

## Distribusi Lesi *Negri's Bodies* dan Peradangan pada Otak Anjing Penderita Rabies di Bali

DORTY PRIHASTINA SALBAHAGA<sup>1</sup>,

I KETUT ELI SUPARTIKA<sup>2</sup>, I KETUT BERATA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,  
Jalan PB. Sudirman Denpasar, Bali tlp.0361-701808,

<sup>2</sup>Staf Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Denpasar

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui distribusi lesi *Negri's bodies* (badan Negri) dan peradangan pada otak anjing penderita rabies di Bali. Penelitian ini menggunakan 28 sampel otak anjing yang telah didiagnosa positif rabies oleh Balai Besar Veteriner Denpasar. Dari 28 sampel otak ini terdapat 28 sampel cerebrum, 27 sampel cerebellum, dan 27 sampel hipokampus. Organ otak yang digunakan penelitian dibuat preparat histopatologi dengan teknik *block-embeded* dengan paraffin dan pewarnaan Harris Hematoxilin-Eosin. Preparat diperiksa berdasarkan sebaran dan jumlah lesi badan Negri, serta adanya variasi lesi ensefalitis. Hasil pemeriksaan histopatologi otak anjing penderita rabies menunjukkan adanya lesi badan Negri di semua area otak. Berdasarkan jumlah dalam persentase ditemukan badan Negri di daerah hipokampus sebanyak 51,85%, cerebellum sebanyak 25,93%, dan cerebrum sebanyak 7,15%. Variasi lesi ensefalitis berupa kongesti, edema perivaskuler, hemoragi, vaskulitis, *perivascular cuffing*, gliosis, degenerasi neuron, dan *spongiform encephalopathy* dapat ditemukan di semua area otak anjing yang diteliti, tetapi tidak spesifik pada bagian otak mana yang dominan. Simpulan penelitian ini adalah badan Negri paling banyak ditemukan di daerah hipokampus otak.

Kata-kata kunci: Rabies, badan Negri, ensefalitis.

### ABSTRACT

The aim this research was studied the distribution of *Negri's bodies* and encephalitis in rabies dogs that happened in Bali. The research used 28 brain samples that have been diagnosed positive by Balai Besar Veteriner Denpasar. From the 28 brain

samples consist of 28 cerebrum samples, 27 cerebellum samples, and 27 hippocampus samples. Each of the samples was made histopathological preparation by paraffine block-embedded technique and Harris hematoxylin eosin method. Samples were examined base on the distribution and quantity of Negri's bodies, and also other variation of inflammation lesion in brain. The results showed that Negri's bodies were found in hippocampus: 51,85%, cerebellum: 25,93%, and cerebrum: 7,15%. Variaton of encephalitis lesions that were found are congested, perivascular oedema, hemorrhagic, vasculitis, perivascular cuffing, gliosis, neuron degeneration, and spongiform enchelopathy. They were found in all brain area with different severity, but not characterized. Conclussion of this research is Negri's bodies most found in hipocampus area of the brain.

Key words: Rabies, Negri's body, encephalitis.

## PENDAHULUAN

Rabies merupakan penyakit menular akut yang menyerang susunan saraf pusat pada manusia dan hewan berdarah panas. Rabies disebabkan oleh *lyssavirus*, ditularkan melalui saliva hewan yang menderita rabies melauai gigitan atau luka terbuka. Virus penyakit rabies yang menginfeksi jaringan saraf, menyebabkan ensefalitis dan berakibat fatal bagi hewan atau manusia yang tertular. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO.2010) diperkirakan setiap tahun di dunia terdapat sekurang-kurangnya 55.000 orang meninggal karena rabies.

Secara historis, Bali termasuk dalam provinsi bebas rabies, sampai akhirnya pada awal Desember 2008, Gubernur Bali mengumumkan berjangkitnya rabies di Bali (Dharmawan, 2009). Wabah rabies di Provinsi Bali sangat merugikan masyarakat karena selain mengancam jiwa penduduk Bali, juga dapat menurunkan jumlah wisatawan yang datang ke Bali.

Dalam upaya membebaskan Pulau Bali dari wabah rabies, maka berbagai usaha dilakukan, termasuk penguatan teknik diagnostik. Diagnostik secara patologis untuk rabies adalah dengan teknik pembuatan preparat histologi disertai pewarnaan Seller dan hematoksilin eosin (Akoso, 2007). Lesi yang patognomonik (khas) untuk rabies adalah ditemukan adanya *Negri's body* (badan Negri) pada otak anjing terutama di bagian hipokampus (Perl, 1975; Akoso, 2007). Belum ada penelitian yang melaporkan mengapa diperiksa bagian hipokampus. Temuan badan Negri telah

menjadi hal yang paling sering menjadi acuan dalam proses diagnosa selama lebih dari 100 tahun semenjak ditemukan pertama kali oleh Adelchi Negri pada tahun 1903 (Jones *et al*, 1997). Selain di bagian hipokampus, badan Negri dapat ditemukan di daerah otak kecil, mensefalon, dan batang otak (Hamir *et al*, 1992).

Terbentuknya badan inklusi intrasitoplasmik yang disebut dengan badan Negri adalah akibat sifat virus rabies yang neurotrofik (Lahaye *et al*, 2009). Pada anjing yang mati karena rabies, 58-99% kemungkinan dapat ditemukannya badan Negri (Akoso, 2007). Persentase tersebut meningkat pada rabies tipe ganas jika dibandingkan dengan tipe dungu (*dumb*). Badan Negri mudah diamati pada neuron besar di hipokampus, walaupun di jaringan lain, misalnya mesensefalon, otak kecil, dan ganglia dapat ditemukannya badan Negri (Lépine dan Atanaisu, 2010). Badan Negri semakin terlihat jelas, lebih besar, lebih banyak, dan lebih nyata morfologinya sesuai dengan perkembangan penyakitnya (Fekadu, 1988).

Perubahan lain yang mengikuti perubahan badan Negri adalah pembengkakan atau pembusungan awal neuron, yang diikuti oleh perubahan inti piknosis, karioreksis, lisis, dan beragam reaksi neuronofagia. Kemudian ditemukan pula infiltrasi limfosit perineural, *perivascular cuffing*, infiltrasi interstisial sel bundar, dan pendarahan perivaskuler (Lépine dan Atanaisu, 2010). Sejauh mana variasi badan Negri dan lesi lainnya di bagian-bagian otak anjing penderita rabies, maka penting untuk diteliti dalam upaya menegakkan diagnosis rabies secara lebih tepat dan efisien.

## **MATERI DAN METODE**

### **Pembuatan Preparat Histopatologi**

Penelitian ini menggunakan 28 sampel otak bagian cerebrum, cerebellum, dan hipokampus dari anjing penderita rabies di Bali yang diperiksa oleh Balai Besar Veteriner Denpasar pada periode tahun 2008-2009. Anjing yang diambil sampelnya menunjukkan gejala rabies dan telah diuji *Flourescent Antibody Technique* (FAT) dengan hasil positif rabies. Sampel otak tersebut dibuat preparat histopatologi dengan teknik paraffin-embedding sesuai metode Kiernan (2001) dan pewarnaan Harris hematoxilin eosin (HE)..

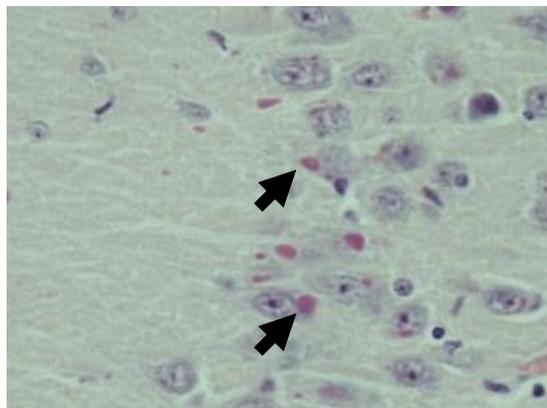
### **Pemeriksaan Histopatologi**

Pemeriksaan preparat histopatologi pada area cerebrum, cerebellum dan hipokampus dengan pembesaran 100, 200 dan 400 X, dilakukan masing-masing pada

lima lapang pandang mikroskopik. Adapun lesi yang diperiksa adalah adanya badan *Negri* dan tingkat peradangan yang meliputi meningoensefalomyelitis, perivascular cuffing, kongesti, perivascular edema, pendarahan, vaskulitis, gliosis, degenerasi neural dan vakuolisasi (*spongiform encephalopathy*).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan mikroskopik otak anjing rabies di Bali, badan *Negri* ditemukan pada 2 sampel cerebrum (7,15%), 7 sampel cerebellum (25,93%) dan 14 sampel hipokampus (51,85%). Jumlah dan ukuran badan *Negri* beragam di setiap sampel. Badan *Negri* ditemukan intrasitoplasmik sel saraf yang terinfeksi. Badan *Negri* lebih banyak ditemukan di hipokampus dengan jumlah yang bervariasi di setiap sel neuron. Sedangkan pada cerebrum dan cerebellum badan *Negri* yang ditemukan umumnya sedikit dan ukurannya relatif kecil. Bentuk badan *Negri* yang ditemukan dalam setiap sampel bervariasi dari bentuk bulat sampai oval. Variasi jumlah, ukuran dan bentuk badan *Negri* dapat dilihat pada Gambar 1. Selain terdapat badan *Negri* juga disertai dengan adanya lesi ensefalitis.



Gambar 1 Variasi jumlah, ukuran, dan bentuk badan *Negri* (HE, 400x).  
Badan *Negri* ditunjukkan dengan tanda panah..

Dari hasil penelitian juga diketahui pada semua sampel (28 buah) terdapat lesi ensefalomyelitis, dengan 12 sampel tanpa adanya lesi badan *Negri*. Berdasarkan hasil pengamatan terdapat meningitis, kongesti vaskuler, edema perivaskuler, pendarahan (hemoragi), vaskulitis, *perivascular cuffing*, dan gliosis (*Babe's nodule*). Beberapa sampel yang diamati juga terdapat *spongiform encephalopathy* yang disertai dengan vakuolisasi. Keberadaan lesi-lesi tersebut tidak semuanya ada dalam satu preparat, namun bervariasi dalam setiap sampelnya. Keparahan, distribusi, serta jumlah lesi

bervariasi dari ringan hingga berat pada tiap sampel. Hasil tabulasi pemeriksaan lesi badan Negri dan peradangan pada otak anjing penderita rabies di Bali dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Distribusi Lesi Badan Negri pada Otak Anjing Rabies Kasus Lapangan di Bali

Lokasi	Jumlah	Persentase
Cerebrum	2/28	7,15 %
Cerebellum	7/27	25,93%
Hipokampus	14/27	51,85%

Tabel 2. Distribusi Peradangan pada Otak Anjing Penderita Rabies di Bali

Lesi	Cerebrum (28 sampel)	Cerebellum (27 sampel)	Hipokampus (27 sampel)
Kongesti (K)	28 (100%)	27 (100%)	26 (96,3%)
Edema Perivaskuler (PE)	25 (29,3%)	14 (51,85%)	25 (92,6%)
Hemoragi (H)	16 (57,14%)	16 (59,25%)	11 (40,74%)
Vaskulitis (V)	22 (78,57%)	16 (59,25%)	18 (66,6%)
Perivascular Cuffing (PC)	24 (85,7%)	19 (70,37%)	21 (77,7%)
Gliosis (G)	9 (32,14%)	6 (22,22%)	8 (29,62%)
Degenerasi Neuron (ND)	10 (35,7%)	3 (11,11%)	8 (29,62%)
Spongiform (S)	16 (57,14%)	12 (44,44%)	15 (55,55%)

Menurut Akoso (2007), pada diagnosa penyakit rabies secara makroskopik tidak tampak perubahan yang menciri pada otak dari hewan penderita. Namun dalam beberapa kasus (jarang), otak hewan terlihat adanya kongesti meningeal. Cerebral edema umum terjadi pada hewan yang menderita viral ensefalitides, namun jarang terjadi pada rabies (Fekadu, 1988).

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi diperoleh data bahwa terdapat lesi badan Negri serta tanda-tanda *encephalomyelitis* pada sampel otak yang positif rabies. Pada daerah endemik rabies, anjing dengan gejala klinis yang menunjang, maka adanya lesi ensefalitis saja sudah dapat dicurigai adanya infeksi dari virus rabies (Lépin and Atanaisu, 2010).

Badan Negri adalah massa eusinofilik yang solid dengan granul basofilik internal yang terpecah (Tierkel, 1975). Badan Negri merupakan badan inklusional neural intrasitoplasmik yang berbentuk bulat sampai oval, eosinofilik, dan memiliki struktur internal (Butts *et al*, 1984). Infeksi virus rabies menginduksi terbentuknya

formasi dari badan inklusi sitoplasmik yang disebut dengan badan Negri yang ditemukan di dalam sitoplasma saraf yang terinfeksi (Lahaye, 2009).

Badan Negri yang ditemukan dalam penelitian ini kebanyakan terlihat di sel-sel saraf yang besar terutama di daerah lapisan pyramidal pada hipokampus, dimana badan-badan sel saraf berjejer membentuk sebuah lapisan. Selain itu badan Negri dapat ditemukan sel Purkinje, yaitu sel saraf besar yang memiliki banyak akson dan dendrit terletak diantara lapisan granuler dan lapisan molekuler dari cerebellum. Sedangkan pada area cerebrum, badan Negri sangat jarang ditemukan. Penemuan ini sejalan dengan Lépine dan Atanaisu (2010) bahwa badan Negri ditemukan terutama di daerah lapisan *pyramidal central* dari hipokampus, di lengkungan bagian bawah dan tengah dari lapisan ganglioneuron dari hipokampus dan di sel Purkinje di area cerebellum. Area lain tempat ditemukannya badan Negri adalah brain stem, pons, cerebral corteks, bagian cervical dari spinal cord. Jumlah badan Negri di daerah tersebut mungkin banyak, namun dengan ukuran yang kecil (Fekadu, 1988).

Keberadaan badan Negri ini tidak selalu ditemukan pada otak. Keberadaan badan Negri tergantung pada jumlah virus yang masuk, strain dari virus rabies tersebut, serta bagaimana hewan tersebut mati. Keberadaan badan Negri serta tingkat keparahan lesi ensefalitis sangat bergantung pada jumlah virus yang masuk. Virus dalam jumlah sedikit akan menyebabkan lesi ensefalitis yang lebih parah dan keberadaan badan Negri yang cukup banyak. Sedangkan, apabila virus masuk dalam jumlah yang banyak, maka menimbulkan masa inkubasi yang singkat, sehingga badan Negri dan lesi ensefalitis yang sedikit karena hewan akan mati sebelum virus membentuk lebih banyak badan Negri. Dalam beberapa strain dari *street rabies* (rabies liar) tidak menimbulkan lesi badan Negri mencapai 30% (Fekadu, 1988). Sedangkan, strain *fixed rabies* tidak mampu membentuk badan Negri (Akoso, 2007). Pada hewan yang mati akibat dibunuh, kemungkinan sangat kecil untuk menemukan badan Negri karena hewan mati sebelum virus dapat membentuk badan Negri (Lépine and Atanaisu, 2010).

Walaupun penyakit rabies tidak menyebabkan kelainan secara makroskopisnya, tetapi secara mikroskopisnya terdapat lesi yang menandakan adanya tanda-tanda ensefalitis seperti *perivascular cuffing*, kongesti, perivascular edema, pendarahan, vaskulitis, gliolisis, degenerasi neural dan vakuolisasi (*spongiform encephalitis*). Dari hasil penelitian keberadaan variasi lesi, keparahan, serta letaknya bervariasi

dalam setiap sampel. Lesi yang paling banyak ditemukan adalah kongesti. Kongesti yang terjadi terkadang disertai dengan dilatasi pembuluh darah. Kongesti dapat terjadi akibat adanya reaksi peradangan akibat trauma, toksin atau mikroorganisme. Pada reaksi radang akut dinding pembuluh darah berdilatasi dan terisi oleh akumulasi eritrosit dan leukosit, terkadang leukosit terlihat bereemigrasi keluar pembuluh darah (Cheville, 1999).

Lesi lain yang juga umum ditemukan pada rabies ensefalitis adalah gliosis atau *Babe's nodule*. Gliosis merupakan proliferasi sel glial dan infiltrasi ringan dari leukosit dan sel plasma pada sel saraf yang terinfeksi. Sel glial ini bersifat fagositosis. Keberadaan sel glial ini kemungkinan berhubungan dengan adanya badan inklusi di sekitar sel saraf (Jones *et al*, 1997).

Degenerasi neural atau matinya sel saraf terjadi pada beberapa sampel otak, degenerasi neural terjadi akibat adanya infeksi virus dan fagositosis oleh sel glial. Degenerasi neural ini akan mengakibatkan nekrosis pada sel saraf yang kemudian terlihat sebagai vakuolisasi pada otak (Jones *et al*, 1997).

Kerusakan sel saraf yang menyebabkan terjadinya vakuolisasi terjadi pada beberapa kasus. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Bundza dan Charlton (1988) diungkapkan bahwa *spongiform encephalopathy* dengan degenerasi dapat diobservasi pada substansia kelabu. Namun lesi spongiform ini tidak separah pada penyakit *spongiform encephalopathy* lainnya seperti Scrapie atau *bovine spongiform encephalomalacia* (BSE). Vakuola (diameter 2-60  $\mu\text{m}$ ) berada di neuropil dari substansia kelabu, lebih banyak ditemukan di daerah thalamus dan cerebral cortex. Sedangkan daerah yang jarang ditemukan yaitu brain stem sampai dienkephalon dan cerebellar cortex. Sedangkan area yang sangat jarang ditemukan di daerah basal ganglia, hipokampus, dan hipotalamus. Hal ini kemungkinan terjadi karena lamanya masa inkubasi yang berbeda dimana scrapie lebih lama dari pada rabies.

Pada umumnya perubahan histopatologi pada anjing yang menderita penyakit rabies kebanyakan ditemukan pada substansia kelabu di otak dan spinal cord. Keparahan infeksi tergantung pada lokasi inokulum dan besarnya dosis inokulum. Dosis virus yang kecil memproduksi periode inkubasi yang lama dan menyebabkan perubahan patologi yang lebih parah. Derajat keparahan peradangan pada otak biasanya proporsional dengan lamanya periode inkubasi dan morbiditas. Degenerasi

neural pada otak bisa ringan sampai parah, dengan satelitosis dan neurofagia (Fekadu, 1988).

### **SIMPULAN**

Dari penelitian ini dapat disimpulkan: badan Negri paling banyak ditemukan di bagian hipokampus dari otak anjing penderita rabies di Bali, dengan persentase di cerebrum 7,15%, cerebellum 25,93%, dan hipokampus 51,85%. Terdapat variasi lesi ensefalitis yaitu kongesti, edema perivaskuler, hemoragi, vaskulitis, *perivascular cuffing*, gliosis, degenerasi neuron, dan *spongiform encephalopathy* pada cerebrum, cerebellum, dan hipokampus, dari otak anjing penderita rabies di Bali.

### **SARAN**

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang faktor penyebab terbentuknya badan Negri terbanyak di bagian hipokampus dari otak anjing penderita rabies.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar, atas ijin, bantuan sertafasilitas untuk penelitian ini.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Akoso, B. T. (2007). Pencegahan & Pengendalian RABIES; Penyakit Menular pada Hewan dan Manusia. Kanisius. Yogyakarta.
- Bundza, A and K. M. Charlton. (1988). Comparison of spongiform lesions in experimental scrapie and rabies in skunks. *Acta Neuropathologica* (1988) 76:275-280. Animal Disease Research Institute, NEPEAN. Canada
- Butts, J. D., T. W. Bouldin, and D. H. Walker. (1984). Morphological Characteristics of a Unique Intracytoplasmic Neural Inclusional Body. *Acta Neuropathologica* (Berl) (1984) 62:345-347. Departement of Pathology, University of Carolina.
- Cheville, N. F. (1999) *Introducton of Veterinary Pathology*. Iowa Satate University Press. Iowa, USA.
- Dharmawan, N. S. (2009). *Anjing Bali dan Rabies*. Buku Arti, Arti Foundation. Bali
- Fekadu, M. (1988). Pathogenesis of Rabies Virus Infection in Dogs. Review of infectious Disease. Vol. 10, Supplement 4. The University of Chicago. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3206080>. Diakses pada tanggal 1 Januari 2011.

- Hamir, A. N., G. Moser, and C. E. Rupprecht. (1992). Morphologic and Immunoperoxidase Study of Neurologic lesions in Naturally Acquired Rabies of Racoons. *J Vet Diagn Invest* 4:369-373 (1992).
- Jones, T. C., R. D. Hunt, and N. W. King. (1997). *Rabies*. William & Wilkins. Maryland, USA.
- Lahaye, X., A. Vidy, C. Pomier, L. Obiang, F. Harper, Y. Gaudin, and D. Blondel. (2009) Functional Characterization of Negri Bodies (NBs) in Rabies Virus-Infected Cells: Evidence that NBs Are Sites of Viral Transcription and Replication. *J Virol*. 2009 August; 83(16): 7948–7958.
- Lépine, P. and P. Atanais. (2010). Histopathological Dignosis. [http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO\\_MONO\\_23\\_%283ed%29.pdf](http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_23_%283ed%29.pdf). Diakses pada tanggal 29 Desember 2010
- Perl, D.P. (1975). Pathology of SSP. In: Baer GM, ed. *The Natural History of Rabies*. Vol. 1. New York: Academic Press.
- Tierkel, E. S. (1975). *Canine Rabies: The Natural History of Rabies*. Vol. 2. Academic Press. New York, USA.
- WHO. (2010). Rabies. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>. Diakses pada tanggal 30 Desember 2010