำดีมีลักษณะใส นี้น้อยกว่าปกติ ตับมีห้อเลือด (haematoma) ไต และม้ามมีการคั่งของเลือด สัปดาห์ที่ 4 ตับมีลักษณะซีดมีสีเหลือง มีการคั่งของเลือดอยู่เป็นหย่อมกระจายอยู่ทั่วไป ผลทางจุลพยาธิวิทยา ในสัปดาห์ที่ 1 มีการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty change) และมีกลุ่มของลิมโฟไซต์แทรกกระจายในเนื้อตับ มีการคั่งของเลือดในม้าม ตับ และหัวใจ มีการแทรกของไขมันในเซลล์เยื่อบุท่อไต ที่โกลเมอรูล (glomeruli) และมีการแทรกของลิมโฟไซต์ สัปดาห์ที่ 2 และ 3 ยังคงพบมีการแทรกของไขมันและมีการตายของเซลล์ตับ มีการขยายใหญ่ของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ในไตมีการแทรกของลิมโฟไซต์และเม็ดไขมันในเซลล์เยื่อบุท่อไต ม้ามพบมีการฝ่อลีบของเซลล์สร้างลิมโฟไซต์ มีการคั่งของเลือดในช่องหัวใจ สัปดาห์ที่ 4 ในตับยังคงพบมีการแทรกของไขมันและมีการตายของเซลล์ตับตรงบริเวณเส้นเลือดดำ มีการขยายใหญ่ของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ในไตพบพยาธิสภาพเหมือนในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากนั้นทำการเลี้ยงไก่ต่อไปอีก 3 สัปดาห์ โดยไม่ให้กินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินผสมอยู่ ไม่พบมีการตายของเซลล์ตับและการขยายใหญ่ของท่อน้ำดี พบการเสื่อมของเซลล์ตับที่บริเวณ centrilobular zone แต่ในไตยังคง

พบมีการแทรกของไขมันและมีการตายของเซลล์เยื่อบุท่อไต และไม่พบการเปลี่ยนแปลงในหัวใจและม้าม

Balachandran และ Ramakrisnan (1987) ได้รายงานผลการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของอะปลาที่อกซินในไก่กระทงอายุ 1 - 28 วัน โดยกินอะปลาที่อกซินในขนาด 1 ppm. และ 3 ppm. ผสมอาหารให้กินตลอดการทดลอง ทำการผ่าซาก 9 ตัว ต่อสัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ตับเป็นอวัยวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัด โดยจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เป็นสีเหลืองและเหลวนิ่ม ผลทางจุลพยาธิวิทยา ตับมีหย่อมเนื้อตาย มีการขยายใหญ่ของท่อน้ำดี มีการเสื่อมของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรกและถูกแทนที่ด้วยเยื่อพังผืด (fibrous tissues) ไตจะพบมีการเสื่อมสภาพของเยื่อบุท่อไตมีเลือดออก และมีการแทรกของลิมโฟไซต์ กล้ามเนื้อต้นขาจะพบมีการเสื่อมแบบ hyaline degeneration รอยโรคจะพบมากในรายที่ให้ที่อกซินขนาด 3 ppm. โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ของการทดลอง

Espada และคณะ (1992) ได้อธิบายรอยโรคต่างๆที่พบในไก่กระทงอายุ 1 วัน ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอะปลาที่อกซินผสมในขนาด 0.2 และ 3 ppm. เป็นเวลา 21 วัน และเลี้ยงต่อเพื่อดูช่วงเวลากลับสู่สภาพเดิม (recovery period) เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีการแทรกของไขมัน (fatty change) ในเซลล์ตับ มีการขยายใหญ่และเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี มีการฝ่อลีบของลิมโฟไซต์ ในต่อมเบอริช่า การเปลี่ยนแปลงนี้ยังคงพบได้ตลอดแม้จะอยู่ระหว่างระยะกลับสู่สภาพเดิม

Mollenhauer และคณะ (1985) ได้ทำการทดลองในไก่กระทงเพศผู้ ตั้งแต่อายุ 1 วัน - 3 สัปดาห์ โดยให้กินอะปลาที่อกซินผสมอาหารขนาด 1.25 2.5 และ 5 ppm. ทำการผ่าซาก ในวันที่ 3 6 9 17 และ 21 เก็บตับเพื่อตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน พบว่าไก่ที่ให้ที่อกซินในขนาด 2.5 และ 5 ppm. ตั้งแต่วันที่ 3 - 21 พบรอยโรคที่ตับคือ เซลล์ตับมีการแทรกของไขมัน (fatty change) บางเซลล์มีการตาย ขนาดของไมโทคอนเดรียลดลง และมีการขยายใหญ่ของท่อน้ำดีฝอย (enlargement of bile canaliculi)

ผลของอะปลาที่อกซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาคลินิกและเคมีเลือด

การเปลี่ยนแปลงทางซีรัมหรือพลาสมาเอนไซม์ สามารถเป็นตัววัดในการเกิดภาวะเป็นพิษของอะปลาที่อกซินในไก่ การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ serum glutamic oxaloacetic

transaminase (SGOT) และ serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) เนื่องมาจากมีการเสื่อมและการตายของเซลล์ตับ จึงพบเอนไซม์นี้เพิ่มขึ้นสูงในกระแสเลือด จากการทดลองของ Daffalla และคณะ (1987) เมื่อไก่กระทงอายุ 1 วัน กินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินในขนาด 3 และ 6 ppm. เป็นเวลา 42 วัน ซึ่งเอนไซม์นี้จะขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ของการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Fernandez และคณะ (1994) ได้ทดลองผสมอะฟลาท็อกซินในขนาด 2.5 และ 5 ppm. ในไก่กระทงอายุ 23 วันกินเป็นเวลา 32 วัน ซึ่งค่า SGOT และ SGPT ไม่เปลี่ยนแปลง

Raou และ Joshi (1993) ได้ทำการทดลองในไก่กระทงอายุ 1 วันโดยป้อนอะฟลาท็อกซินปี 1 ขนาด 4 mg/kg เพียงครั้งเดียว พบว่า 96 ชั่วโมงหลังจากนั้นค่าของซีรัม SGPT เพิ่มขึ้นสูงถึง 2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Tung และคณะ (1975) ได้ทดลองโดยผสมอะฟลาท็อกซินปี 1 ในอาหารขนาด 0.625 - 10 ppm. ให้ไก่กระทงกินตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 3 สัปดาห์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่าทางโลหิตวิทยา โดยค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน จำนวนเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อให้ขนาด 0.625 ppm. หรือมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Reddy และคณะ (1984) รายงานว่า การให้อะฟลาท็อกซินผสมอาหารในขนาด 0.75 หรือ 1 ppm. ทำให้ค่าฮีโมโกลบิน และค่าฮีมาโตคริตลดลง

Mohiuddin และคณะ (1986) ได้ทดลองในไก่เพศผู้อายุ 6 วัน โดยให้อะฟลาท็อกซินผสมอาหารในขนาด 20 ppm. กินเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน จำนวนเม็ดเลือดแดง จำนวนเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆลดลง ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Fernandez และคณะ (1995) ทำการผสมอะฟลาท็อกซินในอาหารขนาด 2.5 และ 5 ppm. ให้ไก่กระทงกินเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ค่าฮีมาโตคริต และจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น เมื่อให้ในขนาด 5 ppm. ส่วนที่ให้ท็อกซินในไก่กระทงพบว่าค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงลดลงเล็กน้อย ส่วนค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินไม่เปลี่ยนแปลง

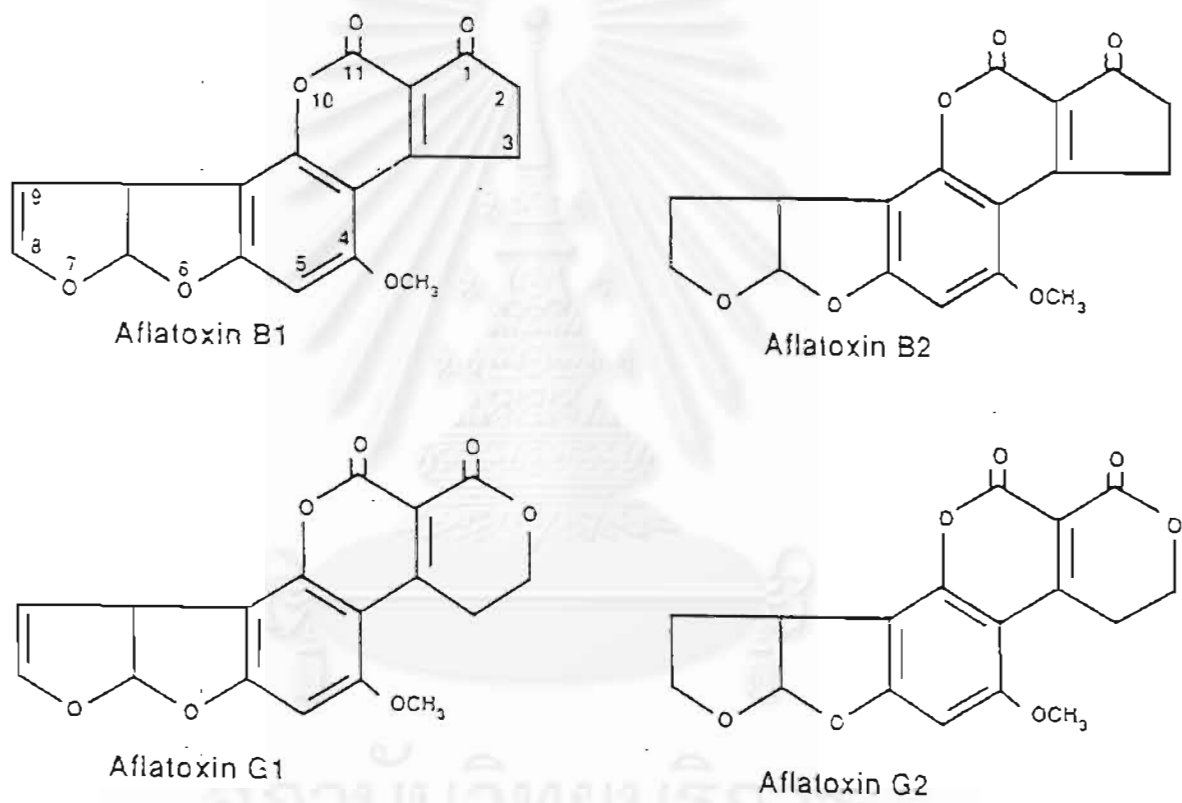
การขับออกของอะฟลาท็อกซินในอุจจาระ

Bintvihok และคณะ (1993) ได้ทำการทดลองในนกกระทาไขญี่ปุ่น อายุ 35 วัน โดยให้อะฟลาท็อกซินปี 1 กินผสมอาหารติดต่อกันในขนาด 50 100 200 ppb. เป็นเวลา 12

ลัปดาห์ แล้วตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินในอุจจาระ พบว่าปริมาณของท็อกซินในอุจจาระ จะลดลงใน 2 - 3 ลัปดาห์แรก จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนสูงสุด ในลัปดาห์ที่ 3 - 6 และลดลงใน ลัปดาห์ที่ 8

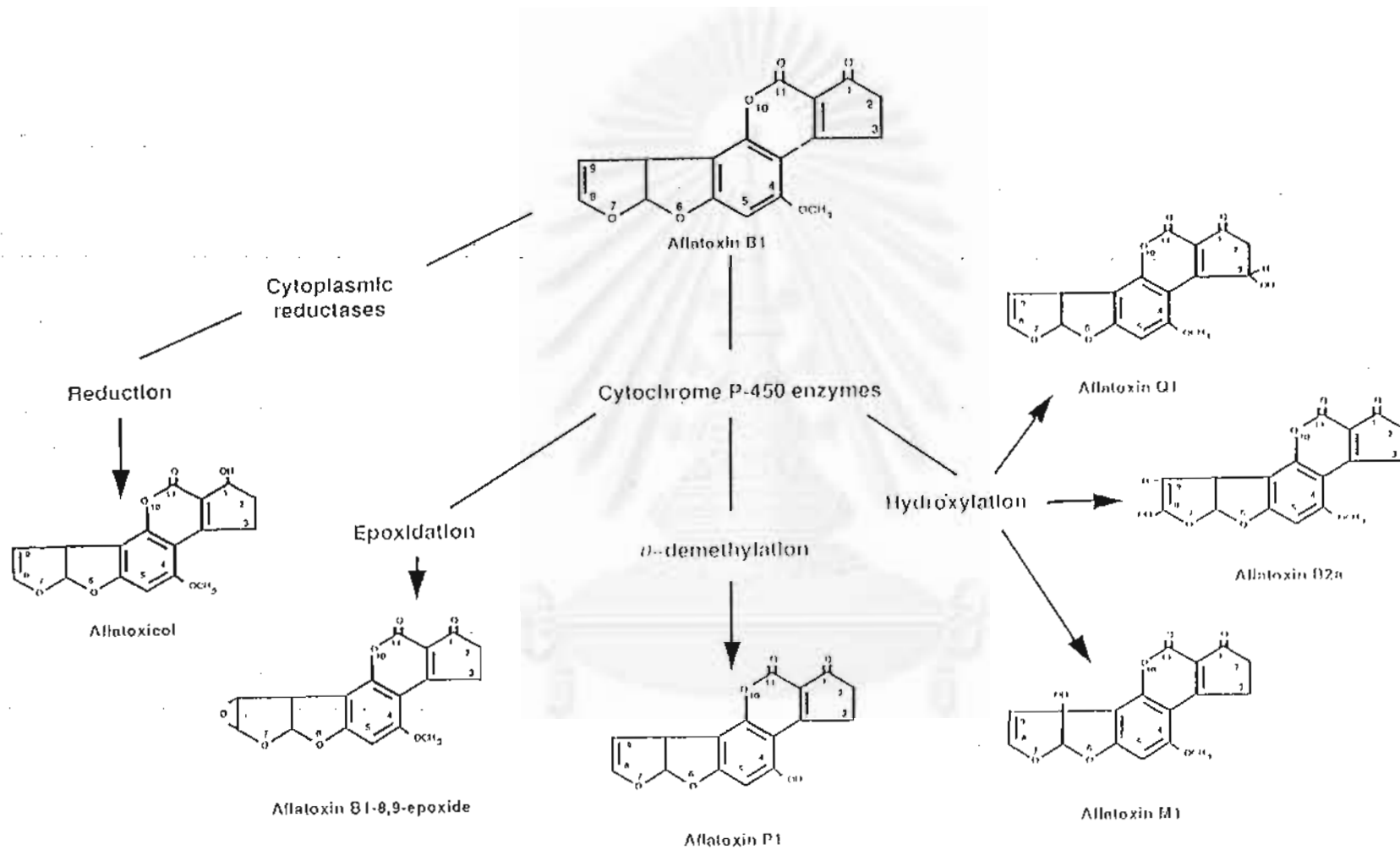
ตารางที่ 1 ค่าLD₅₀ ของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาดให้กินเพียงครั้งเดียว (single dose) ในสัตว์ชนิดต่างๆ (Patterson , 1973)

ชนิดสัตว์	LD ₅₀ (mg/kg)
กระต่าย	0.3-0.5
เป็ด	0.34-0.56
แมว	0.55
สุกร	0.62
ปลาเรนโบว์เทราต์	0.81 (intraperitoneal)
สุนัข	1.0
หนูตะเภา	1.4-2.0
แกะ	2.0
ลิง	2.2
ไก่	6.5-16.5
หนูเมาส์	9.0
หนูแฮมเตอร์	10.2
หนูแรท	5.5-17.0

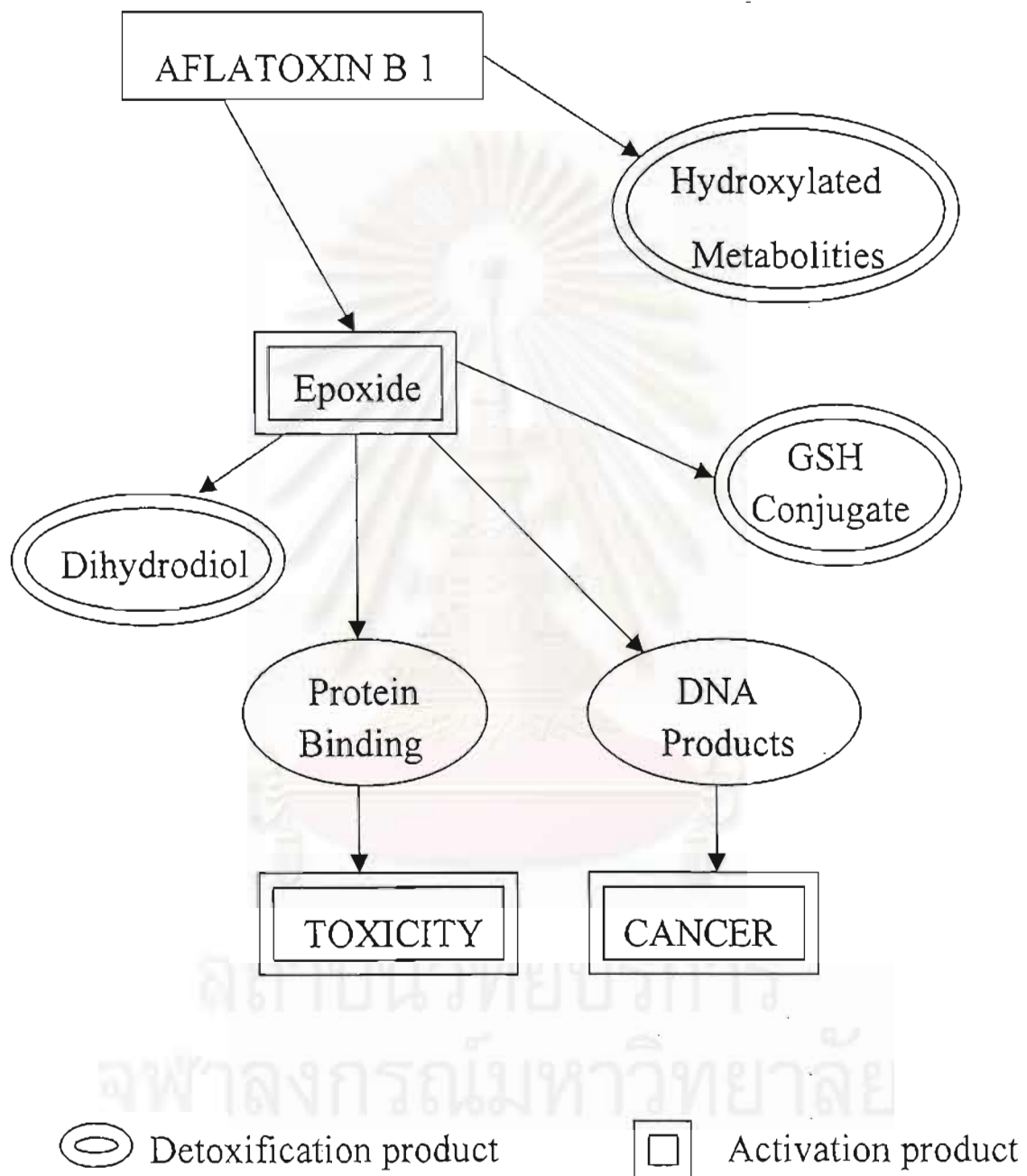


รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของอะฟลาท็อกซินที่พบในธรรมชาติ

(Eaton และ groopman , 1994)



รูปที่ 2 Metabolic pathways ของอะฟลาทอกซินบี 1 (Leeson *et al.* , 1995)



รูปที่ 3 แสดงถึงการเป็นพิษ และการเกิดมะเร็งของอะฟลาท็อกซินบี 1 (Eaton และ Groopman , 1994)

วัสดุและวิธีการ

วัสดุและวิธีการ

- สารมาตรฐานอะฟลาท็อกซินบี 1 (Sigma[®]) ขนาด 50 มิลลิกรัม ซึ่งอยู่ในรูปเป็นผง นำมาละลายในน้ำมันมะกอก (olive oil) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วย ultrasonic wave เป็นเวลา 30 นาที

- ลูกไก่ทดลอง ลูกไก่กระทงพันธุ์เซฟเวอร์ สตาร์โบ (Shaver starbo) อายุ 1 วัน คณะเพศ จำนวน 300 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง (treatment) กลุ่มละ 100 ตัว โดยแต่ละกลุ่มทดลองแบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว นำมาแยกเลี้ยงบนกรงลวดถักพื้นที่ 0.6 ตารางเมตร ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับไก่เล็ก ซึ่งตรวจพบแล้วว่ามียะดับของอะฟลาท็อกซิน 25.8 ppb. ด้วยวิธี Enzyme linked - immunosorbent assay (ELISA) ให้อาหารและน้ำไม่จำกัด ในทุกกลุ่มทดลอง เลี้ยงลูกไก่จนอายุได้ 5 วันเพื่อปรับสภาพร่างกาย มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 100 กรัม จึงเริ่มการทดลองดังนี้

- ลูกไก่ทดลองกลุ่มที่ 1 แบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม โดยได้รับการป้อนน้ำกลั่น ในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม โดยใช้ ไมโครปิเปต

- ลูกไก่ทดลองกลุ่มที่ 2 แบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม โดยได้รับการป้อนน้ำมันมะกอก ในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม โดยใช้ ไมโครปิเปต

- ลูกไก่ทดลองกลุ่มที่ 3 แบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับอะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาด 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (LD₅₀) (Smith and Hamilton, 1970) โดยใช้ไมโครปิเปต

ทำการทดลองดังนี้

1. สังเกตอาการทางคลินิกของลูกไก่แต่ละกลุ่มทดลองเป็นเวลา 10 วัน โดยทุกวัน สุ่มตัวอย่างลูกไก่ทดลองกลุ่มละ 8 ตัว (2 ตัวต่อ 1 ซ้ำ) นำมาชั่งน้ำหนัก และชั่งน้ำหนักตับ เพื่อมาคำนวณหาค่าน้ำหนักตับสัมพัทธ์

2. เก็บเลือดลูกไก่ทดลองทั้ง 3 กลุ่มทุกวัน กลุ่มละ 8 ตัว (2 ตัวต่อ 1 ซ้ำ) ทุกวันจนครบ 10 วัน เจาะเลือดจากหัวใจ แบ่งเลือดที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน

2.1 ส่วนที่หนึ่ง เลือดปริมาณ 1 มิลลิลิตรใส่ในขวดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA : ethylene diamine tetraacetic acid) เพื่อใช้ตรวจทางโลหิตวิทยา ประกอบด้วยค่า

2.1.1 ค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) โดยวิธี microcapillary tube method โดยใช้ความเร็ว 12,000 รอบ/ นาที เป็นเวลา 5 นาที ใน international microhematocrit centrifuge

2.1.2 ค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin) โดยวิธีของ Simmons (1968)

2.1.3 นับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด(total red blood cells count) และจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด(total white blood cells count) โดยใช้สารละลาย Natt and Herrick's solution และ Hemocytometer (Natt and Herrick , 1956)

2.1.4 ทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง ย้อมด้วย Wright giemsa stain จำแนกประเภทเม็ดเลือดขาว (Campbell , 1995)

2.2 ส่วนที่สอง เลือดปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว ปั่นแยกเอาซีรัม นำมาตรวจค่าเคมีเลือด ประกอบด้วยค่า serum glutamic oxaloacetic-transaminase (SGOT) , serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) และ blood urea nitrogen (BUN) โดยวิธีของ Benjamin (1961)

3. ผ่าชันสูตรซากไก่ทดลองทั้ง 3 กลุ่มทุกวันจนครบ 10 วัน กลุ่มละ 8 ตัว(2 ตัวต่อ 1 ซ้ำ) เพื่อตรวจรอยโรคด้วยตาเปล่า (gross pathology) และเก็บตัวอย่างอวัยวะ ได้แก่ ตับ ไต ลำไส้ ต่อมเบอริชซ่า ม้าม ต่อมไทมัส และกล้ามเนื้อ เพื่อตรวจดูความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยา ดังนี้

3.1 การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาโดยนำอวัยวะต่างๆ แช่ในน้ำยาคงสภาพ 10 % 포르มาลิน นำมาเตรียมเนื้อเยื่อและฝังพาราฟิน โดยวิธีทางฮีสโตเทคนิคตัดเนื้อเยื่อหนา 4 ไมครอน โดยย้อมด้วยสี Harris haematoxylin and eosin (Sheehan and Hrapchak , 1980) ย้อมสีพิเศษ Periodic acid schiff (Luna , 1968) และย้อมสีพิเศษ Masson's trichrome stain (Sheehan and Hrapchak , 1980)

3.2 การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเคมี ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อเยือกแข็ง (cryostat) ภายใต้อุณหภูมิต่ำ (- 16 องศาเซลเซียส) หนา 10 ไมครอน แล้วทำการตรวจหาเม็ดไขมันด้วยสี Oil Red O (โดยวิธีประยุกต์ของพิสุทธิ์ , 2538)

4. เก็บอุจจาระของลูกไก่ทดลองทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ในแต่ละเช้า ก่อนทำการทดลอง 1 วัน เพื่อเป็นการควบคุมในการหาปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 และเก็บอุจจาระทุกวันจนครบ 10 วัน หลังการทดลอง ปริมาณอุจจาระเช้าละ 50 กรัม นำมาสกัด (Sugano *et al.*, 1993) และทำให้

บริสุทธิ์เพื่อหาอะฟลาท็อกซินบี 1(Hirano *et al.*, 1992) และตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน บี 1 ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) โดยใช้ Densitometer (AOAC , 1990)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

หาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบน้ำหนักดับสัมพัทธ์ เปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาและเคมีเลือดของลูกไก่แต่ละกลุ่มโดยวิธี General Linear Models และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี Least Square Analysis (SAS Institute Inc , 1985)



บทที่ 4

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลอง

อาการทางคลินิก

- ในวันที่ 1 หลังจากป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 พบว่าลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่มไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ
- ในวันที่ 2 พบว่า ในกลุ่มที่ 3 ที่ป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ในซ้ำที่ 3 มีลูกไก่ตาย 1 ตัว และ 2 ตัวนอนหมอบ ซึม ส่วนลูกไก่ที่เหลือส่วนใหญ่แสดงอาการซึม เคลื่อนไหวช้า กินอาหารลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2
- ในวันที่ 3 ลูกไก่ในกลุ่มที่ 3 ที่แสดงอาการซึม กลับมีอาการดีขึ้นเป็นปกติ เหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2
- ในวันที่ 4 - 10 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีอาการปกติเหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2

ฮีมาโตคริต

- ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$)
- ในวันที่ 1 และวันที่ 3 - 10 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 4

ฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด

- ในวันที่ 1 - 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3 4 และรูปที่ 4

จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด

- ในวันที่ 1 2 3 และ 8 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$)
- ในวันที่ 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเพิ่มมากขึ้น ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 5

ลิมโฟซัยต์

- ในวันที่ 2 7 8 9 และ 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6 และ รูปที่ 5

เฮตเทอโรฟิล

- ในวันที่ 2 3 5 และ 7 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7 และ รูปที่ 5

โมโนซัยต์

- ในวันที่ 2 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8 และ รูปที่ 6

อีโอซิโนฟิล

- ในวันที่ 4 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) และในวันที่ 10 มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 9 และ รูปที่ 6

แบซิฟิล

- ในวันที่ 1 - 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10 และรูปที่ 6

SGOT และ SGPT

- ในวันที่ 1 - 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11 12 และรูปที่ 7

BUN

- ในวันที่ 4 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าลดลง ($P < 0.05$)

- ในวันที่ 6 7 และ 9 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 13 และ รูปที่ 7

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริตของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)

ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่าฮีมาโตคริต (%)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	22.3±1.0 ^a (21-23)	20.3±1.9 ^a (17.5-22)	20.6±1.9 ^a (18.5-23)
2	22.3±3.2 ^a (20-27)	24.8±1.3 ^{ab} (23-26)	19.8±3.3 ^{ac} (15-22)
3	23.3±1.7 ^a (20-26)	24.5±1.2 ^a (23.5-25.5)	20.5±3.7 ^a (15.5-24.5)
4	25.9±2.3 ^a (23.5-28.50)	26.5±2.1 ^a (24-29)	24.5±0.5 ^a (21.5-25.5)
5	23.1±1.3 ^a (21.5-24.5)	24.5±1.7 ^a (22-25.5)	23.1±2.1 ^a (20.5-25.5)
6	27.9±2.5 ^a (26-31.5)	25.9±1.2 ^{ab} (25-27)	24.9±1.5 ^b (23-26.5)
7	26.4±0.6 ^a (25.5-27)	25.4±1.4 ^{ab} (24-27)	29.0±3.4 ^{ac} (27-33)
8	24.4±1.4 ^a (23.5-26)	23.4±3.8 ^a (18.5-27.5)	25.3±3.3 ^a (21.50-28.5)
9	25.9±2.9 ^a (23.5-30)	26.4±2.5 ^a (23.5-29.5)	24.6±0.9 ^a (23.5-25.5)
10	26.8±2.6 ^a (24.5-30.5)	25.5±1.2 ^a (24-27)	28.1±2.0 ^a (26.5-31)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าฮีโมโกลบินของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)
ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่าฮีโมโกลบิน (g/dl)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	6.4±0.4 ^a (5.9-6.9)	6.0±0.5 ^a (6.0-6.2)	6.0±0.9 ^a (5.1-7.2)
2	6.8±0.8 ^a (6.1-7.8)	6.7±0.4 ^a (6.3-7.1)	6.0±0.8 ^a (4.7-6.4)
3	6.5±0.3 ^a (6.1-6.8)	7.1±1.2 ^a (6.0-8.2)	7.1±1.4 ^a (5.9-9.1)
4	8.5±1.7 ^a (6.4-10.4)	7.7±0.5 ^a (7.2-8.1)	9.5±1.8 ^a (8.7-11.9)
5	8.1±1.2 ^a (7.2-9.6)	8.8±2.7 ^a (6.6-12.1)	6.6±0.4 ^a (6.0-6.8)
6	7.9±0.5 ^a (7.3-8.5)	9.1±0.9 ^a (7.8-9.6)	9.6±1.2 ^a (8.6-11.4)
7	10.2±2.0 ^b (7.9-12.7)	10.1±1.9 ^a (8.2-12.7)	9.7±2.8 ^a (5.6-10.9)
8	8.7±1.7 ^a (6.7-10.7)	10.1±1.1 ^a (8.8-11.2)	10.4±0.8 ^a (9.7-11.1)
9	8.9±1.0 ^a (7.73-10.27)	9.10±0.67 ^a (8.36-9.96)	8.50±0.92 ^a (7.23-9.25)
10	10.60±2.04 ^a (9.0-13.6)	8.9±1.1 ^a (6.3-10.6)	9.7±1.7 ^a (8.4-12.1)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

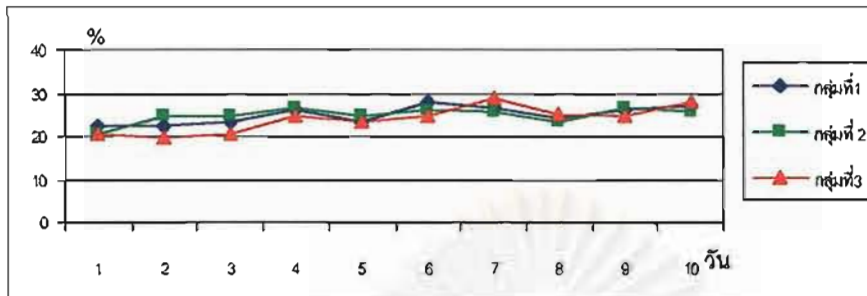
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10 ($\bar{X} \pm SD.$), (range)

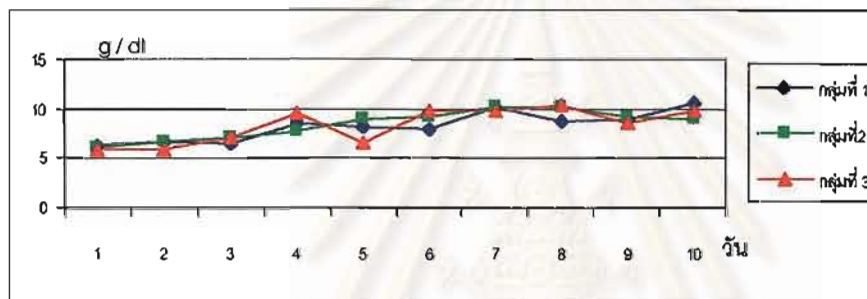
วัน	ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ($10^{12}/l$)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะพลาท็อกซินปี 1)
1	1.9±0.5 ^a (1.4-2.5)	1.6±0.5 ^a (1.2-2.3)	1.7±0.4 ^a (1.4-2.2)
2	1.6±0.2 ^a (1.3-1.8)	1.7±0.2 ^a (1.4-1.8)	1.6±0.3 ^a (1.3-1.9)
3	1.5±0.3 ^a (1.3-1.9)	1.6±0.1 ^a (1.4-1.8)	1.6±0.3 ^a (1.3-1.9)
4	1.5±1.7 ^a (1.2-1.9)	1.5±0.1 ^a (1.3-1.6)	1.6±0.1 ^a (1.5-1.7)
5	1.7±0.2 ^a (1.4-1.8)	1.7±0.1 ^a (1.6-1.8)	1.7±0.3 ^a (1.4-2.0)
6	2.0±0.4 ^a (1.4-2.5)	1.6±0.1 ^a (1.4-1.7)	1.6±0.3 ^a (1.4-2.0)
7	2.4±0.4 ^a (1.8-2.7)	2.3±0.3 ^a (1.93-2.53)	2.2±0.4 ^a (1.72-2.12)
8	2.0±0.2 ^a (1.8-2.2)	1.8±0.2 ^a (1.6-2.0)	2.3±0.3 ^a (2.0-2.5)
9	2.4±0.3 ^a (2.0-2.6)	2.4±0.4 ^a (2.1-2.9)	2.2±0.5 ^a (1.9-2.9)
10	2.7±0.5 ^b (2.3-3.3)	2.7±0.6 ^a (2.3-3.6)	2.7±0.4 ^a (2.6-3.3)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

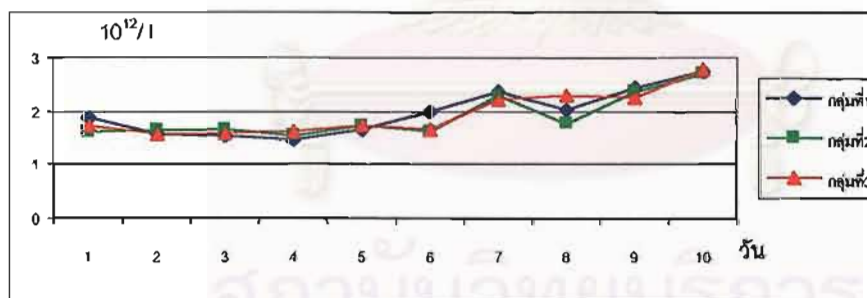
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ค่าฮีมาโตคริต



ค่าฮีโมโกลบิน



ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด

รูปที่ 4 ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน และค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม
(กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10 ($X \pm SD$) , (range)

วัน	ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ($10^9/l$)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะพลาท็อกซินบี1)
1	13.4±2.0 ^a (11.3-16)	17.1±3.9 ^{ab} (12-21.3)	12.0±0.2 ^{ac} (11.8-12.3)
2	13.3±1.6 ^a (11.8-15.5)	11.5±3.3 ^{ab} (7.5-15.3)	9.1±1.6 ^{ac} (8.8-11)
3	16.3±0.5 ^a (16-17)	11.8±1.7 ^b (8.5-15.3)	9.2±1.4 ^b (7.3-11)
4	16.8±0.9 ^a (16-18)	14.5±2.1 ^a (12.3-16.8)	13.6±3.6 ^a (9.3-18)
5	14.7±1.3 ^a (13.5-16.5)	15.3±2.3 ^a (12.3-17.8)	14.6±2.2 ^a (12.3-14.5)
6	12.3±4.1 ^a (10.8-15)	13.6±1.0 ^a (12.3-14.5)	13.9±1.1 ^a (12.3-14.5)
7	15.4±4.8 ^a (12.5-22.5)	16.0±2.5 ^a (13.3-19.3)	19.4±3.5 ^a (17.3-24.3)
8	19.0±3.7 ^a (15.1-23.5)	14.5±1.6 ^b (13-15.5)	15.4±0.7 ^{ab} (14.5-16)
9	20.0±2.5 ^a (16.8-22.8)	19.4±2.9 ^a (16.8-23)	18.1±0.4 ^a (16.3-20.5)
10	13.9±2.3 ^a (12-17)	15.8±1.6 ^{ab} (14.5-17.8)	17.4±0.8 ^b (16.8-18.3)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่าจำนวนลิ้มไฟซัยต์ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10 ($X \pm SD$) . (range)

วัน	ค่าจำนวนลิ้มไฟซัยต์ (%)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาทอกซินบี1)
1	95.3±4.1 ^a (87-95)	82.3±13.0 ^a (64-94)	88.3±5.6 ^a (80-92)
2	92.8±1.5 ^a (91-94)	91.3±4.0 ^a (89-96)	76.3±7.6 ^b (65-82)
3	85.5±5.1 ^a (89-78)	90.0±3.8 ^a (87-91)	91.0±2.2 ^a (88-93)
4	90.0±3.7 ^a (85-91)	85.8±7.8 ^a (76-95)	91.3±2.8 ^a (88-94)
5	94.5±5.2 ^a (87-98)	95.3±0.7 ^a (95-96)	90.8±2.8 ^a (88-94)
6	94.8±3.2 ^a (92-98)	94.0±2.8 ^a (90-96)	93.8±2.7 ^a (91-96)
7	96.5±1.0 ^a (95-97)	95.8±1.3 ^a (94-97)	91.0±2.2 ^b (89-94)
8	95.5±2.7 ^a (92-98)	95.3±1.7 ^{ab} (93-97)	89.0±6.0 ^b (80-92)
9	93.3±2.1 ^a (91-96)	90.8±1.7 ^{ab} (89-94)	88.5±3.9 ^b (83-92)
10	92.8±2.5 ^a (90-96)	89.8±2.9 ^{ab} (88-94)	86.3±4.7 ^b (82-92)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

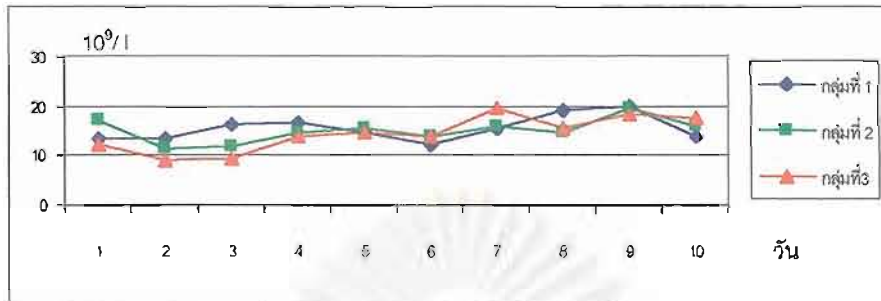
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 7. เปรียบเทียบค่าจำนวนเฮดเทอโรฟิลของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10 ($X \pm SD.$) . (range)

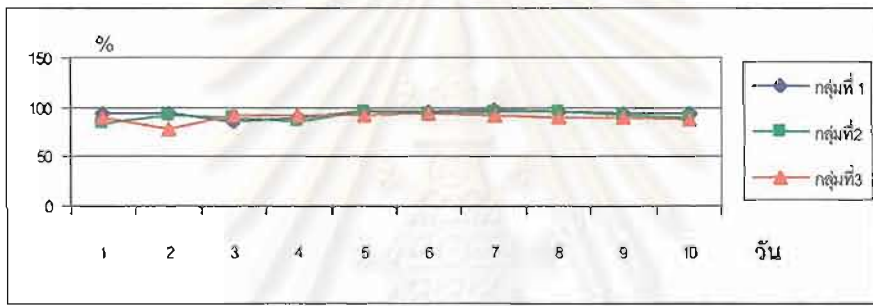
วัน	ค่าจำนวนเฮดเทอโรฟิล (%)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	13.8±2.1 ^a (12-16)	14.3±13.2 ^a (3-33)	9.0±6.1 ^a (5-18)
2	3.5±0.8 ^a (2-5)	3.5±3.1 ^a (1-8)	16.5±7.7 ^b (12-28)
3	9.8±2.4 ^a (8-13)	2.5±1.0 ^b (3-8)	4.0±2.5 ^b (1-7)
4	6.8±2.6 ^a (3-9)	11.0±6.6 ^a (3-19)	5.0±3.9 ^a (2-10)
5	4.3±4.3 ^a (1-10)	2.3±0.5 ^{ab} (2-3)	7.3±1.5 ^{ac} (5-8)
6	3.5±1.3 ^a (2-5)	3.0±2.0 ^a (0-3)	5.0±3.2 ^a (0-1)
7	1.0±1.4 ^a (0-3)	1.3±0.5 ^e (1-2)	3.8±1.9 ^b (1-5)
8	2.5±1.7 ^a (1-5)	2.8±1.0 ^a (3-4)	3.3±7.3 ^a (4-20)
9	3.3±1.5 ^a (1-4)	4.8±1.0 ^a (1-5)	6.0±4.2 ^a (2-12)
10	3.3±3.7 ^a (2-5)	4.3±2.1 ^a (2-6)	6.8±3.8 ^a (2-11)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

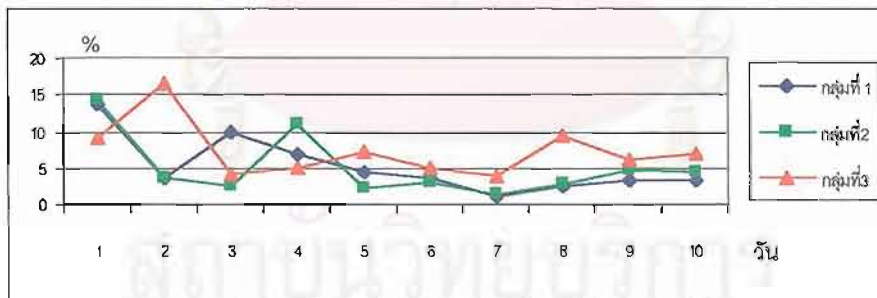
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด



ค่าลิ้มไฟซัยต์



ค่าเฮตเทอโรฟิล

รูปที่ 5 ค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ค่าลิ้มไฟซัยต์ และค่าเฮตเทอโรฟิล
ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่าจำนวนโมโนไซต์ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)
ในวันที่ 1 - 10 ($\bar{X} \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่าจำนวนโมโนไซต์ (%)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	3.5±2.4 ^a (2-7)	1.5±0.6 ^a (1-2)	2.0±0.0 ^a (2-2)
2	3.3±0.5 ^a (3-4)	4.5±1.7 ^{ab} (3-8)	1.5±1.3 ^{bc} (5-8)
3	3.0±1.6 ^a (1-5)	5.3±2.1 ^a (1-3)	3.5±1.7 ^a (1-5)
4	2.5±1.8 ^a (1-5)	2.3±1.7 ^a (0-4)	3.5±1.7 ^a (1-5)
5	0.8±0.5 ^a (0-1)	1.5±0.6 ^a (1-2)	1.3±1.0 ^a (0-2)
6	1.3±1.5 ^a (0-3)	0.8±0.5 ^a (1-2)	0.8±0.5 ^a (0-1)
7	1.8±0.5 ^a (1-2)	2.0±1.4 ^a (1-4)	4.0±4.3 ^a (2-10)
8	1.3±1.3 ^a (1-3)	1.5±1.3 ^a (0-3)	1.0±0.8 ^a (0-2)
9	3.0±1.4 ^a (2-5)	2.3±0.5 ^a (2-3)	4.8±6.3 ^a (1-4)
10	3.0±1.4 ^a (1-4)	5.0±2.2 ^a (3-8)	4.5±2.7 ^a (3-8)

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

* ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบค่าจำนวนอีโอซีโนฟิลของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)
ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่าจำนวนอีโอซีโนฟิล (%).		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะพลาที่อกชินปี1)
1	0.5±0.6 ^a (0-1)	1.0±0.0 ^a (1-1)	0.8±0.5 ^a (0-1)
2	0.3±0.5 ^a (0-1)	0.8±0.5 ^a (0-1)	0.8±1.7 ^a (0-3)
3	1.8±1.7 ^a (1-4)	2.3±1.9 ^a (1-5)	1.5±1.7 ^a (1-4)
4	0.8±0.5 ^a (0-1)	1.00±0.8 ^{ab} (0-2)	0.3±0.5 ^{ac} (0-1)
5	0.5±1.0 ^a (0-2)	1.0±0.8 ^a (0-2)	0.8±1.0 ^a (0-2)
6	0.5±0.0 ^a (0-1)	1.3±1.5 ^a (0-3)	0.5±0.6 ^a (0-2)
7	0.8±0.5 ^a (0-1)	1.0±0.8 ^a (0-2)	1.3±2.5 ^a (0-5)
8	0.8±1.0 ^a (0-2)	0.5±0.6 ^a (0-1)	0.5±0.6 ^a (0-1)
9	0.5±0.6 ^a (0-1)	1.5±1.7 ^a (0-4)	2.00±1.4 ^a (1-4)
10	1.0±1.0 ^a (0-2)	1.0±0.0 ^a (1)	2.5±1.3 ^b (1-4)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

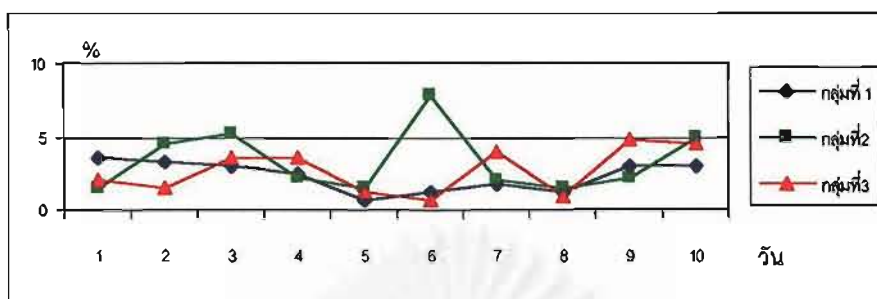
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่าจำนวนเบโซฟิลของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)
 ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD$) , (range)

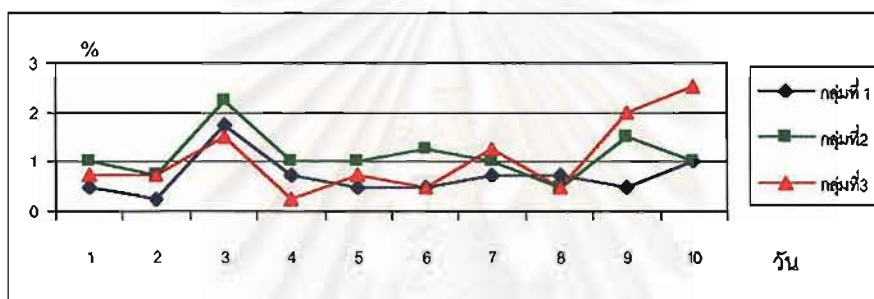
วัน	ค่าจำนวนเบโซฟิล (%)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะพลาท็อกซินปี1)
1	0 (0)	0.3±0.00 ^a (1)	0 (0)
2	0.3±0.0 ^a (1)	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0.3±1.0 ^a (1)	0.3±0.5 ^a (1)
10	0	0	0

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

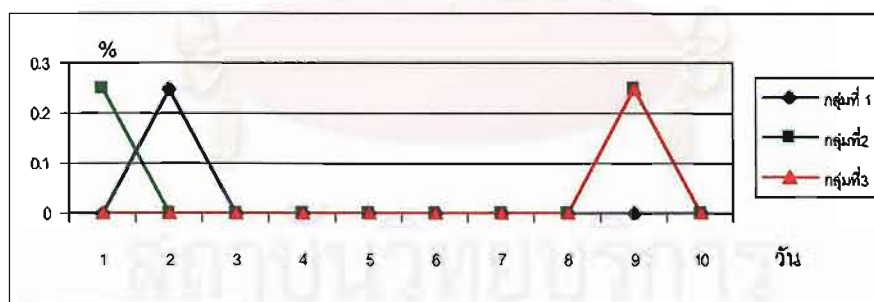
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ค่าโมโนไนต์



ค่าไอโอไนต์



ค่าเบซิฟิ

รูปที่ 6 ค่าโมโนไนต์ ค่าไอโอไนต์ และค่าเบซิฟิ ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบค่า SGOT ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)

ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่า SGOT (U/l)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	512.8±9.7 ^a (200.7-224)	545.7±233.2 ^a (235.7-800)	502.0±112.2 ^a (370-640)
2	567.5±203.5 ^a (396-800)	436.1±120.9 ^a (257.2-523)	562.6±129.7 ^a (417.4-694)
3	428.3±245.7 ^a (278-792)	330.3±125.3 ^a (278-370.6)	343.5±41.6 ^a (300-400)
4	436.0±208.3 ^a (324-748)	362.8±125.2 ^a (222-527)	278.4±71.4 ^a (213.20-379.20)
5	260.4±24.2 ^a (233-282)	290.7±66.6 ^a (242-387.6)	323.1±52.3 ^a (262-371)
6	265.6±13.3 ^a (251.6-279.6)	286.4±19.2 ^a (260-305)	303.9±53.3 ^a (229.20-356.4)
7	333.7±75.7 ^a (260-400)	268.5±50.2 ^a (218-324)	259.6±50.6 ^a (200.60-320.6)
8	284.6±34.2 ^a (254.4-333)	275.3±20.2 ^a (250-299.4)	300.9±112.7 ^a (222-468)
9	265.1±37.4 ^a (236.2-320)	259.8±27.0 ^a (231.6-296.6)	228.9±16.1 ^a (213-246)
10	283.1±50.8 ^a (241.8-352.4)	259.5±37.1 ^a (225-303.2)	245.5±22.7 ^a (220-275)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบค่า SGPT ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)

ในวันที่ 1 - 10 ($\bar{X} \pm SD.$) , (range)

วัน	ค่า SGPT (U/l)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	32.1±2.2 ^a (27.8-34.5)	29.5±2.9 ^a (23.5-30.3)	29.6±2.3 ^a (26.8-31.8)
2	33.6±12.9 ^a (23.4-52.5)	24.3±8.2 ^a (17-36)	22.8±5.0 ^a (16.8-28.6)
3	25.9±1.8 ^a (24-28.2)	27.0±1.4 ^a (25.9-28.8)	26.1±2.5 ^a (23.5-29.3)
4	21.6±4.4 ^a (19.5-28)	23.7±2.0 ^a (22-26.4)	25.6±3.8 ^a (21.9-30.6)
5	28.3±4.9 ^a (22.6-32.3)	23.3±1.9 ^a (21.8-25.9)	22.8±1.7 ^b (22.6-25.8)
6	19.1±3.3 ^a (15-22.9)	18.5±1.6 ^a (16.2-19.5)	19.9±4.2 ^a (16.5-26.1)
7	23.0±4.1 ^a (19.3-28.6)	22.4±1.7 ^a (20.8-24.5)	21.6±1.4 ^a (20.4-23.2)
8	25.2±2.3 ^a (23-28.4)	21.3±4.0 ^a (16-25.4)	24.9±4.0 ^a (21.8-30.5)
9	24.8±0.8 ^a (23.8-25.6)	19.4±2.4 ^a (15.9-20.4)	23.1±2.6 ^a (14.7-20.4)
10	17.2±1.5 ^a (16.2-19.4)	15.1±3.6 ^a (10.0-19.1)	15.0±2.2 ^a (13.4-16.2)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

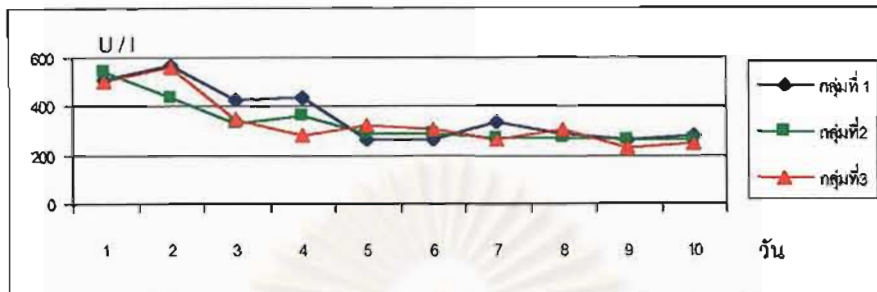
ตารางที่ 13 เปรียบเทียบค่า BUN ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)

ในวันที่ 1 – 10 ($X \pm SD.$) , (range)

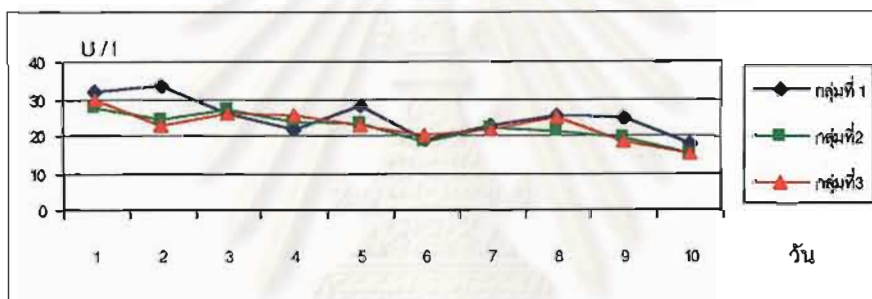
วัน	ค่าBUN (mg %)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	1.5±0.5 ^a (1.1-1.8)	1.4±0.2 ^a (1.2-1.7)	1.2±0.1 ^a (1.2-1.3)
2	1.4±0.1 ^a (1.3-1.5)	1.7±0.4 ^a (1.3-2.2)	1.5±0.8 ^a (1.2-2.7)
3	1.4±0.4 ^a (0.9-1.7)	1.3±0.2 ^a (1.1-1.5)	1.9±0.3 ^a (1.0-1.7)
4	1.5±0.5 ^a (1.5-1.7)	1.5±0.1 ^a (1.5-1.7)	1.3±0.1 ^b (1.2-1.4)
5	0.6±0.3 ^a (0.4-0.8)	0.5±0.1 ^a (0.4-0.6)	0.6±0.1 ^a (0.4-0.8)
6	0.4±0.0 ^a (0.4)	1.1±0.1 ^b (1.0-1.2)	1.2±0.2 ^b (1.0-1.4)
7	1.1±0.1 ^a (1.1-1.2)	1.2±0.2 ^a (1.0-1.5)	2.4±0.3 ^b (2.0-2.8)
8	2.0±0.2 ^a (1.8-2.2)	1.9±0.2 ^a (1.7-2.2)	1.9±0.6 ^a (1.0-2.5)
9	1.1±0.1 ^a (1.0-1.1)	1.5±0.1 ^a (1.3-1.7)	2.4±0.8 ^b (1.8-3.6)
10	1.4±0.1 ^a (1.2-1.5)	1.6±0.3 ^a (1.3-2.0)	1.4±0.1 ^a (1.4-1.5)

ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

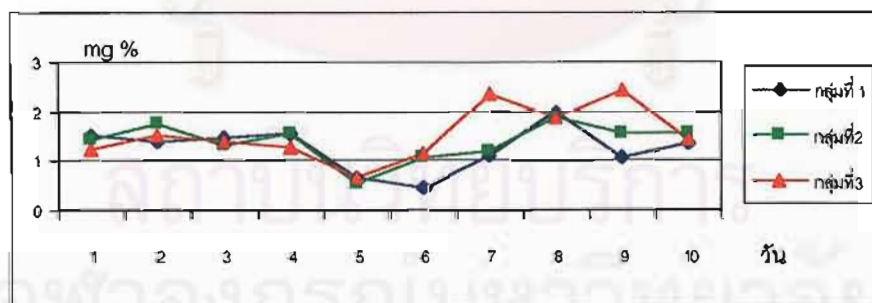
ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



SGOT



SGPT



BUN

รูปที่ 7 ค่า SGOT ค่า SGPT และค่า BUN ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

ผลการศึกษาพยาธิวิทยาจากภาวะดูด้วยตาเปล่า(Gross Pathology)(ดังแสดงในตาราง 14 - 16)
อวัยวะที่พบการเปลี่ยนแปลงมีดังนี้

ตับ

- ในวันที่ 1 ตับของลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่มมีสีเหลืองและขนาดไม่แตกต่างกัน
- ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบจุดเลือดออกกระจายทั่วทั้งตับ(diffuse petechial hemorrhage)ตับมีสีเหลืองซีด (รูปที่ 8 A)
- ในวันที่ 3 - 9 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีสีเหลืองค่อนข้างซีด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ที่มีสีแดงแต่ขนาดของตับไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 8 B)
- ในวันที่ 10 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 จะกลับมาเป็นสีแดงและขนาดเหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2

น้ำหนักรับสัมผัส

- ในวันที่ 1 3 4 และ 7 น้ำหนักรับสัมผัส ของลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบขนาดแล้ว พบว่าในวันที่ 7 เพียงวันเดียวที่น้ำหนักรับสัมผัสในกลุ่มที่ 3 มีขนาดเพิ่มขึ้นดังแสดงในตารางที่ 17 และรูปที่ 9

ไต

- ในวันที่ 1 ไตของลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่มมีสีแดงและขนาดไม่แตกต่างกัน
- ในวันที่ 2 และ 3 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบมีลักษณะบวม และมีสีค่อนข้างซีดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 (รูปที่ 10 A)
- ในวันที่ 4 พบว่ากลุ่มที่ 3 ไตบวมเพียงเล็กน้อยแต่มีสีแดงเหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2
- ในวันที่ 5 - 10 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 ไม่พบลักษณะบวมและมีสีแดงเหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2

กระเพาะบด

- ในวันที่ 1 กระเพาะบดของลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่มมีลักษณะไม่แตกต่างกัน
- ในวันที่ 2 และ 3 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบมีแผลลอกหลุดกระจายอยู่ในเยื่อบุกระเพาะบด (gizzard erosion) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ซึ่งไม่พบการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 10 B)

- ในวันที่ 4 - 8 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 ยังคงพบแผลลอกหลุดอยู่ในเยื่อบุกระเพาะบด และมีจำนวนน้อยลงเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ซึ่งไม่พบการเปลี่ยนแปลง

- ในวันที่ 9 - 10 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีลักษณะปกติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2

อวัยวะภายในอื่นๆ ได้แก่ ลำไส้ ต่อมเบอริซ่า ม้าม ต่อมไทมัส และกล้ามเนื้อไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ



ตารางที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของตับลูกไก่ทดลอง
แต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของตับ					
	จุดเลือดออกกระจายทั่วตับ			ตับมีสีเหลืองซีด		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	+++ 7/8(87.5%)	-	-	+++ 7/8(87.5%)
3	-	-	-	-	-	+++ 6/8(75%)
4	-	-	-	-	-	+++ 6/8(75%)
5	-	-	-	-	-	++ 5/8(62.5%)
6	-	-	-	-	-	++ 7/8(87.5%)
7	-	-	-	-	-	++ 7/8(87.5%)
8	-	-	-	-	-	+ 6/8(75%)
9	-	-	-	-	-	+ 6/8(75%)
10	-	-	-	-	-	-

- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย
++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก

ตารางที่ 15 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของไตลูกไก่ทดลอง
แต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 - 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของไต					
	ไตบวม			ไตมีสีเหลืองซีด		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	+++ 6/8(75%)	-	-	+++ 6/8(75%)
3	-	-	- 7/8(87.5%)	-	-	+++ 7/8(87.5%)
4	-	-	++ 7/8(87.5%)	-	-	+++ 6/8(75%)
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

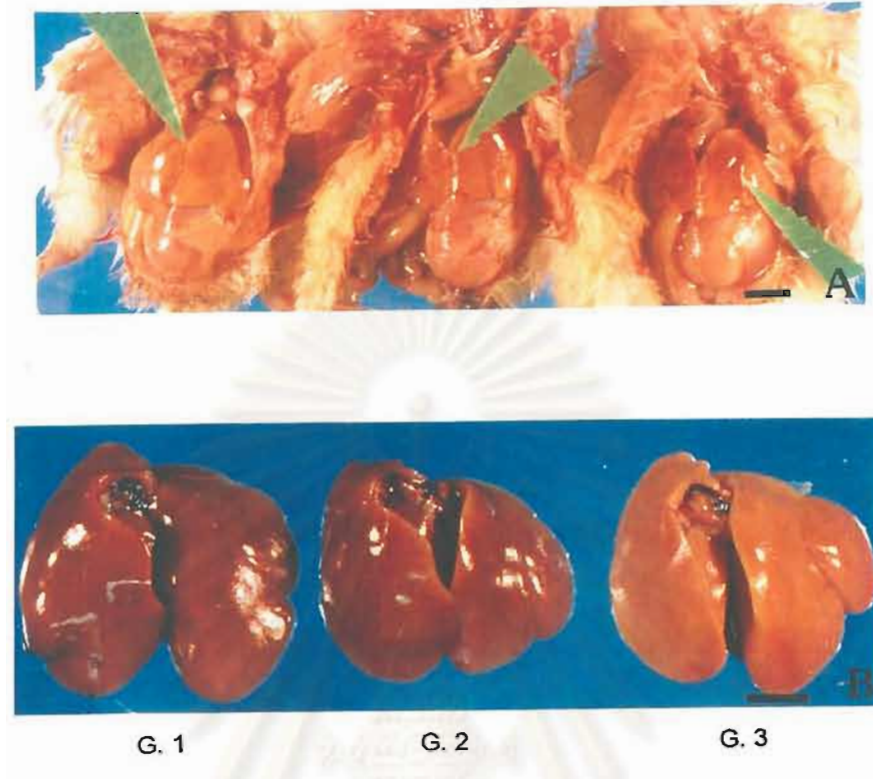
- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย

++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก

ตารางที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่าของกระเพาะปัสสาวะ
ลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของกระเพาะปัสสาวะ		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	-
2	-	-	+++ 7/8(87.5%)
3	-	-	++ 6/8(75%)
4	-	-	+ 7/8(87.5%)
5	-	-	+ 6/8(75%)
6	-	-	+ 5/8(62.5%)
7	-	-	+ 6/8(75%)
8	-	-	+ 6/8(75%)
9	-	-	-
10	-	-	-

- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย
++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก



รูปที่ 8 แสดงลักษณะของตบทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า

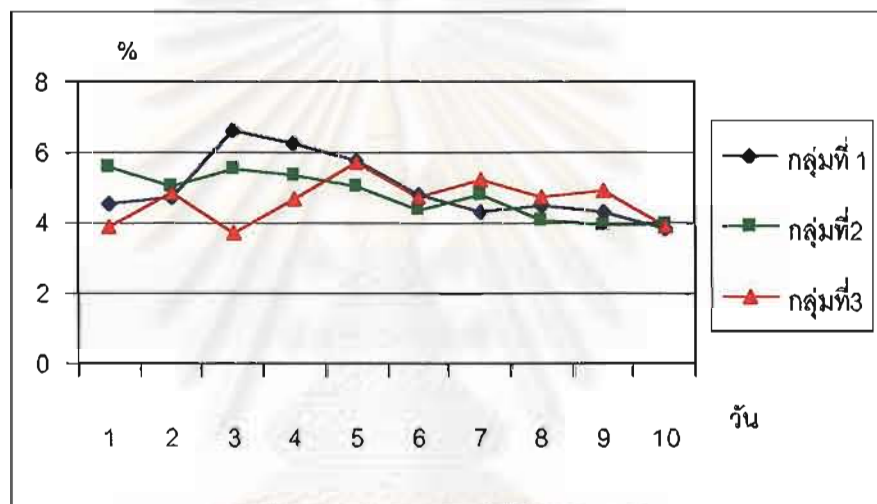
- (A) ในวันที่ 2 ลูกไก่อกลุ่มที่ 3 ตบพบจุดเลือดออก (diffuse petechial hemorrhage) และมีสีเหลืองในระดับมาก (ลูกศร) (bar = 1 cm.)
- (B) ในวันที่ 6 ตบของลูกไก่อกลุ่มที่ 3 มีสีเหลืองในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม)(bar = 1 cm.)

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบน้ำหนักตับสัมพัทธ์ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว)
ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD.$) , (range)

วันที่	น้ำหนักตับสัมพัทธ์ (%) = $\frac{\text{น้ำหนักตับ(กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัว(กรัม)}} \times 100$		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
1	4.6±0.9 ^a (4.0-5.8)	5.6±1.2 ^a (5.2-6.4)	3.9±0.4 ^a (3.3-4.3)
2	4.7±1.6 ^a (3.5-7.1)	5.0±1.2 ^a (3.4-6.4)	4.9±1.0 ^a (4.0-6.4)
3	6.6±0.3 ^a (6.2-6.9)	5.5±1.3 ^a (4.4-7.4)	3.7±0.4 ^b (3.2-4.0)
4	6.2±0.8 ^a (6.1-6.5)	5.3±0.4 ^b (5.1-5.9)	4.7±0.6 ^c (4.0-5.3)
5	5.8±1.8 ^a (4.7-8.4)	5.1±0.3 ^a (4.7-5.3)	5.7±0.5 ^a (5.3-6.2)
6	4.8±0.5 ^a (4.3-5.6)	4.4±0.4 ^a (4.0-4.8)	4.7±0.3 ^a (4.4-5.1)
7	4.3±0.1 ^a (4.2-4.4)	4.8±0.3 ^{ab} (4.5-4.9)	5.2±0.6 ^b (4.7-5.8)
8	4.5±0.4 ^a (4.0-4.9)	4.1±0.2 ^a (3.9-4.2)	4.7±0.7 ^a (3.9-5.45)
9	4.3±0.4 ^a (3.8-4.7)	3.9±0.6 ^a (3.2-4.6)	4.9±1.0 ^a (3.9-6.25)
10	3.8±0.4 ^a (3.3-4.2)	4.0±0.3 ^a (3.6-4.3)	3.9±0.2 ^a (3.7-4.2)

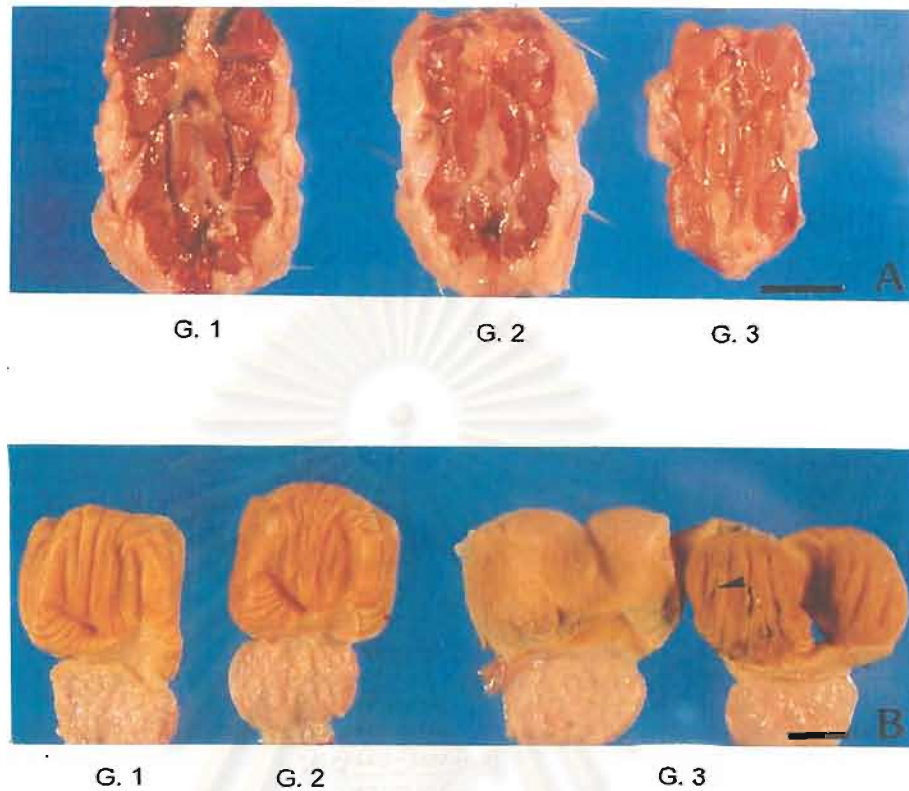
ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



รูปที่ 9 คำนวณน้ำหนักสัมพัทธ์ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 แสดงลักษณะของไตและกระเพาะบดทางพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า

- (A) ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 ไตมีลักษณะบวมและและสีซีดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม)(bar = 1 cm.)
- (B) ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะบดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีแผลลอกหลุดบริเวณเยื่อกระเพาะบด (gizzard erosion) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม) (bar = 1 cm.)

ผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology) (ดังแสดงในตาราง 18 - 21)

ตับ

- ในวันที่ 1 - ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบแถวคู่(bilaminar cell cord) พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ (รูปที่ 11 A)

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับพบมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกบริเวณของเส้นเลือดดำกลาง (centrilobular fatty degeneration) และแผ่กระจายทั่วไป (panlobular fatty degeneration) ในระดับอ่อน จากการย้อมสีพิเศษ oil red O พบเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับติดสีแดง พบการตายของเซลล์ตับ (hepatic cell necrosis) ร่วมกับการเสื่อมแบบมีหยดน้ำแทรกในไซโตพลาสซึม (hydropic degeneration) เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีการเพิ่มจำนวนขึ้น (bile duct epithelium proliferation) เซลล์มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมขนาดใหญ่ (megalocytosis) (รูปที่ 11 B)

- ในวันที่ 2 - ลูกไก่ของกลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบ bilaminar cell cord พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ(รูปที่ 12 A)

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป(panlobular fatty degeneration)ในระดับสูง จากการย้อมสีพิเศษ oil red O พบเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับติดสีแดงจำนวนมาก บริเวณ portal area พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี (bile duct epithelium proliferation) และมีการจัดเรียงตัวคล้ายต่อม(adenomatosis) เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดใหญ่ขึ้น (megalocytosis) นิวเคลียสนิวเคลียสขนาดใหญ่สีจางลง (nuclear vesiculation) ภายในนิวเคลียสพบก้อนโครมาตินอัดแน่นเห็นนิวคลีโอลัสชัดเจน (รูปที่ 11 D และ 12 B)

- ในวันที่ 3 และ 4 - ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบ bilaminar cell cord พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป (panlobular fatty degeneration) ในระดับปานกลาง จากการย้อมสีพิเศษ oil red O พบเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับติดสีแดง บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี (bile duct epithelium proliferation) เซลล์ที่พบมีขนาดแตกต่างกันและมีการจัดเรียงตัวคล้ายเยื่อบุท่อน้ำดีชั้นเดียว (single cell layer) (รูปที่ 11 C และ 12 C)

- ในวันที่ 5 และ 6 - ลูกไก่ของกลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบ bilaminar cell cord พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป (panlobular fatty degeneration) ในระดับอ่อน จากการย้อมสีพิเศษ oil red O พบเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับติดสีแดง เกิดภาวะการกลับสู่สภาพเดิมของเซลล์ตับ (regeneration) และมีเรียงตัวเป็นกลุ่ม เบียดเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีทำให้เซลล์มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) บริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง (รูปที่ 12 D)

- ในวันที่ 7 และ 8 - ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบ bilaminar cell cord พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการเรียงตัวของเซลล์ตับเพื่อกลับคืนสู่สภาพเดิม (regeneration) คล้าย bilaminar cell cord เซลล์ตับมีขนาดใหญ่ขึ้นและเบียดเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีให้เล็กลง และเกิดเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับในระดับอ่อน จากการย้อมสีพิเศษ Masson's trichrome พบเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้ผลบวกติดสีน้ำเงินอ่อน (รูปที่ 13 A และ 13 B)

- ในวันที่ 9 และ 10 - ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบ bilaminar cell cord และบริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก (small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อน

- ลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเรียงตัวคล้ายกับภาวะปกติเป็น bilaminar cell cord เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง และเกิดเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมรอบเซลล์ตับและจากการย้อมสีพิเศษ Masson's trichrome พบเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้ผลบวกติดสีน้ำเงินอ่อน (รูปที่ 13 C และ 13 D)

๒

- ในวันที่ 1 - 10 - ลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีการเรียงตัวแบบ simple cuboidal epithelium (รูปที่ 14 A)

- ในวันที่ 1 - ลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีลักษณะเหมือนกลุ่มที่ 1 และ 2

- ในวันที่ 2 - ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบมีการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีแบบมีหยดน้ำในไซโตพลาสซึม (hydropic degeneration) มีการตกตะกอนของโปรตีนในไซโตพลาสซึม นิวเคลียสขยายใหญ่สีจางลง (nuclear vesiculation) และมีการสะสมของสาร hyaline จากการย้อมสีพิเศษ PAS ติดสีชมพูแดง ในช่องว่างของท่อน้ำดี (รูปที่ 14 C)

- ในวันที่ 3 - ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบการบวมของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ร่วมกับการสะสมของสาร hyaline ในช่องว่างของท่อน้ำดี

- ในวันที่ 4 – 10 - ลูกลูกกลุ่มที่ 3 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อโต (รูปที่ 14 D)

กระเพาะบด

- ในวันที่ 1 – 10 - ลูกลูกกลุ่มที่ 1 และ 2 ชั้นเยื่อบุกระเพาะบดมีการเรียงตัวแบบ simple columnar epithelium และมี keratin อยู่ชั้นบน (รูปที่ 15 A)

- ในวันที่ 1 - ลูกลูกกลุ่มที่ 3 มีลักษณะเหมือนกลุ่มที่ 1 และ 2

- ในวันที่ 2 และ 3 - ลูกลูกกลุ่มที่ 3 มีการลอกหลุด (erosion) ของชั้น keratin บนชั้นเยื่อบุของกระเพาะบด (รูปที่ 15 B) และพบเซลล์อักเสบแทรกอยู่บริเวณชั้นเยื่อบุของกระเพาะบดเป็นบลักษณะแผลหลุม (ulcer) (รูปที่ 15 C และ 15 D)

- ในวันที่ 4 – 10 - ลูกลูกกลุ่มที่ 3 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อกระเพาะบด

อวัยวะภายในอื่นๆ ได้แก่ ลำไส้ ต่อมเบอริช่า ม้าม ต่อมไทมัส และกล้ามเนื้อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ ตลอดเวลาการศึกษา

ตารางที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม
(กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ					
	การเสื่อมสภาพแบบมีไขมันแทรก			เซลล์ตับตาย		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	++	-	-	++
			6/8(75%)			6/8(75%)
2	-	-	+++	-	-	+++
			7/8(87.5%)			7/8(87.5%)
3	-	-	++	-	-	-
			6/8(75%)			
4	-	-	++	-	-	-
			5/8(62.5%)			
5	-	-	+	-	-	-
			5/8(62.5%)			
6	-	-	+	-	-	-
			4/8(50%)			
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย
++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก

ตารางที่ 19 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม
(กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ					
	การเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี			เซลล์เยื่อท่อน้ำดีขยายขนาดใหญ่ขึ้น		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	+	-	-	+
			5/8(62.5%)			5/8(62.5%)
2	-	-	++	-	-	+++
			6/8(75%)			6/8(75%)
3	-	-	+++	-	-	+
			5/8(62.5%)			6/8(62.5%)
4	-	-	+++	-	-	+
			7/8(87.5%)			7/8(87.5%)
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย

++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก

ตารางที่ 20 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม
(กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ					
	ท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง			การแทรกของเยื่อพังผืดรอบเซลล์ตับ		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	+	-	-	+
			5/8(62.5%)			5/8(62.5%)
8	-	-	-	-	-	+
			6/8(75%)			6/8(75%)
9	-	-	++	-	-	+
			6/8(75%)			6/8(75%)
10	-	-	++	-	-	+
			6/8(75%)			6/8(75%)

- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย

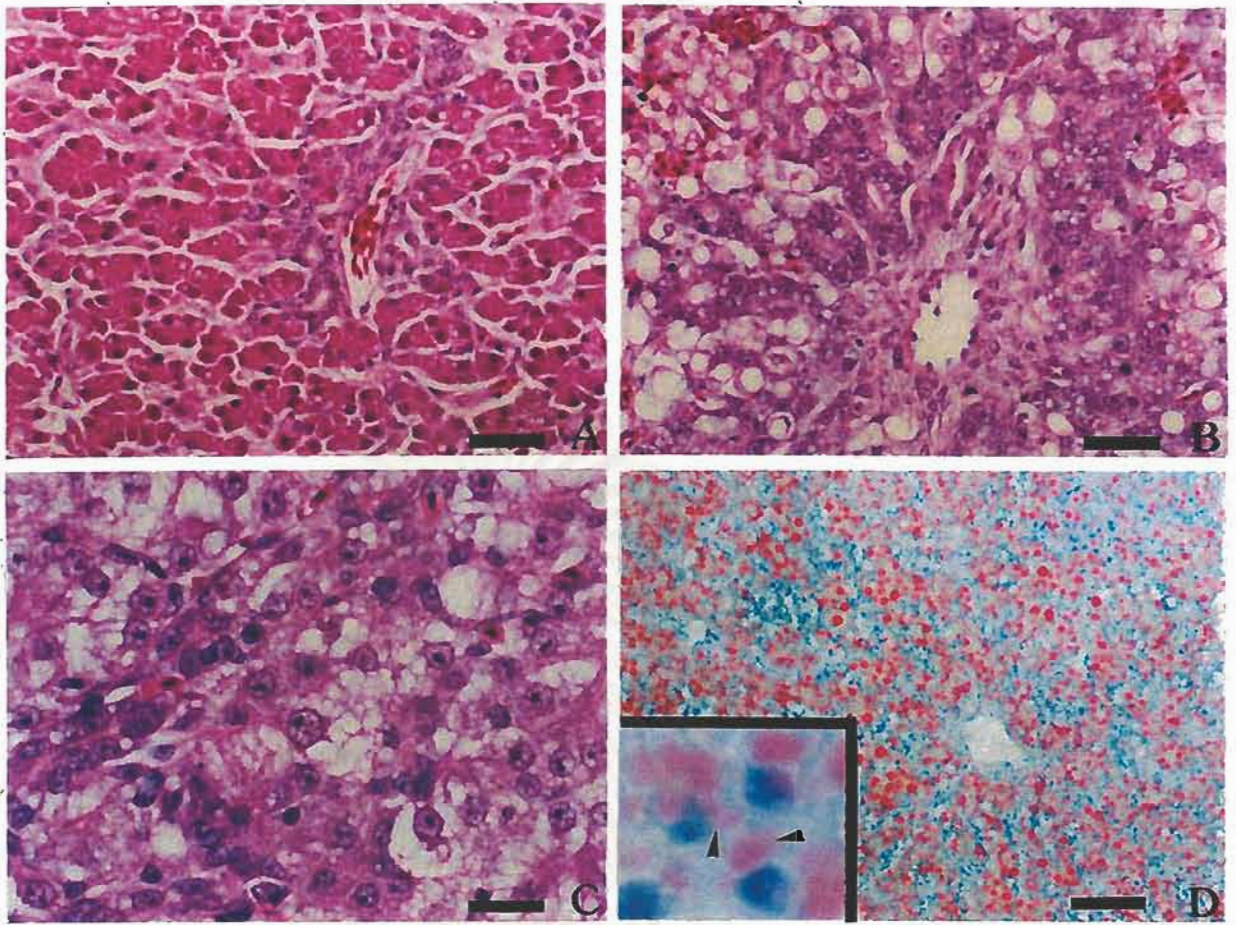
++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก

ตารางที่ 21 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไตและกระเพาะปัสสาวะของแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 – 10

วัน	การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไตและกระเพาะปัสสาวะ					
	การเสื่อมสภาพของท่อไต			แผลลอกหลุดและแผลหลุมของกระเพาะปัสสาวะ		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	++	-	-	+++
			6/8(75%)			7/8(87.5%)
3	-	-	-	-	-	++
						6/8(75%)
4	-	-	-	-	-	+
						7/8(87.5%)
5	-	-	-	-	-	+
						6/8(75%)
6	-	-	-	-	-	+
						5/8(62.5%)
7	-	-	-	-	-	+
						6/8(75%)
8	-	-	-	-	-	+
						6/8(75%)
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

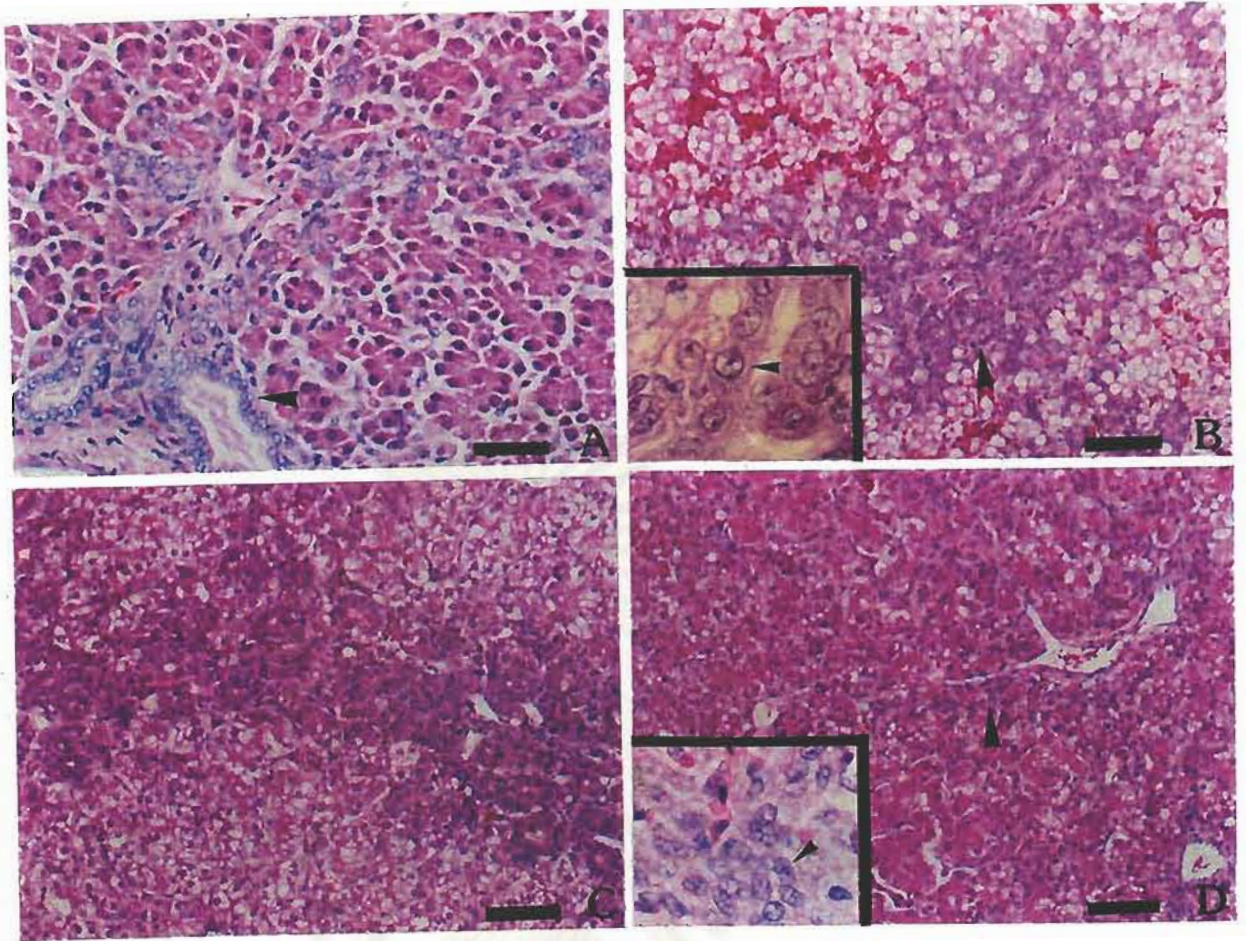
- = ไม่พบรอยโรค + = พบระดับน้อย

++ = พบระดับปานกลาง +++ = พบระดับมาก



รูปที่ 11 แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับที่มีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรก

- (A) ในวันที่ 1 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม) บริเวณ portal area เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบแถวคู่ พบเม็ดไขมันขนาดเล็กสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม (H&E stain)(bar=100 μm .)
- (B) ในวันที่ 1 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกบริเวณเส้นเลือดดำกลาง(centrilobular fatty degeneration)และแผ่กระจายทั่วไป(panlobular fatty degeneration)(H&E stain)(bar=50 μm .)
- (C) ในวันที่ 4 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป (panlobular fatty degeneration)(H&E stain)(bar=25 μm .)
- (D) ในวันที่ 2 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป (panlobular fatty degeneration) แทรก : แสดงเม็ดไขมันในไซโตพลาสซึมของตับย้อมติดสีแดง)(ลูกคร) (oil red O stain)(bar=50 μm .)



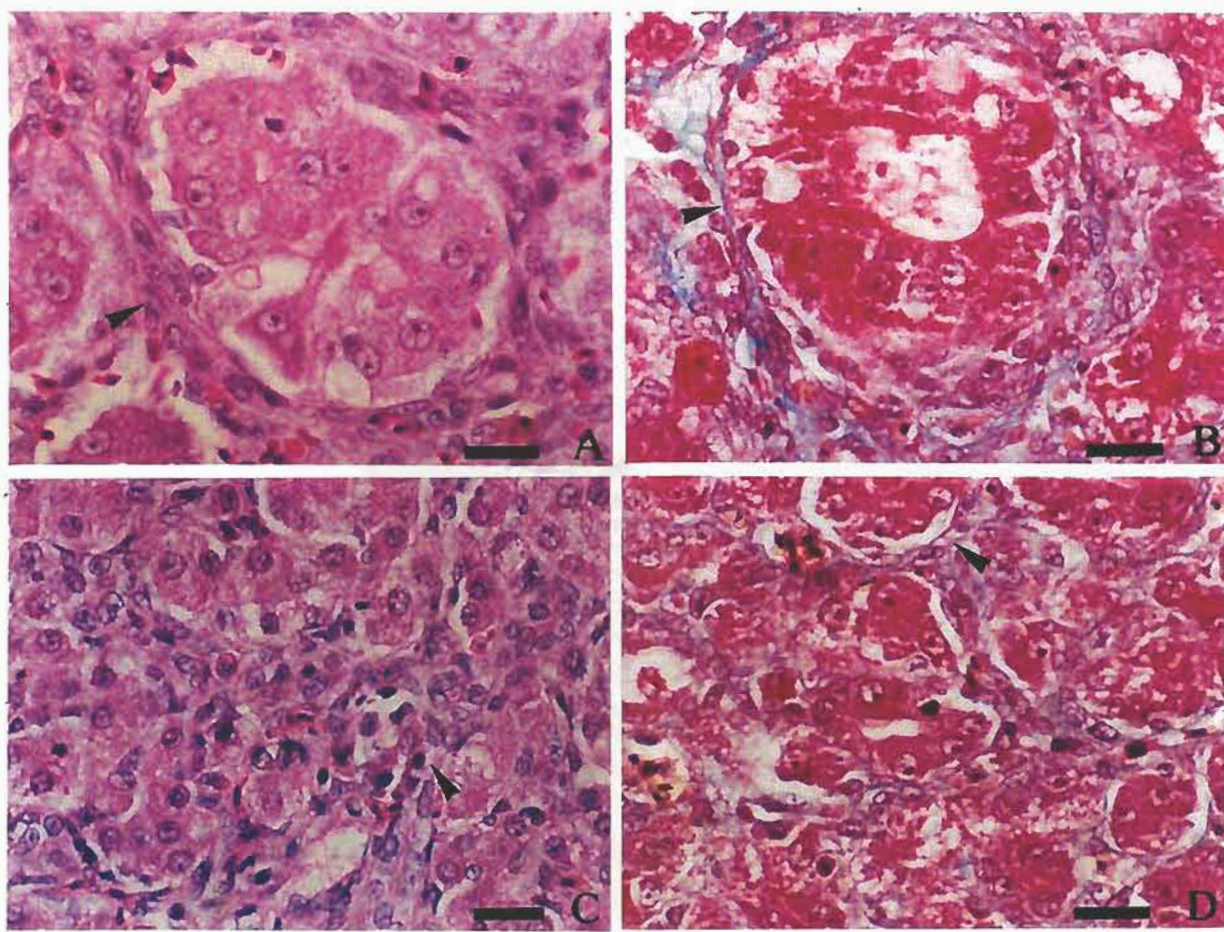
รูปที่ 12 แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาการเพิ่มจำนวนขึ้นของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี

(A) ในวันที่ 2 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2(กลุ่มควบคุม) บริเวณ portal area เซลล์ตับมีการเรียงตัวแบบแถวคู่ เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก(small cuboidal shape) เรียงตัวเป็นท่อ(ลูกศร)(H&E stain)(bar=50 μm .)

(B) ในวันที่ 2 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีในระดับปานกลาง(ลูกศร)(bile duct proliferation) และมีเลือดคั่ง(congestion)ใน sinusoid แทรก : แสดงเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดใหญ่ขึ้น (megalocytosis) นิวเคลียสมีขนาดใหญ่สีจางลง (nuclear vesiculation) และพบเส้นใยโคโรมาตินอัดแน่นบริเวณขอบของนิวเคลียส(ลูกศร)(H&E stain)(bar=100 μm .)

(C) ในวันที่ 4 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีในระดับมาก(bile duct proliferation)(H&E stain)(bar=100 μm .)

(D) ในวันที่ 5 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 บริเวณ portal area เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง(ลูกศร) แทรก : แสดงเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก(ลูกศร) (H&E stain)(bar=100 μm .)



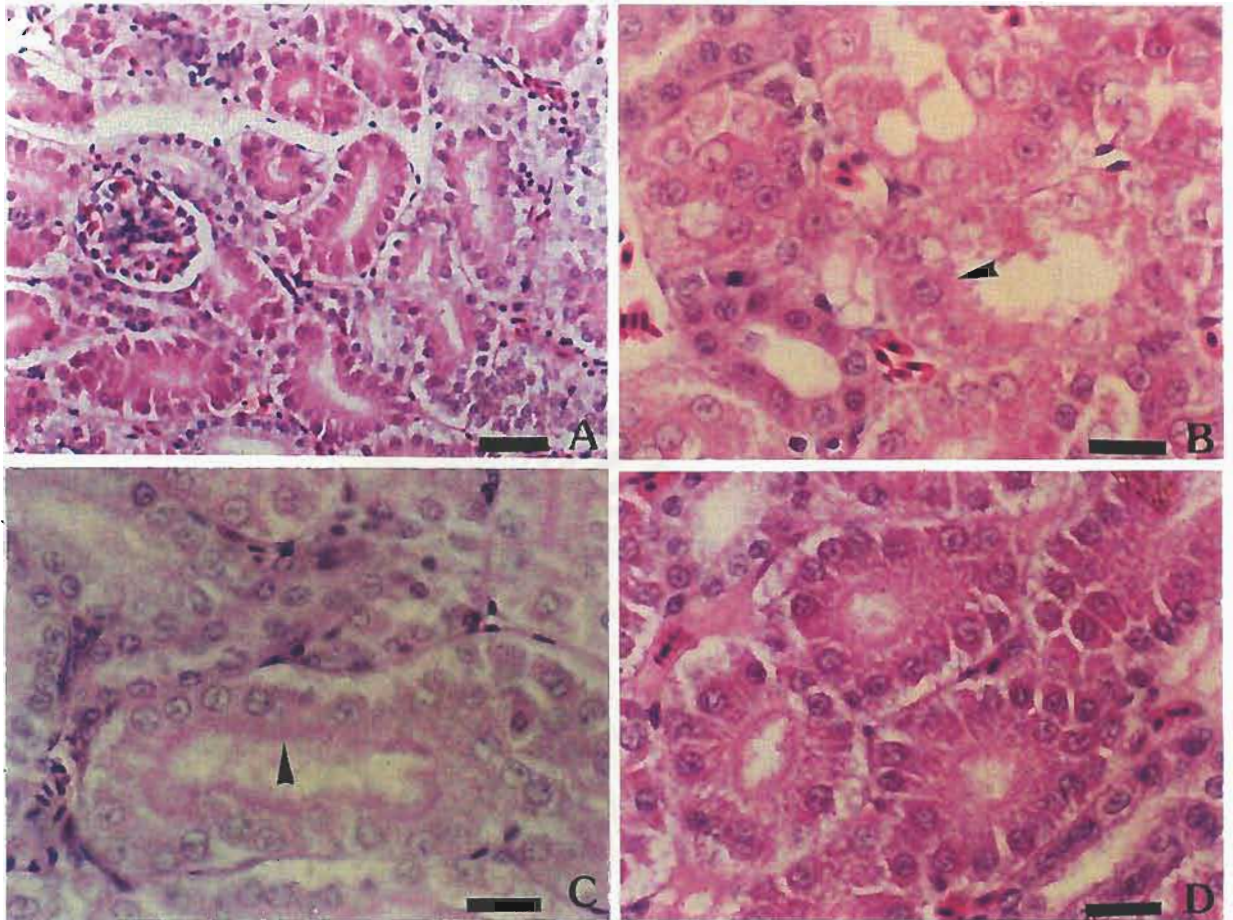
รูปที่ 13 แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาการเรียงตัวกลับสู่สภาพเดิมของเซลล์ตับ

(A) ในวันที่ 7 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นกลุ่มเบียดเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ให้เล็กลง(ลูกศร)และการแทรกของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับ(H&E stain) (bar=25 μm .)

(B) ในวันที่ 7 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ไฟโบรบลาสต์ล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับติดสีน้ำเงินอ่อน(ลูกศร) (Masson's trichrome stain)(bar=25 μm .)

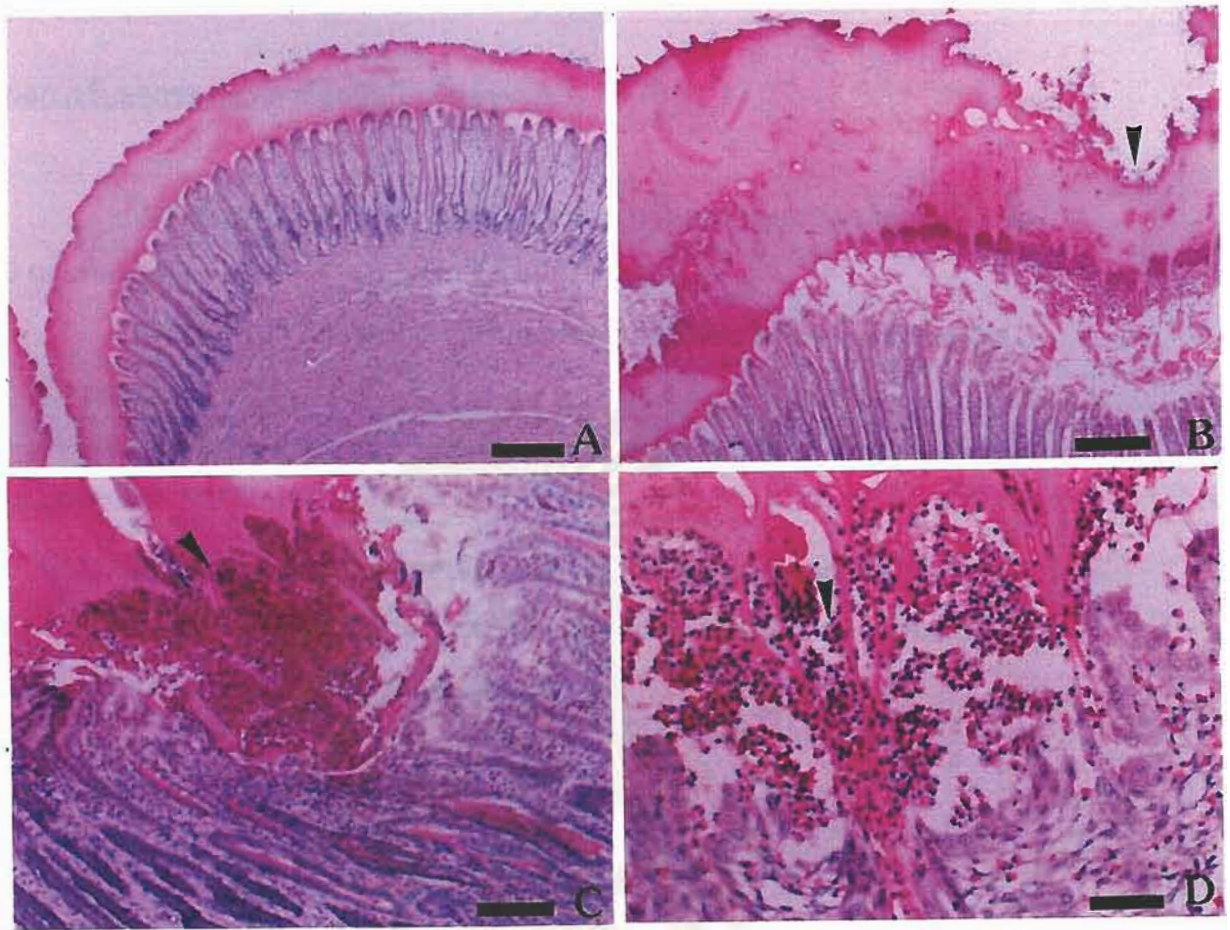
(C) ในวันที่ 9 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ตับมีการเรียงตัวคล้ายกับสภาพปกติเป็นแถวคู่และเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง(ลูกศร)(H&E stain)(bar=25 μm .)

(D) ในวันที่ 9 ตับของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์ไฟโบรบลาสต์ล้อมรอบกลุ่มของเซลล์ตับติดสีน้ำเงินอ่อน(ลูกศร) (Masson's trichrome stain)(bar=25 μm .)



รูปที่ 14 แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของไตลูกไก่ทดลอง

- (A) ในวันที่ 2 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม) เซลล์เยื่อบุท่อไตมีการเรียงตัวแบบ simple cuboidal epithelium (H&E stain) (bar=50 μm .)
- (B) ในวันที่ 2 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์เยื่อบุท่อไตแบบมีหยดน้ำในไซโตพลาสซึม (hydropic degeneration) นิวเคลียสขยายใหญ่มีสีจางลง (nuclear vesiculation) (ลูกศร) (H&E stain) (bar=25 μm .)
- (C) ในวันที่ 2 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 แสดงการสะสมของสาร hyaline ในช่องว่างของท่อไตติดสีชมพู (PAS stain) (ลูกศร) (bar=25 μm .)
- (D) ในวันที่ 4 ไตของลูกไก่กลุ่มที่ 3 เซลล์เยื่อบุท่อไตมีการเรียงตัวแบบ simple cuboidal epithelium เหมือนกับกลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม) (H&E stain) (bar=25 μm .)



รูปที่ 15 แสดงผลทางจุลพยาธิวิทยาของกระเพาะปดลูกไก่ทดลอง

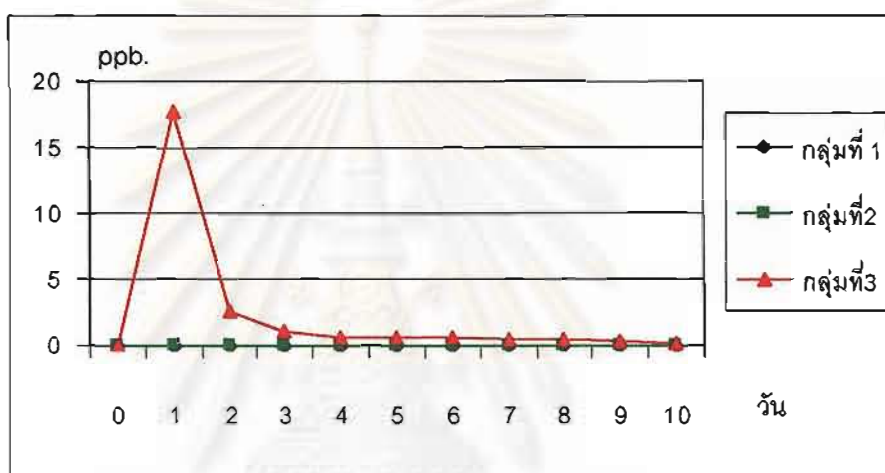
- (A) ในวันที่ 2 กระเพาะปดของลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 (กลุ่มควบคุม) เซลล์เยื่อบุมีการเรียงตัวแบบ simple columnar epithelium และสร้างสาร keratin อยู่ชั้นบน(H&E stain)
(bar=250 μm .)
- (B) ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะปดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการลอกหลุด(erosion)ของสาร keratin(ลูกศร)(H&E stain)(bar=100 μm .)
- (C) ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะปดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีการแทรกของเซลล์อักเสบบริเวณชั้นเยื่อบุ(mucosal layer) ของกระเพาะปด เป็นลักษณะแผลหลุม(ulcer)(ลูกศร)(H&E stain)
(bar=50 μm .)
- (D) ในวันที่ 2 และ 3 กระเพาะปดของลูกไก่กลุ่มที่ 3 ภาพกำลังขยายสูงของแผลหลุมบริเวณชั้นเยื่อบุ(mucosal layer) ของกระเพาะปด ในภาพแสดงเซลล์อักเสบ(ลูกศร)
(H&E stain)(bar=25 μm .)

ผลการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ

- ในวันที่เริ่มทำการทดลอง (วันที่ 0) ไม่พบการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทั้ง 3 กลุ่มทดลอง
- ในวันที่ 1 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 มีปริมาณสูงสุด (17.7 ppb.)
- ในวันที่ 3 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 จะค่อยๆ ลดลงอย่างรวดเร็ว
- ในวันที่ 4 - 9 การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 จะลดลงตามลำดับ
- ในวันที่ 10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 มีปริมาณน้อยสุด (0.2 ppb.) ดังแสดงในตารางที่ 22 และ รูปที่ 16

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบปริมาณการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ
ของลูกไก่ทดลองแต่ละกลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ในวันที่ 1 - 10 ($X \pm SD$) , (range)

วัน	ปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 (ppb.)		
	กลุ่มที่ 1 (ป้อนน้ำกลั่น)	กลุ่มที่ 2 (ป้อนน้ำมันมะกอก)	กลุ่มที่ 3 (ป้อนอะฟลาท็อกซินบี1)
0	0	0	0
1	0	0	17.7±2.2 (16.5-20.9)
2	0	0	2.6±0.9 (1.9-3.9)
3	0	0	1.0±0.3 (0.8-1.4)
4	0	0	0.7±0.3 (0.5-0.8)
5	0	0	0.5±0.1 (0.5-0.7)
6	0	0	0.9±0.1 (0.5-0.7)
7	0	0	0.4±0.1 (0.4-0.5)
8	0	0	0.5±0.1 (0.4-0.5)
9	0	0	0.3±0.1 (0.3-0.4)
10	0	0	0.2±0.1 (0.2-0.2)



รูปที่ 16 ปริมาณการขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ
ของลูกไก่ทดลองในวันที่ 1 - 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์

อาการทางคลินิก

จากการศึกษาครั้งนี้ ลูกไก่กลุ่มที่ 3 ภายหลังจากบ่อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ในระดับ 5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าในวันที่ 2 ลูกไก่ส่วนใหญ่ แสดงอาการซึม เคลื่อนไหวช้า และกินอาหารลดลง เนื่องจากเป็นกลไกของร่างกายสัตว์ ในการต่อต้านการได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งมีผลต่อความอยากอาหาร (Rao and Joshi, 1993)

พบการตายของลูกไก่ทดลองเพียง 1 ตัวอาจเนื่องจากภาวะของร่างกายที่ได้รับสารพิษในปริมาณมากเกินไประดับการยอมรับของร่างกาย หรืออาจเนื่องจากความเครียดของตัวไก่ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Smith และ Hamilton (1970) ที่รายงานระดับความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินที่ทำให้ลูกไก่พันธุ์ Arbor Acre 60 x Peterson อายุ 1 สัปดาห์ ตายจำนวนครั้งหนึ่ง (LD₅₀) โดยการให้กินในขนาดเดียวกันกับการศึกษาในครั้งนี้ (5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) Schroeder และคณะ (1972) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซินในขนาด 3.2 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเพียงครั้งเดียว ในลูกไก่พันธุ์ Peterson แรกเกิดตาย 2 ตัว ในวันที่ 4 และ 6 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างของชนิด พันธุ์ไก่ และอายุของไก่ (Grumbmann *et al.*, 1970)

ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด

ค่าฮีมาโตคริต ในวันที่ 2 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2) อาจเนื่องจากพบจุดเลือดออกในตับ ส่วนในวันที่ 1 และ 3 - 10 ของการทดลองไม่พบการเปลี่ยนแปลง ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ค่าฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดไม่พบการเปลี่ยนแปลง(ตารางที่ 3 และ 4) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Tung และคณะ (1975) ได้ทดลองโดยผสมอะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาด 0.625 - 10 ppm. ให้ไก่กระทงตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 3 สัปดาห์ พบว่ามีค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ได้ลดลง ($P < 0.05$) อะฟลาท็อกซินมีผลทำให้เกิดภาวะเลือดจางแบบ hemolytic anemia โดยมีการยับยั้งและขัดขวางการสร้างเม็ดเลือดแดง การเพิ่มอัตราการทำลายของเม็ดเลือดแดง Huff และคณะ (1986) รายงานว่าอะฟลาท็อกซิน มีผลต่อความ

เพราะของเม็ดเลือดแดงของไก่ Lanza และคณะ (1979) รายงานว่าอะฟลาท็อกซินจะทำให้การดูดซึมของธาตุเหล็กในลำไส้และการขนส่งธาตุเหล็กจากลำไส้ไปยังกระแสเลือดลดลง Fernandez และคณะ (1995) รายงานว่าในไก่กระทงอายุ 23 วันที่ให้อะฟลาท็อกซินผสมอาหารในขนาด 2.5 และ 5 มิลลิกรัมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าฮีมาโตคริต ซึ่งเนื่องจากอายุของไก่ที่มากขึ้นทำให้เกิดความต้านทานสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อระบบการสร้างเลือดได้สูงขึ้น (Lanza *et al.*, 1980)

จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดและการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว

จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ในวันที่ 1 2 3 และ 8 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าลดลง ($P < 0.05$) และในวันที่ 10 มีค่ามากขึ้น ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5) ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ และอีโอซิโนฟิล ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 ส่วนใหญ่แล้วมีค่าลดลง ส่วนค่าเฮตเทอโรฟิลในวันที่ 2 3 5 และ 7 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้น และค่าเบซิฟิลไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 6 7 8 9 และ 10) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Tung และคณะ (1975) ได้ทดลองให้อะฟลาท็อกซินผสมอาหารขนาด 0.625 – 10 ppm. ให้ไก่กระทงกินตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 3 สัปดาห์ พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดและเฮตเทอโรฟิลมีค่าเพิ่มสูง ส่วนค่าลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เบซิฟิลลดลง และค่าอีโอซิโนฟิลไม่เปลี่ยนแปลง การที่พบค่าเฮตเทอโรฟิลสูงขึ้น เนื่องมาจากเป็นปฏิกิริยาของร่างกายเพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตราย เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้ามา (Mohiuddin *et al.*, 1986) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาผลของอะฟลาท็อกซินต่อระบบป้องกันอันตรายในกระแสเลือด ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ ขนาดและระยะเวลาของการได้รับที่ออกซินด้วย (Lanza *et al.*, 1980 ; Fernandez *et al.*, 1995) การศึกษาครั้งนี้ ได้รับที่ออกซินในช่วงเวลาสั้น ทำให้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนและชนิดของเม็ดเลือดขาวอย่างชัดเจน

SGOT และ SGPT

การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SGOT และ SGPT เนื่องจากการเสื่อมและตายของเซลล์ตับ ทำให้พบเอนไซม์นี้สูงขึ้นในกระแสเลือด แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างลูกไก่กลุ่มที่ 1 2 และ 3 โดยค่าเอนไซม์เหล่านี้อยู่ในระดับปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก

เป็นการศึกษาโดยการให้ไก่กินอะฟลาท็อกซินบี 1 เพียงครั้งเดียวเซลล์ตับสามารถขับสารพิษออก และกลับคืนสู่สภาพเดิมได้อย่างรวดเร็วในช่วงเวลาสั้น ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Rao และ Joshi (1993) ได้ทดลองในไก่กระทงอายุ 1 วัน โดยป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 ขนาด 4 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว พบว่าในวันที่ 3 ค่าซีรั่ม SGPT เพิ่มขึ้นถึง 2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Daffalla และคณะ(1987) ได้ทำการทดลอง โดยให้ไก่กระทงอายุ 1 วันกินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินผสมในขนาด 3 หรือ 6 ppm. เป็นเวลา 42 วัน พบว่าค่า SGPT เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ของการทดลอง

BUN

BUN ในวันที่ 6 7 และ 9 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) (ตารางที่ 13) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปกติแล้วยังคงอยู่ในระดับปกติ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการศึกษาโดยการกินอะฟลาท็อกซินเพียงครั้งเดียว จึงไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในไต ซึ่งสอดคล้องกับผลการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาในลูกไก่ทดลอง

ผลการศึกษาพยาธิวิทยาจากการดูด้วยตาเปล่า (Gross Pathology)

ตับ

ในวันที่ 1 ตับของลูกไก่ทุกกลุ่มมีสีเหลือง ตามปกติตับของลูกไก่ในช่วงแรกเกิด จะมีไขมันสะสมอยู่และจะถูกใช้หมดไปเมื่ออายุ 10 - 15 วัน จากนั้นสีของตับจะเปลี่ยนเป็นสีแดงด้าน (Bryden and Comming , 1980) แต่ในวันที่ 2 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบจุดเลือดออกกระจายทั่วทั้งตับร้อยละ 87.5 (รูปที่ 8 A) เนื่องจากลูกไก่ได้รับสารพิษในระดับสูงอยู่ในภาวะโลหิตเป็นพิษ (toxemia) (Thelon *et al.* , 1965 ; Muller *et al.* , 1970) ในวันที่ 3 - 9 ตับในกลุ่มที่ป้อนอะฟลาท็อกซินบี 1 มีสีเหลืองซีดเมื่อเปรียบเทียบกับลูกไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 (รูปที่ 8 B) เนื่องจากมีการแทรกของไขมันในเซลล์ตับ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของขนาดและน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับลูกไก่ทั้ง 3 กลุ่มอาจเนื่องมาจากปริมาณของอะฟลาท็อกซินที่ได้รับเพียงครั้งเดียว และระยะเวลาสั้น ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Balachandran และ Ramankrishnan (1987) ได้ทดลองโดยให้ไก่กระทงอายุ 1 - 28 วันกินอะฟลาท็อกซินใน

ขนาด 1 ppm. และ 3 ppm. ตลอดการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน ตับจะมีขนาดใหญ่ขึ้น มีสีเหลืองและเปราะ

น้ำหนักตับสัมพัทธ์

ในวันที่ 1 3 และ 4 ของการทดลอง น้ำหนักตับสัมพัทธ์ ของลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ($P < 0.05$) แต่ในวันที่ 7 น้ำหนักตับสัมพัทธ์ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 มีขนาดเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) เนื่องมาจากการทดลองในครั้งนี้เป็นการป้อนอะฟลาท็อกซินเพียงครั้งเดียว ไม่ได้รับท็อกซินอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Carnaghan และคณะ (1966) ได้ทดลองให้ไกกินอะฟลาท็อกซินผสมอาหารขนาด 1.5 ppm. ตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักตับสัมพัทธ์จะเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 5 7 และ 8 ตามลำดับ Schroeder และคณะ (1972) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซิน ในขนาด 3.2 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเพียงครั้งเดียว พบว่าน้ำหนักตับสัมพัทธ์จะเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 11 ของการทดลอง ($P < 0.01$) และในวันที่ 25 ไม่พบความแตกต่างกัน ($P > 0.01$) Merkley และคณะ (1987) รายงานว่าขนาดของตับที่ใหญ่ขึ้นเนื่องจากเกิดการสะสมของไขมันในเซลล์ตับ พบในไกโซกินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินผสมในอาหารขนาด 2.5 ppm. เป็นเวลาตั้งแต่ 8 วันขึ้นไป และเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคไขมันจุกตับ (fatty liver syndrome) โดยจากการดูด้วยตาเปล่าพบว่าตับจะมีลักษณะมีสีเหลือง นิ่ม ขนาดใหญ่ขึ้น และพบปริมาณซีรัมคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ สูงขึ้นด้วย (Hamilton and Garlich ;1971 ; Fernandez et al., 1994)

ไต

ในวันที่ 2 และ 3 ในกลุ่มที่ 3 พบภาวะไตบวมและสีค่อนข้างซีด (ร้อยละ 75 – 87.5) (รูปที่ 10 A) เนื่องจากมีการขับออกของสารพิษทางไต (Muller et al., 1970 ; Zytveld et al., 1970) ซึ่งในรายงานของการได้รับสารพิษชนิดนี้ จะพบภาวะเลือดออกที่ไต ร่วมกับการบวมและมีสีซีด (Balachandran and Ramankrishnan , 1987)

กระเพาะบด

ในวันที่ 2 – 8 พบแผลหลุมลอกหลุด(ร้อยละ62.5 – 87.5) เนื่องจากอะฟลาท็อกซิน จะทำให้เกิดพิษต่อจุดสัมผัสตรงบริเวณเยื่อระบบทางเดินอาหารส่วนต้น โดยเฉพาะส่วนของ กระเพาะบดและกระเพาะแท้ (Huff and Doerr , 1981)

ผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology)

ตับ

การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา ในวันที่ 1 – 6 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 ตับพบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกบริเวณรอบเส้นเลือดดำกลาง (centrilobular fatty degeneration) และขยายกว้างขึ้นเป็นการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไป (panlobular fatty degeneration) เกิดการตายของเซลล์ตับ (hepatic cell necrosis) ร่วมกับมีการเพิ่มจำนวนขึ้นของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี สอดคล้องกับการทดลองของ (Espada *et al.* , 1992 ; Rao and Joshi. , 1993 ; Bintvihok *et al.* , 1997) เซลล์ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายของอะฟลาท็อกซินโดยเฉพาะอย่างยิ่งในนิวเคลียส (Leeson *et al.* , 1995) เนื่องจากตับทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสารพิษเพื่อลดความเป็นพิษ (detoxification) โดยอะฟลาท็อกซินถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารผ่านกระแสเลือดเข้าสู่ตับ ซึ่งจะมีเอนไซม์สำหรับทำลายสารพิษ (detoxifying enzyme) จำนวนมาก เช่น เอนไซม์พี-450 ที่อยู่ในเอนโดพลาสมิครีติคูลัม และ เอนไซม์ไซโตโครม P-450 1A1 ไซโตโครม P-450 1B1 ให้มีการสันดาปเกิดการเปลี่ยนแปลงอะฟลาท็อกซินเป็น 1 ไปเป็นอะฟลาท็อกซิน 1-8,9 อีพ็อกไซด์ ซึ่งไม่คงตัว จับกันแน่นกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนอื่นๆ ทำให้การสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนลดลงทำให้เซลล์ตับตาย(อนงค์ ,2540 ; Eaton and Groopman , 1994) Mollenhauer และคณะ (1989) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซินขนาด 2.5 – 5 ppb. ผลมอาหารให้กินตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 3 สัปดาห์ ทำให้เกิด degranulation ในเอนโดพลาสมิครีติคูลัมชนิดขรุขระและทำให้การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนลดลงเช่นเดียวกัน พบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในเซลล์ตับ เกิดจากการยับยั้งการขนส่งไขมันจากตับไปยังพลาสมา เนื่องจากอะฟลาท็อกซินซึ่งเกิดการสันดาปไปเป็นอะฟลาท็อกซิน 1-8,9 อีพ็อกไซด์ ซึ่งเป็นรูปไม่คงตัวจะจับตัวแน่นกับโปรตีน ทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้การสร้าง

ไลโปโปรตีนลดลง จึงพบมีการสะสมของไขมันในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ (Tung *et al.*, 1972) ซึ่งจากการศึกษาเซลล์ตับให้ผลบวกต่อสีพิเศษ oil red O ติดสีแดง ซึ่งทำปฏิกิริยากับ เม็ดไขมันอย่างชัดเจน(Pearse , 1980) ในระดับมาก โดยเฉพาะในวันที่ 2 และ 3 หลังจากที่ได้รับท็อกซิน

ในวันที่ 1- 4 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบว่าเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี มีขนาดใหญ่ขึ้น (megalocytosis) และเพิ่มจำนวนมากขึ้น (bile duct proliferation) เพื่อเพิ่มหน้าที่ในการ ขับสารพิษอะฟลาท็อกซินออกทางน้ำดีไปสู่ทางเดินอาหาร เซลล์เยื่อเหล่านี้เป็นเซลล์อ่อน และactive มาก Harland และ Cardellihac (1975) รายงานว่าการขับออกของอะฟลาท็อกซินปี 1 ผ่านทางน้ำดีพบได้ถึง 70 % และจะถูกขับออกในรูปของอะฟลาท็อกซินปี 1 - กลูตาไทโอนประมาณ 49 - 57 % (Eaton and Groopman , 1994)

ในวันที่ 5 -10 ในลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบว่าเซลล์ตับจะกลับสู่สภาพเดิม (regeneration) มีการเจริญของเซลล์ตับขึ้นมาใหม่เรียงตัวเป็นกลุ่ม เบียดเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีให้มีขนาดเล็กลง และในวันที่ 9 - 10 มีเซลล์ไฟโบรบลาสท์มาล้อมรอบให้ผลบวกต่อสีพิเศษ Masson's trichrome ติดสีน้ำเงินอ่อน (Sheehan and Hrapchak ,1980) สอดคล้องกับรายงานของ Eaton และGroopman (1994) ว่าการให้อะฟลาท็อกซินเพียงครั้งเดียว โรโบโซมของเซลล์ตับ จะจัดเรียงตัวใหม่ (reaggregation) สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ภายใน 2 -5 วัน และเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีขนาดเล็กลง เนื่องจากการทำหน้าที่ในการขับสารพิษของท่อน้ำดีลดลง

โต

ในวันที่ 2 และ 3 ลูกไก่กลุ่มที่ 3 พบการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Balachandran and Ramankrishnan (1987) และ Espada และคณะ (1992) Akao และคณะ (1971) รายงานว่าในหนูเมาส์โตเป็นอวัยวะเป้าหมายของอะฟลาท็อกซินปี 1 โดยพบการยับยั้งการสร้างอาร์เอ็นเอ และพบการจับการแน่นของอะฟลาท็อกซินปี 1 กับดีเอ็นเอ สูงกว่าในตับถึง 6 เท่า Grosmanและคณะ (1983) รายงานว่าการให้อะฟลาท็อกซินปี 1 ขนาด 100 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่าทำให้อัตราการกรองของ โกลเมอรูลัส การดูดกลับของกลูโคส และการขนส่งของอิเลคโตรไลต์ลดลง จากการศึกษาครั้งนี้ การให้ท็อกซินเพียงครั้งเดียวในช่วงเวลาสั้น จะไม่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโตอย่างเด่นชัดนัก

กระเพาะปด

การที่พบแผลหลุมลอกหลุดบริเวณชั้นเยื่อ เนื่องจากอะฟลาท็อกซินจะทำให้เกิดการระคายเคืองและและมีผลทำให้เกิดการอักเสบต่อเยื่อระบบทางเดินอาหารส่วนต้น(Huff and Doerr , 1981)

การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ

การขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในวันแรกจะพบปริมาณสูงสุด (17.7 ppb) และค่อยๆลดลงไปตามลำดับจนถึงวันที่ 10 ของการทดลองพบน้อยสุด (0.2 ppb) แสดงถึงว่าปริมาณอะฟลาท็อกซินที่ร่างกายสามารถขับออกทางอุจจาระ มีความสอดคล้องกับการพบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในตับและอวัยวะอื่นๆ ซึ่งยังคงพบการเปลี่ยนแปลงจนถึงวันที่ 8 ของการศึกษา ซึ่งผลการทดลองใกล้เคียงกับการทดลองของ Sawhey และคณะ (1972) ได้ทดลองในไก่พันธุ์เลคฮอร์นอายุ 20 สัปดาห์ พบว่าอะฟลาท็อกซิน และเมตาโบไลต์ของทีออกซินจะถูกขับออก 28 % ภายใน 24 ชั่วโมง และ 1 % จะถูกขับออกมาหมดภายใน 7 วัน มีค่า half - life ประมาณ 66.82 ชั่วโมง Wogan และคณะ (1967) ได้ศึกษาโดยให้อะฟลาท็อกซินฉีดเข้าช่องท้องในหนูแรท พบว่าจะถูกขับออกอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง ถึง 70 - 80 % Bintvihok และคณะ (1993) ได้ทำการทดลองในนกกระทาไข่ญี่ปุ่น อายุ 35 วัน โดยให้อะฟลาท็อกซินบี 1 กินผสมอาหารในขนาด 50 100 และ 200 ppb เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 ในอุจจาระ พบว่าปริมาณของทีออกซินจะลดลงใน 2 - 3 สัปดาห์แรก จะค่อยเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในสัปดาห์ที่ 3 - 6 และค่อยๆลดลงในสัปดาห์ที่ 8 จนพบน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 12 ทั้งนี้การให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกันเนื่องมาจากความแตกต่างชนิดของสัตว์ พันธุ์สัตว์ อายุสัตว์ ปริมาณและวิธีการให้อะฟลาท็อกซินเพียงครั้งเดียวตรวจพบอะฟลาท็อกซินในอุจจาระได้น้อยกว่าการให้แบบต่อเนื่อง นอกจากนี้ Sawhey และคณะ (1972) ได้ศึกษาโดยนำเอาอะฟลาท็อกซินที่ตกค้างในกระเพาะพัก กระเพาะปด ตับ และอุจจาระ นำไปให้เปิดกิน พบว่ามีผลทำให้เปิดมีน้ำหนักรลดลงและพบรอยโรคที่ตับ แสดงให้เห็นว่าอะฟลาท็อกซินที่ยังคงอยู่ในอวัยวะและอุจจาระยังคงมีความเป็นพิษเช่นเดียวกับอะฟลาท็อกซินที่พบในธรรมชาติ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ผลที่ได้รับจากการศึกษาในครั้งนี้ ทราบถึงผลของอะฟลาท็อกซินบี 1 ในไก่กระหงที่ ได้รับโดยการกินเพียงครั้งเดียว ไก่แสดงอาการซึม เคลื่อนไหวช้าและกินอาหารลดลง ในวันที่ 2 หลังจากได้รับท็อกซิน ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีเลือด และค่าน้ำหนักตัวสัมพัทธ์ไม่พบ การเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่ม ที่ได้รับท็อกซิน พบว่าตัวเป็นอวัยวะเป้าหมายที่ถูกทำลายมากที่สุด จากผลทางจุลพยาธิวิทยา ของตับ ในวันที่ 1 - 4 ของการทดลอง พบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกกรอบเส้นเลือดดำกลาง และขยายกว้างขึ้นเป็นการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับปานกลางจนถึงรุนแรง ทำให้ เซลล์ตับตาย ร่วมกับมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีเพื่อจะขับสารพิษออก ในวันที่ 5 - 6 เซลล์ตับจะเริ่มมีการเจริญและจัดเรียงตัวใหม่เพื่อกลับเข้าสู่สภาพปกติแต่คงพบการเสื่อม แบบมีไขมันแทรกทั่วไปในระดับอ่อน ในวันที่ 7 - 8 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นกลุ่มและได้เบียด เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีให้เล็กลงและในวันที่ 9 - 10 เซลล์ตับมีการเรียงตัวคล้ายกับสภาพปกติ ดังนั้นการให้อะฟลาท็อกซินบี 1 ในขนาด 5 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมเพียงครั้งเดียว เซลล์ตับต้องใช้ เวลาประมาณ 8 วันในการฟื้นตัวเพื่อกลับเข้าสู่สภาพปกติ ไตและกระเพาะพบพยาธิสภาพ ในระดับอ่อนจนถึงปานกลาง ส่วนอวัยวะภายในอื่นๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ จากผลการศึกษานำมาใช้ในการชันสูตรวินิจฉัยและพยากรณ์โรคในไก่ กระหงที่ได้รับสารพิษจากเชื้อรา ซึ่งผลการทดลองเหล่านี้สอดคล้องกับการพบว่าปริมาณการ ขับออกของอะฟลาท็อกซินบี 1 ทางอุจจาระจะขับออกสูงสุดในวันแรก ลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 3 และลดลงตามลำดับ จนในวันที่ 10 พบการขับออกน้อยที่สุด อะฟลาท็อกซินบี 1 ที่ถูกขับ ออกทางอุจจาระนั้น จะส่งผลกระทบต่อลูกไก่อาหาร เช่น การเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ไก่กินอาหาร ที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน ไก่จะมีการขับอะฟลาท็อกซินออกทางอุจจาระด้วย ดังนั้น ปลาที่เลี้ยงโดยการกินอุจจาระไก่ ก็จะเป็นอันตรายจากการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินเช่น เดียวกัน

รายการอ้างอิง



ภาษาไทย

- เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2540. สารพิษจากเชื้อรา : อดีต ปัจจุบัน และอนาคต : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 3 - 11.
- จักรกริศน์ เนื่องจำนงค์. 2540. อาการเป็นพิษของสัตว์ที่ได้รับสารพิษจากเชื้อรา : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 91 - 107.
- พิสุทธิ มังกรกาญจน์. 2538. เอกสารประกอบการสอนมีซิมเคมี (histochemistry). ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 39 หน้า.
- ภทนีย์ เล็กศรีสมพงษ์. 2540. สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 85 - 89.
- วารี สัจพันโรจน์ และ อรวรรณ นวีภาพ. 2540. เชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบและอาหารสัตว์ : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 53 - 60.
- ศุภกิจ อังศุภากร. 2526. ผลของอะฟลาท็อกซินต่อสุขภาพคนและสัตว์ในประเทศไทย. สัตวแพทยสาร 34(3) : 285 - 303.
- ศุภกิจ อังศุภากร. 2540. โรคของสัตว์เศรษฐกิจที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อรา ณ. พ.ศ. 2540 : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 109 - 117.
- อนงค์ บิณฑวิหค ดารณี เอื้อเพื่อ และประพิศ คล้ายนิล. 2534. อิทธิพลของอะฟลาท็อกซินที่เป็นอันตรายต่อไก่เนื้อและสารพิษที่ตกค้างในเนื้อเยื่อของไก่. สัตวแพทยสาร 42 (4) : 209 - 217.
- อนงค์ บิณฑวิหค. 2540. สารพิษอะฟลา : ความสัมพันธ์ระหว่างการเป็นพิษกับการเกิดมะเร็งตับในสัตว์ปีก : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 119 - 133.

อินทิตรา กระหม่อมทอง. 2540. เชื้อราที่สร้างสารพิษ : การประชุมทางวิชาการเรื่องสารพิษ
จากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ . คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
 มหาวิทยาลัย . : 61 - 84.

ภาษาอังกฤษ

- Aguilar , F. , Hussain , S.P. and Cerutti , P. 1993. Aflatoxin B 1 induces the transmission G→T 249 of the p 53 tumor suppressor gene in human hepatocytes Proc. Natl.Acad. Sci. USA. 90 : 8586 - 8590.
- Akao , M. , Kuroda , K. and Wogan , G.N. 1971. Aflatoxin B 1 :The kidney as a site of active in The mouse. Life Sci. 10 : 495 - 501.
- Archibald , R. McG. , Smith , H.J. and Smith , J.D. 1962. Brazillian groundnut toxicosis in Canadian broiler chickens. Can. Vet. J. 3 : 322 - 325.
- Asplin , F.D. and Canaghan , R.B.A. 1961. The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. Vet. Rec. 73 : 1215 - 1219.
- Association of Official Analytical Chemist. 1990. " Official Method of Analysis" 15th ed. AOAC , Arlington , Virginia. pp. 1201 - 1203.
- Balachandran , C. and Ramakrisnan , R. 1987. An experimental Study on the Pathology of Aflatoxicosis in Broiler Chicken. Indian. Vet. J. 64 : 911 - 914.
- Benjamin , M.M. 1961. Outline of Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. Iowa State University Press. Ames , Iowa , USA. pp. 58 - 60.
- Bintvihok , A. and Hayashi , M. 1991. Effects of aflatoxin B1 in ducklings : Effect on hepatic microsomal drug metabolizing enzyme. ACIAR Proceedings. 36 : 230 – 232.
- Bintvihok , A. , Thiengnin , T. , Patchimasiri , T. , Thummabood , S. , Shoya , S. , Ogura Y. , Kumagai , S. and Doi , K. 1993. Toxic effect of dietary aflatoxin and its residue in tissues and egg in laying quails. The 11th International Symposium of the World Association of Veterinary Food Hygienist. Bangkok Thailand : 229 - 307.

- 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.
- Bryden , W. and Comming , R.B. 1980. Observation on the liver of the chicken following aflatoxin B1 ingestion. Avian Path. 9 : 551 - 556.
- Campbell , T.W. 1995. Avian Hematology. In : Avian Hematology and Cytology. 2nd ed. Iowa State University Press. Iowa. pp. 1 - 19.
- Carnaghan , R.B.A. , Lewis , G. , Patterson , D.S.P. and Allcroft , R. 1966. Biochemical and pathological aspects of groundnut poisoning in chickens. Pathol. Vet. (3) : 601 - 615.
- Chipley , J.R. , Mabee , M.S. , Applegate , K.L. and Dreyfuss , M.S. 1974. Further characterization of tissue distribution and metabolism of [¹⁴ C] aflatoxin B 1 in chickens. Appl. Microbiol. 28 : 1027 - 1029.
- Daffalla , R. , Yagi , A.I. and Adam , S.E.I. 1987. Experimental aflatoxicosis in Hybro – type chicks : sequential changes in growth and semen constituents and histopathological changes. Vet. Hum. Toxicol. 29 : 222 - 226.
- Doerr , J.A. , Huff , W.E. , Wabick , C.J. , Chalouka , G.W. , May , J.D. and Merkley , J.W. 1983 . Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. Poult. Sci. 62 : 1921 - 1977.
- Donaldson , W.E. , Tung , H.T. and Hamilton , P.B. 1972. Depression of fatty acid synthesis in chick liver (*Gallus domesticus*) by aflatoxin. Comp. Biochem Physiol. 41B. : 843 - 847.
- Eaton , D.L. and Groopman , J.B. The Toxicology of Aflatoxins Human Health . Veterinary and Agricultural Significance. Academic press. 541 p.
- Elliis , W.O. , Smith , J.P. , Simpson , B.K. and Oldham , J.H. 1991. Aflatoxicosis in fowl : occurrences , biosynthesis , effects on organisms , detection , and methods control. Critical Rev. Food Sci. and Nutr. 30 : 403 - 439.
- Espada , Y. , Domingo , 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. , Verde , 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 Pathol. 23 : 37 - 47.
- Giambrone , J.J. , Diener , V.L. , Davis , N.D. , Panagala , V.S. and Hoen , F.J. 1985. Effects of purified aflatoxin on turkeys Poult. Sci. 64 : 859 - 865.
- Grosman , M.E. , Elias , M.M. Courin , E.J. and Garay , E.A. 1983. Alternations in renal function induced by aflatoxin B1 in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 69 : 310 – 325.
- Grumbmann , M.R. , Williams , S.N. , Bert , A.N. , Vohra , P. , Ernest , R.A. and Bethard , M. 1970. Aflatoxin susceptibility in various breeds in poultry. Proc. Exp. Biol. Med. 134 : 683 - 688.
- Hamilton , P.B , Tung , H.T. , Hanis , J.R. , Gainer , J.H. and Donaldson , W.E. 1972. The effect of dietary fat on aflatoxicosis in turkeys. Poult. Sci. 51 : 165 – 170.
- Harland , E.C. and Cardelihaç , P.T. 1975. Excretion of carbon - 14 labeled aflatoxin B 1 via bile, urine , and intestinal contents of chicken. Am. J. Vet. Res. 36 : 909 - 912.
- Hirano , K. , Adachi , Y. , Bintvihok , A. , Ishibashi , S. and Kumazawa , N.H. 1992. An Improved Method for Extraction and Clean up of aflatoxin B1 from liver. J. Vet. Med. Sci. 54 (3) : 567 - 569.
- Hsieh , D.P.H. , Wong , Z.A. , Wong , J.J. , Michas , C. and Puebner , B.H. 1977. Comparative metabolism of aflatoxin . In : Mycotoxins in Human and Animal Health. Hesseltine , J.A. and Mehlman , M.A. (eds.) Pathotox Publishers ; Park Forest South Illinois. USA. pp.37 - 50.
- Hsieh , D.P.H. 1985. An assessment of liver cancer risk posed by aflatoxin M 1 in Western World In : Trichothecenes and other Mycotoxin. Lacey , J. (ed.) Wiley & Sons. pp. 521 - 527.

- Huff , W.E. and Doerr , J.A. 1981. Synergism between aflatoxin and ochratoxin A in broiler chicken. Poult. Sci. 60 : 550 - 555.
- Huff , W.E. , Kubena , L.F. , Harvey , R.B. Corrier , D.E. and Mollenhauer , H.H. 1986. Progression of aflatoxicosis in broiler chickens. Poult. Sci. 65 : 1891 – 1899.
- Lancaster , M.C. , Washburn , K.W. and Wyatt , R.D. 1980. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature. 192 : 1095 - 1096.
- Lanza , G.M. , Washburn , K.W. , Wyatt R.D. and Edwards H.M. 1979. Depress ⁵⁶ Fe Absorption Due to Dietary Aflatoxin Poult. Sci. 58 : 1439 – 1444.
- Lanza , G.M. , Washburn , K.W. and Wyatt R.D. 1980. Strain Variation in Hematological Response of broilers to dietary Aflatoxin. Poult. Sci. 59 : 2682 – 2691.
- Leeson , S. Diaz , G. and Summers , J.D. 1995. Aflatoxins. In : Poultry Metabolic Disorder and Mycotoxins. University Press. pp. 249 - 298.
- Luna , L.G. , 1968. Manual of Histologic Staining Methods of Pathology. 3rd ed. Armed Forces pp. 158 – 160.
- Merkley , J.W. , Maxwell , R.J. , Phillips , J.G. and Huff , W.E. 1987. Hepatic fatty acids Profiles in aflatoxin exposed in broiler chicken. Poult. Sci. 66 : 59 - 67.
- McMahon , G. , Hanson , J.J. and Wogan , G.N. 1986. Identification of an activated C – *Ki ras* oncogene in rat liver tumors by aflatoxin B 1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83 : 9418 - 9422.
- Mohiuddin , S.M. , Reddy , M.V. , Reddy , M.M. and Ramakrishnan , R. 1986. Studies on phagocytic activity and hematological changes in aflatoxicosis in poultry. Indian Vet.J. 36 : 442 - 445.
- Mollenhauer , H.H. , Corrier , D.E. , Huff , W.E. , Kubena , L.F. , Harvey , R.B. and Droleskey , R.E. 1985. Ultrastructure of hepatic and renal lesions in chickens fed aflatoxin. Am. J.Vet. Res. 50 : 771 - 777.

- Muller , R.D. , Carlson , C.W. , Semeniuk G. , and Harsheield , G.S. 1970. The Response of Chicks , Ducklings , Goslings , Pheasants and Poultts to Graded Levels of Aflatoxins. Poult. Sci. 49 : 1346 - 1350.
- Natt , M.P. and Herrick , C.A. 1956. A new dilution counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken . Poult. Sci. 31 (41) : 375 – 378.
- Osweiler , G.D. , Carson , T.L. , Buck , W.B. and Van Gelder , G.A. 1983. Clinical and Diagnostic Vet. Toxic. 3rd ed Kendall / Hunt. Iowa. pp. 409 - 450.
- Patterson , D.S.P. 1973. Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxin in different animal species. Fd. Cosmet. Toxicol. 11 : 287 - 294.
- Patterson , D.S.P. and Roberts , B.A. 1970. The formation of aflatoxins B_{2a} and G_{2a} and their degradation products during the in vitro detoxification of aflatoxin by livers of certain avian and mammalian species. Fd. Cosmet. Toxicol. 81 : 527 – 538.
- Pearse , A.G.E. 1980. Histochemistry Theoretical and Applied. 4th ed. Churchill Livingstone pp.350 – 352.
- Pier , A.C. , Cyeswski , S.J. , Richard , J.L. and Thurston , J.R. 1977. Mycotoxin as a Veterinary problem. In : Proceeds of a Conference on Mycotoxin in Human and Animal Health. Rodricks , J.V. , Hesseltine , C.W. and Menlman , M.A. (eds.) University of Maryland. USA. Pathotox. Publishers. Park Forest South. Illinois USA. pp. 745 - 750.
- 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.
- Ram , K.V. , Rao , D.G. and Rao , P.R. 1988. Effect of aflatoxin feeding and its Withdrawal effect on the growth rate of broilers and layers under long term feeding trials. Indian Vet. J. 65 : 113 - 116.
- Reddy , D.N. , Rao , P.V. Reddy , V. R. and Yadgiri , B.B. 1984. Effect of selected levels of dietary aflatoxin on the performance of broiler chicken. Indian J. Anim. Sci. 54 : 68 - 73.

- 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 ¹⁴ C
aflatoxin in Laying Hens. Poult. Sci. 52 : 1302 - 1309.
- Schaeffer , L.L. , Tyczkowski , J.K. and Hamilton , P.B. 1988. Depletion of
oxycarotenoid pigments in chickens and the failure of aflatoxin to alter it.
Poult. Sci. 97 : 1080 - 1088.
- Schroeder , E.C. . Nair , K.P.C. and Cardeilhac , P.T. 1972. Response of Broiler
Chicks to a Single Dose of Aflatoxin. Poult. Sci. 51 : 1552 - 1556.
- Sheehan, D.C. and Hrapchak , B.B. 1980. Theory and practice of histotechnology.
2nd ed. Mosby Company , Missouri. 481 p.
- Simmons , A. 1968. Cyamethhemoglobin Method. In : Technical Hematology. 2nd ed.
J.B. Lippincott. Company. p. 5 - 6.
- Smith , J.W. and Hamilton , P.B. 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. Poult. Sci.
48 : 207 - 215.
- Smith , J.E. and Ross , K. 1991. The toxigenic Aspergilli. In : Mycotoxin and Animal
Foods. Smith , J.E. and Henderson , R.S. (eds) Boca Raton. CRC. Press.
pp. 101 - 118.
- Sugano , K. , Bintvihok , A. , Tanajaroenwatch , P. Sookthinhai , L. and Intraraksa , R.
1993. Simple and rapid cleanup method determination of aflatoxin B1 in
mixed feeds by Sep - pak Florisil cartridge. Proc. Jpn. Assoc.
Mycotoxicol. 37 : 43 - 45.
- Tashiro , F. , Morimura , S. , Hayashi , K. , Makino , R. , Kawamura , H. Horikoshi , N.,
Nemoto , K. , Ohtsubo , K. Sugimura , T. and Ueno , Y. 1986. Expression
C - Ha - ras and C - myc genes in aflatoxin B1- induced hepatocellular
carcinomas. Biochem. Biophys. Res. Commun. 138 : 858 - 860.

- Theron , J.J. , Liebenberg , N. and Joubert , H.J.B. 1965. Histochemistry and Electron Microscopy of acute liver lesion induced by Aflatoxin B1 in ducklings Nature. 206 : 908 - 909.
- Tung , H.T , Donaldson , W.E. and Hamilton , P.B. 1972. Altered lipid Transport during Aflatoxicosis. Toxicol. Appl. Pharmacol. 22 : 97 - 104.
- Tung , H.T. , Cook , F.W. , Wyatt , R.D. and Hamilton , P.B. 1975. The anemia caused by aflatoxin. Poult. Sci. 54 : 1962 - 1969.
- Tyczkowski , J.K. and Hamilton , P.B. 1987. Altered metabolism of carotenoids during aflatoxicosis in young chickens. Poult. Sci. 66 : 1184 - 1188.
- Wogan , G.N. , Edwards , G.S. and Shank , R.C. 1967. Excretion and tissue distribution of radioactivity from aflatoxin B1- ¹⁴C in rats. Cancer Res. 27 : 1729 – 1736.
- Zytveld , W.A.V. , Kelley , D.C. and Dennis , S.M. 1970. Aflatoxicosis : The Presence of Aflatoxin or their Metabilites in Livers and Skeletal Muscles of Chickens Poult. Sci. 49 : 1350 - 1356.



ภาคผนวก

Natt and Herrick solution (Natt และ Herrick , 1956)

สารเคมีและวิธีเตรียม

NaCl	3.88 g.
Na ₂ SO ₄	2.50 g.
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2.91 g.
formalin (37%)	7.50 g.
methyl violet 2 B	0.10 g.

ละลายสารเคมีเรียงตามลำดับในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ซี.ซี. ทั้งไว้ค้างคืนหลังจากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง (whatman no. 2) สารละลายจะมี PH 7.3

วิธีการนับจำนวนเม็ดเลือดแดง และจำนวนเม็ดเลือดขาว

1. ใช้ red blood cell counting pipette คูดเลือดให้ถึงเลข 1.0 และเจือจางด้วยสารละลาย Natt and Herrick ให้ถึงขีด 101 เลือดจะถูกเจือจางเป็น 1 : 100 เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที
2. หยดเลือดทิ้งไป 1 – 2 หยด แล้วนำเลือดมานับใน hemocytometer โดยหยดเลือดให้อยู่ในระหว่าง counting chamber และ cover glass แล้วนำไปนับด้วยกล้องจุลทรรศน์
3. นับจำนวนเม็ดเลือดแดง ที่ช่องตรงกลางของ hemocytometer ซึ่งมีทั้งหมด 25 ช่อง โดยนับจากมุมทั้ง 4 ช่อง และช่องตรงกลางอีก 1 ช่อง (1 ช่องจะแบ่งเป็น 16 ช่องเล็ก) แล้วนำมาคูณด้วย 5,000 จะได้จำนวนเม็ดเลือดแดง / ลูกบาศก์เซนติเมตร
4. นับจำนวนเม็ดเลือดขาว ที่ช่องตรงกลางของ hemocytometer ทั้งหมด 25 ช่อง (400 ช่องเล็ก) แล้วนำมาคูณด้วย 1,000 จะได้จำนวนเม็ดเลือดขาว / ลูกบาศก์เซนติเมตร

การเตรียมเนื้อเยื่อและสีย้อม

นำเนื้อเยื่อที่ฝังอยู่ในพาราฟลาส มาตัดด้วย rotary microtome หนาประมาณ 5 – 6 ไมครอน เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อที่ตัดได้นำมาติดบนสไลด์ที่ฉาบด้วย egg – albumin adhesive แล้วนำมาย้อมสีดังนี้

ย้อมสี Harris hematoxylin และ eosin (Sheehan และ Hrapchak , 1980)

สารเคมีและวิธีเตรียม

1. Harris hematoxylin	
hematoxylin crystal	5.00 gm.
100 % alcohol	50.00 ml.
ammonium alum	100.00 gm.
mercuric oxide (red)	2.50 gm.
distilled water	100.00 ml.

ละลาย hematoxylin ในแอลกอฮอล์ และละลาย alum ในน้ำร้อนเอาออกจากความร้อน แล้วผสมสารละลายทั้งสอง คนให้เข้ากัน นำไปต้มให้เดือดอย่างรวดเร็ว (ภายใน 1 นาที) แล้วเอาออกจากความร้อน เติม mercuric oxide คนช้า ๆ และให้ความร้อนอีกครั้งจนเป็นสีม่วงเข้ม เอาไปแช่ในน้ำเย็น (เติม glacial acetic acid 2 – 4 ml. / 100 ml. ของสารละลายก่อนใช้)

2. Eosin – phloxine solution

2.1 stock eosin

eosin Y	1.00 gm.
distilled water	100.00 ml.

2.2 stock phloxine

phloxine B	1.00 gm.
distilled water	100.00 ml.

2.3 working solution

stock eosin	100.00 ml.
stock phloxine	10.00 ml.
95 % alcohol	780.00 ml.
glacial acetic acid	4.00 ml.

เติม glacial acetic acid 0.5 ml. ต่อ 100 ml. ของ working solution

3. 1 % acid alcohol

70 % alcohol	1,000.00 ml.
hydrochloric acid	10.00 ml.

4. Ammonium water solution

tap water	1,000.00 ml.
ammonium hydroxide	2.3 ml.

วิธีย้อมสี Harris hematoxylin และ eosin

- นำ paraffin section ไป deparaffinized และ hydration จนถึงน้ำกลั่น
- Harris hematoxylin 5-8 นาที
- ล้าง (rinse) ในน้ำประปาที่ไหลจน section เป็นสีน้ำเงิน (5 – 10 นาที)
- differentiate ใน acid alcohol 1 % โดยจุ่ม (dip) 3 ครั้ง
- แช่ในน้ำประปาที่ไหล 3 – 5 นาที จน section เป็นสีน้ำเงินอีกครั้ง
- จุ่มใน ammonium water solution 1 นาที
- แช่ในน้ำประปาไหล 5 – 10 นาที
- eosin solution 15 วินาที – 2 นาที
- dehydration และ clearing
- mount ด้วย permount

ผล : นิวเคลียสติดสีน้ำเงินม่วง

ไซโตพลาสซึม เป็นสีชมพูถึงแดง

วิธีย้อม PAS Method (Luna , 1968)

สารเคมีและวิธีเตรียม

1. 1% periodic acid

periodic acid	1.00 gm.
distilled water	100.00 ml.

2. Schiff's reagent

basic fuchsin	1.00 gm.
charcoal	2.00 gm.
potassium metabisulphite	1.00 gm.
1 N hydrochloric acid	20.00 ml.
distilled water	200.00 ml.

เติม basic fuchsin ในน้ำกลั่นเดือด คนให้เข้ากัน ทำให้เย็นลงที่ 50 °C กรองแล้วเติม 1 N hydrochloric acid ปล่อยให้เย็นที่ 25 °C เติม potassium metabisulphite คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 12 – 24 ชั่วโมง เติม charcoal ลงไป เขย่า 1 นาที แล้วกรอง (ได้สารละลายที่ไม่มีสี) เก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 0 - 4 °C ขณะย้อมใช้ที่อุณหภูมิห้อง

3. Sulphite rinse solution

10% potassium metabisulphite	7.50 ml.
1 N hydrochloric acid	7.50 ml.
distilled water	135.00 ml.

เติม potassium metabisulphite และ hydrochloric acid

วิธีย้อมสี PAS Method

1. นำ paraffin section ไป deparaffinized และ hydration จนถึงน้ำกลั่น
2. 1% periodic acid 10 นาที
3. แช่ในน้ำประปาไหล 5 นาที
4. ล้างในน้ำกลั่น 1-3 ครั้ง
5. Schiff's reagent 30 นาที
6. Sulphite rinse solution 3 ครั้ง ครั้งละ 1 2 และ 3 นาที ตามลำดับ
7. แช่ในน้ำประปาที่ไหล 10 นาที
8. alum hematoxylin 1 นาที
9. แช่ในน้ำประปาที่ไหล 5 นาที
10. light green 1% 1 นาที
11. dehydration , clearing และ mount

ผล : polysaccharide ติดสีชมพู

ย่อมนสี Masson's trichrome method (Sheehan และ Hrapchak, 1980)

สารเคมี และวิธีเตรียม

1. Weigert's iron hematoxylin solution

1.1 Solution A

hematoxylin crystal	1.00 gm.
95 % alcohol	100.00 ml.

1.2 Solution B

ferric chloride (29 % aqu.)	4.00 ml.
distilled water	95.00 ml.
hydrochloric acid (conc.)	1.00 ml.

ผสม solution A และ B ในสัดส่วน 1:1

2. Biebrich scarlet acid fuchsin solution

1 % biebrich scarlet	90.00 ml.
1 % acid fuchsin	10.00 ml.
glacial acetic acid	1.00 ml.

ผสมให้เข้ากัน

3. Phosphomolybdic – phosphotungstic acid solution

phosphomolybdic acid	5.00 gm.
phosphotungstic acid	5.00 ml.
distilled water	200.00 ml.

ผสมให้เข้ากัน

4. 5 % Phosphotungstic acid solution

phosphotungstic acid	5.00 gm.
----------------------	----------

distilled water	100.00 ml.
-----------------	------------

ละลาย phosphotungstic acid ในน้ำกลั่น

5. Aniline blue solution

aniline blue	2.50 gm.
--------------	----------

glacial acetic acid	2.00 ml.
---------------------	----------

distilled water	100.00 ml.
-----------------	------------

ใส่ aniline blue และ glacial acid ลงในน้ำกลั่น

6. 2 % light green solution

light green SF yellowish	2.00 gm.
--------------------------	----------

distilled water	98.00 ml.
-----------------	-----------

glacial acetic acid	1.00 ml.
---------------------	----------

ใส่ light green และ glacial acetic ในน้ำกลั่น

7. 1 % glacial acetic acid solution

glacial acetic acid	1.00 ml.
---------------------	----------

distilled water	100.00 ml.
-----------------	------------

ผสมกัน

วิธีย้อมสี Masson's trichome method

1. นำ paraffin section ไป deparaffinized และ hydration. จนถึงน้ำกลั่น

2. Weigert's iron hematoxylin solution 10 นาที

3. แช่ในน้ำประปาที่ไหล 10 นาที

4. จุ่มในน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

5. biebrich scarlet acid fuchsin solution 10 นาที

6. จุ่มในน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

7. 5 % phosphotungstic acid 15 นาที สำหรับย้อม light green หรือ
phosphomolybdic - phosphotungstic acid 10-15 นาที สำหรับย้อม aniline
blue

8. 2 % light green solution 6 นาที หรือ aniline blue solution 5 นาที

9. จุ่มในน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

10. จุ่มใน glacial acetic acid solution 2-3 ครั้ง

11. dehydration , clearing และ mount

ผล :

- นิวเคลียสติดสีดำ Weiger's iron hematoxylin
- ไชโตพลาสซึม , keratin , muscle fiber และ intercellular fluid ติดสีแดงของ
bicbrich scarlet - acid fuchsin
- collagen fiber ติดสีเขียวของ light green หรือสีน้ำเงินของ aniline blue

การตรวจหาอะฟลาท็อกซินตกค้างในองุ่น

ขั้นตอนการสกัด (Extraction) (Sugano *et al.* , 1993) และทำให้บริสุทธิ์ (Clean up)
(Hirano *et al.* , 1992)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง
2. เครื่อง ultrasonic wave
3. erlenmeyer flask มีฝาเกลียวปิด ขนาด 250 และ 500 ซี.ซี.
4. กรวยกรองพร้อมกระดาษกรอง
5. กระบอกตวงขนาด 10 , 50 , 100 และ 500 ซี.ซี.
6. บีเปต ขนาด 1 ซี.ซี.
7. บีกเกอร์ขนาด 20 , 50 , 100 และ 100 ซี.ซี.
8. ขวดกั้นกลม
9. rotary evaporator
10. sep – pak florisil cartridge
11. ไชริงค์แก้วขนาด 50 ซี.ซี.
12. ขวดแก้ว (vial) ขนาด 2 ซี.ซี. พร้อมฝาเกลียวปิด
13. ขวดแก้วรูปหยดน้ำ

สารเคมี

1. citric acid
2. celite 545
3. dichloromethane
4. sodium sulfate anhydrous
5. chloroform
6. methanol
7. hexane
8. ether
9. acetone

10. acetic acid
11. benzene
12. nitrogen gas

ขั้นตอนการสกัด (Extraction) (Sugano *et al.*, 1993)

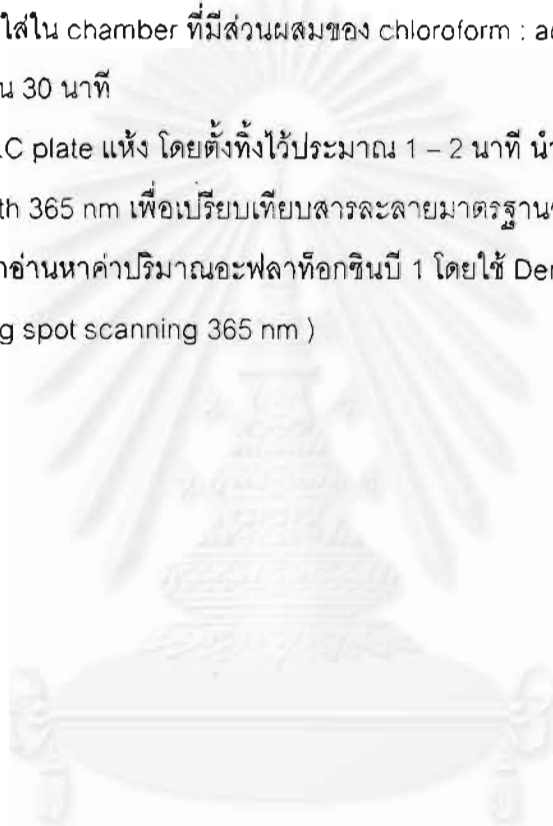
1. ชั่งอุจจาระจำนวน 50 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 500 ซี.ซี.
2. เติม celite 545 จำนวน 10 กรัม ใช้แท่งแก้วคนประมาณ 5 นาที
3. เติม 20 % citric acid solution จำนวน 5 ซี.ซี. ใช้แท่งแก้วคนประมาณ 5 นาที
4. เติม dichloromethane จำนวน 100 ซี.ซี.
5. นำส่วนผสมใน erlenmeyer flask ไปเขย่าด้วย ultrasonic wave นาน 30 นาที
6. นำส่วนผสมมากรองผ่านกระดาษกรองเก็บไว้ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 ซี.ซี.
7. เติม sodium sulfate anhydrous จำนวน 10 กรัม แล้วเขย่า เพื่อดูดซับน้ำ
8. นำส่วนผสมมากรองอีกครั้งจนใสเก็บไว้ในขวดกันกลม
9. นำไปกลั่นลดปริมาตรด้วย rotary evaporator

ขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ (Clean up) (Hirano et al . , 1992)

1. นำ sep – pak florisil cartridge มาสวมพอดีกับหัวไซริงค์ ขนาด 50 ซี.ซี.
2. เติม chloroform ประมาณ 5 – 10 ซี.ซี. ลงในไซริงค์ แล้วปล่อยให้หยุดทิ้ง เพื่อให้ sep – pak ชุ่มโดยใช้ flask รองรับสารทิ้ง
3. เติม chloroform จำนวน 10 ซี.ซี. ลงในขวดกั่นกลมเพื่อละลายสารที่กั่นขวดจากขั้นตอนการสกัดในข้อ 9 แล้วเทลงในไซริงค์ ปล่อยให้ผ่าน sep – pak หยุดทิ้งลงใน flask ที่รองรับสารทิ้ง
4. เติม chloroform : methanol (9 : 1) จำนวน 10 ซี.ซี. แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3
5. เติม hexane จำนวน 10 ซี.ซี. แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3
6. เติม benzene : acetic acid (95.5 : 4.5) จำนวน 10 ซี.ซี. แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3
7. เติม ether : hexane (6 : 4) จำนวน 10 ซี.ซี. แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3
8. เปลี่ยนขวดรองรับสารเป็นขวดแก้วรูปหยดน้ำแทน flask แล้วเติม acetone : water (99 : 1) จำนวน 50 ซี.ซี. ลงในไซริงค์เก็บสารที่หยุดผ่าน sep – pak ลงในขวดแก้วรูปหยดน้ำ
9. นำขวดแก้วรูปหยดน้ำไปลดปริมาตรด้วย rotary evaporator แล้วเป่าให้แห้งด้วย nitrogen gas
10. นำสารผสมที่เป่าให้แห้งเติม chloroform ประมาณ 1 ซี.ซี. เพื่อละลายสารอะฟลาท็อกซินที่เป่าแห้งภายในขวดแก้วรูปหยดน้ำ
11. บรรจุสารละลายที่ได้ลงในขวดแก้ว (vial) ขนาด 2 ซี.ซี. นำมาห่อด้วยกระดาษฟอยด์ให้มิดชิด เพื่อป้องกันแสง เปิดจุดตั้งทิ้งไว้หรือใช้ nitrogen gas เป่าให้สารละลายระเหยจนแห้ง หลังจากนั้นนำไปเก็บที่ - 20 °ซ

การตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 โดยวิธี Thin layer chromatography (AOAC , 1990)

1. นำอะฟลาท็อกซินที่สกัดได้มาละลายใน chloroform จำนวน 100 ไมโครลิตร
2. นำเอาสารละลายข้อ 1 มา spot ลง TLC plate จำนวน 20 ไมโครลิตร
3. นำเอาสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซินบี 1 ที่มีความเข้มข้น 125 ppb. spot ลงไปบน TLC plate ด้วย เพื่อเปรียบเทียบกับสารละลายในข้อ 2
4. นำ TLC plate มาใส่ใน chamber ที่มีส่วนผสมของ chloroform : acetone (90 :10) จำนวน 100 ซี.ซี. ประมาณ 30 นาที
5. หลังจาก ทำให้ TLC plate แห้ง โดยตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 – 2 นาที นำมาส่องด้วย UV dark box ที่ wavelength 365 nm เพื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซินบี 1
6. นำ TLC plate มาอ่านหาค่าปริมาณอะฟลาท็อกซินบี 1 โดยใช้ Densitometer (Dual wavelength flying spot scanning 365 nm)





ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางคนารัตน์ หรินทรานนท์ เกิดเมื่อวันที่ 12 ธันวาคม 2504 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี
สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2528 เข้าทำงานรับราชการตำแหน่ง
นายสัตวแพทย์ฝ่ายสุขภาพสัตว์ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดชลบุรี กรมปศุสัตว์ ตั้งแต่ปี 2528 – 2533.
ปี 2534 – ปัจจุบัน รับราชการในตำแหน่งนายสัตวแพทย์ 7 กลุ่มงานบำบัดโรคสัตว์ปีก กองสัตว์รักษา
กรมปศุสัตว์ ลามาศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาพยาธิวิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2539

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย