



## KHẢO SÁT TRIỆU CHỨNG BỆNH TÍCH CỦA CHUỘT BẠCH KHI TIÊM DỊCH BỆNH PHẨM DỊCH RUỘT TỪ VỊT CHẠY ĐỒNG NGHI TRÚNG ĐỘC *BOTULIN*

Nguyễn Thu Tâm<sup>1</sup> và Đặng Ngọc Lễ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Sinh viên lớp Thú Y K35, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

### Title:

Examination on symptoms and lesions of mice injected by intestinal juice Testing of suspected botulin toxemia ducks the toxin of *Clostridium botulinum*

### Từ khóa:

Triệu chứng, bệnh tích, chuột bạch, độc tố, *Clostridium botulinum*

### Keywords:

Symptoms, lesion, albino mice, toxin, *Clostridium botulinum*

### ABSTRACT

In recent years, a lot of ducks have been dead by “limberneck disease”. The main symptoms of birds are neck flaccid paralysis and wing paralysis and inner eyelids, but there is lack of gross lesion and microbial infection evidence. Botulin (*Clostridium botulinum* toxin) was suspected to be the cause of this disease. From November 2013 to December 2013, 40 intestinal samples were collected from moribund birds with those symptoms for testing the *Clostridium botulinum* toxin in mice. The results showed that, 7/40 (17,5%) samples killed albino mice with typical symptoms of limberneck disease and without lesion. Some of dead mice had hemorrhage in lung (5%) and heart (2,5%).

### TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, nhiều vịt bị chết do bệnh “liệt mềm cổ” với triệu chứng như: liệt cổ, liệt mí mắt, liệt cánh và không có bệnh tích điển hình. Bệnh được nghi là do vịt nhiễm độc tố của vi khuẩn *Clostridium botulinum* (botulin). Từ tháng 10 đến tháng 12 năm 2013, chúng tôi tiến hành thu thập và kiểm tra 40 mẫu ruột của vịt có triệu chứng như mô tả ở trên bằng việc tiêm bệnh phẩm dịch ruột vào chuột bạch. Kết quả cho thấy có 7/40 mẫu bệnh phẩm gây chết chuột chiếm tỷ lệ 17,5%. Chuột bạch chết với các triệu chứng ủ rũ, kém vận động, liệt cổ, liệt hai chi sau. Những chuột chết sau khi tiêm dịch bệnh phẩm không có bệnh tích. Có 2/14 (5%) chuột chết có bệnh tích phổi xuất huyết, và 1/14 (2,5% chuột chết có bệnh tích xuất huyết ở tim.

## 1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long là một trong những vựa lúa lớn nhất nước ta. Bên cạnh các mặt hàng lúa gạo còn có một nguồn phụ phẩm dồi dào như tấm, cám, cùng với hệ thống sông ngòi dày đặc thích hợp cho nghề chăn nuôi vịt phát triển, đặc biệt là nuôi vịt chạy đồng. Nuôi vịt theo phương thức chạy đồng có thể tận dụng được lúa còn sót lại hoặc rơi rớt trên những cánh đồng sau thu hoạch, nguồn thức ăn tự nhiên như ốc, hến, cá và một số

loài thủy sinh khác. Bên cạnh đó, nguy cơ xảy ra dịch bệnh trên đàn vịt khá cao do không kiểm soát được điều kiện môi trường chăn thả, vịt phải thường xuyên thay đổi môi trường sống vì phải di chuyển từ cánh đồng này sang cánh đồng khác. Do đó, nhiều dịch bệnh có thể xảy ra đối với đàn vịt nếu không biết cách phòng ngừa.

Hiện nay, đàn vịt chạy đồng thường xảy ra một căn bệnh tuy không phát triển thành dịch nhưng gây tổn thất lớn cho người chăn nuôi do bệnh phát

triển nhanh, tỷ lệ mắc bệnh và chết khá cao. Vịt bệnh thường có biểu hiện: ủ rũ, kém vận động kèm theo các triệu chứng như: liệt cổ, liệt cánh, liệt chân. Bệnh này được người chăn nuôi địa phương gọi là bệnh “cúm cần”.

Theo Hồ Thị Việt Thu (2011), vịt bệnh có triệu chứng được nêu như trên giống với bệnh cổ mềm (limberneck). Vịt bị bệnh do độc tố của vi khuẩn *Clostridium botulinum*. Vi khuẩn này có khả năng sản sinh ngoại độc tố (botulin) có tác dụng ức chế dẫn truyền thần kinh đến cơ gây ra liệt cơ, độc tố này cũng là một trong những nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm của cả người và nhiều loài động vật. Trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát một số triệu chứng, bệnh tích trên chuột bạch.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nội dung nghiên cứu

Khảo sát triệu chứng của vịt nghi bệnh cúm cần.

Phát hiện độc tố từ vịt bệnh cúm cần qua thí nghiệm trên chuột.

Khảo sát triệu chứng và bệnh tích chuột sau khi bệnh phẩm dịch ruột của vịt nghi bệnh cúm cần.

### 2.2 Vật liệu nghiên cứu

– Thiết bị, dụng cụ: máy ly tâm, tủ lạnh, tủ ẩm, tủ sấy, ống nghiệm các loại, găng tay, thùng đựng mẫu, dụng cụ lấy mẫu.

– Hóa chất: Kháng sinh: Penicillin G potassium và Streptomycin sulfate, NaCl, cồn 700

– Mẫu vật: dịch trong ống tiêu hoá vịt từ thực quản đến dạ dày cơ của những vịt nghi bệnh “cúm cần” có triệu chứng liệt cổ, liệt chân, liệt cánh được thu thập từ tỉnh Long An và tỉnh Trà Vinh.

Chuột bạch thí nghiệm có trọng lượng từ 20 – 25 g do viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

### 2.3 Phương pháp nghiên cứu

– Khảo sát triệu chứng của vịt nghi bệnh cúm cần

Quan sát bên ngoài: Diễn tiến các triệu chứng nhanh, lúc đầu vịt có dấu hiệu liệt cánh, liệt chân. Nếu bệnh nặng hơn thì cổ mềm, vịt không ngẩng đầu lên được, mí mắt bị liệt, vịt dễ bị chết nếu đang lội trong vùng nước ngập vì ngạt thở.

– Phát hiện độc tố từ vịt bệnh cúm cần qua thí nghiệm trên chuột

Mẫu dịch ruột thu được từ những vịt có triệu chứng điển hình như mô tả ở trên được chia làm 2

phần. Một phần xử lý nhiệt và một phần không xử lý nhiệt. Nếu kết quả tiêm cho chuột ở phần không xử lý nhiệt làm chuột có những biểu hiện liệt chi, không vận động được hoặc chuột chết thì ta có thể kết luận mẫu kiểm tra nghi ngờ có mang độc tố botulin.

– Khảo sát triệu chứng và bệnh tích chuột sau khi bệnh phẩm dịch ruột của vịt nghi bệnh cúm cần

Quan sát hoạt động của chuột sau khi tiêm bệnh phẩm đã xử lý cho chuột trong vòng 7 ngày.

Nếu chuột chết thì mổ khảo sát bệnh tích trên các cơ quan của chuột.

– Bố trí thí nghiệm: Trong thí nghiệm này chúng tôi khảo sát 40 mẫu bệnh phẩm, mỗi bệnh phẩm tiêm cho 4 chuột chia làm 2 Lô, Lô I tiêm bệnh phẩm có xử lý nhiệt cho 2 con chuột, Lô II tiêm bệnh phẩm không xử lý nhiệt cho 2 con chuột.

– Phương pháp lấy mẫu bệnh phẩm để tiêm truyền cho chuột bạch thí nghiệm: Chọn vịt nghi bệnh cúm cần có triệu chứng như liệt cổ mềm, liệt cánh, liệt chân. Nếu vịt còn sống thì tiến hành hũy tủy hoặc cắt cổ. Đặt vịt ở tư thế nằm ngửa, dùng kéo cắt ngay phía trên hậu môn, sau đó lột da từ dưới lên phía trên. Dùng kéo cắt cơ ở xoang bụng, sau đó cắt lên hai bên ở xoang sườn để mở xoang ngực và xoang bụng. Kiểm tra tổng thể các cơ quan, sau đó tiến hành lấy ruột từ nơi tiếp giáp với mẽ đến hậu môn. Dùng dây thun buộc hai đầu, một đầu ống thực quản tại vị trí tiếp giáp giữa dạ dày cơ và tá tràng, một đầu tiếp giáp với hậu môn. Dùng cồn 700 sát trùng bên ngoài, rồi để vào dụng cụ đựng mẫu. Sau đó cho vào thùng trữ lạnh mang về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ.

Phương pháp tiến hành thí nghiệm: Mẫu cắt thành nhiều đoạn khác nhau, sau đó lấy dịch trong ruột cho vào nước sinh lý 0,9% đã tiệt trùng theo tỷ lệ 1/2 rồi để 2 giờ ở nhiệt độ thường, sau đó đem ly tâm với tốc độ 3000 vòng/ phút trong 10 phút, lấy nước trong ở phần trên ống ly tâm chia làm 2 phần: một phần đun 100°C trong 30 phút và một phần không đun chỉ lọc qua giấy lọc và cho thêm 100UI penicillin và 100µg streptomycin cho 1 ml dung dịch bệnh phẩm để diệt khuẩn. Tiêm dung dịch bệnh phẩm vào xoang bụng cho chuột bạch thí nghiệm trong 2 lô (mỗi lô 2 con). Lô I tiêm mỗi con 0,5 ml dung dịch đã đun 100°C trong 30 phút và lô II tiêm mỗi chuột 0,5 ml dung dịch không đun (chỉ lọc và cho kháng sinh để diệt tạp khuẩn). Theo dõi diễn biến đối với chuột thí nghiệm trong 7 ngày sau khi tiêm. Nếu mẫu có độc tố của C.

botulinum thì 2 chuột lô I sống (do độc tố trong dung dịch đã bị phá hủy khi gia nhiệt) và 2 chuột ở lô II chết trong vòng 7 ngày do ngộ độc botulin với triệu chứng như kém ăn, ít vận động, liệt cổ, liệt hai chi sau.

Nếu chuột chết thì tiến hành mổ khảo sát, quan sát biến đổi ở từng hệ thống như hô hấp (phổi), tuần hoàn (tim), tiêu hóa (dạ dày, ruột non, ruột già), và các cơ quan khác như gan, thận, lách. Những biến đổi bệnh tích của từng cơ quan sẽ được ghi nhận nhận trong biên bản mổ khám.

**Bảng 1: Các triệu chứng trên vịt nghi bệnh cúm cần khi lấy mẫu**

Triệu chứng	Số vịt khảo sát	Tần suất xuất hiện	Tỷ lệ (%)
Ủ rũ, kém vận động	40	40	100
Liệt cổ	40	40	100
Liệt cánh	40	31	77,5
Liệt chân	40	27	67,5

Kết quả khảo sát về các biểu hiện triệu chứng lâm sàng trên vịt khi tiến hành lấy mẫu trong nghiên cứu này phù hợp với một số nghiên cứu về bệnh do nhiễm độc tố botulin trên một số loài gia cầm. Theo các tác giả Dohms (1987), Rosen (1971) nhận định, triệu chứng lâm sàng ở vịt, gà, gà tây, gà lôi thì tương tự nhau, chủ yếu là liệt cổ, liệt chân và liệt cánh. Chính vì những triệu chứng điển hình này mà lúc đầu bệnh được đặt tên là “chứng cổ mềm” (Limberneck).

**3.2 Kết quả tiêm truyền dịch bệnh phẩm cho chuột bạch**

Trong tổng số 40 mẫu khảo sát có 7 mẫu gây chuột chết với triệu chứng ủ rũ, kém vận động, liệt cổ, liệt chi sau chiếm tỷ lệ 17,5%. Các triệu chứng này rất giống với các triệu chứng ngộ độc do độc tố botulin. Điều này cho thấy có thể độc tố botulin hiện diện trong các mẫu khảo sát và vịt chết là do nhiễm phải độc tố này trong lúc tìm kiếm thức ăn.

**3.3 Kết quả theo dõi thời gian chuột chết**

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy sau khi tiêm dịch bệnh phẩm vào xoang bụng chuột bạch, sau một thời gian chuột lô II ở một số mẫu chết với những triệu chứng ủ rũ kém vận động, liệt cổ, liệt chi sau đặc trưng bởi ngộ độc botulin. Thời gian chuột chết ở mỗi con là khác nhau từ 10–162 giờ. Sự khác nhau này có thể do lượng độc tố trên mỗi mẫu là khác nhau. Trên cùng một mẫu chuột thứ 1 và chuột thứ 2 cũng không chết cùng một thời điểm là do cơ địa mỗi con khác nhau, sức đề kháng và tính miễn cảm với mầm bệnh cũng khác nhau. Trong 7 mẫu có triệu chứng giống ngộ độc botulin, có 2 mẫu thời gian gây chết chuột tương đối dài (120–

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Kết quả khảo sát triệu chứng bệnh lý trên vịt nghi bệnh cúm cần**

Bảng 1 cho thấy vịt có biểu hiện ủ rũ, kém vận động, liệt cổ là 100%, vịt chỉ cố gắng đi lại khi bị đuối dồn nhưng rất yếu ớt và vịt vẫn còn ăn uống được. Các biểu hiện liệt cánh chiếm tỷ lệ là 77,5% và liệt chân chiếm tỷ lệ là 67,5%. Tất cả vịt tiến hành lấy mẫu đều có biểu hiện ủ rũ, kém vận động, liệt cổ. Bên cạnh đó, vịt còn biểu hiện triệu chứng liệt cánh hoặc liệt chân hoặc liệt cả cánh và chân.

162 giờ) có thể do lượng độc tố trong mẫu thấp, chuột có sức đề kháng cao, cũng có thể khi nhiễm phải độc tố botulin làm chuột suy kiệt dần rồi chết.

**Bảng 2: Bảng theo dõi thời gian chuột chết sau khi tiêm bệnh phẩm**

Ký hiệu mẫu dịch bệnh phẩm	Thời gian chuột chết (giờ)- (lô II)	
	Chuột thứ 1	Chuột thứ 2
1	10	22
2	21	38
4	22	24
8	120	131
16	45	52
28	155	162
35	32	35

Kết quả trên chuột thí nghiệm ở Lô I cho thấy tất cả các chuột đều khỏe mạnh và hoạt động bình thường. Mặc dù lúc mới tiêm bệnh phẩm vào chuột có vẻ hơi kém vận động do bị stress khi tiêm bệnh phẩm nhưng các chuột này nhanh chóng khỏe và hoạt động nhanh nhẹn lại bình thường sau 15-20 phút. Điều này chứng tỏ có thể trong mẫu bệnh phẩm có chứa độc tố botulin, sau khi xử lý nhiệt độc tố này mất tính độc của nó nên khi tiêm vào chuột thì chuột vẫn không biểu hiện các triệu chứng như ở thí nghiệm ở Lô II.

**3.4 Kết quả khảo sát bệnh tích mổ khám trên chuột**

Hầu hết chuột chết do ngộ độc botulin đều không có bệnh tích đặc trưng, chỉ có 2/ 14 chuột có bệnh tích phổi xuất huyết, và 1/7 có bệnh tích tim xuất huyết, còn các cơ quan khác vẫn bình thường.

**Bảng 3: Kết quả bệnh tích phổ biến khi mổ khám chuột bị chết sau khi tiêm dịch bệnh phẩm**

Triệu chứng	Số chuột có biểu hiện bệnh tích/ số chuột thí nghiệm	Tỷ lệ (%)
Phôi xuất huyết	2/14	14,29
Tim xuất huyết	1/14	7,14
Tổng	3/14	21,43

Kết quả Bảng 3 cho thấy có 3 con chuột có xuất hiện bệnh tích chiếm tỷ lệ là 21,43%. Trong đó, phổi xuất huyết chiếm tỷ lệ cao là 14,29%, tim xuất huyết chiếm tỷ lệ là 7,14% và các cơ quan nội tạng khác vẫn bình thường. Kết quả này phù hợp với mô tả của nhiều tài liệu cho biết hầu hết các trường hợp ngộ độc do độc tố botulin đều không thể hiện bệnh tích đặc trưng. Khi nghiên cứu về độc tố botulin ở thủy cầm hoang dã, Jensen and Duncan (1980), gây nhiễm cho vịt trời (*Anas platyrhynchos*), bằng độc tố botulin type C thấy hầu hết các trường hợp vịt chết bởi độc tố botulin là do liệt hô hấp, phù, xuất huyết phổi, ngoài ra không phát hiện được bệnh tích đặc trưng nào.

Từ những triệu chứng quan sát được khi tiến hành lấy mẫu và bệnh tích được khảo sát trong những thí nghiệm, chúng ta có một cơ sở minh chứng xác định bệnh “cúm cần” thường xảy ra trên vịt chạy đồng trong thời gian qua có thể là do nhiễm phải độc tố botulin của vi khuẩn *C. botulinum* gây nên.

**4 KẾT LUẬN**

Qua thời gian thí nghiệm, trong tổng số 40 mẫu khảo sát có 7 mẫu nghi có sự hiện diện của độc tố botulin trong dung dịch tiêm cho chuột thí nghiệm với tỷ lệ là 17,5%.

Dung dịch tiêm có chứa độc tố botulin gây chết chuột bạch khi không có xử lý nhiệt. Các triệu chứng diễn hình khi chuột bạch nhiễm độc tố botulin là liệt hai chân sau, liệt cổ, hôn mê và chết. Bệnh tích của các chuột chết này thông thường là phổi xuất huyết, tim xuất huyết, các cơ nội tạng khác không có biểu hiện bệnh tích. Theo như kết quả này, việc chẩn đoán bệnh qua mổ khám sẽ không phát hiện được bệnh.

Để có những kết luận chính xác hơn cần thử nghiệm xác định độc tố dựa trên kháng độc tố chuẩn của các type gây ngộ độc của vi khuẩn *Clostridium botulinum*.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Hồ Thị Việt Thu, Nguyễn Đức Hiền (2012). “Giáo trình Bệnh Truyền Nhiễm.
- Gia Súc Gia Cầm”, NXB Đại học Cần Thơ, trang 313-316.
- Dohms J.E., Cloud S.S. (1982).Susceptibility of broiler chickens to *Clostridium botulinum* type C toxin.” *Avian Dis.*26: pp. 89-96.
- J.E. (1987) “Laboratory investigation of botulism in poultry”. In Eklund M.W., and Dowell V.R. (eds.), *Avian Botulism: An International Perspective*. Charles C. Thomas: Springfield, IL, pp. 295-314.
- Oliver JD, Kaper JB, 1997. *Vibrio* species. In: Doyle MP, ed. *Food microbiology, fundamentals and frontiers*. Washington, DC, ASM Press: pp. 228-264.
- Jensen W.I., Duncan R.M. (1980), “The susceptibility of the mallard duck (*Anas platyrhynchos*) to *Clostridium botulinum* C2 toxin”. *Jpn J Med Sci Biol.* 1980 Apr; 33(2): pp. 81-6.
- Rosen M.N., (1971), “Botulism”. In J. W. Davis, R. C. Anderson, L. Karstad, and D. O. Trainer (eds.). “*Infectious and Parasitic Diseases of Wild Birds*”. Iowa State University Press: Ames, IA, pp. 100 – 117.