

تقرير حالة مرضية

تشخيص السعار في أبقار وأغنام عراقية بالفحص المرضي النسيجي

** أمين علي عودة

** ثائر عبدالكريم إنصيف

* ماجدة سعيد عبدالله

* وزارة الزراعة - الشركة العامة للبيطرة - قسم المختبرات و البحوث - شعبة التشخيص المرضي النسيجي.

** وزارة الزراعة - الشركة العامة للبيطرة - المستشفى البيطري - بغداد - العراق

الخلاصة

تم التشخيص المختبري للسعار في العراق بإتباع طرق التشخيص المرضي النسيجي لأول مرة لعينات نسجية تمثل الجهاز العصبي المركزي لأبقار وأغنام عراقية مشكوك سريرياً بإصابتها بالسعار وكانت النتيجة 3 حالات موجبة لبقرتين من محافظة بغداد ونعجة واحدة من محافظة البصرة. أشارت التغيرات المرضية العيانية الى تورم تلافيف المخ والمخيخ ووجود مناطق نزفية متعددة على سطح المخ مع إحتقان أغشية السحايا، وأظهرت التغيرات المرضية النسيجية وجود تغيرات مرضية خاصة بالمرض تمثلت بوجود الأجسام الفايروسية المحتواة Negri bodies داخل سايتوبلازم خلايا Purkinje في المخيخ وظهور Babes nodules في المخ والنخاع المستطيل. تغيرات مرضية غير خاصة تميزت بالوذمة والأنزفة والنخر الخلوي والعقيدات اللمفية مع تكففات الخلايا اللمفية والخلايا وحيدة النواة حول الأوعية الدموية المحقنة.

Case report: Histopathological Diagnosis of Rabies in Iraqi Cows and Ewes

Accepted on 29/5/ 2011

Summary

Rabies was diagnosed (for the first time) in clinically suspected rabid Iraqi cows and ewes by using histopathological methods. The result showed 3 positive cases 2 cows from Baghdad governorate and 1 ewe from Al - Basra governorate. The gross pathological changes included swelling of cerebrum and cerebellum, multiple hemorrhagic spots within cerebral parenchyma, and sever congestion in meningeal blood vessels. The histopathological changes showed specific changes represented by Negri bodies as intracytoplasmic inclusions within Purkinje cells in cerebellum and Babes nodules in cerebrum and medulla oblongata. Non specific changes included edema, hemorrhages, cellular necrosis, lymphocytic foci and lymphocytic and mononuclear cuffing surrounding congested blood vessels.

Keywords: Rhabies, ewe, cow, histopathology.

المقدمة

السعار من الأمراض الفايروسية الخطرة والمميتة، ينتشر في معظم دول العالم عدا بعض الدول التي تكون جزراً بموقعها الجغرافي(1). وهو من الأمراض المشتركة يصيب الإنسان وبتعداد 4000 نوع من اللبائن الأليفة والبرية(2). ينتقل عن طريق العض أو الخدوش أو تلوين الجروح بلعاب الحيوان المصاب(4 و3). تؤدي الإصابة بهذا المرض الى الوفاة بعد أيام قليلة من ظهور الأعراض السريرية وتسجل بين البشر سنوياً ما يقارب 55000 وفاة في العالم جراء الإصابة به(5). إن الطرق المختبرية المعتمدة عالمياً لتشخيص السعار تتم عبر الفحوصات المناعية وأهمها الفحص الأستشعاعي المناعي المباشر (dFAT- direct (Fluorescent Antibody technique), وكيمياء الأنسجة المناعي (Immunohistochemistry tests), والفحوصات الفايروسية كالعزل الفايروسي على خلايا الزرع النسيجي أو حقن الحيوانات المختبرية بالعالق الفايروسي(6). والفحوصات التأكيديّة الحديثة مثل RT - PCR (7). أما بالنسبة للتشخيص المرضي النسيجي فيعطي دلائل تشخيصية خاصة بالمرض كتواجد ال Negri bodies (الأجسام الفايروسية المحتواة) داخل سايتوبلازم الخلايا العصبية المصابة و Babes nodules (عقيدات مكونة من الياف عصبية متنكسة تحيطها الخلايا الإلتهابية وحيدة النواة مع خلايا Glial) بجانب التغيرات المرضية غير الخاصة مثل التكففات اللمفية والنخر الخلوي وإرتشاحات الخلايا الإلتهابية، وفي حال إستخدام المجهر الإلكتروني في فحص العينات النسيجية بالإمكان ملاحظة الفايروس المصيب والأجسام المحتواة بوضوح تام وتفصيل شديد(8). لم يسجل في العراق سابقاً التشخيص المختبري للسعار بالطرق المتطورة والمعتمدة عالمياً بسبب عدم توفر الإمكانيات لذلك وقد تم أخيراً تشخيص المرض مختبرياً لأول مرة في أبقار وأغنام مصابة من محافظتي بغداد والبصرة باتباع طرق التشخيص المرضي النسيجي.

المواد و طرائق العمل

الجهاز العصبي المركزي (المخ والمخيخ والنخاع المستطيل) لبقرتين من محافظة بغداد. ولنعجة واحدة من محافظة البصرة مشكوك سريراً بإصابتها بالسعار. استعمل محلول دارى الفورمالين المتعادل تركيز 10%، كحول أثيلي تركيز 100%، زايلين، شمع البرافين، الصبغة الروتينية Hematoxylin and Eosin. تم التشريح المرضي لرأسى البقرتين في موقع المستشفى البيطري / بغداد وأرسل الجهاز العصبي المركزي الى قسم المختبرات والبحوث / شعبة التشخيص المرضي النسيجي محفوظاً بالمثبت محلول دارى الفورمالين المتعادل تركيز 10%. بينما أرسل رأس النعجة المشكوك سريراً بإصابتها من محافظة البصرة بحاوية نظيفة مغلقة ومبردة الى قسم المختبرات والبحوث / شعبة التشخيص المرضي النسيجي اذ تم إجراء التشريح المرضي له وإستخراج الجهاز العصبي المركزي وحفظه بالمثبت، كما أوصي به في(9). العينات فحصت عيانياً اذ لوحظت التغيرات المرضية العيانية على الجهاز العصبي المركزي للحيوانات الثلاث وثبتت من حيث الشكل والحجم واللون والمكونات والتوزيع.

قطعت عينات نسجية من المخ والمخيخ والنخاع المستطيل بأبعاد 1×1 cm وحفظت في محلول دارى الفورمالين المتعادل تركيز 10% وصبغت بالصبغة الروتينية H & E وبحسب طريقة Harris 's Hematoxylin (10).

النتائج

التغيرات المرضية العيانية: للجهاز العصبي المركزي في البقرتين اذ لوحظ تورم تلافيف المخ والمخيخ, وجود بقع نزفية بلون أحمر داكن متعددة ومختلفة الأحجام على سطح المخ, إحتقان شديد في الأوعية الدموية لأغشية السحايا. اما الجهاز العصبي المركزي في النعجة لوحظ تورم تلافيف المخ والمخيخ, إحتقان الأوعية الدموية لأغشية السحايا (شكل - 1).

التغيرات المرضية النسيجية: للجهاز العصبي المركزي في البقرتين في المخيخ, تنكس وتنخر العديد من خلايا Purkinje مع إحتواء السايوتوبلازم على Negri bodies بشكل أجسام حمضية التفاعل (بلون وردي محمر) مدورة أو بيضوية الشكل مفردة أو متعددة (شكل - 2 و 3) مع إرتشاح الطبقة الحبيبية بالخلايا وحيدة النواة لاسيما Lymphocytes, إحتقان الأوعية الدموية وإحتوائها على الخلايا الإلتهابية الحادة (Neutrophils) والمزمنة (Lymphocytes و Monocytes), وجود بؤر نزفية متفرقة ضمن المتن, تنخر العديد من خلايا Purkinje حيث بدت بسايوتوبلازم شديد الحموضة مع أنوية في مراحل Pyknosis أو Karyolysis من النخر الخلوي مع وجود الوذمة والتكففات اللمفية حول الأوعية الدموية المحتقنة (شكل - 4). اما المخ: إحتقان معظم الأوعية الدموية في المتن مع إحاطتها بالوذمة وبتكففات لمفية أو مختلطة من خلايا الإلتهاب الحاد (Neutrophils) وخلايا الإلتهاب المزمن (macrophages, Lymphocytes, plasma cells) (شكل - 5), ظهور Babes nodules بشكل عقيدات أو تراكيب نسجية مكونة من ألياف عصبية متنخرة ومحاطة بالخلايا وحيدة النواة وخلايا Glial, وجود بؤر Gliosis مكونة من تجمعات لخلايا Glial (شكل - 6), تكون العديد من البؤر النزفية المرتشحة بالخلايا الإلتهابية الحادة و المزمنة.

النخاع المستطيل: إحتقان معظم الأوعية الدموية وإحاطتها بالوذمة وبتكففات اللمفية (شكل - 7) , تنخر العديد من الخلايا العصبية, وجود عقيدات Babes nodules (شكل - 8). اما أغشية السحايا: إحتقان الأوعية الدموية وإحتوائها على الخلايا الإلتهابية مع إحاطتها بتكففات إلتهابية مختلطة من خلايا الإلتهاب الحاد والمزمن.

الجهاز العصبي المركزي في النعجة: في المخيخ لوحظ تغيرات مرضية تنخرية وتنكسية ضمن خلايا Purkinje مع تواجد الأجسام الفايروسية المحتواة Negri bodies داخل السايوتوبلازم بشكل أجسام كروية أو بيضوية حمضية التفاعل مع الصبغة وقد ظهرت مفردة أو متعددة (شكل - 9 و 10), إرتشاح الطبقة الحبيبية بالخلايا الإلتهابية وحيدة النواة و لاسيما Lymphocytes. اما في المخ وجود الوذمة حول العصبات والأوعية الدموية المحتقنة في المتن, وجود تكففات إلتهابية من الخلايا اللمفية حول معظم الأوعية الدموية المحتقنة في المتن.

النخاع المستطيل: تنكس وتخر العديد من الخلايا العصبية النجمية، وجود تغيرات مرضية تنكسية ضمن الألياف العصبية، إحتقان معظم الأوعية الدموية في المتن مع إحاطتها بتكففات إنتهابية مختلطة من خلايا الإلتهاب الحاد والمزمن، وجود الودمة حول العصبات و الأوعية الدموية المحتقنة. اما أغشية السحايا فقد لوحظ إحتقان الأوعية الدموية مع إحاطتها بتكففات إنتهابية من خلايا الإلتهاب الحاد والمزمن.

المناقشة

السعار مرض مشترك ومميت وواسع الانتشار في العالم لذلك تتطلب عملية تشخيصه مختبرياً إتباع أدق الطرق التشخيصية المعتمدة عالمياً، ولكون التغيرات المرضية العيانية (Gross pathological changes) المتسببة عن الإصابة به غير خاصة لذلك تقتصر عملية التشخيص على الفحوصات المختبرية، وأن العينات المرضية الازمة لتشخيص المرض تؤخذ من الجهاز العصبي المركزي(11). يعد فحص dFAT من أهم الطرق التشخيصية للسعار وتوصي به جميع المختبرات المرجعية العالمية وتأتي بعده الفحوصات الأخرى من حيث الأهمية كالفحوصات الفايروسية وكيمياء الأنسجة المناعية والمرضية النسيجية(12). أن التشخيص المرضي النسيجي للعينات والخزعات النسيجية يكون مفيد في تشخيص السعار وإتباع الطريقة الروتينية في تحضير الشرائح النسيجية للفحص أو بإستخدام الصبغات الخاصة، وأن التغيرات المرضية التي تظهر فيها تكون أما خاصة بالمرض كتواجد أجسام Negri و Babes nodules أو غير خاصة مثل Encephalomeningitis(13). لكن هذه الطريقة غير مثالية للتشخيص لعدة أسباب منها: 1- تستغرق وقت طويل (5 - 7 يوم) في التشخيص وأعطاء النتيجة. 2- 50% من الحالات قد لاتعطي Negri bodies لاسيما في بداية الإصابة. 3- لاتفيد في العينات النسيجية المرضية القديمة عند حفظها في التبريد أو التجميد لحصول عملية التحلل الذاتي التي تؤدي الى تحلل أجسام Negri وتختفي بذلك الصفة التشخيصية الرئيسة في المرض(14). لقد قمنا بإعتماد التشخيص المرضي النسيجي في تشخيص هذه الحالات لعدم توفر الطرق المختبرية الأكثر تطوراً وتمكنا من تسجيل جميع التغيرات المرضية الخاصة بالمرض والمعتمدة في التشخيص وهي تتفق مع ما سجل سابقاً في الأبحاث والدراسات المرضية النسيجية(15 و 16). أن تواجد الأجسام المحتواة Negri bodies والتي تمثل أجزاء فايروسية أو تراكيب تحوي الحامض النووي الرايبوزي (RNP) يعد من أهم العلامات التشخيصية منذ إكتشافها في بداية القرن التاسع عشر من قبل العالم Negri ولغاية الآن(17 و 18) وهذا يتفق مع ما سجلناه في تشخيص هذه الحالات. كما أن ظهور الأفات المرضية النسيجية المسماة عقيدات Babes وهي العلامة التشخيصية الثانية في المقاطع النسيجية يعطي دليل جديد على التشخيص ويتفق مع ما سجل سابقاً(19 و 20). أما فيما يخص التغيرات المرضية غير الخاصة التي لوحظت في أنسجة هذه الحالات كالإلتهاب الدماغ وأغشية السحايا وتواجد مناطق النزف والنخر الخلوي مع التكففات الإلتهابية فقد جاءت متطابقة مع ما لوحظ سابقاً في الإصابات الطبيعية وفي معظم الأبحاث والدراسات المرضية النسيجية التجريبية وهي نتيجة لرد الفعل الجسمي على الفعل المرضي الفايروسي ونتيجة طبيعية لوظيفة الجهاز المناعي في مقاومة الإصابة حيث تحتقن الأوعية الدموية وتسمح بخروج الخلايا المناعية الى منطقة تواجد الفايروس لمحاربتة ومحاولة القضاء عليه وهي عملية عقيمة لا ينتج عنها سوى المزيد من التدمير في الأنسجة المصابة والطبيعية بفعل الأنزيمات وعوامل التحلل والمضادات الحياتية التي تحملها هذه الخلايا (21 - 22).

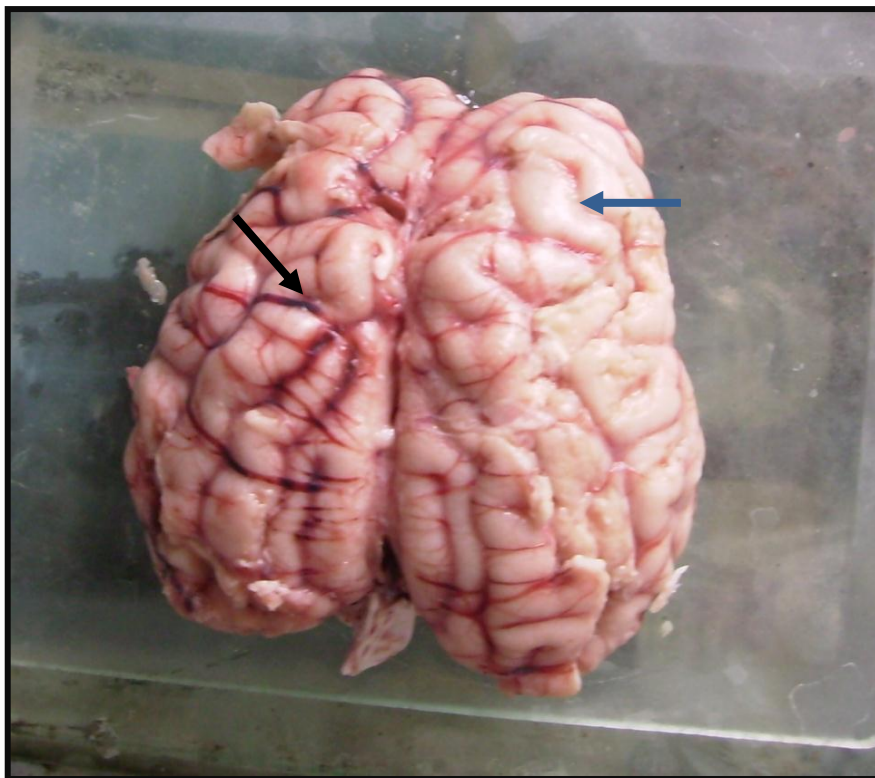


Figure – 1: Central nervous system of rabid ewe: notice swelling of cerebrum (⊖) and congested meningeal blood vessels (⊖).

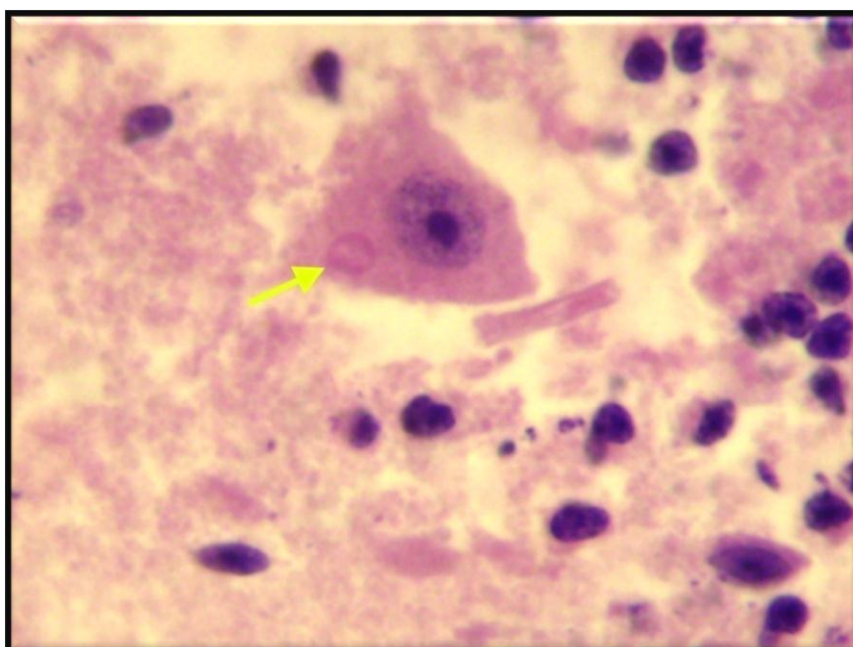


Figure - 2: Histopathological section in cerebellum of rabid cow showed the presence of round shaped, intracytoplasmic and acidophilic inclusion body (Negri body) in Purkinje cell (arrow) with mononuclear cell infiltration within granular layer. (H & E stain X40).



Figure - 3: Histopathological section in cerebellum of rabid cow showed the presence of oval shaped, intracytoplasmic and acidophilic inclusion body (Negri body) in Purkinje cell (arrow) with mononuclear cell infiltration within granular layer. (H & E stain X40).

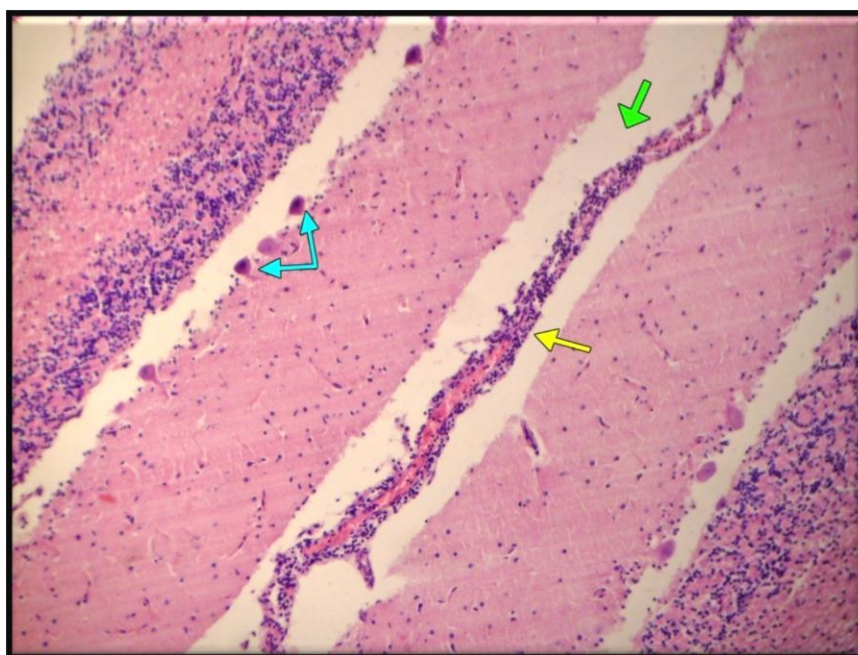


Figure - 4: Histopathological section in cerebellum of rabid cow showed perivascular lymphocytic cuffing (B) and edema (E) surrounding congested blood vessels with dead Purkinje cells characterized by pyknotic nuclei and acidophilic cytoplasm (P). (H & E stain X10).

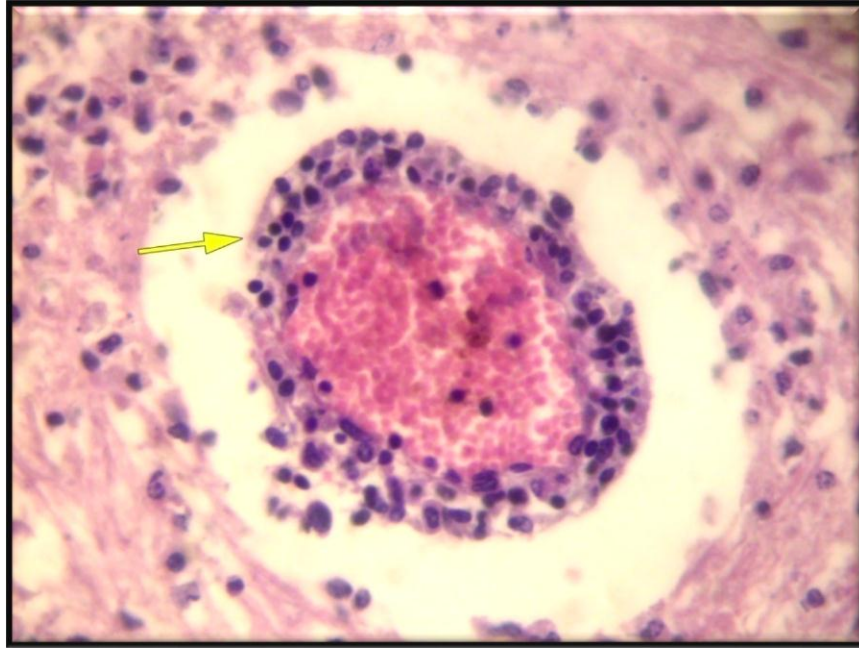


Figure - 5: Histopathological section in cerebrum of rabid cow showed congested blood vessel with perivascular mononuclear cuffing and edema (arrow). (H & E stain X40).

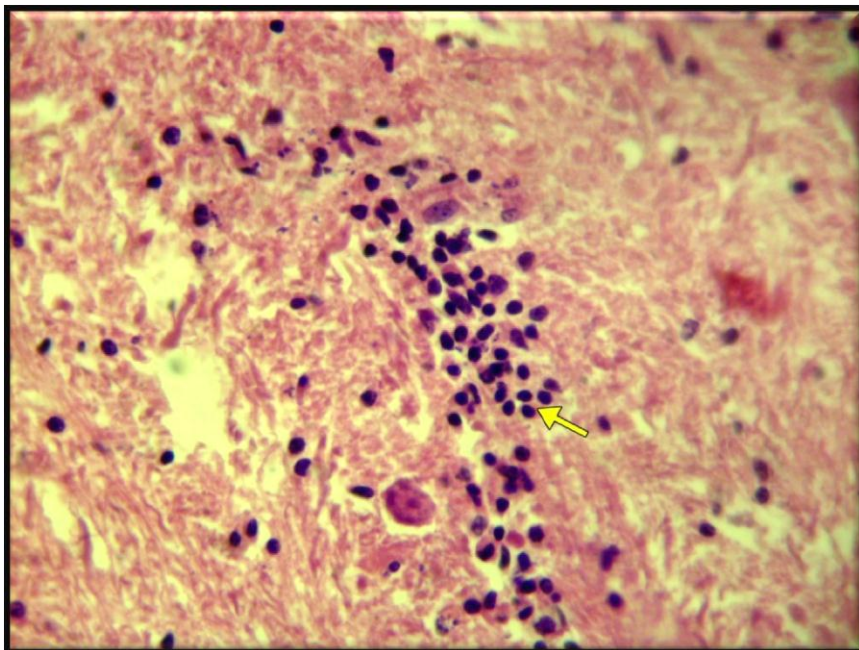


Figure - 6: Histopathological section in cerebrum of rabid cow showed aggregation of glial cells (gliosis) (arrow). (H & E stain X40).

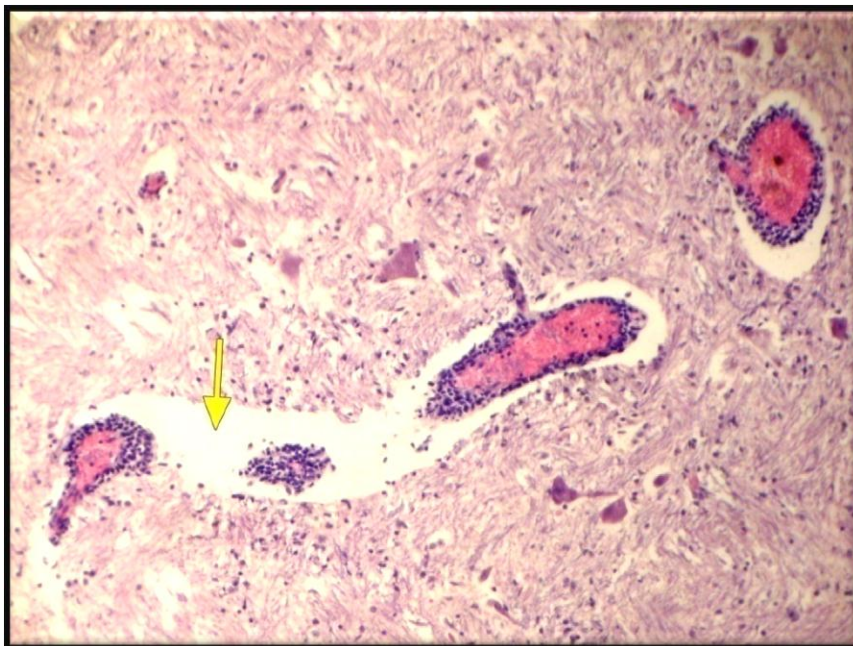


Figure - 7: Histopathological section in medulla oblongata of rabid cow showed congested blood vessels with perivascular mononuclear cuffing and edema (arrow). (H & E stain X10).

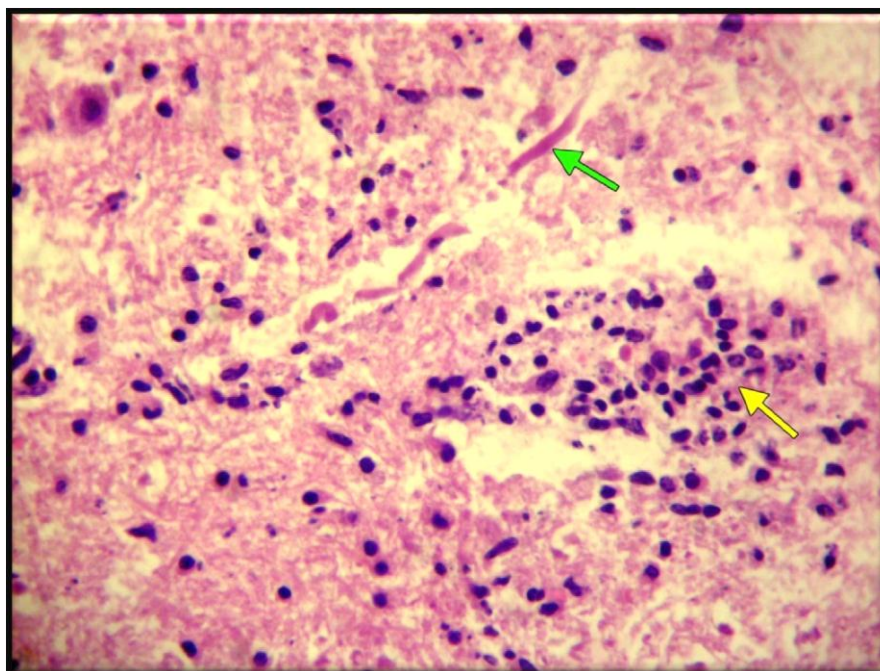


Figure - 8: Histopathological section in medulla oblongata of rabid cow showed Babes nodule which consisted of degenerated neurons (→) surrounded by glial cells and mononuclear cells (→). (H & E stain X40).

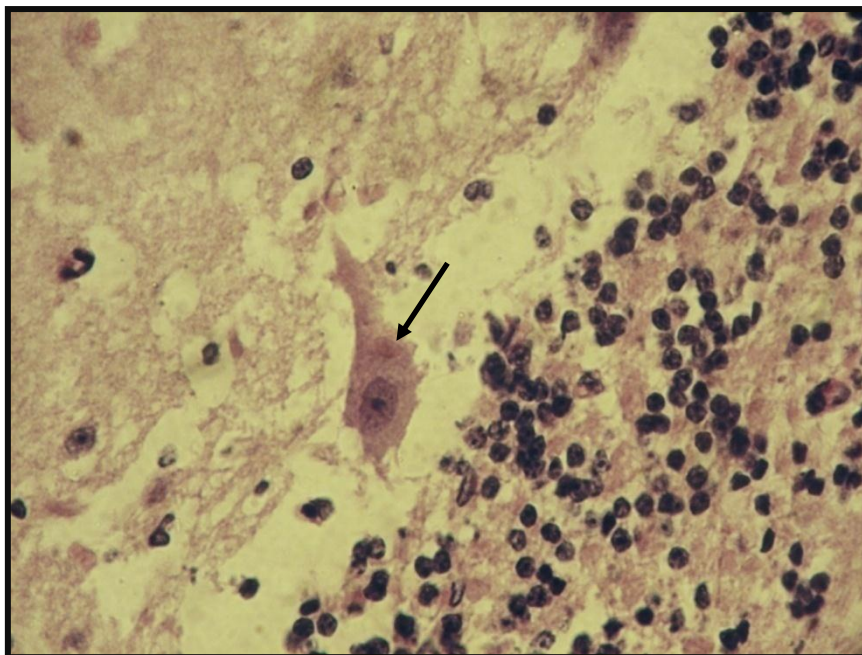


Figure – 9: Histopathological section in cerebellum of rabid ewe showed degenerated Purkinje cell containing intracytoplasmic, acidophilic and oval shaped inclusion body (Negri body - arrow) , with mononuclear cells infiltration within granular layer. (H & E stain X40).

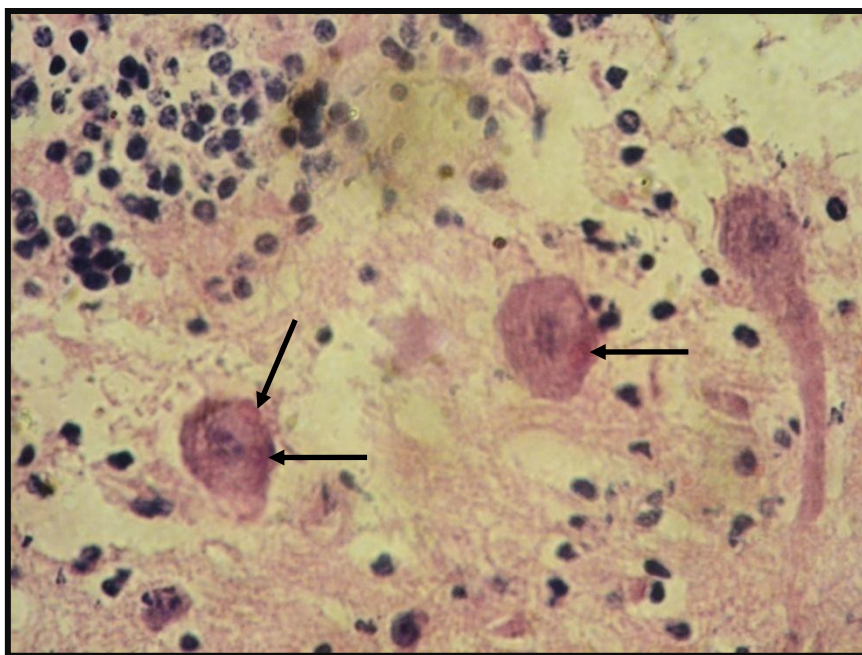


Figure – 10: Histopathological section in cerebellum of rabid ewe showed intracytoplasmic, acidophilic and round to oval shaped inclusion bodies (Negri bodies - arrows) within degenerated Purkinje cells, and mononuclear cells infiltration within granular layer. (H & E stain X40).

References

1. Heymann D (2004). Rabies In: Control of Communicable Diseases Manual. 18th Edition. Washington, DC ed. American Public Health Association: 438 - 47.
2. American Veterinary Medical Association. (2009). Back grounder: Rabies. No.7.
3. World Health Organization - WHO. (2010). Rabies epidemiology. <http://www.who.int/rabies/epidemiology>.
4. Tomas E Kienzel (2007). Rabies In: Deadly Diseases and Epidemic. Info base Publishing USA.
5. Rupprecht C and Shlim D (2009). Rabies In: Yelow Book chap.2 (49).
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Human Rabies prevention--- United States (1999). Recommendations of the advisory committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR 48(RR-1).
7. Shankre B P (2009).Advances in the diagnosis of Rabies.Vet. World. 2(2): 74 - 87.
8. Gerard JN Defaria DL Chanona Vilchi JG and Zhang y (2005). Molecular detection of Rabies encephalitis and correlation with cytokine expression. Modern Pathology. 18: 62 - 67.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2009). Rabies Diagnosis. Public Health Matters. I (800) CDC - INFO: 232 - 4636.
10. Luna LG (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition. The McGraw - Hill Book Company. New York USA.
11. Hanlon A (1999). Protocol for postmortem diagnosis of rabies in animals by direct florescent antibody testing: minimum standard for rabies diagnosis in United States. JAVMA. 215: 1444 - 1446.
12. Durr S Naissengar S Mindekem R Diguimbye C Niezgod M Kuzmin I Rupprecht C and Zinsstag J (2008). Rabies diagnosis for developing countries. PLoS. Negl. Trop.2 (3).
13. OIE - Terrestrial Manual. (2008). Rabies. pp: 343 - 324.
14. Lembo T Niezgod M Villa A Cleaveland S Ernest E and Rupprecht C (2006). Evaluation of the direct, rabid, immunohistochemistry test for Rabies diagnosis. Emerging Infectious Diseases. 12 (2): 310 - 313.
15. Jackson A and Wunner W (2007). Rabies 2nd. Edition Elsevier Inc.London UK.
16. Love S and Willy CA (2002).Viral Diseases In: Greenfield's Neuropathology. 7th Edition. By: D. I. Graham and P. L. Lanots, eds London UK. Pp: 1 - 105.
17. Negri A (1903a) Bietrag Zum Stadium der Aetiologie der Tollwuth. Zeitschrift fur Hygiene und Infektionskrankheiten. 43: 507 - 528.
18. Negri A (1903b). Zur Aetiologie der Tollwuth. Die diagnose der Tollwuth anf Grund der Meuen Befunde. Zeitschrift fur Hygiene und Infektionskrankheiten. 44: 519.
19. Babes MV (1892). Sur certains caracteres des lesions histologiques de la rage. Annales de L Institut Pasture. 6: 209 - 223.

20. Fu Z and Jackson A (2005). Neural dysfunction and death in Rabies virus infection. Journal of Neurovirology. 11: 101-106.
21. Burton E Burn D and Opatowsk M (2005). Rabies encephalomyelitis: clinical, neurordiological, and pathological finding in transplant recipient. Archives of Neurology. 26: 873 - 882.
22. Iwasaki Yand Tobita M (2002). Pathology In: Rabies by: A C Jackson and W H Wunner Edition. San Diago Academic Press USA. Pp: 283 - 306.