

گزارش آسیب شناسی منگوانسفالیت لیستریایی در گوسفند

فریبرز معسیر^{۱*}، آریا بدیعی^۲، علیرضا شقایق^۲، فرهاد موسی خانی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، کرج، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، کرج، ایران

* نویسنده مسئول: fariborz.moayer@kiaou.ac.ir



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره سوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱

صفحات ۱۹۷-۲۰۲

چکیده

در بهار سال ۱۳۹۱ دو رأس میش از یک گله گوسفند داشتی مربوط به منطقه ای در غرب استان البرز با علائم عصبی شدیدی چون چرخیدن به دور خود، عدم تعادل، ضعف و بی اشتهایی به کلینیک بیمارستان آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج مراجعه نمود. در معاینه اولیه اختلالات سیستم اعصاب مرکزی تشخیص داده شد. به منظور تأیید تشخیص یکی از گوسفندان ذبح گردید. در کالبدگشایی ضایعات ماکروسکوپیکی پرخونی و کدورت پرده مننژ، افزایش حجم مایع مغزی- نخاعی و ابری شدن و نقاط زرد تا قهوه ای با قطر ۱ میلی متر در برش بصل النخاع مشاهده گردید. نکروز سلول های عصبی، گلیوزیس، تجمع آستین وار سلولهای آماسی در اطراف عروق و حضور میکرو آبسه های نوتروفیلی در ناحیه ساقه مغزی، ارتشاح سلولهای آماسی و افزایش ضخامت پرده مننژ از یافته های میکروسکوپیکی نمونه های مغزی برداشت شده بودند. در بررسی میکروب شناسی، باکتری لیستریا مونوسیژنوز از بافت مغز و مایع CSF جدا گردید. با توجه به نتایج میکروب شناسی و یافته های ماکروسکوپیکی و میکروسکوپیکی، فرم عصبی (منگوانسفالیت) لیستریوز تشخیص داده شد.

واژه های کلیدی: منگوانسفالیت، لیستریوز، گوسفند



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 3(3)197-202, 2012

Pathological report of Listerial meningoencephalitis in sheep

Moayer F. ^{1*}, Badii A. ², Shaghaegh A. ², Moosakhani F. ¹

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

* *Corresponding author:* fariborz.moayer@kia.ac.ir

Abstract

In spring of 2012, two ewes of a sheep flock from west region of Alborz province with neurological disorders as circling, dullness, depression, incoordination and anorexia were referred to veterinary school hospital of Islamic Azad University of Karaj branch. On initial examination, Central Nervous System lesions were suspected. In order to confirm the diagnosis, one of them was utanaized. Macroscopic findings in necropsy were leptomeningial opacity, cloudy cerebrospinal fluid and meningeal vessels congestion. Many foci of yellow-brown discoloration (0.1 mm in diameter) were seen in brain stem section. Microscopically, neuronal necrosis, gliosis, perivascular cuffing, neutrophilic micro abscesses and meningoencephalitis were observed. *Listeria monocytogenes* was isolated from brain samples and CSF in bacteriological Lab. On the basis of macroscopic signs, histopathological findings and microbiological test results, meningoencephalic Listeriosis was detected in these cases.

Key words: Meningoencephalitis, Listeriosis, Sheep

مقدمه

ضعف و بی اشتها، عدم تعادل و چرخیدن به دور خود، به کلینیک بیمارستان آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج مراجعه نمودند. در اخذ تاریخچه مشخص گردید که موارد دیگری نیز با این علائم در گله وجود داشته و واکنش‌های تب برفکی و آنتروتوکسمی به تمامی گله تلقیح شده است. در معاینات اولیه مشخص گردید که هر دو حیوان به ضایعه‌ای عصبی مبتلا می‌باشند. به منظور تأیید تشخیص یکی از گوسفندان ذبح گردید.

یافته‌های کالبدگشایی: در کالبدگشایی عارضه پاتولوژیک خاصی در اندام و احشای داخلی مشاهده نگردید اما ضایعات ماکروسکوپیکی مشخصی در سیستم اعصاب مرکزی قابل ملاحظه بود. پرده مننژ بشدت دچار پرخونی بوده و کدر بنظر می‌رسید. مایع مغزی-نخاعی دچار افزایش حجم شده و شفافیت خود را از دست داده بود. پس از برش قسمت‌های مختلف مغز، نقاط زرد تا قهوه‌ای رنگی به اندازه حدود ۱ تا ۲ میلی متر در ناحیه بصل النخاع وجود داشت.



تصویر ۱- نمایی از برش مغز در ناحیه ساقه مغز که در آن نقاط مشخصی به رنگ قهوه‌ای (فلش) که بیانگر میکروآبسه می‌باشد دیده می‌شود.

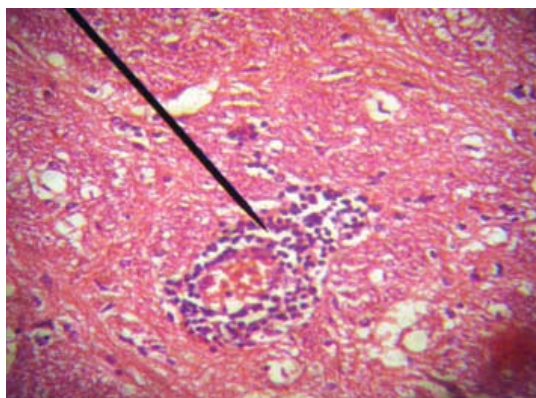
نمونه برداری: به منظور تأیید تشخیص نمونه‌هایی از قسمت‌های مختلف مغز، مخچه، بصل النخاع و نخاع برداشته و در محلول فرمالین ۱۰٪ به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شد. همچنین نمونه‌هایی از بافت مغز و مایع مغزی-نخاعی

لیستریوز یک بیماری باکتریایی با تمایل خاص به سیستم اعصاب مرکزی است که عمدتاً در نشخوارکنندگان اهلی دیده می‌شود. این بیماری که به عنوان تهدیدی جدی برای حیات بشمار می‌رود توسط باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیژنز ایجاد می‌گردد. این باکتری کوکسی تا باسیلی شکل در برابر آنتی بیوتیک‌ها بشدت مقاوم بوده و در محیط پراکنده می‌باشد. لیستریا مونوسیژنز در مقابل تغییرات حرارتی از ۴ تا ۴۴ درجه سانتی گراد زنده مانده و آن را می‌توان در آب، خاک، اولین مدفوع جنینی (مکونیوم)، مدفوع حیوانات بالغ، شیر و پنیر یافت. (۶،۵،۱)

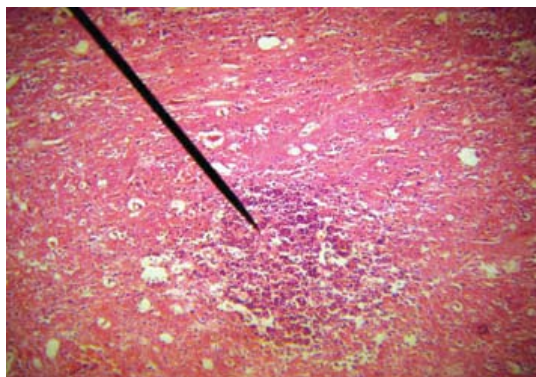
لیستریوز در گوسفند معمولاً به سه شکل ایجاد بیماری می‌نماید:
 ۱- آنسفالیت ۲- التهاب جفت همراه با سقط در انتهای دوره آبستنی و ۳- سپتی سمی. این بیماری در گوسفندان اغلب در انتهای پائیز، زمستان و اوایل بهار دیده می‌شود. در بسیاری از مناطق آب و هوایی جهان فرم منگوانسفالیت لیستریوز شایع ترین عفونت باکتریایی سیستم اعصاب مرکزی گوسفندان بالغ است. بره‌ها تا سن ۵ هفتگی اغلب به فرم سپتی سمی حساس بوده و بره‌های بالاتر از ۴ تا ۸ ماه به شکل آنسفالیت این بیماری مبتلا می‌شوند. این باکتری به عنوان یک پاتوژن عمده آلوده کننده انسان نیز مطرح بوده و همه ساله در ایالات متحده آمریکا حدود ۲۵۰۰ مورد مننژیت، آنسفالیت، سپتی سمی، مرگ جنین و تولد نوزادان نارس و بیش از ۵۰۴ مورد مرگ ناشی از این آلودگی تشخیص شده است که خسارت اقتصادی نزدیک به ۲۰۰ میلیون دلار در سال را همراه داشته است. (۲) بر اساس گزارشات موجود ارتباط معنی داری بین تغذیه با سیلو و ریسک ابتلاء به لیستریوز در دامهای اهلی وجود دارد. (۶و۷)

توصیف بیمار

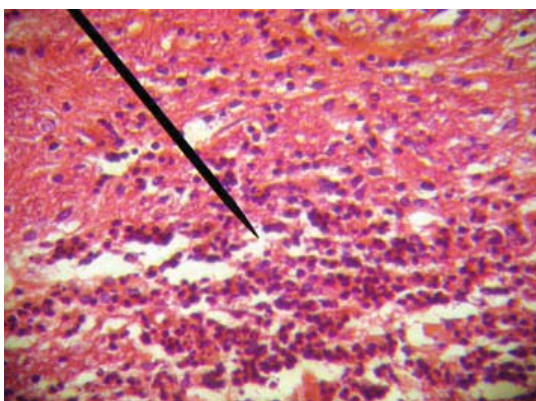
در بهار سال ۱۳۹۱ دو رأس میش از یک گله گوسفند داشتی مربوط به منطقه آبیگ در غرب استان البرز با علائم بالینی



تصویر ۳ - نمای میکروسکوپی بافت مغز که در آن تجمع سلولهای آماسی (نوتروفیل‌ها) در اطراف عروق (PVC) دیده می‌شود. (H&E - X400)

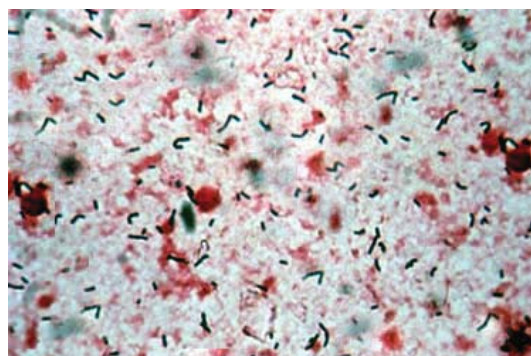


تصویر ۴ - نمای میکروسکوپی بافت مغز که در آن ارتشاح سلولهای آماسی (نوتروفیل‌ها) در پارانشیم عصبی و تشکیل میکروآبسه مشاهده می‌گردد. (H&E - X100)



تصویر ۵ - نمای میکروسکوپی بافت مغز که در آن تشکیل میکروآبسه نوتروفیلی قابل ملاحظه است. (H&E - X400)

برای آزمایشگاه باکتریولوژی ارسال شدند. همچنین گسترش مستقیمی از بافت مغز در ناحیه بصل النخاع تهیه گردید. در رنگ آمیزی گرم از این گسترش، باسیل‌های V شکل گرم مثبت فراوانی مشاهده شدند.

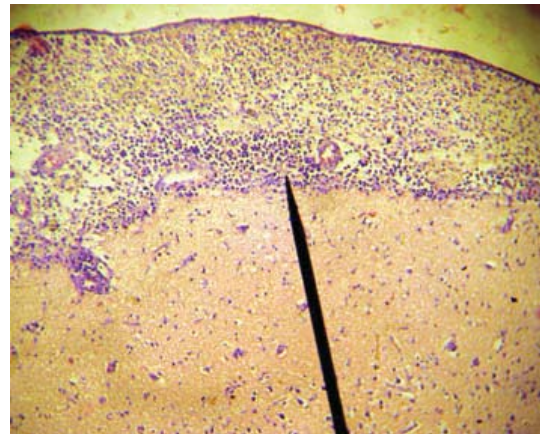


تصویر ۲ - نمایی از گسترش مستقیم بافت مغز با رنگ آمیزی گرم که در باکتری‌های V شکل گرم مثبت را می‌توان دید.

یافته های میکروسکوپی: در بررسی ریزینی از نمونه‌های بافتی برداشت شده از سیستم اعصاب مرکزی حیوان که با رنگ همتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شده بودند موارد زیر مشاهده شد. نکروز سلولهای عصبی همراه با افزایش تعداد سلولهای گلیا (گلیوزیس)، تجمعات خوشه ماندی (گلیال ندول) از سلولهای میکروگلیا و تجمع آستین وار سلولهای آماسی با غالبیت نوتروفیل در اطراف عروق و نهایتاً کانونهای پراکنده‌ای از تجمع سلولهای آماسی بافت عصبی قابل مشاهده بود. سلول آماسی غالب در این کانون‌ها نوتروفیل بوده اما گاهی سلولهای ماکروفاژ و لنفوسیت نیز دیده می‌شدند. مننژ بشدت دچار پرخونی بوده و ارتشاح سلولهای آماسی (لنفوسیت، ماکروفاژ و خصوصاً نوتروفیل‌ها) موجب افزایش ضخامت آن شده بود.

انسان و حیوانات می‌گردد. بر اساس شواهد موجود، این باکتری داخل سلولی از طریق مخاط حفره دهانی به شاخه‌های حسی حرکتی عصب سه قلو حمله می‌کند. دیگر شاخه‌های اعصاب قدامی که حفره دهانی و حلق را عصب رسانی می‌کنند نیز ممکن است توسط این باکتری درگیر شوند. باکتری از طریق آکسون‌های حسی و با استفاده از انتقال آکسونی به سوی گانگلیون عصب سه قلو مهاجرت کرده و سپس یا مستقیماً به ناحیه مرکزی مغز (مدولا) نفوذ می‌نماید یا از طریق آکسون‌های حرکتی به مغز میانی دست می‌یابد. عفونت می‌تواند از طریق به مناطق دیگر بصل النخاع گسترش یابد. (۴) ضایعات ایجاد شده توسط این باکتری را علاوه بر ساقه مغز می‌توان در منخچه یا نخاع نیز مشاهده نمود زیرا این باکتری قادر است در فاز همانند سازی از یک سلول بداخل سلول دیگر حرکت کند. (۷،۶،۴،۱)

با آنکه لیستریوز موجب بروز جراحاتی در اندامهای داخلی بدن حیوان نمی‌شود اما ضایعات ماکروسکوپی ایجاد شده ناشی از این بیماری را می‌توان در سیستم اعصاب مرکزی مشاهده نمود. کدورت و افزایش ضخامت مننژ، پر خونی و خونریزی، نکروز در قسمت انتهایی بصل النخاع کانون‌های زرد مایل قهوه‌ای و کدورت مایع مغزی-نخاعی ذکر شده‌اند. بررسی‌های میکروسکوپی نشان داده است که منگوانسفالیت متمرکز در پل‌های مغزی و مدولا وجود دارد که ماده سفید و خاکستری را درگیر نموده است. ضایعات اولیه بصورت تجمعات خوشه ماندی از سلولهای گلیا (گلیال ندول) است که با گذشت زمان بزرگ شده و حاوی تعداد متغیری از سلولهای نوتروفیل می‌گردد. که بدین ترتیب میکروآبسه را تشکیل می‌دهند. سلولهای تشکیل دهنده برخی از این کانون ها، ماکروفاژها هستند. نکروز، تجمع گیتسرسل‌ها و در برخی موارد حتی حضور باسیل‌های گرم مثبت از دیگر مواردی هستند که در گزارشات پاتولوژی این بیماری آورده شده‌اند. معمولاً بیماری با التهاب مننژ همراه بوده و اکسودای آن از سلولهای لنفوسیت، ماکروفاژ و اغلب نوتروفیل تشکیل شده



تصویر ۶- نمای میکروسکوپی یک بافت مغز و لایه نرم شامه پرده مننژ که در آن می‌توان حضور و تجمع سلول‌های آماسی و افزایش ضخامت این پرده را مشاهده نمود. (H&E - X400)

یافته های باکتری شناسی: جهت کشت و جداسازی باکتری، ابتدا مستقیماً از بافت مغز تحت شرایط استریل بر روی محیط کشت آگار خون دار (Blood Agar) حاوی ۰/۵% تلوریت پتاسیم کشت داده شده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. هم زمان جهت غنی سازی، بافت مغز به محیط کشت *Listeria Enrichment Broth* که حاوی افزودنی‌های مورد نیاز است منتقل گردید تا در ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شود. پس از ۲۴ ساعت کلنی‌های نقطه‌ای ریز و صاف همراه با همولیز بتای خفیف فراوانی در سطح آگار خون دار مشاهده شد. بر اساس نتایج بدست آمده، آزمون‌های کمپ (CAMP)، آسکولین (Asculine) و تحرک مثبت ارزیابی شد. نتیجه آزمون قندهای رامنوز، گلوکز و سالیسین مثبت و قندهای مانیتول و گزیلوز منفی بود. بر اساس مشاهدات مورفولوژی و نتایج بیوشیمیایی آزمونهای انجام شده، وجود لیستریا مونوسیژنوز *Listeria monocytogenes* را تأیید گردید.

نتیجه گیری و کاربرد بالینی

لیستریا مونوسیژنوز یک باکتری گرم مثبت غیر اسپورزا است که موجب بروز آنسفالیت، سپتی سمی و سقط در

References

1- Braun, U., Stehle, C., and Ehrensperger, F. (2002). Clinical findings and treatment of listeriosis in 67 sheep and goats. *Veterinary Research*. 150(2); 38-42.

2- Irene V. Wesley, David J. Larson, Karen M. Harmon, John B. Luchansky, Ann Ramos Schwartz (2002). A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa with an overview of livestock and human cases. *Journal of Vet Diagnosis Investigation*. 14; 314-321.

3- Loeb, E. (2004). Encephalitic listeriosis in ruminants: Immunohistochemistry as a diagnostic tool. *Journal of Veterinary Medicine*. 51(9-10); 453-455.

4- McGavin M.D. , Zachary J.F. (2011): *Pathologic Basis of Veterinary disease*. 5th ed. Mosby Elsevier Inc. pp: 859-866.

5- Nightingale, K. K., Fortes, E. D., Ho, A. J., Schukken, Y. H., Grohn, Y. T., and Wiedmann, M. (2005). Evaluation of farm management practices as risk factors for clinical listeriosis and fecal shedding of *Listeria monocytogenes* in ruminants. *Journal of Veterinary Medical Association*. 228(5), 737.

6- Roberts A.J. , Wiedmann M. (2003). Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cell. Mol. Life Sci*. 60; 904-918.

7- Sahin M. , Beytuta E. (2006). Abortions in Sheep Due to *Listeria ivanovii* in the Kars Region Turk. *J. Vet. Anim. Sci*. 30; 503-506.

است. (۷،۴)

بیماری لیستریوز به سه شکل بروز می‌کند: مننگوآنسفالیت، سقط و مرده زایی و سپتی سمی. فرم آخر عموماً حیوانات جوان را درگیر می‌نماید که عفونت را از طریق رحمی دریافت کرده اند. علائم درمانگاهی فرم مننگوآنسفالیت لیستریوز مربوط به ضایعاتی است که در بصل النخاع ایجاد شده است. بی حالی و بی اشتها، خنگی، کندی حرکات، کج شدن گردن، چرخش بدور خود (معمولاً تنها به یک سمت می‌گردند)، فلجی یک طرفه عصب صورت، افتادگی گوش، افتادگی فک و سرازیر شدن بزاق از دهان به علت فلجی حلق از علائم بالینی این بیماری است. معمولاً پس از چند روز که حیوان زمین گیر است، خواهد مرد. (۷،۴،۳)

گوسفند در مقابل گاو نسبت به فرم درمانگاهی لیستریوز آسیب پذیرتر است. این بیماری در گوسفند اغلب در انتهای پاییز، زمستان و اوایل بهار رخ می‌دهد یعنی زمانی که دامها بیشتر در مکانهای سرپوشیده و بسته (آغل) نگه داری می‌شوند. عواملی چون زمینه‌های ژنتیکی، تغییرات ناگهانی در جیره غذایی، ورود دامهای جدید به گله، ازدحام بیش از حد، استرس حمل و نقل، بیماری‌های همزمان، تغییرات جوی مانند بارش شدید باران و آسیب‌های فیزیکی و ویروسی به حفره دهانی یا بافت پوششی دستگاه گوارش می‌توانند دوره بیماری را تغییر داده و دام را نسبت به بروز آن مستعد نمایند. (۱،۶،۵)

علوفه سیلو شده شایع ترین منبع عفونت است. اگر علوفه سیلو شده با خاک حاوی لیستریا مونوسیتوزنز آلوده شده باشد و یا در شرایط نامناسب مانند pH بیش از ۵/۴ نگهداری شود میکروارگانیسم به راحتی می‌تواند در آن رشد و تکثیر نموده و موجبات بروز بیماری در دامها را فراهم آورد. (۵و۶)