

# ẢNH HƯỞNG CỦA AFLATOXIN B<sub>1</sub> LÊN CẤU TRÚC MÔ GAN CÁ TRA (*Pangasius hypophthalmus*) VÀ CÁ BASA (*Pangasius bocourti*)

Trương Quốc Phú và Dương Thủy Yên<sup>1</sup>

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) with different levels in diets on histological changes of liver of *Pangasius hypophthalmus* and *P. bocourti* fingerlings. *P. hypophthalmus* (5.18 g initial weight) and *P. bocourti* (2.52 g) were stocked at 15 inds./40 L tank system with overflow water supply. The fingerlings were fed 5 dietary treatments containing 0, 0.5, 2.5, 10 and 50 mgAFB<sub>1</sub>/kg feed. After 90 days, some fish of each treatment were randomly sampled to collect their livers for histological analysis. The other fish were continuously cultured and fed the same diet without AFB<sub>1</sub> for further 60 days and then their livers were sampled. Histological slides of liver were stained with hematoxylin and eosin solutions. Liver damages of two catfish species fed 10 and 50 mg AFB<sub>1</sub>/kg feed were observed including cell atrophy, adipopexis and cell necrosis. Hepatic cells of fish fed lower levels of AFB<sub>1</sub> (0.5 and 2.5 mg/kg feed) did not show any change in structure compared to those of fish fed control diet.

**Keywords:** aflatoxin B<sub>1</sub>, *Pangasius*, liver damage, histology

**Title:** Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on liver histology of Ca tra (*Pangasius hypophthalmus*) and ca Basa (*P. bocourti*)

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) lên sự thay đổi cấu trúc mô gan của cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) và cá ba sa (*P. bocourti*). Cá tra có khối lượng ban đầu là 5,18 g và cá ba sa cỡ 2,52 g được nuôi trong hệ thống bể 40 lít cấp nước chảy tràn (0,3 lít/phút) và có sục khí với mật độ 15 con/bể. Cá được cho ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> với hàm lượng 0, 0,5, 2,5, 10 và 50 mg/kg. Sau 90 ngày thí nghiệm, một số cá được thu ngẫu nhiên để lấy mẫu gan làm tiêu bản mô học. Số cá còn lại được tiếp tục nuôi thêm 60 ngày với thức ăn không có chứa AFB<sub>1</sub>, sau đó cũng được giải phẫu lấy mô gan. Lát cắt mẫu gan được nhuộm hematoxylin và eosin. Kết quả, thức ăn chứa hàm lượng AFB<sub>1</sub> từ 10 mg/kg trở lên đã gây tổn thương tế bào gan của hai loài cá, biểu hiện là tế bào gan bị teo, tích lũy mỡ và bị hoại tử. Với hàm lượng AFB<sub>1</sub> trong thức ăn thấp từ 2,5 mg/kg trở xuống, tế bào gan cá không thể hiện những thay đổi khác biệt so với tế bào gan cá ở lô đối chứng.

**Từ khóa:** aflatoxin B<sub>1</sub>, *Pangasius*, tổn thương gan, mô học

## 1 GIỚI THIỆU

Thức ăn và nguyên liệu làm thức ăn cho động vật có thành phần là ngũ cốc bảo quản không không tốt (khi nhiệt độ môi trường trên 27°C, độ ẩm môi trường lớn hơn 62% và độ ẩm trong thức ăn lớn hơn 14%, sâu bọ xâm nhập...) nắm mốc sẽ phát triển và sinh ra độc tố aflatoxin (Juli-Anne and Yanong, 1995; Diab, 2000; Nabil Saad, 2004). Theo Wheater *et al.* (1985) khi các loài động vật bị nhiễm độc tố sẽ làm tổn thương mô gan gây ra những biến đổi bên trong tế bào như: (i) nhân tế bào mô gan bị teo; (ii) quá trình chuyển hóa mỡ không bình thường dẫn đến hiện tượng tích lũy mỡ trong tế bào chất; (iii) tế bào gan bị hoại tử. Một số tác giả

<sup>1</sup> Khoa Thủy sản Đại học Cần Thơ

nghiên cứu ảnh hưởng của aflatoxin (AFB<sub>1</sub>) lên mô gan cá cũng cho kết quả tương tự như các loài động vật trên cạn. Theo Juli-Anne và Yanong (1995), cá Hồi được cho ăn thức ăn có chứa 0,4 µg AFB<sub>1</sub>/kg thức ăn trong 15 tháng đã có 14 % số cá phát triển khối u ở gan, nếu cho cá ăn 20 µg AFB<sub>1</sub>/kg thức ăn trong 8 tháng có 58 % số cá gan có khối u và tiếp tục đến 12 tháng kết quả có tới 83 % số cá có khối u ở gan. Theo Tuan *et al.* (2002) cho biết, cá rô phi ăn thức ăn có chứa các hàm lượng AFB<sub>1</sub> 10 và 100 mg/kg thức ăn bị tổn thương gan sau 8 tuần thí nghiệm.

Hiện nay cá tra và cá ba sa được nuôi chủ yếu bằng thức ăn tự chế với thành phần cám, gạo và các loại ngũ cốc khác rất dễ bị nhiễm độc tố aflatoxin. Một số trường hợp cá bị chậm lớn hay tỉ lệ sống thấp thường được giải thích là do môi trường xấu hoặc cá bị bệnh, trong khi đó ảnh hưởng của độc tố nấm trong thức ăn chưa được đề cập đến. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích tìm ra ảnh hưởng của độc tố aflatoxin lên sự thay đổi cấu trúc mô gan của cá từ đó có thể giải thích nguyên nhân cá chậm lớn hay tỉ lệ chết cao một cách thuyết phục hơn.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được thực hiện tại các phòng thí nghiệm của Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Thời gian nghiên cứu từ tháng 01/2003 đến 12/2004.

Cá tra giống và cá ba sa giống sau khi mua về từ Đồng Tháp được nuôi dưỡng trong bể một tuần cho khỏe và tập quen với thức ăn thí nghiệm. Khối lượng trung bình ban đầu của cá tra là 5,18 g và của cá ba sa là 2,52 g. Mỗi loại cá được bố trí trong hệ thống bể nhựa chứa 40 lít, cấp nước chảy tràn với lưu tốc là 0,3 lít/phút và có sục khí. Mật độ cá thí nghiệm là 15 con/bể. Cá được cho ăn với thức ăn có chứa hàm lượng AFB<sub>1</sub> là 0 mg/kg, 0,5 mg/kg, 2,5 mg/kg 10 mg/kg và 50 mg/kg. Cá được cho ăn 3 lần mỗi ngày, vào lúc sáng 8 giờ, 13 giờ và 16 giờ. Tùy theo mức độ sử dụng thức ăn của cá, lượng thức ăn được điều chỉnh hàng ngày, từ 4-8% khối lượng cá. Sau 90 ngày thí nghiệm, chọn ngẫu nhiên một số cá, giải phẫu lấy gan để làm tiêu bản lát cắt. Số cá còn lại được tiếp tục nuôi thêm 60 ngày với thức ăn không có chứa aflatoxin, sau đó cũng được giải phẫu lấy gan để làm tiêu bản lát cắt.

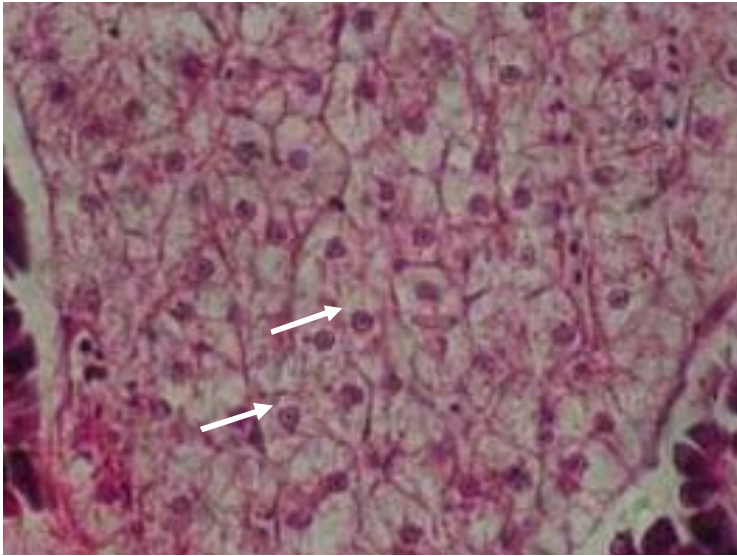
Mô gan cá được cố định, xử lý và nhuộm hai màu (hematoxylin-eosin) theo phương pháp của Supranee (1991). Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi, đầu tiên ở độ phóng đại 100x để đánh giá tiêu bản, tiêu bản đạt yêu cầu phải có nhân bắt màu tím xanh của Hematoxylin, tế bào chất bắt màu hồng của Eosin. Các tiêu bản đạt yêu cầu sẽ được quan sát lần lượt ở độ phóng đại 100x, 400x và chụp hình tiêu bản đặc trưng. Việc quan sát tiêu bản và nhận dạng những thay đổi cấu trúc của tế bào dựa vào mô tả của các tác giả Wheeler *et al.* (1985); Supranee (1991); Tuan *et al.* (2002).

## 3 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

### 3.1 Mô gan cá tra và cá ba sa ăn thức ăn không chứa AFB<sub>1</sub>

Khi quan sát lát cắt ngang của gan dưới kính hiển vi cho thấy gan được cấu tạo bởi những dãy tế bào gan có hình đa giác (Hình 1), bên trong có một nhân hình cầu và các dãy tế bào này sắp xếp theo hướng lan tỏa từ tĩnh mạch trung tâm. Kích thước nhân giữa các tế bào khác nhau tương đối đồng đều, tế bào chất có màu hồng nhạt

(bắt màu eosin), nhân và hạch nhân có màu xanh đen (bắt màu hematoxylin), hạch nhân bắt màu mạnh hơn nên có màu sậm hơn nhân tế bào.



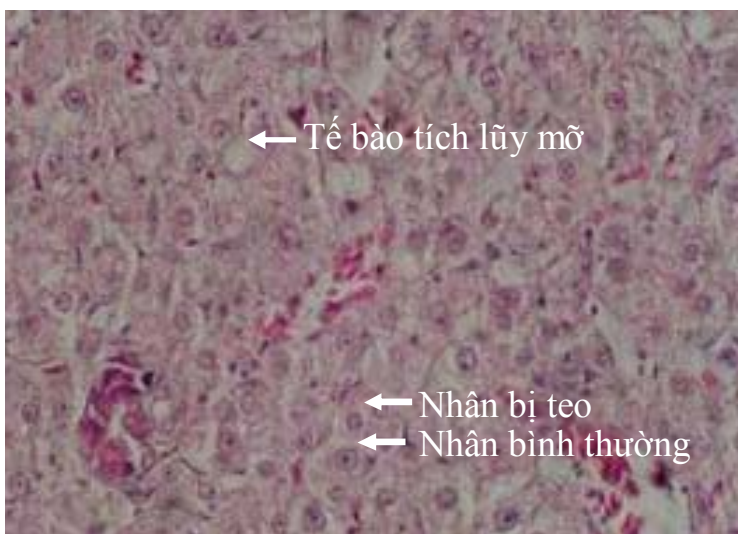
Hình 1: Mô gan của cá tra ăn thức ăn không có chứa AFB<sub>1</sub> (400x)

### 3.2 Mô gan cá tra cho ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> với các hàm lượng khác nhau

Cá được cho ăn thức ăn có chứa hàm lượng AFB<sub>1</sub> khác nhau sau thời gian 3 tháng trên gan của cá tra có những biến đổi về cấu trúc vi thể. Cá ăn thức ăn có hàm lượng AFB<sub>1</sub> thấp (0,5 và 2,5 mg/kg) thì biểu hiện sự thay đổi cấu trúc mô gan không rõ ràng và khó phân biệt với mô gan cá ăn thức ăn không có chứa AFB<sub>1</sub>. Tuy nhiên, cá ăn thức ăn chứa 10 và 50 mg AFB<sub>1</sub> /kg thì mô gan có những thay đổi rõ ràng và khác biệt với mô gan cá ăn thức ăn không chứa AFB<sub>1</sub>, cụ thể mô gan có những biến đổi như sau:

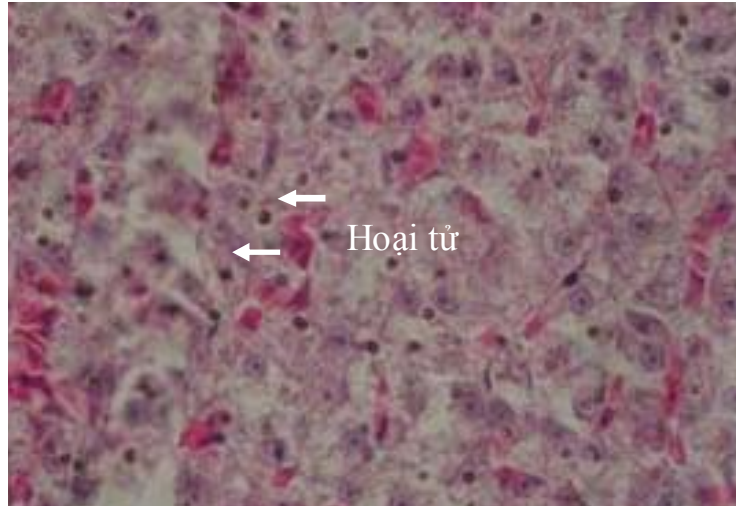
Mô gan của cá có hiện tượng teo nhân, trên mô gan có nhiều tế bào nhân bị co lại nhỏ hơn bình thường trong khi một số tế bào khác thì nhân có kích thước bình thường.

Một biến đổi khác trên mô gan là một số tế bào có hiện tượng tích lũy mỡ, trên tiêu bản lát cắt tế bào tích lũy mỡ không có hiện tượng bắt màu thuốc nhuộm nên khi quan sát dưới kính hiển vi tế bào này có màu sáng (Hình 2).



Hình 2: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> (100mg/kg) sau 90 ngày (400x)

Đối với cá tra cho ăn AFB<sub>1</sub> 90 ngày sau đó được nuôi thêm 60 ngày với thức ăn không chứa AFB<sub>1</sub> thì mô gan có những biến đổi đặc biệt hơn. Ngoài hiện tượng teo nhân còn có nhiều tế bào bị hoại tử, hiện tượng hoại tử là do tế bào bị chết đi và nhân thường bị vỡ sau một thời gian. Quan sát dưới kính hiển vi, nhân của tế bào bị hoại tử thường bắt màu hematoxylin mạnh, đặc biệt là hạch nhân. Nhân và hạch nhân thường có màu xám đen, một số tế bào có nhân bị vỡ ra (Hình 3). Như vậy, AFB<sub>1</sub> tích lũy trong cơ thể cá tiếp tục gây ảnh hưởng đến cấu trúc của mô gan.



Hình 3: Mô gan của cá tra ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> sau 150 ngày (400x)

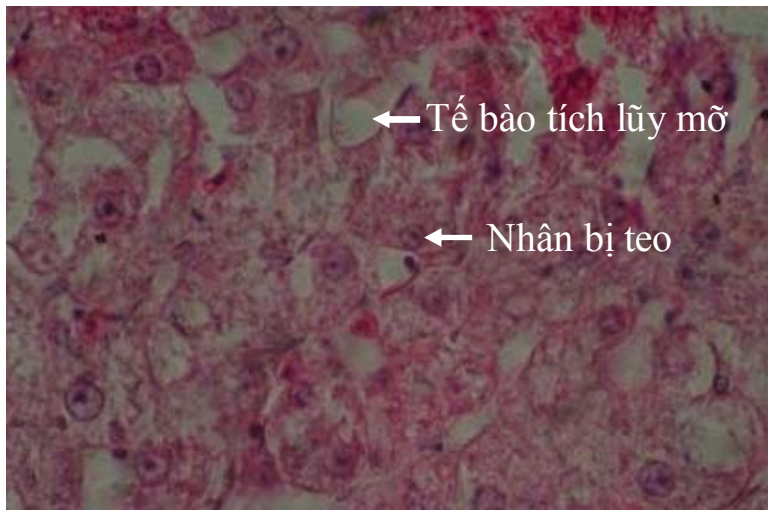
### 3.3 Mô gan cá ba sa cho ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> với các hàm lượng khác nhau

Tương tự như cá tra, sau thời gian nuôi 3 tháng cá ba sa được cho ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> khác nhau, trên gan của cá cũng có những biến đổi về cấu trúc vi thể. Hàm lượng AFB<sub>1</sub> trong thức ăn càng cao thì mức độ biến đổi càng nhiều. Mô gan của cá cũng có hiện tượng teo nhân và hiện tượng tích lũy mỡ (Hình 4). Đối với trường hợp cá được cho ăn AFB<sub>1</sub> 90 ngày sau đó nuôi đến 150 ngày với thức ăn không có chứa AFB<sub>1</sub> thì mô gan vẫn tiếp tục bị tổn thương, nhiều tế bào bị hoại tử (Hình 5).

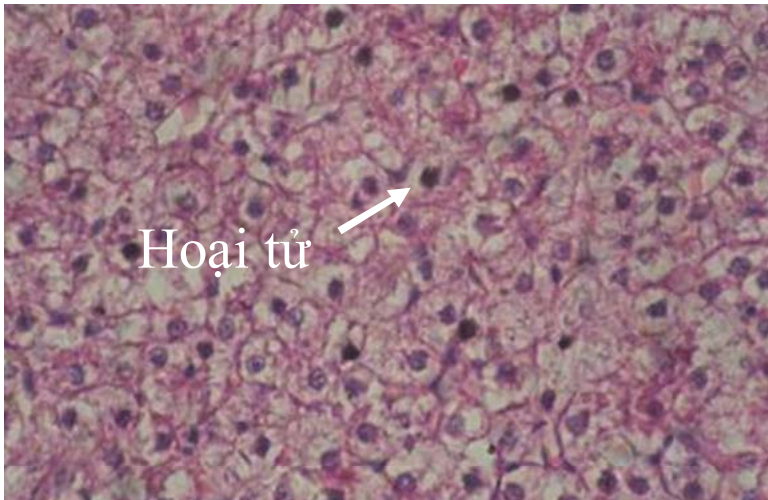
Sự biến đổi mô gan của cá tra và cá ba sa dưới ảnh hưởng của AFB<sub>1</sub> tương tự như ở những loài động vật trên cạn và động vật thủy sinh nhưng mức độ ảnh hưởng khác nhau tùy từng loài. Đối với các loài động vật trên cạn, theo Wheeler *et al.* (1985) đầu tiên mô gan của sinh vật có một số biến đổi như thay đổi hình dạng, kích thước và số lượng của tế bào, sau đó tế bào vận chuyển lipid bất bình thường dẫn đến tích lũy mỡ trong tế bào chất và cuối cùng là hiện tượng hoại tử xảy ra khi chúng bị nhiễm độc tố. Một nghiên cứu khác trên gà tây, khi thức ăn có chứa hàm lượng aflatoxin lớn hơn 400 µg/kg sẽ dẫn đến thay đổi tỉ lệ giữa khối lượng gan và khối lượng cơ thể, hàm lượng enzyme trong gan thay đổi, xung huyết từng phần và giảm số lượng tế bào bạch cầu (Quist *et al.*, 2000).

Đối với các loài động vật thủy sinh, một số loài rất nhạy cảm đối với AFB<sub>1</sub> như cá Hồi (*Oncorhynchus mykiss*), trong khi có một số loài có khả năng chịu đựng cao đối với AFB<sub>1</sub> như cá rô phi. Kết quả nghiên cứu của Arana *et al.* (2002) trên cá Hồi cho thấy với hàm lượng AFB<sub>1</sub> 80 µg/kg thức ăn thì sau một năm trên mô gan của cá xuất hiện các khối u, cá Hồi tam bội có khả năng chịu đựng tốt hơn cá

lượng bội vì trong mô gan không có khối u. Lopes *et al.* (2005) nghiên cứu trên loài cá da trơn (*Rhamdia quelen*) cho thấy cấu trúc mô gan bị thay đổi khi hàm lượng aflatoxin trong thức ăn cao hơn 350 µg/kg.



**Hình 4: Mô gan của cá ba sa ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> (100mg/kg) sau 90 ngày (400x)**



**Hình 5: Mô gan của cá ba sa ăn thức ăn có chứa AFB<sub>1</sub> (100mg/kg) sau 150 ngày (400x)**

Boonyaratpalin *et al.* (2000) đã nghiên cứu ảnh hưởng của AFB<sub>1</sub> lên sự biến đổi mô gan-tụy (hepatopancreas) của tôm sú (*Panaeus monodon*), kết quả thức ăn chứa hàm lượng 37 ppb không gây nên sự biến đổi mô gan-tụy nhưng ở hàm lượng cao hơn 74 µg/kg gây nên hiện tượng teo các ống nhỏ bên trong gan-tụy (hepatopancreatic tubule) và hoại tử từng phần tế bào biểu mô của ống gan-tụy. Mức độ teo ống gan tụy và hoại tử tế bào biểu mô càng trầm trọng khi hàm lượng AFB<sub>1</sub> càng cao.

Khác với cá Hồi, cá rô phi đỏ (*Oreochromis niloticus* Linn. x *O. mossambicus* Peters) và cá rô phi vàng (*Oreochromis niloticus*) là những loài có khả năng chịu đựng cao đối với độc tố aflatoxin. Theo Usano *et al.* (2005) với hàm lượng AFB<sub>1</sub> trong thức ăn là 1.000-1.500 µg/kg sẽ gây nên hiện tượng sưng, viêm và hoại tử tế bào mô gan và tụy của cá rô phi đỏ. Tuan *et al.* (2002) nghiên cứu ảnh hưởng của AFB<sub>1</sub> lên sự biến đổi mô gan, tỳ tạng, tim, thận, dạ dày và ruột của cá rô phi, kết

quả cho thấy khi cá ăn thức ăn có hàm lượng AFB<sub>1</sub> nhỏ hơn 2,5 mg/kg không có sự biến đổi cấu trúc của tế bào ở các mô trên nhưng khi hàm lượng AFB<sub>1</sub> là 10 mg/kg và 100 mg/kg thức ăn đã xảy ra những tổn thương ở mô gan. Các tổn thương mô gan bao gồm hiện tượng nhân không đồng cỡ, tế bào chất tích mỡ và hoại tử.

Như vậy, cá tra và cá ba sa là những loài cá có khả năng chịu đựng rất cao đối với AFB<sub>1</sub>, ở hàm lượng 10 và 50 mg/kg thức ăn những tổn thương mô gan xảy ra tương tự như ở cá rô phi vàng. Hàm lượng AFB<sub>1</sub> trong thức ăn thấp hơn 2,5 mg/kg không gây tổn thương mô gan.

#### 4 KẾT LUẬN

Gan cá tra và cá ba sa bị tổn thương khi cá ăn thức ăn chứa hàm lượng AFB<sub>1</sub> từ 10 mg/kg trở lên, mức độ tổn thương càng lớn khi hàm lượng AFB<sub>1</sub> càng cao. Những tổn thương bao gồm nhân tế bào gan bị teo, tích lũy mỡ và bị hoại tử.

Đối với cá ăn thức ăn chứa AFB<sub>1</sub> từ 2,5 mg/kg trở xuống những tổn thương mô gan không rõ ràng và không khác biệt so với lô đối chứng.

Cá tra và cá ba sa là những loài cá có khả năng chịu đựng rất cao đối với độc tố aflatoxin.

#### CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các bạn đồng nghiệp thuộc Bộ môn Sinh học nghề cá, đặc biệt là cô Trần Thị Thanh Hiền và cô Phạm Trần Nguyên Thảo, cảm ơn anh Lê Quốc Thanh, học viên cao học, đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arana S., Y.A. Tabata, M. Sabino, M. G. Rigolino, F. J. Hernandez-Blazquez. 2002. Differential effect of chronic aflatoxin B1 intoxication on the growth performance and incidence of hepatic lesions in triploid and diploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. med. vet. v.34 n.2 Valdivia 2002. ([http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2002000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2002000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es)) (07/02/2006).
- Boonyaratpalin M., K. Supamattaya, D. Suprasert and C. Borisuth. 2000. The Immune system in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* Fabrius:IX. Effects of aflatoxin B on growth performance, Blood Components, Immune Function and Histopathological Changes in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabrius). Songklanakarin J. Sci. Technol. (Suppl.), 641-652. ([http://shrimpbase.fish.ku.ac.th/display\\_abs\\_eng.php?id=430](http://shrimpbase.fish.ku.ac.th/display_abs_eng.php?id=430)) (07/02/2006).
- Juli-Anne, B. R and R. P. E. Yanong. 1995. Mold in fish feeds and aflatoxincosis. <http://edis.idas.ufl.edu/Body-FAO95> (10/8/2005).
- Lopes, P.R.S., J.R. Neto, C.A. Mallmann, R. Lazzari, F.A. Pedron, C.A. Veiverberg. 2005. Growth and modifications in the liver and carcass of jundia fingerlings fed diets containing aflatoxins. Pesq. Agropec. Bras. Brasilia, v.40, n.10, p.1029-1034, out.2005 (<http://www.scielo.br/pdf/pab/v40n10/a12v4010.pdf>) (07/02/2006).

- Nabil Saad. 2004. Aflatoxin: Occurrence and Health Risks.  
<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.html> (10/8/ 2005)
- Quist, C.F., D.I. Bounous, J.V. Kiburn, V.F. Nettles and R.D. Wyatt. 2000. The effects of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(3), 2000, pp. 436-444 © Wildlife Disease Association 2000.  
([http://www.gwf.org/wild\\_turkey\\_poults.pdf](http://www.gwf.org/wild_turkey_poults.pdf)) (07/02/2006)
- Supranee C. 1991. Histology of walking catfish (*Clarias batrachus*)
- Tuan N.A., J. M. Grizzle, R. T. Lovell, B. B. Manning, G. E. Rottinghaus. 2002. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia fed diets containing aflatoxin B<sub>1</sub>. *Aquaculture* 212: 311-319.
- Usano O., S. Chaisilapasung, N. Sukrakanchana and K. Supamattaya. 2005. Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on sex reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn. x *O. mossambicus* Peters). *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 2005, 27(Suppli. 1): 187-197.
- Wheater, P.R., H. G. Burkitt, A. Stevens, J. S. Lowe. 1985. *Basis histopathology*. Churchill Livingstone. Edinburgh London Melbourne and New York. 217 pp.