

BUZAĞILARDA SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARININ TANISINDA BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVISI MUAYENELERİNİN ÖNEMİ*

Fatih Mehmet Birdane^{@1}

Veysi Aslan¹

The Importance of Bronchoalveolar Lavage Fluid Examinations in the Diagnosis of Respiratory Tract Diseases in Calves

Özet: Yapılan çalışmada buzağuların solunum sistemi enfeksiyonlarının tanısında BAL sıvısındaki biyokimyasal ve sitolojik değişikliklerin belirlenmesinin yararı araştırıldı. Bu amaçla, 18 akut, 17 kronik solunum sistemi enfeksiyonlu ve 11 sağlıklı buzağı kullanıldı. Tüm buzağuların klinik muayenesi, tam kan analizi ve BAL sıvısı analizleri yapıldı. Bronkoalveolar lavaj sıvısı sitolojik, biyokimyasal ve bakteriyolojik yönden incelendi. Bronkoalveolar lavaj sıvısı laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP), aktiviteleri ve total protein konsantrasyonları, akut ve kronik solunum enfeksiyonu bulunan buzağularda, sağlıklı gruba göre önemli ölçüde ($p < 0.01$) yüksek olarak belirlendi. Sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında akut ve kronik solunum enfeksiyonu bulunan buzağuların BAL sıvısı nötrofil oranları önemli ($p < 0.01$) ölçüde yüksek bulundu. Bronkoalveolar lavaj sıvısı makrofaj oranı akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonu bulunan buzağularda normal buzağulara göre düşüktü. Kronik solunum sistemi enfeksiyonu bulunan buzağuların BAL sıvısı makrofaj oranları akut enfeksiyonlu gruba göre daha yüksekti. Bu çalışmanın sonuçları BAL sıvısı analizlerinin pnömonik buzağuların spesifik tanısında hızlı, basit ve güvenli bir yöntem olduğuna karar verildi. Diagnostik amaçla BAL sıvısı LDH, ALP aktiviteleri ve makrofaj, nötrofil yüzdelerinin belirlenmesi değerli bulunmuştur. Solunum sisteminin sitolojisi; daha kompleks diagnostik işlemler yapılana kadar hastaya uygulanacak işlemlerin seçilmesinde yönelik bilgi ve etiyopatolojik bir tanı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Solunum Sistemi Hastalıkları, Bronkoalveolar Lavaj, BAL, Sitoloji, ALP, LDH

Summary: The present investigation evaluated the changes of cytological constituents in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid and to detect utility for diagnosis of respiratory disease in calves. For this purpose, 18 calves with acute respiratory disease, 17 calves with chronic respiratory disease and 11 healthy calves were used as materials. All calves were examined with regard to clinical examination, complete blood cell counts and BAL fluid analysis. BAL fluid was investigated cytologically, biochemically and bacteriologically. BAL fluid lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) activities and total protein (TP) concentrations were significantly higher ($p < 0.01$) in the calves with acute and chronic respiratory infection compared to the normal calves. BAL fluid neutrophil percentages were significantly higher ($p < 0.01$) in the calves with acute and chronic respiratory infection compared to the normal calves. Macrophage percentages in BAL fluid were significantly decreased in the calves with acute and chronic respiratory infection. In the same time, BAL fluid macrophage percentage was significantly higher in the calves with chronic respiratory infection compared to that of the calves with acute respiratory infection. The results of this study showed that, transtracheal BAL fluid analysis was a fast, safe, simple technique producing rapid diagnosis in pneumonic calves. The diagnostic potential of the percentage of alveolar macrophage and neutrophil counts in BAL fluid were validated. Cytologic examination of the respiratory tract may provide a etiopathologic diagnosis or information for improved case management, until more complex diagnostic procedures are performed.

Key Words: Calf, Respiratory Disease, Bronchoalveolar Lavage Fluid, BAL, Cytology, ALP, LDH

Giriş

Buzağı ve danalarda solunum yolu hastalıkları, ülkemiz hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik olarak önemli kayıplar oluşturmaktadır. Bu nedenle doğru ve kesin teşhis konulabilmesi, tedavinin planlanması ve prognozun belirlenmesinde önem ta-

şımaktadır. Solunum yolu hastalıklarının teşhisinde rutin diyagnostik işlemler (uygun anamnez, vücut ısısı, solunum sayısı, klinik semptomlar vb.), radyografi ve laboratuvar testleri pek çok olgunun tanısında yeterli olabilir. Ancak spesifik tanı, özel muayene yöntemlerinin uygulanmasını gerektirir. Özel muayene (radyografi, transtrakeal aspirasyon, bron-

Geliş Tarihi: 11.02.2002 @: fatihbirdane@yahoo.com

* Bu çalışma doktora tezinin bir bölümüdür (SABE 96/068).

1. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, KONYA

koalveolar lavajın sitolojik muayenesi, bakteriyolojik kültür, virolojik yoklamalar, bronkoskopi, biyopsi vb.) yöntemlerinin birleştirilmesiyle olur. Teşhisin güvenilirliği tedavinin yönlendirilmesi ve prognozun belirlenmesinde önemlidir (Aslan ve ark 1985, Aslan ve ark 2000, Reynolds 1987, Pringle ve ark 1988, Mayer 1990, Turgut ve Sasse 1989, Turgut ve ark 1989, Turgut ve ark 1992).

Bakteriyel etkenlerin belirlenmesi için sırasıyla otopside alınan doku örnekleri, bronkoalveolar lavaj (BAL), transtrakeal aspirasyon (TTA) ve burun sıvabı, etkenlerin izolasyonlarında daha diyagnostiktir. Burun sıvabı ve TTA karşılaştırıldığında etkenlerin antibiyogram sonuçları arasında farklılıklar bulunmaktadır (Fogarty ve ark 1986, John 1990, Stewen 1990). Bronkoalveolar lavaj sitolojisi ile bakteriyel enfeksiyonların % 60-90'ı, mikobakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonların % 70-80'i yaklaşık iki saatte belirlenebilirken, kültür veya diğer tetkiklerle etiyolojik sonuç en erken 2-4 günde alınmaktadır (Cobben ve ark 1999).

Bronkoalveolar lavaj (BAL) terimi; akciğer hücre ve yıkantılarının elde edilmesi anlamına gelir (Reynolds 1987, Whitney ve ark 1999).

Son yıllarda fiberoptik bronkoskopi yaygınlaşsa da fiberoptik bronkoskopi kullanılmadan BAL sıvısı elde etmeye yönelik yeni teknikler bazı avantajlar sağlamaktadır (Schindler ve Cox 1994). Fiberoptik bronkoskopiye kullanılan malzemeler, tam olarak sterilize edilememektedir. Orofarengeal kontaminasyon riski her zaman bulunmaktadır ve bu tip bir kontaminasyondan kaçınmak için kullanılan kıllar ise her kullanım için yaklaşık 280 Mark'lık ek bir maliyet getirmektedir (Reynolds 1994, Griffin ve Meduri 1994).

Akciğer yıkantısı temel olarak hücresel (makrofaj, nötrofil, eozinofil, bazofil, siliyalı-nonsiliyalı epitel, lenfosit vs.) ve hücresel olmayan (total protein, albümin, immunoglobulin A, G, E, M vs) kısımlardan oluşur. Genelde hücresel olmayan komponentlerin çoğu protein tabiatındadır (Reynolds 1994, Yılmaz 1995).

Buzağılarda BAL sıvısı protein miktarı akciğer hasarı olmadığında düşük seviyelerdedir. Ancak akciğer hasarı olduğunda BAL protein miktarı 3- 15 günlük buzağılarda 16-80 mg/dl (Weiss ve ark 1991) 4 aylık pneumonili buzağılarda 8.4 ± 1.3 mg/dl (Pringle ve ark 1988) olarak belirlenmiştir. Total serum LDH'nın yüksek olması nonspesifik olmasına rağmen, BAL sıvısı ve pleural efüzyonlarda LDH aktivitesi ve izoenzimlerinin ölçümünün akciğer hasarının ve sitotoksitenin göstergesi olabileceği

ifade edilmektedir (Venkatesan ve ark 1994, Cobben 1999).

Kronik akciğer hastalıkları, enfeksiyonlar, neoplazma ve kistik fibroziste BAL sıvısında ALP enzim aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Cobben 1999, Capalli ve ark 1997).

Bronkoalveolar lavaj sıvısının muayenesiyle; bakteri varlığı, yoğunluğu, hareketliliği, kok-basil ayırımı, asidorezistansı (Mikobakterium spp.), bakterimantar ayırımı, paraziter etkenler, viral inküzyon varlığı (PI3 de intranükleer ve intrasitoplazmik, IBR'de intranükleer, BRSV'de intrasitoplazmik) ortaya konulabilir (Kimman ve ark 1986, John 1990, Birdane 2000). Bu bilgiler 1-2 gün önce antibiyotik kullanılmış bakteriyel kökenli solunum yolu enfeksiyonlarında, antibiyogram sonuçları yanlış negatif değerlendirilebileceği için önemlidir. Aynı zamanda hücrelerin çeşidi, hücresel dejenerasyon, tümoral eğilim ve fibrin belirlenebilir (Reynolds 1987, Reinhold ve ark 1992).

Sığırların BRSV enfeksiyonunda bronşial siliyalı epitel hücrelerinin 2 misli arttığı (Sisson ve ark 1994), multinükleer dev hücreler ve içlerinde intrasitoplazmik eozinofilik inklüzyonların ve içi yangı hücreleriyle dolu amorf eozinofilik spiral materyallerin belirlendiği bildirilmiştir (Trigo 1984, Trigo ve ark 1984, Kimman ve ark 1986).

Bronkoalveolar lavaj sıvısının akut akciğer hasarını, akciğer paranzması ile aynı oranda yansıttığı belirlenmiştir (Weiland ve ark 1989), Bronkoskop kullanılmadan alınan BAL ile bronkoskop ile alınan, açık akciğer biyopsisi tekniği ve fırçalama teknikleri arasında fark bulunmadığı bildirilmiştir (Schindler ve Cox 1994).

Alveolar makrofajların sayıları subakut ve kronik durumlarda değişkendir. Lenfosit, plazma hücreleri ve dejenerer hücreler akut viral enfeksiyonları veya kronik yangıyı ifade eder. Aşırı derecede eozinofil allerjik akciğer yangısını gösterebilir (Lopez ve ark 1986, Reynolds 1987, Allen ve ark 1992).

Kronik obstrüktif pulmoner hastalıklarda trakeal sıvıda nötrofiller, akciğerlerin paraziter enfeksiyonlarında ise eozinofillerin oranları artış gösterir (Padrid ve ark 1991, Reynolds 1987). Bir araştırmada bronkopnömoni, suppuratif bronşitis ve kronik bronşitis olgularında hakim hücre tipinin nötrofiller olduğu, intersitisyel pnömonide makrofajların, allerjik kökenli solunum yolu hastalıklarında ise eozinofillerin, plazma hücreleri ve lenfositlerden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bronkopnömonilerin % 40'ında, suppuratif bronşitisin % 33'ünde bakteri, çok sayıda spiraller ve kistler gözleendiği bil-

dirilmektedir. Lavaj örneklerinin % 25-40'ında fagosite olmuş mantarlar gözlenmiştir (Fogarty ve ark 1986).

Buzağılarda bronkoalveolar lavaj sıvısı sitolojisi ve analizleri ülkemizde ilk olarak bu araştırmada uygulanmak suretiyle, teşhis ve prognozunu değerlendirilmesinde söz konusu yeni tekniklerin hekimliğimize kazandırılması da amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmanın hayvan materyalini, yaşları 15 gün ile 5 ay arasında değişen 11 sağlıklı (5 dişi, 6 erkek) ve 35 hasta (14 dişi, 21 erkek) (Deneme grubu) olmak üzere toplam 46 buzağı oluşturdu. Sağlıklı ve solunum sistemi hastalığı belirtileri gösteren buzağuların anamnezleri alındıktan sonra, rutin klinik muayeneleri yapıldı. Buzağuların genel durumları, burun akıntısı ve öksürüğün karakteri, oskultasiyon ve perküsyon bulguları kaydedildi. Deneme grubunu oluşturan buzağular, anamnez ve klinik bulgular ışığında, hastalığın başlangıcı 0-5 gün olan, 40 °C den fazla rektal ısısı olan, burun akıntısı, öksürük ve/veya dispne bulunan, yüksek kan karbondioksit basıncı olan grup akut (n=18) ve en az 15 gündür hasta olan öksürük, purulent burun akıntısı, oskultasiyonda kuru ve sert bronşiyal sesleri olan veya ses alınamayan afonik akciğer sahaları olan hastalar kronik (n=17) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Sağlıklı ve hasta buzağuların vena jugularisinden EDTA'lı polietilen tüplere alınan kandan; total lökosit (WBC), eritrosit (RBC), hematokrit (HCT), hemoglobin (Hb), ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH), ortalama alyuvar hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri, kan sayım cihazı (Medonic CA 530, Biobak ®) ile belirlendi.

Sağlıklı ve hasta buzağuların vena jugularisinden, heparinli enjektörlere 1 ml kan alındı. Alınan kandan kan pH'sı (pH), kısmi venöz oksijen basıncı (PvO₂), kısmi karbondioksit basıncı (PvCO₂), bikarbonat (HCO₃), baz açığı (Base Excess: BE), oksijen saturasyonu (O₂SAT), sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺) ve kalsiyum (Ca⁺) konsantrasyonları kan gazları analizöründe (288 Blood Gas System, Ciba) ölçüldü.

Klinik muayenelerin sonucuna göre lezyonun en şiddetli ve yaygın olduğu akciğer bölgesi belirlenerek hayvan bu bölge altta kalacak şekilde yatırıldı. Trakeanın alt 1/3 bölgesi bir el ayası genişliğinde traş ve dezenfekte edildikten sonra, tra-

kea halkaları arasından kalın kan alma kanülüyle girildi. Kanül içerisinden steril polietilen bir sonda (Bıçakçılar CH, 006) akciğere doğru yönlendirildi. Sonda mümkün olduğu kadar alt akciğer bölgesine kadar ilerletildi, sonda bifurkasyon bölgesini geçtikten sonra steril 50 ml bir enjektörle, 25 ml serum fizyolojik verildi ve sonra hızla enjektör pistonu geri çekilerek sıvı toplandı. Bu uygulamalar sırasında sondanın diaframatik lobda olduğu rastgele seçilen beş buzağıda röntgen muayeneleri ile doğrulandı (Şekil 1,2,3).

Toplanan BAL sıvısının bir kısmı sitolojik inceleme ve bir kısmı da mikrobiyolojik incelemeler için ayrıldı. Sitoloji için ayrılan sıvı, direkt olarak thoma lamına damlatılarak hücre sayısı belirlendi. Lavaj sıvısı daha sonra bir tüpe alınarak 3000 rpm de 10 dk santrifüj edilerek süpernatantı ayrıldı. Süpernatant, enzim ölçümü için kan serumlarıyla beraber -20 °C' de saklandı. Tortudan bir tanesi Wright, bir tanesi glüteraldehit-aseton (-10 °C' de) içinde 20 dk fikse edildikten sonra Giemsa ile, bir tanesi ise Papanikola boyalarıyla boyandı. Her üç boyamada da hücresel görünüm, hücre ayırımının kolaylığı, nükleer ve sitoplazmik detay, bakteri varlığı, inklüzyon cisimciği ve epitel dejenerasyonları olup olmadığı kaydedildi. Diferensiyel hücre sayısı sadece Giemsa ile boyanan preparatta değerlendirildi.

Serum ve BAL sıvısı total protein (TP) 540 nm dalga boyunda, ALP (405 nm), LDH (340 nm) enzim aktiviteleri spektrofotometre ile belirlendi. Hayvanlardan aseptik şartlarda alınan bronkoalveolar yıkantı örnekleri, % 7 koyun kanı içeren Blood Agar Base, Mac Conkey Agar ve Sabouraud Dextrose Agar'a ekildi ve 37 °C' de inkübe edildi. Her 24 saatte bir yapılan kontrollerin sonucuna göre üreyen koloniler morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre identifiye edildi (Konewan 1992).

Hasta ve sağlıklı gruplar arası fark transforme edilen (log₁₀) veriler üzerinden One-way ANOVA ve Tukey testi uygulanarak belirlendi. Diferensiyel hücre sayımı için gruplar Kruskal Wallis test karşılaştırmasına tabi tutuldu ve grup içi önemliliğin değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi uygulandı. Kan gazları analizi ve kan hücrelerinin istatistikleri One way ANOVA testi ile değerlendirildi (SPSS 8.0 for Windows).

Bulgular

Bu araştırmada akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonu bulunan buzağılarda anoreksi, halsizlik, depresyon gibi genel belirtilerin yanında, yüksek ateş (n: 27), dispne (n:4), öksürük (n: 28),

burun akıntısı (seromuköz- n: 15, purulent- n: 8, mukopurulent- n: 6), konjunktivitis (n: 4), gingivitis (n: 2) ve pnomoenteritis (n: 2) bulguları belirlendi. Oskültasyonda sertleşmiş veziküler sesler (n: 16), yaş harhara (n: 8), yaş veya çıtırtılı raller (n: 8), afonik alanlar (n: 5) ve pulmoner ödem (n: 2) tesbit edildi. Sağlıklı grubu oluşturan buzağılarda (n: 11) klinik bulgular tamamen normaldi.

Bu çalışmada, sağlıklı grup ile akut ve kronik olgular karşılaştırıldığında, total WBC sayısı akut enfeksiyonlu buzağılarda çok önemli ($p<0.01$), kronik enfeksiyonlu buzağılarda önemsiz ($p>0.05$) artış gösterdi. Tam kan analizi ile ilgili diğer bulgular Tablo 1'de verildi.

Akut ve kronik solunum sistemi hastalığı bulunan buzağılarda, venöz kan kısmi karbondioksit basıncı ($PvCO_2$), venöz kan bikarbonat (HCO_3), ve baz fazlalığı (BE) konsantrasyonunun sağlıklı gruba göre önemli ($p<0,05$) artış gösterdiği belirlendi. Kısmi oksijen basıncının (PvO_2), akut ve kronik olgularda önemli oranda ($p<0.001$) düştüğü gözlemlendi. Olgular bireysel olarak asit-baz dengesi yönünden incelendiğinde akut solunum sistemi enfeksiyonu olan gruptaki buzağılarda 6'sında respiratorik asidozis, 2'sinde respiratorik ve metabolik asidozis, 2'sinde metabolik alkalozis belirlenirken 8 buzağıda asit-baz dengesinin değişmediği belirlendi. Kronik solunum sistemi enfeksiyonlu gruptaki buzağılarda ise 6'sında respiratorik asidozis ve 11'inde asit-baz dengesinin değişmediği belirlendi. Sağlıklı grubu oluşturan buzağılarda tümünde asit-baz dengesi değişiklikleri normal sınırlar içerisindeydi. Kan gazlarına ilgili diğer parametrelerde önemli değişiklik izlenmedi (Tablo 2).

Sağlıklı grup ile akut ve kronik solunum yolu enfeksiyonu bulunan buzağılarda, BAL sıvısı diferensiyel hücre sayısı ve istatistiksel önemleri Tablo 3'de verilmiştir. Akut ve kronik olgularda

BAL sıvısı makrofaj yüzdesinin, sağlıklı gruba göre önemli oranda düştüğü, nötrofil yüzdesinin ise önemli oranda arttığı belirlendi. BAL sıvısı lenfosit yüzdesi sadece akut enfeksiyonlu grup ve sağlıklı grup arasında değişiklik gösterirken, kolumnar ve diğer epitel hücre sayılarında önemli farklılık gözlenmedi.

Akut solunum sistemi enfeksiyonu bulunan grup ile sağlıklı grup arasında siliyalı kolumnar epitel hücre yüzdesi bakımından istatistiksel fark belirlenmemesine rağmen, kronik enfeksiyonlu grupta sağlıklı gruba göre kolumnar hücre yüzdesinde önemsiz bir artış vardı. Akut enfeksiyonlu grubun BAL smearları, diğer gruplara göre çok fazla nötrofil bulundurmasının yanında özellikle *Pasteurella spp.* ve *Klebsiella spp.* üreyen hastalarda yaygın nötrofil dejenerasyonu da belirlendi. Kronik gruptaki buzağılarda BAL sıvısı epitelleri, hem sağlıklı hem de akut enfeksiyonlu gruba göre daha dejeneredi (Şekil 4). Bu dejenerasyon, genel olarak siliyalı epitel hücrelerinin kaybetmeleri şeklinde iken, hücrelerde sitoplazmik ve nükleer detay kaybı da vardı. Kronik enfeksiyonlu grubun BAL smearlarında daha fazla mukus ve fibrin iplikcikleri tespit edildi. Akut ve kronik solunum enfeksiyonlu gruplara ait BAL smearlarında kok veya basil tarzında bakteri (Şekil 6) ve mantar (n: 26) etkenleri belirlendi, 9 örnekte ise sitolojik olarak bakteri, maya veya mantara rastlanmadı.

Giemsa, Wright ve Papanikola boyama yöntemleri karşılaştırıldığında, Wright boyama yönteminin hiçbir üstünlüğü tespit edilemedi. Diferensiyel hücre sayımında Giemsa boyama yönteminin (Şekil 4, 5, 6) daha iyi sonuç verdiği belirlendi.

Bronkoalveolar lavaj sıvısı enzim ve total protein konsantrasyonları ile istatistiksel önemleri Tablo 4'de verildi. Akut ve kronik enfeksiyonlu olgularda, BAL sıvısı LDH, ALP ve TP kon-

Tablo 1. Sağlıklı, akut solunum sistemi enfeksiyonlu (Akut) ve kronik solunum sistemi enfeksiyonlu (Kronik) grupların tam kan analiz bulguları ve istatistiksel önemleri

		Sağlıklı Mean \pm SD	Akut Mean \pm SD	Kronik Mean \pm SD	F	p*
WBC	($\times 10^3/mm^3$)	8.7 \pm 1.6b	16.5 \pm 8.3a	10.5 \pm 4.9b	5,959	0,002
RBC	($\times 10^6/mm^3$)	8.6 \pm 1.3	7.9 \pm 1.5	8.2 \pm 2.4	0,512	0,603
HCT	%	34.1 \pm 7.2	30.4 \pm 6.4	30.6 \pm 8.6	1,050	0,359
HGB	g/dl	9.1 \pm 1.6	8.6 \pm 1.5	9.2 \pm 1.3	0,735	0,485
MCV	Um ³	41.1 \pm 5.7	38.4 \pm 4.0	38.8 \pm 5.1	1,202	0,310
MCH	Pg	11.0 \pm 1.5	11.1 \pm 1.9	12.8 \pm 4.9	1,608	0,212
MCHC	g/dl	27.1 \pm 3.8	29.2 \pm 5.6	33.5 \pm 12.6	2,134	0,131

* : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur

Tablo 2. Sağlıklı, akut solunum sistemi enfeksiyonlu (Akut) ve kronik solunum sistemi enfeksiyonlu (Kronik) grupların kan gazları analiz bulguları ve istatistiksel önemleri

		Sağlıklı Mean ± SD	Akut Mean ±SD	Kronik Mean ±SD	F	p*
PH		7.384 ±0.032	7.375 ±0.073	7.361 ±0.042	0,651	0,527
PO ₂	mmHg	39.3 ±4.2 ^a	29.5 ±6.7 ^b	33.7 ±5.7 ^b	10,489	0,000
PCO ₂	mmHg	39.7 ±4.7 ^a	55.9 ±11.2 ^b	55.5 ±13.9 ^b	9,367	0,000
HCO ₃	mmol/l	26.3 ±2.6 ^b	32.0 ±5.2 ^a	31.9 ±5.8 ^a	6,035	0,005
BE	mmol/l	2.2 ±1.6 ^b	6.3 ±4.5 ^a	6.2 ±5.5 ^a	3,786	0,031
O ₂ SAT	%	60.9 ±13.5	52.1 ±16.4	58.3 ±14.5	1,426	0,251
Na	mmol/l	130.9 ±4.5	130.8 ±4.5	126.7 ±7.9	2,516	0,093
K	mmol/l	4.00 ±0.43	3.82 ±0.47	3.89 ±0.40	0,640	0,532
Ca	mmol/l	0.85 ±0.16	0.84 ±0.17	0.98 ±0.32	1,974	0,151

* : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur

Tablo 3. Sağlıklı, akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonlu buzağların BAL sıvısı diferensiyel sitolojik değerleri ve istatistiksel önemleri

	Grup	Mean+SD	Minimum	Maximum	Median	p
Makrofaj (%)	Sağlıklı	75.91 ± 5.39	65.45	82.49	76.28	M12***
	Akut	26.61 ± 19.67	9.42	88.73	22.70	M23*
	Kronik	38.83 ± 20.05	14.00	70.19	37.00	M13***
Nötrofil (%)	Sağlıklı	10.38 ± 3.13	5.05	15.89	10.15	N12***
	Akut	54.91 ± 21.04	4.45	82.15	63.05	
	Kronik	39.99 ± 24.63	6.97	74.00	32.41	N13**
Lenfosit (%)	Sağlıklı	7.27 ± 2.14	4.10	10.75	7.05	L12**
	Akut	4.74 ± 4.74	1.45	20.00	3.44	
	Kronik	7.70 ± 6.51	1.09	20.68	4.83	
Kolumnar(%)	Sağlıklı	3.30 ± 2.05	0.00	6.50	3.35	
	Akut	5.26 ± 6.34	0.00	19.54	3.05	
	Kronik	6.94 ± 7.58	0.00	28.33	4.13	
Diğer (%)	Sağlıklı	3.15 ± 1.53	1.04	5.87	3.20	
	Akut	7.07 ± 9.14	0.00	25.66	2.81	
	Kronik	3.60 ± 2.81	0.00	10.41	4.09	

M12*** : 1. ve 2. grupların Makrofaj değerleri arasında p<0.001 düzeyinde önemli fark belirlendi.

M23* : 2. ve 3. grupların Makrofaj değerleri arasında p<0.05 düzeyinde önemli fark belirlendi.

M13*** : 1. ve 3. grupların Makrofaj değerleri arasında p<0.001 düzeyinde önemli fark belirlendi.

N12*** : 1. ve 2. grupların Nötrofil değerleri arasında p<0.001 düzeyinde önemli farklılık belirlendi.

N13** : 1. ve 3. grupların Nötrofil değerleri arasında p<0.01 düzeyinde önemli farklılık belirlendi.

L12** : 1. ve 2. grupların Lenfosit değerleri arasında p<0.01 düzeyinde önemli farklılık belirlendi.

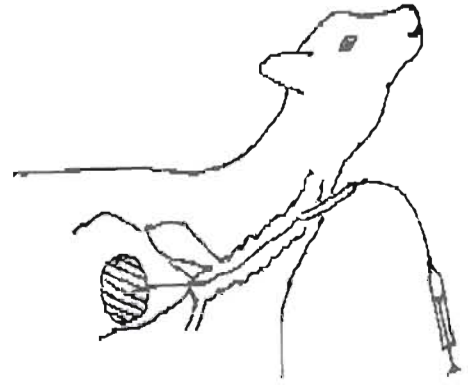
Tablo 4. Sağlıklı, akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonlu buzağların BAL sıvısı enzim ve total protein konsantrasyonları ve istatistiksel önemleri

	Sağlıklı (n:11)		Akut (n: 18)		Kronik (n: 17)		p
	Mean+SD	Min-Max	Mean+SD	Min-Max	Mean+SD	Min-Max	
LDH (U/l)	4.81±3.44 ^c	0-12.38	26.73±25.84 ^a	8.25-90.10	12.12±10.50 ^b	2.06-43.33	0.000
ALP (U/l)	12.41±5.74 ^b	3.29-21.44	98.13±77.74 ^a	16.49-271	81.58±68.87 ^a	13.19-257.32	0.000
TP (g/l)	0.013±0.010 ^b	0.0010.035	0.236±0.265 ^a	0.035-0.916	0.160±0.092 ^a	0.023-0.359	0.000

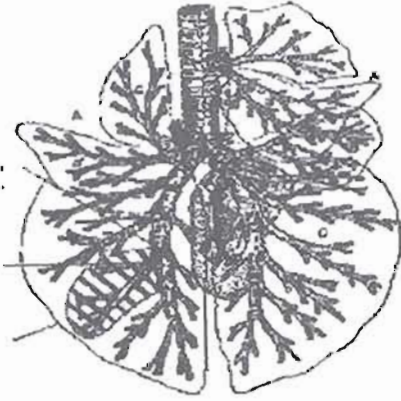
* : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.



Şekil 1. Transtrakeal bronkoalveolar lavaj (TTA/BAL) alımı



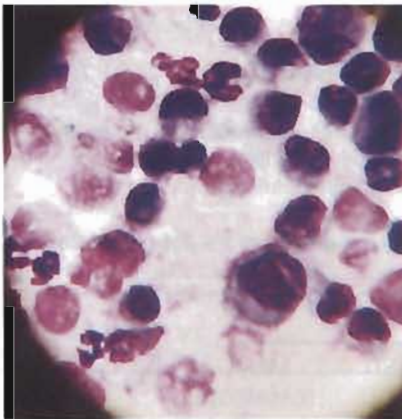
Şekil 2. Transtrakeal bronkoalveolar lavaj alımının şematize görünümü



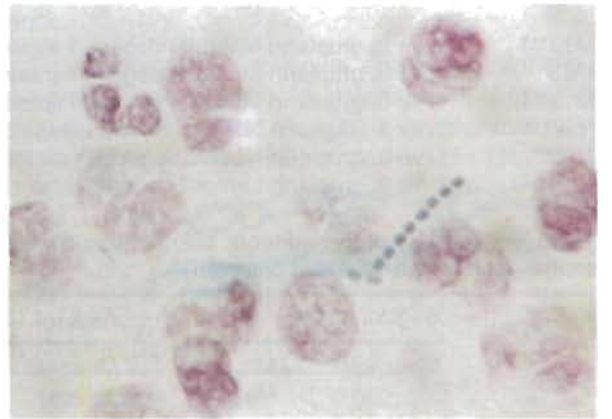
Şekil 3. TTA/BAL alımı esnasında yıkanan akciğer sahası



Şekil 4. Dejenere silyalı kolumnar epitel (Giemsa)



Şekil 5. Sağlıklı bir buzağıda BAL sıvısı hücrelerinin görünümü (Giemsa)



Şekil 6. BAL sıvısında kok zinciri (Giemsa)

Tablo 5 . Sağlıklı, akut solunum sistemi enfeksiyonlu (Akut) ve kronik solunum sistemi enfeksiyonlu (Kronik) grupların serum enzim ve total protein değerleri ve istatistiksel önemleri

	Sağlıklı (n:11)		Akut (n: 18)		Kronik (n: 17)		p
	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	
LDH (U/l)	1294.6±414	495-1657	1327.7±396.3	462-1750	1413.8±324.3	495-1876	0.680
ALP (U/l)	164.10±47.84	73.50-234.2	158.54±73.57	74.22-315.05	160.59±48.34	70.10-234.22	0.795
TP (g/l)	6.24±0.49 ^{ab}	5.33-7.38	6.56±0.83 ^a	5.60-8.83	5.85±0.65 ^b	4.88-7.70	0.019

* : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur

santrasyonlarının sağlıklı gruba göre önemli ($p<0.01$) oranda arttığı belirlendi. BAL sıvısı LDH aktivitesi, akut ve kronik olgular arasında da önemli farklılık gösterdi.

Sağlıklı ve hasta buzağuların serum enzim değerlerinin karşılaştırılmasında gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. Serum total protein (TP) konsantrasyonunda, sağlıklı grup ile hasta buzağular arasında önemli bir fark belirlenemezken, akut grupta kronik gruba göre önemli artış ($p<0.05$) gözlemlendi. Serum enzim ve TP konsantrasyonlarıyla ilgili parametreler Tablo 5'de verildi.

Tablo 6 . Hasta buzağuların BAL örneklerinden izole ve tanımlanmış mikroorganizmalar.

Etken	%	n
<i>Pasteurella haemolytica</i>	11.11	4
<i>Pasteurella</i> spp.	16.66	6
<i>Klebsiella</i> spp.	16.66	6
<i>Corynebacterium</i> spp.	5.55	2
<i>E. coli</i>	5.55	2
<i>b-haemolytic streptococcus</i>	5.55	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.66	6
<i>Acinobacter</i> spp.	2.77	1
<i>Aspergillus</i> spp.	13.88	5
<i>Penicillium</i> spp.	2.77	1
Maya	2.77	1
Toplam		36

Akut ve kronik olgulardan elde edilen BAL sıvısı örneklerinden izole ve tanımlanmış mikroorganizmalar Tablo 6'da verildi. Akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonu bulunan gruplarda 35 örneğin 28'inde bir veya daha fazla etken üretilen, 7 örnekte herhangi bir mikroorganizma izole edilmedi, 35 örneğin 26'sında sitolojik olarak kok, basil, maya ve mantara rastlandı, 9 örnekte etken tespit edilmedi. Yapılan çalışmada BAL sıvısında bakteriyolojik incelemelerde etken üreyen 28 ör-

neğin 22'sinde (% 78.57), etken üremeyen 7 örneğin 4'ünde (% 57.14) sitolojik olarak kok, basil, maya veya mantara rastlandı. Mantar üreyen 6 örneğin 5'inde (% 83.33) sitolojik olarak da mantar belirlendi.

Sağlıklı buzağuların BAL örneklerinde üreme olmadı.

Tartışma ve Sonuç

Sunulan çalışmada, atlarda (Freeman 1985), köpeklerde (Cowell ve ark 1999) ve sığırlarda (Andrews 1983, Turgut ve ark 1989, Turgut ve ark 1992, Aslan ve ark 1998) kullanılan transtrakeal aspirasyonda (TTA) olduğu gibi; kan alma kanülü içerisinde uygulanan steril propilen kateter, TTA'dan farklı olarak, akciğerin alt bölgelerine yönlendirildi. Diğer araştırmacılar (Wilkie ve Markham 1981, Viso ve ark 1985, Fogarthy ve ark 1986) farklı olarak transtrakeal olarak uygulanan bu yöntem, orofarangeal kontaminasyon riski taşımadığı gibi, hayvanın zaptırtılmasında ve uygulamada kolaylık sağladı.

Kullandığımız TTA/BAL tekniğinde her hayvanda ayrı sonda kullanıldığı için hastadan hastaya etken bulaştırma riski bulunmamaktadır. Maliyeti ise bir enjektör ve bir sonda fiyatıdır. Weiss ve ark (1991) BAL alımı sırasında akciğerlere fizyolojik tuzlu su verilmesinin hasara neden olmadığını bildirmektedirler. Yaptığımız çalışmada da steril fizyolojik su verilmesine bağlı hiçbir komplikasyonla karşılaşmadık.

Papanikola boyama yönteminde epitel hücrelerin sitoplazmik/nükleer detaylarının ve epitel hücre dejenerasyonlarının daha iyi gözlemlendiği, ancak nötrofil ve makrofaj ayrımında bazen güçlüklerle neden olduğu, Giemsa boyama yönteminin diferensiyel hücre sayımı için yeterli olduğu, Wright boyama yönteminin ise hücresel detay konusunda yetersiz olduğu ve diferensiyel hücre sayımında Giemsa ve Papanikola boyama yöntemlerine göre daha az sağlıklı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

Akut bakteriyel enfeksiyonlarda olduğu gibi

akut solunum sistemi enfeksiyonlarına bağlı sepsisemilerde de total kan lökosit (WBC) sayısı artabilir. Ancak viral ve toksik bakteriyel enfeksiyonlarda veya akciğere aşırı miktarda lökosit göçüne bağlı olarak WBC sayısı düşük olabilir (Finley ve Divers 1995). Bu çalışmada WBC sayısı sağlıklı buzağular ile akut solunum sistemi enfeksiyonu bulunan buzağular arasında çok önemli ($p<0.001$) artış gösterdi. Bu durum hasta buzağularında aktif bir yangının varlığına işaret etmektedir.

Solunum sistemi hastalıklarında (özellikle pnömotoraks, kronik obstrüktif pulmoner hastalıklar vs.) CO_2 retensiyonuna bağlı olarak respiratorik asidozis yaygın olarak gelişmekte ve bu durum hastalıkların teşhisinde önemli olmaktadır. Respiratorik asidoziste renal kompenzasyon önemli fonksiyona sahiptir. Renal kompenzasyon respiratorik asidoziste geliştikten 2-3 gün sonra başlar ve kronik respiratorik asidoziste böbreklerin oluşturduğu HCO_3^- rejenerasyonu ve geri emilimi daha yüksektir (Blood ve Radostits 1989, Weekley ve Veit 1995, Turgut 2000). Bu çalışmada akut ve kronik solunum sistemi hastalığı bulunan buzağularında, sağlıklı gruba göre kan pH'sında istatistiksel olarak önemli farklılık belirlenmezken, venöz kan kısmi karbondioksit basıncı ($PvCO_2$), venöz kan bikarbonat (HCO_3^-), ve baz fazlalığı (BE) konsantrasyonunun sağlıklı gruba göre önemli ($p<0.05$) artış gösterdiği belirlendi (Tablo 2). Akciğer enfeksiyonlarında gelişebilen respiratorik asidozun özellikle böbrekler tarafından kompenzasyonu sırasında bikarbonat miktarında artış gözlenir. (Hoover 1994, Turnwald 1997, Maden ve ark 2000, Ok ve Birdane 2000). Bu çalışmada hastalıklı gruplarda belirlenen hiperkapniye ($PCO_2 >45$ mmHg), BE ve HCO_3^- artışı, renal kompenzasyon mekanizmalarının işlediğini göstermektedir.

Bronkoalveolar lavaj sıvısında yüksek sayıda nötrofil bulunması yangısal cevabın göstergesidir (Weiss ve ark 1991). Akciğer histolojik kesitlerinde, pnemoniili buzağularında alveoller içerisinde de nötrofil bulunduğu bildirilmektedir (Lay ve ark 1986).

Solunum yolu enfeksiyonlu buzağularında, BAL sıvısına eozinofillerin de geçebildiği, eozinofil miktarının düşük olmasının muhtemelen yüksek oranda bulunan nötrofiller tarafından maskelendiği kaydedilmektedir (Weiss ve ark 1991). Bu çalışmada sadece bazı vakalarda çok düşük düzeylerde (1-3 adet/200 hücre) eozinofil tesbit edilmiştir.

Kronik bronkopnömoni, suppuratif ve kronik bronşitis, pulmoner fibrozis ve kronik obstrüktif pulmoner hastalıklarda nötrofiller, intersitisyel pnömonilerde makrofaj ve nötrofil yaygın olarak gözlenen hücre tipleridir. Allerjik kökenli ve akciğerlerin paraziter kökenli hastalıklarında ise eozinofiller, hipersensitif pnömonitis, sarkoidozis ve viral hastalıklarda ise lenfositler dominant hücrelerdir (Reynolds 1994, Cowell ve ark 1999, Maden ve ark 2000). Bu çalışmada, sağlıklı grup ile akut ve kronik olgular arasında yapılan karşılaştırmalarda, BAL sıvısı makrofaj sayısının önemli oranda düştüğü, nötrofil sayısının ise önemli oranda arttığı belirlendi (Tablo 3). Bu durum, akciğerlerde aktif bir yangının bulunduğunu göstermektedir. BAL sıvısı lenfosit yüzdesi muhtemelen artmış nötrofil oranına bağlı düşük lenfosit bulunmasına neden olan akut olaylarla kronik olgular arasında değişiklik gösterirken, kolumnar ve diğer epitel hücre sayılarında önemli farklılık gözlenmedi. Akut ve kronik olgular arasında epitel hücre dejenerasyonları bakımından farklılıklar gözlenmesi, yangının süresini göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Dejenere nötrofiller ve intra-ekstra selüler bakterilerin gözlenmesi de yangının septik karakterini ortaya koymaktadır. Çoğunlukla kronik olaylarda olmak üzere, bazen de akut olaylarda, yoğun mukus ve fibrin gözlemlendi. Yoğun fibrin içeriği bulunan akut olayların büyük bir kısmından Pasteurella spp. izole edilmiştir. Bu bulgular, sitolojik muayenelerin yangının kapsamı hakkında fikir verebileceğini göstermektedir.

Laktat dehidrogenaz, ALP, BAL-enzim aktiviteleri hücre hasar ve toksisitenin duyarlı indikatörleri olarak kullanılabilir (Pittett ve ark. 1997). Akciğerde LDH enzim kaynakları olarak akciğer hücreleri, alveolar makrofaj ve PMNL'ler gösterilmekle beraber tam kaynağı/kaynakları tesbit edilememiştir (Drent ve ark 1996, Padrid ve ark 1991, Weiss ve ark 1991). Weiss ve ark. (1991) deneysel olarak Pasteurella oluşturdukları buzağularında deney öncesine göre 0-20 IU/l olarak belirlenen ALP enzim aktivitesi, 2-100 IU/l'ye; 0-30 IU/l olan LDH enzim aktivitesi 15-170 IU/l olarak tesbit edilmiştir. Bu sonuç Pasteurellanın birkaç saatte bile ciddi akciğer hasarına ve nekrozuna neden olabileceği ve enzim aktivitelerinin buna bağlı olarak değiştiğinin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır. Pnömoniili insanlarda yapılan çalışmalarda LDH ve ALP enzim aktivitelerinde artış olduğu belirlenmiştir (Reynolds 1994, Drent 1996, Cobben 1999). Yapılan bu çalışma sonucunda BAL, ALP ve LDH enzim aktiviteleri sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuştur (Tablo 4). Akut ve kronik solunum sistemi enfeksiyonu bulunan grupların BAL sıvısı ALP dü-

zeylerinde sağlıklı gruba (12.41 ± 5.74 IU/l) göre önemli ($p < 0.001$) düzeyde artış tespit edildi. Diğer yandan, BAL sıvısı LDH enzim düzeyleri sağlıklı (4.81 ± 3.44 IU/l) grup ile, akut (26.73 ± 25.84 IU/l) ve kronik (12.12 ± 10.50 IU/l) solunum sistemi enfeksiyonlarında birbirlerinden farklı bulunurken, serum enzim aktivitelerinde herhangi bir değişiklik belirlenmedi. Solunum sistemi enfeksiyonlarında BAL ALP ve LDH enzim aktivitelerindeki artışın nedenleri; pulmoner epitel hasarı, BAL nötrofil sayısında artış ve istatistik olarak önemsiz olsa da epitel hücre sayılarında ki artış olabilir. Bu sonuç; bronşlar etrafındaki düz kaslarda kasılma, vasküler permeabilitede ve mukus sekresyonunda artış ve nötrofil göçünün etkileriyle epitel hücrelerde dökülme ve hasarı artırması, oluşan epitel hasarı ve hava yolu sekresyonlarının osmolalitesinin değişmesi ile solunum yolu sekresyonu ve epitel hücrelerince oluşturulan difüzyon bariyerinin hasara uğraması ile açıklanabilir.

Genel olarak enfeksiyonda siliyalı kolumnar epitelde dökülme olduğu, kronik enfeksiyonlu hastalarda BAL sıvısındaki diğer epitel ve hücrelerde ki artışın daha fazla olduğu belirlendi. Iovanitti ve ark. (1985), sığırlarda solunum yolu enfeksiyonlarında, siliyalı kolumnar epitel hücrelerinde kaybın söz konusu olduğunu bildirmektedirler. Bu araştırmada, kronik enfeksiyonlarda akut enfeksiyonlara göre silya dejenerasyonunun daha fazla olduğu belirlendi. Kronik solunum yolu enfeksiyonlarında, yaygın epitel hücre dejenerasyonu bulunduğu deneysel olarak da kanıtlanmıştır (Sisson ve ark 1994). Bu veriler, akciğer hasarının değerlendirilmesinde BAL sıvısı enzim aktiviteleri artışın epitel hasarın boyutunun göstergesi olabileceğini ifade etmektedir. Buna ilaveten bu araştırma ile buzağılarda BAL ALP ve LDH aktivitesindeki artışın da akciğerdeki hasarın tesbitinde yararlanılabilecek önemli bir kriter olduğu saptandı.

Solunum sistemi enfeksiyonlarında BAL sıvısı protein içeriği de artmaktadır (Lay ve ark 1986, Reynolds 1987, Mayer 1990, Reynolds 1994, Maden ve ark 2001). Bu çalışmada da, akut ve kronik solunum yolu enfeksiyonu olan grupların BAL sıvısı protein konsantrasyonlarının, sağlıklı gruba göre yüksek bulunması, bunun göstergesidir. Bronkoalveolar lavaj sıvısında belirlenen protein artışı, diğer kaynaklar yanında daha çok alveolar/kapillar bariyerin permeabilitesinin artmasına bağlıdır (Reynolds 1994, Parsons ve Moss 1996, Cobben 1999). Bu araştırmanın sonuçlarına dayanılarak, BAL sıvısı TP konsantrasyonunun

yangının bir göstergesi olarak değerlendirilebileceği kanısına varılmıştır.

Fiberoptik bronkoskop kullanmadan elde edilen BAL sıvısı örneklerindeki sonuçların; bronkoskop ile alınan örnekler kadar (sensitivite:% 61-100, spesifite: 66-100, histoloji ve otopsi de dahil edilerek karşılaştırıldığında % 75-100) doğru sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Whitney ve ark 1999, Reynolds 1994).

Elde edilen 35 BAL sıvısı örneğinin bakteriyolojik incelemelerinde 28 örnekte çeşilli bakteri, maya ve mantar üretilirken (% 80), 26 örnekte sitolojik olarak kok, basil, maya veya mantar belirlenmiştir (% 74,3). Bakteriyolojik olarak etken izole edilen 28 örneğin 22'sinde (% 78,57), etken üremeyen 7 örneğin 4'ünde (% 57,14) sitolojik olarak kok, basil, maya veya mantara rastlanmıştır. Genel olarak mikrobiyolojik sonuçlarla uyumlu olarak sitolojik sonuçlar elde etmemize rağmen her iki teknik arasında farkların olması; sitolojide her etkenin Giemsa boyasıyla gösterilememesi, bazı etkenlerin özel/spesifik besi yerinde üreyebilmelerine, kullandığımız hayvan materyalinin 48 saat içerisinde antibiyotik tedavisi görmüş olabileceğiyle ilgili olabilir (Stalheim 1983, Reynolds 1987, Steven 1990, Konewan ve ark 1992, Cowell ve ark 1999). Sunulan bu çalışmada fiberoptik bronkoskopi kullanmadan örnekler alınmış, alınan örneklerin bakteriyolojik incelemeleri ile sitolojik yolla tesbit edilen kok, basil, maya ve mantar varlığı bu metodun güvenli olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; solunum sistemi enfeksiyonlarının etiopatolojik tanısında klinik muayene yöntemlerinin uygulanması yanında BAL sıvısı sitolojik ve enzimolojik incelemelerinin yapılması değerli bilgiler vermektedir. Tekniğin karmaşık olmaması ve maliyetinin ucuz olması nedeniyle kolaylıkla uygulayabileceği, kısa sürede etiopatolojik değerlendirmeler yapılabileceği ve saha çalışmalarında kullanımına uygun olduğu düşünülmektedir. Bronkoalveolar lavaj sıvısının incelenmesiyle hastalıkların tanısı açısından yapılan çalışmalar çok yenidir. Buzağılarda da bu tip çalışmalar çok fazla olmadığından yaptığımız çalışma kapsamı açısından bundan sonraki çalışmalara yol gösterici olacaktır. Solunum sistemi enfeksiyonlarında elde edilen BAL sıvısının sitolojik ve enzimolojik olarak incelenmesiyle; mikrobiyolojik, histolojik, patolojik teşhise yardımcı olması ve zaman kazandırması açısından rutin kullanıma sunulmasında yarar olacağı kanısına varıldı.

Teşekkür : Tüm çalışma boyunca bilgi ve yardımlarıyla katkıda bulunan Doç. Dr. Mehmet Maden,

Prof. Dr. Kürşat Turgut, Prof. Dr. İlhami Çelik, Prof. Dr. Abdullah Başoğlu, Doç. Dr. Mahmut Ok, Doç. Dr. Mutlu Sevinç, Yrd. Doç. Dr. Mustafa Ortatallı, Yrd. Doç. Dr. Fatih Hatipoğlu, Arş Gör. Kürşat Kav, Uzm. Vet. Hek. Mehmet Çorlu, Vet. Tek. Metin Yıldız, Vet. Hek. Mehmet Çolak, Vet. Hek. Ömer Turan'a, teşekkür ederim. Mali katkılarından dolayı SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsüne ve bazı hayvan materyallerini elde etmemizde yardımları olan Konya Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsüne, SÜ Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme Ünitesi görevlilerine teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Allen JW, Viel L, Bateman KG and Rosendal S (1992) Cytological findings in bronchoalveolar lavage from feedlot calves: associations with pulmonary microbial flora. *Can J Vet Res*, 56, 2, 122-126.
- Andrews AH (1983) Respiratory disease in calves. *Vet Ann*, 23, 48-55.
- Aslan V, Maden M, Erganiş O ve Birdane FM (2000) Buzağuların solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde florfenikol'ün klinik etkinliği. *BültenDif. Sayı: 15*.
- Aslan V, Maden M ve Hadimli HH (1998) Dana enzootik pnemonilerinin etiyolojisi ve penisilin-streptomisin kombinasyonu ile tedavisi. *Bültendif*.
- Aslan V ve Nizamlioğlu M (1985) Enzootik Pnömonili Danalarda Alkalen fosfataz (ALP), Ca, P değerleri ve Hastalığın Linkomisin + Gentamisin Kombinasyonu ile Sağtım Denemeleri. *SÜ Vet Fak Derg*, 1,1.
- Birdane FM (2000) Eksfoliatif Sitoloji. 'Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis' KürşatTurgut, 2. Basım, Bahçıvanlar Basım San AŞ, KONYA.
- Blood DC and Radostits OM (1989) *Veterinary Medicine*, 7th ed. ELBS with Bailliere Tindall, London.
- Bradford PS (1990) *Large Animal Internal Medicine*. The C.V. Mosby Company, ST Louis.
- Capelli A, Lusuardi M, Cerutti CG and Donner CF (1997) Lung alkaline phosphatase as a marker of fibrosis in chronic interstitial disorders. *Am J Respir Crit Care Med*, 155, 249-253.
- Cobben N (1999) *Enzymatic Markers in Monitoring Pulmonary Inflammation and Damage*. Doktora Tezi. Dattawyse, Universitaire Pers Maastricht. The Netherlands.
- Cowell R, Tyler RD, Baldwin CJ and Meinkoth JH (1999) *Transtracheal and Bronchial Washes*. In "Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat". Second Edition. Ed. Cowell, R.L., Tyler, R.D. and Meinkoth JH. Chapter 13, 159-174. Mosby Inc, St. Louis.
- Drent M, Cobben NAM, Henderson RF, Wouters EFM, van Diejen-Visser MP (1996) Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J*, 9, 1736-1742.
- Finley MR and Divers TJ (1995) Chronic suppurative bronchial pneumonia in individual dairy cattle: 11 cases. *Comp Cont Edu*, Vol:17, 2 February, 285-293.
- Fogarty U, Quinn PJ and Hannan J (1986) The development and application of bronchopulmonary lavage in young calves. 495-499. 14 World Congress on Diseases of Cattle, Dublin (Ireland).
- Freeman KP, Roszel JF and Slusher SH (1985) Inclusions in equine cytologic specimens. *JAVMA*, 186, 4, 15, 359-364.
- Griffin, JJ and Meduri U (1994) New approaches in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Medical Clinics of North America*, 78, 5, 1091-1123.
- Hoover JP (1994) Supportive treatment for dogs and cats with respiratory problems. *Vet Med*, 5, 420-431.
- Iovannitti B, Pirre HM and Wright NG (1985) Scanning electron microscopic study of the lower respiratory tract in calves and adult cattle. *Res Vet Sci*, 38, 80-87.
- John, CB (1990) *Viral Respiratory Disease*. In: *Large Animal Internal Medicine* Ed: Bradford, PS., 570-578, The CV Mosby Company, St. Louis.
- Kimman TG, Zimmer GM, Staver PJ and Leeuw PW (1986) Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections improved by virus detection in lung lavage samples. *AJVR*, 47, 1, 143-147.
- Konewan EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC and Wina WC (1992) *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4. Edition. JB. Lippincott Company, Philadelphia, USA.
- Lay JC, Slauson DO and Castleman WL (1986) Volume-controlled bronchopulmonary lavage of normal and pneumonic calves. 23, 673-680.
- Lopez A, Maxie MG, Ruhnke L, Savan M and Thomson RG (1986) Cellular inflammatory response in the lungs of calves exposed to bovine viral diarrhoea, M. bovis, and P. haemolytica. *AJVR*, 47, 6, 1283-1286.
- Maden M, Birdane FM, Alkan F, Hadimli HH, Şen İ ve Aslan V (2000) Köpeklerde solunum yolu hastalıklarının klinik, sitolojik, bakteriyolojik ve radyografik analizi. *SÜ Vet Fak Derg*, 16, 1, 43-50.
- Maden M, Altunok V, Birdane FM, Aslan V and Nizamlioğlu M (2001) Importance of Enzyme Activities in the bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of respiratory diseases in dogs. *Res Vet Sci (Baskıda)*
- Maxwell, VB (1993) Airway hyperresponsiveness. *Comp Cont Edu*, Vol: 15, 10 October, 1379-1387.
- Mayer P (1990) BAL in dogs; analysis of proteins and respiratory cells. *Zentrabl Veterinarmed A*, 37(5), 392-399.
- Ok M, Birdane FM (2000) Premature buzağularda kan asit-baz dengesi, bazı kan gazları ve elektrolit düzeyleri. *SÜ Vet Fak Derg*, 16, 1, 147-150
- Padrid PA, Feldman BF, Funk K, Samitz EM, Reil D and Cross CE (1991) Cytologic, microbiologic, and bi-

- ochemical analysis of bronchoalveolar lavage fluid obtained from 24 healthy cats. *AJVR*, 52, 8, 1300-1307.
- Parsons PE and Moss M (1996) Early detection and markers of sepsis. *Clinics in Chest Medicine*, 17, 2, 199-212.
- Pittet JF, Markersie RC, Martin TR and Matthay MA (1997) State of the art: Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenic significance. *Am. J Resp Crit Care Med*, 155, 1187-1205.
- Pringle JK, Viel L, Shewen PE, Willoughby SW and Valli VEO (1988) Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves: Cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. *Can J Vet Res*, 52, 239-248.
- Reinhold P, Muller G, Kreutzer B, Gerischer A and Putsche R (1992) The diagnostic potential of biochemical on cytological parameters of bronchoalveolar lavage in healthy and pneumonic calves. *J Vet Med A.*, 39, 6, 404-418.
- Reynolds HY (1994) Bronchoalveolar lavage. In: *Textbook of Respiratory Medicine. Second Edition.* Ed: Nadel M., 782-792, WB Saunders Company.
- Reynolds HY (1987) Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Res Dis*, 135, 250-263.
- Schindler MB and Cox PN (1994) A simple method of bronchoalveolar lavage. *Anaesth Intens Care*, 22, 66-68
- Sisson JH, Papi A, Beckmann JD, Leise KL, Wisecarver J, Brodersen BW, Kelling CL, Spurzem JR and Rennard SI (1994) Smoke and viral infection cause cilia loss detectable by bronchoalveolar lavage cytology and dynein ELISA. *Am J Res Crit Care Med*, 149(1) 205-213.
- Stalheim OH (1983) Mycoplasmal respiratory disease of ruminants: a review and update. *JAVMA.*, 182, 403-406.
- Steven EW (1990) The bronchopneumonias. In: *Large Animal Internal Medicine.* Ed: Bradford, PS., 570-578, The CV Mosby Company, St. Louis.
- Trigo E, Liggitt HD, Breeze RG, Leid RW and Liffow RM (1984) Bovine alveolar macrophages: antemortem recovery and in vitro evaluation of bacterial phagocytosis and killing. *AJVR*, 45:1842.
- Trigo JF (1984) Interactions of BRSV and *P. multocida* in the bovine lung. *AJVR.*, 45, 1671-1678.
- Turgut K (2000) Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçıvanlar Basımevi. Konya.
- Turgut K, Erganiş O and Başoğlu A (1992) Therapeutic effects of enrofloxacin on pneumonic and diarrhoeic calves. *SÜ Vet Fak Derg*, 8, 1, 55-57.
- Turgut K and Sasse HHL (1989) Influence of clenbuterol on mucociliary transport in healthy horses and with chronic obstructive pulmonary disease. *Vet Rec*, 125, 526-530.
- Turgut K, Erganiş O, Başoğlu A, Çorlu M and Ok M (1989) Microbiological examination of the tracheal flushing sample and its clinical importance. *SÜ Vet Fak Derg*, 5, 1, 191-197.
- Tumwald GH (1997) The diagnostic evaluation of obstructive breathing patterns. *Vet. Med.*, 2, 117-128.
- Venkatesan N and Chandrakason G (1994) Cyclophosphamide induced early biochemical changes in lung lavage fluid and alterations in lavage cell function. *Lung*, 172, 147-158.
- Viso M, El Jaraki MR, Espinasse J, Parodi AL and Dedieu JF (1985) A sequential broncho-alveolar washing in non-anaesthetized normal bovines: method and preliminary results. *Vet Res Comm*, 9, 213-219.
- Weekley LB and Velt HP (1995) Potential morphologic and physiologic factors that may predispose the bovine lung to respiratory disease. *Comp Cont Edu*, Vol:17, 7, 974-982.
- Weiland JE, Dorinsky PM, Davis WM, Lucas, JG and Gadek JE (1989) Validity of BAL in acute lung injury: recovered cells accurately reflect changes in the lung parenchyma. *Pathology*, 21,1,59-62.
- Weiss DJ., Bauer, MC.,Whiteley, LO., Maheswaran, SK and Ames, TR (1991) Changes in blood and bronchoalveolar lavage fluid components in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. *AJVR*, 52, 2, 337-344.
- Whitney SW, Rousset AJ and Cole DJ (1999) Cytology in bovine practice: Synovial fluid, CSF, tracheal washes, and bronchioalveolar lavage specimens. *Vet Med*, April, 367-374.
- Wilkie B.N and Markham J.F (1981) Bronchoalveolar washing cells and immunoglobulins of clinically normal calves. *Am J Vet Res*, 42, 2, 241-243.
- Yılmaz N (1995) Tıbbi Sitolojiye Giriş ve Solunum Sistemi Sitolojisi. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul.