



CHẨN ĐOÁN BỆNH “CÚM CÀN” Ở VỊT BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỬ NGHIỆM TRÊN CHUỘT BẠCH

Nguyễn Thu Tâm¹, Nguyễn Đức Hiền² và Hồ Thị Việt Thu¹

¹Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

²Chi cục Thú y thành phố Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 25/10/2016

Title:

Diagnosis “limberneck” disease in ducks by mouse lethality bioassay

Từ khóa:

Vịt, bệnh “cúm càn”, chẩn đoán thử nghiệm trên chuột bạch, nhiễm độc tố botulin, Mekong Delta

Keywords:

Ducks, limberneck disease, standard mouse bioassay, botulin intoxication, Mekong Delta

ABSTRACT

In recent years, a large quantity of ducks in the Mekong Delta died from a new disease referred to as “cum can” by local farmers. The disease with symptoms such as neck flaccid paralysis, paralyzed wings and no typical lesions, which are similar to “limberneck” caused by neurotoxins of *Clostridium botulinum* (botulin) as described formerly in the USA. During the first 6 months of 2016, 50 serum samples of duck with symptoms as described above were collected for the diagnosis using a standard mouse bioassays as described by CDC (1998). Both of unprocessed and heat-treated serum specimens were injected into the abdominal cavity of 2 groups of mice and the symptoms were observed within 7 days. The results showed that 37/50 of unprocessed serum samples were lethal to mice, accounting for 74%, while all heat-treated serum samples before inoculation were nonlethal for mice. Before death, most experimented mice had symptoms of depression, poor movement, difficult respiration and paralysis of hindquarters. The hemorrhagic lesions were found on the surface of liver (86.05%), lung (83.72%), and heart (72.09%) of mice which died after inoculating the serum of sick duck. The results of mouse bioassays showed that “cum can” disease of ducks in Mekong delta was probably caused by neurotoxins of *Clostridium botulinum*.

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, nhiều vịt bị chết do một bệnh mới xuất hiện được người nuôi vịt ở Đồng bằng sông Cửu Long gọi là bệnh “cúm càn”. Bệnh có các triệu chứng phổ biến như liệt cổ, liệt mí mắt, liệt cánh và không có bệnh tích điển hình, tương tự bệnh “cổ mềm” do nhiễm độc tố thần kinh của vi khuẩn *Clostridium botulinum* (botulin) đã được mô tả trước đây ở Hoa Kỳ. Trong 6 tháng đầu năm 2016, chúng tôi đã tiến hành thu thập và kiểm tra 50 mẫu huyết thanh của vịt có triệu chứng như mô tả ở trên để chẩn đoán bằng phương pháp thử nghiệm gây chết chuột bạch theo mô tả của CDC (1998). Những bệnh phẩm huyết thanh không xử lý hoặc đã được xử lý nhiệt được tiêm vào xoang bụng cho 2 nhóm chuột bạch và theo dõi triệu chứng trong vòng 7 ngày. Kết quả cho thấy có 37/50 mẫu bệnh phẩm huyết thanh không xử lý nhiệt đã gây chết chuột, chiếm tỷ lệ 74%, trong khi tất cả mẫu huyết thanh đã xử lý nhiệt đều không gây chết chuột thí nghiệm. Chuột thí nghiệm trước khi chết thường có các triệu chứng ủ rũ, kém vận động, khó thở và liệt hai chi sau. Những chuột chết sau khi tiêm huyết thanh vịt bệnh thấy có bệnh tích xuất huyết ở bề mặt gan (86,05%), phổi (83,72%), và ở tim (72,09%). Kết quả thử nghiệm trên chuột cho thấy bệnh “cúm càn” trên vịt ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long có nhiều khả năng là do bị nhiễm độc tố botulin của vi khuẩn *Clostridium botulinum*.

Trích dẫn: Nguyễn Thu Tâm, Nguyễn Đức Hiền và Hồ Thị Việt Thu, 2016. Chẩn đoán bệnh “cúm càn” ở vịt bằng phương pháp thử nghiệm trên chuột bạch. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 2): 125-130.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

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, với 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 nuôi vịt ở địa phương gọi là bệnh “cúm cần”.

Theo Hồ Thị Việt Thu và Nguyễn Đức Hiền (2012), vịt bệnh có triệu chứng được nêu như trên giống với bệnh “liệt cổ mềm” (limberneck) đã được mô tả trước đây ở vịt trời Bắc Mỹ. Vịt bị bệnh do nhiễm 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 động vật.

Có nhiều phương pháp được áp dụng trong chẩn đoán bệnh do nhiễm độc tố của vi khuẩn *C.botulinum* gây ra, trong đó thử nghiệm gây chết chuột được nhiều tác giả và cơ quan chẩn đoán có thẩm quyền thừa nhận là một phương pháp chuẩn để phát hiện sự hiện diện của độc tố botulin (Nordic Committee on Food Analysis, 1991; CDC, 1998; Solomon and Lilly, 2001). Thử nghiệm này được thực hiện bằng cách tiêm huyết thanh hoặc bệnh phẩm đã pha loãng trong dung dịch đệm phosphat vào xoang bụng chuột bạch thí nghiệm. Nếu bệnh phẩm chứa độc tố sẽ phát triển thành các triệu chứng điển hình của bệnh nhiễm độc tố này như lông xù, yếu cơ và có biểu hiện suy hô hấp.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng thử nghiệm gây chết chuột để chẩn đoán xác định bệnh “cúm cần” trên vịt và khảo sát một số triệu chứng, bệnh tích xuất hiện sau khi tiêm bệnh phẩm huyết thanh vịt trên chuột bạch.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nội dung nghiên cứu

– Khảo sát triệu chứng của vịt mắc bệnh “cúm cần”.

– Phát hiện sự hiện diện của độc tố botulin từ huyết thanh vịt bệnh “cúm cần” qua thí nghiệm trên chuột.

– Khảo sát triệu chứng và bệnh tích xuất hiện ở chuột sau khi tiêm bệnh phẩm huyết thanh của vịt mắc 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 huyết thanh của những vịt mắc bệnh “cúm cần” với những triệu chứng liệt cổ, liệt chân, liệt cánh được thu thập từ các tỉnh An Giang, Kiên Giang và Cần Thơ.

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

2.3 Phương pháp nghiên cứu

(1) *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

(2) *Phát hiện độc tố từ vịt bệnh “cúm cần” qua thí nghiệm trên chuột theo CDC (1998)*

Mẫu huyết thanh thu thập từ những vịt có triệu chứng điển hình như mô tả trên được chia làm hai 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 biểu hiện liệt chi, không vận động được hoặc chuột chết thì ta có thể kết luận mẫu nghi ngờ có mang độc tố botulin.

– Khảo sát triệu chứng và bệnh tích chuột sau khi tiêm bệnh phẩm huyết thanh 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 trong các cơ quan của chuột.

– *Bố trí thí nghiệm:* Trong thí nghiệm này, chúng tôi khảo sát 50 mẫu huyết thanh của 50 con vịt bệnh, mỗi mẫu huyết thanh tiêm cho 4 chuột chia làm 2 Lô, Lô I tiêm huyết thanh không xử lý nhiệt cho 2 con chuột, Lô II tiêm huyết thanh có xử lý nhiệt cho 2 con chuột.

– *Phương pháp lấy mẫu huyết thanh và xử lý mẫu để tiêm truyền cho chuột bạch thí nghiệm:* Chọn vịt chạy đồng nghi bệnh cúm cần có triệu chứng như liệt mềm cổ, liệt cánh, liệt chân. Dùng kim lấy máu tím khoảng 10 ml (hoặc cắt cổ đối với những vịt sắp chết hoặc vừa mới chết) cho vào ống nghiệm vô trùng, đặt ống nghiệm nghiêng một góc 45⁰, chờ cho máu đặc lại, cho vào thùng trữ lạnh mang về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ.

Quy trình xử lý huyết thanh: Lấy huyết thanh của vịt ly tâm ở vận tốc 12000 vòng/phút trong

vòng 20 phút. Lấy phần nước trong bên trên lọc bằng lưới lọc 0,45µm (syringe filter). Chia phần dịch bệnh phẩm sau khi lọc làm 2 phần bằng nhau, mỗi phần 1 ml. Phần thứ nhất (lô I) mẫu huyết thanh qua lọc, không xử lý nhiệt. Phần thứ hai (lô II) mẫu huyết thanh qua lọc có xử lý nhiệt bằng đun cách thủy ở 100°C/10 phút.

Tất cả mẫu huyết thanh ở 2 lô trước khi đem tiêm cho chuột đều được cấy lên đĩa thạch máu, ủ ở 2 điều kiện kỵ khí và hiếu khí để kiểm tra và đảm bảo rằng không có sự hiện diện của vi khuẩn trong mẫu.

– *Phương pháp tiến hành thí nghiệm:* 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 không đun (chỉ lọc) và lô II tiêm mỗi chuột 0,5 ml dung dịch đã đun ở

100°C/10 phút. 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 chết trong vòng 7 ngày các triệu chứng như kém ăn, ít vận động, liệt cổ, liệt hai chi sau hoặc có những biểu hiện khác thường như xù lông, kém ăn, ít vận động, gây ốm, liệt nhẹ các chi, trong khi 2 chuột ở lô II vẫn sống bình thường do độc tố trong dung dịch đã bị phá hủy khi gia nhiệt.

Nếu chuột chết thì tiến hành mổ khám 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 trong biên bản mổ khám.

Lô III: Tiêm nước muối sinh lý 0,9% cho 6 con chuột đối chứng.

Bảng 1: Bố trí số lượng mẫu và số lượng chuột theo từng lô

Thí nghiệm	Số mẫu	Lô I (con)	Lô II (con)	Lô III (con)	Liều tiêm/con (ml)
Đợt 1	15	30	30	2	0,5
Đợt 2	15	30	30	2	0,5
Đợt 3	20	40	40	2	0,5
Tổng	50	100	100	6	

Cách đọc kết quả:

Chuột lô I, sẽ xuất hiện các triệu chứng bất thường hoặc chết.

Chuột lô II, sống bình thường hoặc không biểu hiện triệu chứng.

Chuột lô III, sống bình thường khỏe mạnh

Các chỉ tiêu theo dõi sự bất thường của chuột:

- Khả năng vận động
- Khả năng phản xạ
- Nhịp thở, nhiệt độ

Chế độ ăn uống...

(Xù lông, thờ bụng, kém vận động, liệt toàn thân, suy hô hấp rồi chết (CDC, 1998))

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả khảo sát triệu chứng bệnh lý trên vịt mắc bệnh “cúm cần”

Bảng 2 cho thấy tất cả vịt khảo sát đều có biểu hiện ủ rũ, kém vận động, liệt cổ, vịt chỉ cố gắng đi lại khi bị đuổi dồn nhưng rất yếu ớt và vịt vẫn còn ăn uống được. Các biểu hiện liệt cánh chiếm tỷ lệ là 82% và liệt chân chiếm tỷ lệ là 74%.



Hình 1: Vịt bị liệt mềm cổ

Bảng 2: Các triệu chứng trên vịt mắc bệnh cúm cần khi lấy mẫu

Triệu chứng	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Ủ rũ, kém vận động	50	50	100
Liệt cổ	50	50	100
Liệt cánh	50	41	82
Liệt chân	50	37	74

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 bệnh phẩm huyết thanh vịt cho chuột bạch

Kết quả bảng 3 cho ta thấy, Lô I có 37/50 mẫu gây chết chuột với triệu chứng ủ rũ, kém vận động, liệt cổ, liệt chi sau chiếm tỷ lệ 74%, số mẫu gây bất thường trên chuột (xù lông, ủ rũ, ăn ít, kém vận động, gầy ốm) là 10/50, chiếm 20%. Chỉ có 3/50 mẫu huyết thanh khảo sát không gây bệnh lý trên chuột, có thể những mẫu huyết thanh này không có hoặc có ít độc tố hoặc do những sai sót có thể xảy ra trong quá trình làm thí nghiệm. Trong khi đó, các chuột ở Lô II và Lô III vẫn sống và hoạt động bình thường.

Bảng 3: Kết quả tiêm truyền cho chuột

Biểu hiện của chuột	Lô I		Lô II		Lô III	
	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Chuột chết	37	74	0	0	0	0
Chuột bất thường	10	20	0	0	0	0
Chuột bình thường	3	6	50	100	3	100
Tổng	50		50		3	

Những triệu chứng biểu hiện ở chuột lô I rất giống với triệu chứng ngộ độc botulin như được thể hiện trong những mục tiếp theo của bài báo này. Điều này cho thấy, có thể độc tố botulin hiện

diện trong các mẫu khảo sát và vịt bị liệt mềm cổ, liệt cánh... và chết là do nhiễm phải độc tố này trong lúc tìm kiếm thức ăn.



Hình 2: Chuột ủ rũ, chậm vận động rồi chết sau khi tiêm dịch bệnh phẩm huyết thanh

Bảng 4: Kết quả thể hiện số lượng chuột chết theo thời gian sau khi tiêm huyết thanh

Thời gian (giờ)	Số chuột chết (Lô I)	Tỷ lệ (%)
12-24	26	35,14
Sau 24-48	38	51,35
Sau 48-72	10	13,51
Tổng chết	74	100

Kết quả Bảng 4 cho thấy, trong tổng số 74 chuột chết với những triệu chứng như ủ rũ, kém vận động, liệt cổ, liệt chi sau (đặc trưng bởi ngộ độc botulin) (37 mẫu gây chết chuột) thì sau 24 -

48 giờ có số chuột chết cao nhất (38/74) chiếm 51,35%, sau 12 – 24 giờ có 26/74 con (35,14%) và khoảng sau 48 - 72 giờ là 10 con (13,51%). Kết quả này cho thấy, độc tố botulin từ những mẫu tiêm truyền là khá cao và có thời gian gây chết là khá nhanh (trong vòng 48 giờ). Điều này phù hợp với nhận định của Hồ Thị Việt Thu và Nguyễn Đức Hiền (2012), cho rằng thử nghiệm sinh học trên chuột để phát hiện độc tố trong huyết thanh bằng cách tiêm với liều 0.5 ml/chuột bạch qua xoang bụng sẽ có triệu chứng bại liệt sau 1 - 2 ngày nếu trong huyết thanh có độc tố, những chuột đồng thời

được tiêm kháng độc tố không có biểu hiện triệu chứng của bệnh.

3.3 Kết quả khảo sát các triệu chứng trên những chuột bất thường và chuột trước khi chết

Kết quả bảng trên cho thấy, số chuột xuất hiện phổ biến là ủ rũ, chậm vận động (78%), kể đến là ăn ít hơn bình thường (72%), triệu chứng thờ bụng đạt tỷ lệ khá cao (49%), sợ hãi trốn vào một góc chuồng (46%), triệu chứng ít xuất hiện nhất là chân sau yếu (37%). Những triệu chứng này thường chỉ xuất hiện vào những ngày đầu tiêm huyết thanh, những ngày sau con vật dần khỏe và tạo ra được sức đề kháng. Việc này có thể giải thích theo Burgen *et al.* (1949), độc tố botulin gây ức chế các

dây thần kinh cơ, ảnh hưởng thần kinh trung ương, thần kinh cơ vận động và cả cơ miệng làm xuất hiện triệu chứng chậm vận động, chân sau yếu. Bên cạnh đó, triệu chứng thờ bụng xuất hiện 49%, phù hợp với nghiên cứu của CDC (1998) khi cho biết những con chuột có các dấu hiệu điển hình của ngộ độc botulin bao gồm yếu cơ và suy hô hấp, những triệu chứng này thường xuất hiện trong vòng một ngày. Ngoài ra, nghiên cứu của Johnson *et al.* (2010) cũng chứng minh được độc tố botulin là tác nhân gây khó thở, đặc biệt ở type C. Hầu hết chuột chết do ngộ độc botulin đều không có bệnh tích đặc trưng, phổ biến là phổi xuất huyết, tim xuất huyết, còn các cơ quan khác vẫn bình thường.

Bảng 5: Kết quả biểu hiện triệu chứng lâm sàng trên chuột thí nghiệm

Triệu chứng	Tổng số chuột kiểm tra	Số chuột có triệu chứng khác thường	Tỷ lệ (%)
Ủ rũ, chậm vận động, xù lông	100	78	78
Sợ hãi	100	46	46
Ăn ít	100	72	72
Thờ bụng	100	49	49
Liệt toàn thân	100	37	37

3.4 Kết quả khảo sát bệnh tích đại thể trên chuột thí nghiệm

Tám mươi sáu chuột (74 chuột chết và 12 chuột có triệu chứng lâm sàng nặng) được tiến hành mổ khám để khảo sát bệnh tích. Kết quả ở Bảng 6 cho thấy bệnh tích phổ biến nhất là gan xuất huyết (86,05%), theo sau là phổi xuất huyết (83,72%), tim bị xuất huyết (72,09%) và thấp nhất là ruột trống thức ăn (9,30%). Điều này phù hợp với nghiên cứu của Johnson *et al.* (2010) chứng minh độc tố botulin gây khó thở, đặc biệt ở type C, gây bệnh tích trên phổi. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Đức Hiền và Phạm

Mạnh Hùng (2012), cho thấy bệnh tích của chuột khi thử độc tố botulin được tìm thấy phổ biến ở tim và phổi. Kết quả trên đồng thời cũng phù hợp với mô tả trong 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) nghiên cứu gây nhiễm cho vịt trời (*Anas platyrhynchos*) bằng độc tố botulin type C đã cho 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.

Bảng 6: Kết quả bệnh tích mổ khám chuột sau tiêm dịch bệnh phẩm

Bệnh tích	Số chuột kiểm tra	Số chuột xuất hiện bệnh tích	Tỷ lệ (%)
Phổi xuất huyết	86	72	83,72
Phổi xung huyết	86	18	20,93
Tim xung huyết	86	62	72,09
Lách xuất huyết	86	44	51,16
Gan xuất huyết	86	74	86,05
Thận xuất huyết- sung	86	24	27,91
Ruột trống thức ăn	86	8	9,30
Mí mắt sung	86	30	34,88

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 để xác định bệnh “cúm cần” thường xảy ra trên vịt chạy đồng trong thời gian qua có nhiều khả năng là bệnh “cô mềm” do vịt bị nhiễm độc tố botulin của vi khuẩn *C. botulinum*. Để xác định chắc chắn căn nguyên của bệnh này cần phải tiếp tục tiến hành thử nghiệm trung hòa với những

huyết thanh kháng độc tố đặc hiệu type của vi khuẩn *Cl. botulinum*.

4 KẾT LUẬN

Kết quả chẩn đoán cho thấy, trong 50 mẫu huyết thanh vịt mắc bệnh “cúm cần” được khảo sát bằng thử nghiệm trên chuột đã phát hiện thấy

sự hiện diện của độc tố botulin trong 47 mẫu, chiếm tỷ lệ 94%.

Các triệu chứng điển hình khi chuột bạch bị nhiễm độc tố botulin là liệt hai chân sau, liệt cổ, hôn mê và cuối cùng bị chết. Bệnh tích của chuột thí nghiệm khi nhiễm độc tố botulin thông thường là gan, phổi và tim bị xuất huyết, các cơ nội tạng khác không có biểu hiện bệnh tích.

Để có kết luận chính xác hơn, chúng ta cần xác định sự hiện diện các type độc tố của vi khuẩn *Clostridium botulinum* dựa trên thử nghiệm trung hòa bằng kháng độc tố chuẩn.

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.

Nguyễn Đức Hiền và Phạm Mạnh Hùng (2012). Độc tính và tính gây bệnh trên vịt của vi khuẩn (*Clostridium botulinum*) phân lập tại thành phố Cần Thơ. Tạp chí Khoa học 2012: 22c, trang 40-46.

Burgen. S. V., Dickeesn & Zatman. J. (1949). The action of botulinum toxin on the neuromuscular junction. *Journal of Physiology* 109, 10-24.

CDC (1998). Botulism in United States, 1899–1996. Handbook for Epidemiologists, Clinical and

Laboratory Workers. Centers for Diseases Control and Prevention: pp. 1-38.

5. Dohms 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.

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.

Johnson AL, McAdams SC, Whitlock RH (2010). Type A botulism in horses in the United States: a review of the past ten years (1998-2008). *J Vet Diagn Invest*; 22:165-173.

Nordic Committee on Food Analysis. (1991). Botulinum toxin. Detection in foods, blood and other test materials. Method no. 79, 2nd ed. Nordic Committee on Food Analysis, Espoo, Finland.

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.

Solomon, H. M. and T. Lilly, Jr. (2001). *Clostridium botulinum*. In R. I. Merker (ed.), *Bacteriological analytical manual online, revision A*. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Md.