

## ARKLIŲ, SERGANČIŲ LĒTINE OBSTRUKCINE PLAUCIŲ LIGA, KLINIKINIAI IR TRACHĒJOS SEKRETO POKYČIAI

Renata Baltaduonytė<sup>1</sup>, Petras Mačiulskis<sup>2</sup>, Nomeda Baužaitė<sup>1</sup>, Algis Noreika<sup>1</sup>, Jūratė Šiugzdaitė<sup>1</sup>, Audrius Kučinskas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lietuvos veterinarijos akademija, Fiziologijos ir patologijos katedra, Tilžės g. 18, LT – 3022 Kaunas; tel. 8 37 36 22 32; el. paštas: [patologija@lva.lt](mailto:patologija@lva.lt); [algis.noreika@lva.lt](mailto:algis.noreika@lva.lt); [Jurate.Siugzdaite@lva.lt](mailto:Jurate.Siugzdaite@lva.lt); [vidausligos@lva.lt](mailto:vidausligos@lva.lt)

<sup>2</sup>Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba, Siesikų g. 19, LT – 2010 Vilnius; tel.: 8 5 240 4363, el. paštas: [pmaciulskis@vet.lt](mailto:pmaciulskis@vet.lt)

**Santrauka.** Ištyrėme 19 arklių, sergančių lėtine obstrukcine plaučių liga (toliau – LOPL), ir 4 kontrolinius arklius. Visus 23 arklius tyrėme klinikiniais tyrimo metodais, taikėme funkcinių kvėpavimo organų tyrimą (pagal N. S. Čerepanovą), atlikome trachėjos endoskopiją ir įvertinome trachėjos spindyje esančio sekreto kiekį, trachėjos gleivinės būklę, o endoskopijos metu steriliai paimti trachėjos sekreto mėginiai buvo vizualiai įvertinti spalvos, konsistencijos, skaidrumo ir kitų savybių požiūriu. Be to, jie ištirti citologiškai ir bakteriologiškai.

Nustatėme, jog iš 19 LOPL sirgusių arklių 9 (47,4%), kurių amžius nuo 10 iki 23 metų, sirgo sunkia forma. Visų arklių trachėjos spindyje buvo sekreto, kurio kiekis, konsistencija ir spalva skyrėsi priklausomai nuo ligos trukmės ir pobūdžio.

13 (68,5%) arklių sekreto mėginiuose buvo nustatytos bakterijos (kokai ir/ar lazdelės) ir 1 (5,2%) arkliui – grybai. Iš sekreto mėginių atitinkamose terpėse išaugo tokie mikroorganizmai: *Staphylococcus arletae* – 3 (23%) arkliams, *Streptococcus aureus* – 1 (7,6%) arkliui, *Staphylococcus hyicus* – 1 (7,6%) arkliui, *Staph. intermedius* – 1 (7,6%) arkliui, *Staph. aureus* – 1 (7,6%) arkliui, *Pseudomonas cepacia* – 4 (30,8%), *Pseudomonas putida* – 2 (15,4%) arkliams ir *Acidobacillus equuli* – 1 (7,6%) arkliui. Iš trachėjos sekreto mėginių išaugintų bakterijų jautrumo antibiotikams tyrimu nustatyta, jog antimikrobiškai gydyti tikslinga penicilinu, ampicilinu, tetraciklinu, streptomycinu, gentamicinu, kolicinu, kanamicinu, linkospektinu, norfloksacinu, cefalotinu.

Nustatytas ryšys tarp LOPL sergančių arklių amžiaus, ligos trukmės, klinikinių požymių ir sekreto mėginių tyrimo rezultatų.

**Raktažodžiai:** arkliai, LOPL, klinikiniai požymiai, endoskopija, trachėjos sekretas

## THE CHANGES OF THE CLINIC AND TRACHEA SECRETION OF THE HORSES WITH COPD

**Summary:** We have investigated 19 horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and 4 clinically healthy ones. All 23 horses were clinically investigated, and the functional assay of the respiratory organs was done (following Cherepanov N. S. method); the full diagnostic endoscopic assay of trachea was done, the secretion was assessed in trachea, the samples of secretion, obtained by sterile means were assessed for colour, consistence, clarity and other criteria; they were investigated citologically and bacteriologically.

We have found that of 19 horses with COPD, 9 horses (47.4%) of 10 to 23 years of age had a heavy COPD form. All horses with COPD had secretion in the trachea; the quantity, consistence and colour differed dependently on the duration and form of the disease.

For 13 (68.5%) horses with COPD, the bacterium (cocci and sticks) were found during the microscopic investigation of samples, and for 1 (5.2%) horse the fungus was found.

The following microorganisms were reared from the medium of secretion: *Staphylococcus arletae* – 3 (23%) horses, *Streptococcus aureus* – 1 (7.6%) horse, *Staphylococcus hyicus* – 1 (7.6%) horse, *Staph. intermedius* – 1 (7.6%) horse, *Staph. Aureus* – 1 (7.6%) horse, *Pseudomonas cepacia* – 4 (30.8%), *Pseudomonasputida* – 2 (15.4%) horses and *Acidobacillus equuli* – 1 (7.6%) horse. By the investigation of the sensibility for antibiotics of the bacteria grown from the samples of the secretion from the trachea, it was detected that for the antimicrobial treatment the following preparations should be used: penicilinum, streptomycinum, gentamicinum, alamicinum, lincomycinum, linkospektinum and norsulfazolium.

The coherence between the age, duration, clinic of the disease and the results of the investigations of secretion of the horses with COPD was found.

**Keywords:** horse, COPD, clinical investigation, endoscopy, sampling

**Įvadas.** Lėtine obstrukcinė plaučių liga (LOPL) yra polietiologinės kilmės susirgimas, kuris arkliams pasireiškia bronchų, bronchiolių ir alveolių pažeidimais. Nuolat veikiant aplinkos alergenams, LOPL sergantiems arkliams, kaip ir astma sergantiems žmonėms, patologiniai pakyčiai smulkiuose bronchuose, bronchiolėse ir alveolėse atsiranda dėl padidėjusio jautrumo reakcijų. Dėl to prasideda kvėpavimo takų uždegimas, epitelio pažei-

dimai, padidėja gleivių sekrecija, vystosi kvėpavimo takų obstrukcija. Ligai progresuojant, virpamojo bronchų epitelio ir Klara ląstelės laipsniškai pasikeičia į tauriškašias (kvėpavimo organų gleivinės metaplazija), išskiriančias daug lipnių gleivių, kurios gali užkimšti smulkius bronchus ir bronchioles (Chapman et al., 2000).

Arkliams palapsniui plinta kvėpavimo nepakankamumas, o tai yra viena iš daugelio sumažėjusio

sportinio ir darbinio pajėgumo priežasčių, kurioms nustatyti reikalingas išsamus klinikinis sergančio arklio tyrimas (Christley et al., 2001).

Nuo 2001 metų Lietuvoje pradėtas taikyti naujas ir informatyvus kvėpavimo takų tyrimas – endoskopu. Endoskopuojant tiesiogiai apžiūrima nosiaryklė, gerklos, trachėja ir bronchai, įvertinami kvėpavimo organų gleivinės pokyčiai (spalva, vientisumas, pažeidimo pobūdis, kraujagyslių tinklas), trachėjos spindyje esančio sekreto kiekis ir konsistencija. Endoskopijos metu galima paimti trachėjos sekreto mėginių citologiniam ir bakteriologiniam tyrimams. Kvėpavimo organų sekreto citologinis tyrimas padeda nustatyti kvėpavimo organų pažeidimo pobūdį ir lokalizaciją, o bakteriologiniu tyrimu identifikuojami mikroorganizmai (Dixon, 1997; Blunden et al., 1994).

Trachėjos sekretas gali būti imamas atliekant transtrachėjinę injekciją per odą arba tiriant trachėją endoskopu (Speirs, 1997).

Sveikų arklių trachėjoje visuomet yra šiek tiek sekreto, kurį pašalina gleivinės žiuželinis mechanizmas (mukociliarinis klirensas). Sekretas kvėpavimo takais juda apie 2 cm per minutę greičiu (Dixon, 1992). Esant mukociliarinio klirenso sutrikimams, lipnus ir tirštas sekretas kaupiasi trachėjoje ir bronchuose (Whitwell et al., 1984; Dixon, 1992). Jis dirgina trachėjos gleivinę, sukelia uždegimą ir bronchų obstrukciją (Dixon, 1997; Gerber, 2001). Endoskopiniu tyrimu nustatyta (Burrell, 1985; MacNamara et al., 1990), kad arklių, sergančių kvėpavimo organų ligomis, trachėjoje aptinkamas sekreto perteklius. Tačiau didesnis sekreto kiekis, nustatytas trachėjoje, negali būti vienareikšmiškai traktuojamas kaip kvėpavimo takų uždegimo priežastis, nes daugeliu tyrimų įrodyta, kad tam tikras sekreto kiekis visuomet aptinkamas ir kliniškai sveikiems arkliams po fizinio krūvio ir/ar transportavimo (Gerber, 2001). Sveikų arklių trachėjoje sekreto padaugėja, kai jie eksploatuojami dulkėtoje aplinkoje, šeriami supelijusiu šieniu, laikomi blogai vėdinamoje ir drėgnoje arklidėje. Padidėjęs sekreto išsiskyrimas yra gynybinė kvėpavimo takų gleivinės reakcija į žalingą faktorių. Jei nėra mukociliarinio klirenso sutrikimų, sekretas iš kvėpavimo takų lengvai pasišalina (Burrell, 1985; Christley et al., 2001). Bronchų gleivinės liaukų išskiriamame sekrete visada yra imunokompetentinių ląstelių (alveolių makrofagų, eozinofilų, neutrofilų, leukocitų, bazofilų). Makrofagai ir mikroagai fagocituoja dulkes, grybelių sporas, bakterijas ir virusus. Sveikų arklių kvėpavimo organų sekrete jų yra nedaug, tačiau arklių, sergančių kvėpavimo organų uždegimu, minėtų ląstelių sekrete žymiai padaugėja (Derksen, 2001). Pasak R.M. Christley, D.R. Hodgson ir R.J. Rose (2001), LOPL sergančių arklių trachėjos sekreto citologinis ir bakteriologinis tyrimai leidžia gana tiksliai nustatyti uždegimo priežastį, pobūdį ir eigą, numatyti ligos baigtį. Arkliams dažniausiai serga trachėjos ir/ar bronchų uždegimu, o ligai progresuojant pažeidžiami smulkūs bronchai ir bronchiolės, plaučių parenchima (Derksen, 2001; Malikides et al., 2002; Robinson et al., 2001). Sekreto mėginių ėmimo iš sergančių arklių trachėjos technikos pasirinkimas veikia citologinio ir bakteriologinio tyrimų rezultatus (Christley et al., 2001).

Kvėpavimo organų infekcijos sukėlėjui nustatyti atliekama trachėjos sekreto mėginių bakterioskopija ir

bakteriologinis tyrimas. Bakterioskopijos metodu nustatomos gramteigiamos ir gramneigiamos lazdelės, kokai, grybeliai, įvertinama fagocitozė. Bakteriologiniu sekreto mėginių tyrimu identifikuojami mikroorganizmai, taip pat nustatomas jų jautrumas antibiotikams. Jei arkliui prieš tyrimą buvo gydyti antibiotikais, tyrimo tikslumas sumažėja ne mažiau kaip 50% (Hoquet et al., 1985; Malikides et al., 2000).

**Darbo tikslas** – atlikti arklių, sergančių LOPL, klininius bei trachėjos sekreto citologinius ir bakteriologinius tyrimus. Įvertinti sergančių LOPL arklių klininių požymių ir trachėjos sekreto pokyčių tarpusavio priklausomybę atsižvelgiant į arklių amžių, ligos trukmę ir formą, nustatyti trachėjos sekreto mikrobinį užterštumą ir tinkamiausius preparatus antimikrobiniam gydymui.

**Tyrimo medžiaga ir metodai.** Tyrėme 19 LOPL sergančių ir 4 kliniškai sveikus kontrolinius arklius (n = 23). Jų amžius buvo nuo 5 iki 23 metų. Tai įvairių veislių sportiniai (trakėnų, Hanoverio veislių jojamieji, rusų ir Amerikos ristūnai) ir sunkiųjų veislių darbo arkliai. LOPL arkliams diagnozuojame remdamiesi anamnezės, bendro klinikinio tyrimo, funkcinio kvėpavimo organų tyrimo bei endoskopijos duomenimis.

Renkant anamnezę apie arklius, buvo svarbūs tokie klausimai:

- iš kokių klininių simptomų sprendžiate, kad arklys serga kvėpavimo organų liga?
- kada šie simptomai pasireiškia labiausiai (pvz., ėdant, treniruotės ar bet kuriuo metu)?
- kiek laiko praėjo nuo pastebėtų pirmųjų ligos požymių?
- ar anksčiau arklys sirgo kvėpavimo organų liga?
- ar šiuo metu arklys treniruojamas/su juo dirbama: jei taip, tai ar pastebėti kokie neįprasti požymiai, leidžiantys įtarti ligą (greitas nuovargis, arklio vangumas, gausus prakaitavimas, kosulio priepuoliai, ilgai nepraeinantis dažnas kvėpavimas)?
- kokiomis kitomis ligomis anksčiau yra sirgęs arklys?
- kada ir kokia vakcina vakcinuotas nuo gripo?
- kada ir kokiais antihelmin tikais atlikta dehelmin-tizacija?

Į šiuos klausimus atsakė arklių savininkai arba arklius prižiūrintis personalas.

Bendrą klinikinį tyrimą atlikome pagal įprastą paciento klinikinio tyrimo planą (Gabrijolavičius, 1991; Speirs, 1997).

Funkcinį kvėpavimo organų tyrimą atlikome pagal N. S. Čerepanovo pasiūlytą metodiką. Prieš tyrimą arkliams matavome rektinę kūno temperatūrą (°C), skaičiavome pulsą (k./min.) ir kvėpavimą (k./min.), tada 10 min. arklį vaikėme risčia ir vėl fiksavome tuos pačius rodiklius (2 lentelė).

Remdamiesi klinikinio tyrimo duomenimis ir vada-vaudamiesi rekomendacijomis, pateiktomis 1 lentelėje, LOPL sergančius arklius suskirstėme į 3 grupes: lengvos, vidutinės ir sunkios formos.

Visiems arkliams endoskopu tyrėme trachėją. Tyrimo metu vertinome tokius gerklų ir trachėjos gleivinės pakitimus: paraudimą, kraujagyslių tinklo išryškėjimą, antgerklinių limfinių mazgų padidėjimą, gleivinės paburkimą ir pažeidimus, trachėjoje esančio sekreto kiekį, jo konsistenciją. Arklių trachėjos tyrimus

atlikome 2001–2002 metais LVA Stambių gyvulių klinikoje, Vilniaus valstybiniame ir Žagarės žirgynuose.

Endoskopijai naudojome lankstų „Fujinon“ COL-MT2 endoskopą. Prieš tyrimą arkliams į veną buvo leidžiamas sedatyvinis preparatas „Domosedan“ (veiklioji

medžiaga detomidinas). 100 kg arklio kūno svorio buvo skiriama 0,1 ml preparato. Endoskopas buvo dezinfekuojamas 0,1% chlorheksidino tirpalu, o prieš naudojant plaunamas steriliu fiziologiniu tirpalu. Arklio šnervių aplinka buvo valoma 1:5000 furacilino tirpalu.

1 lentelė. Arklių LOPL diagnostiniai kriterijai

Klinikiniai simptomai	Lengvos formos LOPL	Vidutinės formos LOPL	Sunkios formos LOPL
<b>Fizinis pajėgumas</b>	Nesumažėja	Nežymiai sumažėja	Labai sumažėja
<b>Kosulys</b>	Nėra arba labai retas ir silpnas	Trunka apie mėnesį	Trunka nuo mėnesio iki metų ir ilgiau
<b>Dusulys ramybės metu</b>	Beveik nepastebimas	Pastebimas, bet neišreikštas	Dažnas ir ryškus
<b>Auskultacijos duomenys</b>	Karkalai, traškesiai	Karkalai, traškesiai	Traškesiai, cypimas
<b>Endoskopijos duomenys</b>	Trachėjoje nedaug tiršto, lipnaus sekreto	Trachėjoje daug klampaus sekreto, gleivinės edema ir hiperemija	Trachėjoje daug putoto sekreto, trachėjos gleivinės edema ir bronchų spazmai iškvėpimo metu
<b>Trachėjos ir bronchų sekreto citologinio tyrimo duomenys</b>	Sekrete nedaug makrofagų, neutrofilų ne daugiau 20%, didžiųjų epitelio citų, Kuršmano spiralių (fibrino siūlai). Alerginės kilmės LOPL atveju sekrete daug eozinofilų	Sekrete daug neutrofilų (20% ir daugiau), eozinofilų, makrofagų, didžiųjų epitelio citų, gleivių. Alerginės kilmės LOPL atveju sekrete daug eozinofilų	Sekrete vyrauja neutrofilai (nuo 40% iki 80%). Alerginės kilmės LOPL atveju sekrete yra daug eozinofilų. Nedidelis kiekis makrofagų ir daug pakitusių deskvamotų gleivinės epitelio ląstelių

Sekretui iš trachėjos surinkti naudojome endoskopinės trachėjinės aspiracijos metodą (toliau – ETA) (Speirs, 1997). Šios procedūros metu trachėjos sekretą surinkome steriliu kateteriu EMAC800, įkištu į endoskopą per biopsijos kanalą. Sekretas per kateterį buvo įtraukiamas į vienkartinį 20 ml švirkštą. Tyrimams buvo imama apie 10 ml trachėjos sekreto. Vertinome mėginio spalvą ir konsistenciją, o vėliau praskiedėme steriliu fiziologiniu tirpalu santykiu 1:1 ir naudojome citologiniam, bakterioskopiniam ir bakteriologiniam tyrimams.

Citologinį ir bakterioskopinį sekreto mėginių tyrimą atlikome LVA Fiziologijos ir patologijos katedros Patologinės anatomijos skyriaus laboratorijoje. Citologiniam tyrimui ir bakterioskopijai atlikti iš kiekvieno mėginio darėme tris tepinėlius. Juos dažėme „Hema Color“ dažais pagal Diff-Quik dažymo metodiką. Nudažyti tepinėliai uždengti dengiamuoju stikleliu, mikroskopuojami. Tepinėlių mikroskopija atlikta binomuliariniu šviesiniu „Olympus“ mikroskopu (obj. x 40). Sekreto mėginyje skaičiavome uždegimines ir kvėpavimo takų epitelio ląsteles, gramneigiamas, gramteigiamas bakterijas, vertinome fagocitozę (bakterioskopija). Nustatėme uždegiminių ląstelių kiekį, pobūdį ir santykį. Ląsteles ir bakterijas skaičiavome trijuose vieno tepinėlio matymo laukuose. Tris tepinėlius tyrėme pagal V.L. Larson ir R.H. Busch metodiką (1985).

Bakteriologinį tyrimą atlikome LVA Užkrečiamųjų ligų katedros Mikrobiologijos, Kauno apskrities valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos ir Nacionalinėje veterinarijos laboratorijose. Bakteriologinį trachėjos sekreto mėginio tyrimą atlikome tik tais atvejais, kai mikroskopuojamame tepinėlyje aptikome lazdelių ar kokių. Šiam tyrimui medžiaga ėmėme iš to paties trachėjos

sekreto mėginio, steriliai perkelta į transportines terpes (Amies, Stuart, Cultiplast® transport swab, Italija). Šiuo tyrimu siekėme tipizuoti sukėlėją ir gydymui parinkti aktyvų antimikrobinį preparatą. Patogeniniai stafilokokai identifikuoti „Staphytest Kit“ testu (Oxoid, Anglija); visos ir dalinės hemolizės nustatymu kraujo agarė; koaguliazės testu, naudojant sausą citratinę triušio plazmą. Streptokokai identifikuoti CAMP testu, „Streptococcal grouping Kit“ testu (Oxoid, Anglija) ir „Streptocult“ testu (Orion Diagnostica, Suomija). Pseudomonos identifikuotos diferencine–diagnostine terpe Mac-Conkey agaras (angliavandenis–laktozė, Oxoid, Anglija). Pigmentų gamybai nustatyti naudota „Pseudomonas agar F“ terpė (Dicfo, JAV). Išskirtų patogeninių stafilokokų, streptokokų ir pseudomonų (koaguliazėi teigiamų) atsparumas antimikrobinėms medžiagoms nustatytas modifikuotu Kirby-Bauer metodu (indikatorinių diskų metodas), sėjant bakterijas į specialią „Mueller Hinton Agar“ terpę (Oxoid, Anglija). Antimikrobinų medžiagų koncentracija diskuose buvo standartinė. Gauti rezultatai įvertinti pagal firmų pateiktas lenteles atsparumui nustatyti ir matuojant inhibicijos zoną pagal galiojančius standartus.

Tyrimų rezultatai apdoroti „EXEL 2000“ programa. Apskaičiuotas aritmetinis vidurkis (X), vidurkio paklaida (Sx), patikimumo koeficientas (td). Skirtumo patikimumo laipsnis (p) randamas Studento-Gaseto lentelėje remiantis patikimumo koeficiento (td) reikšme.

**Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.** Klinikiniais ir laboratoriniais tyrimo metodais ištyrėme 19 LOPL sirgusių ir 4 kontrolinius arklius. Remdamiesi 1 lentelėje pateiktais vertinimo kriterijais bei tyrimų duomenimis, 6 (31,6%) arkliams nustatėme lengvą LOPL formą, 4 (21%) arkliai sirgo vidutinio sunkumo LOPL, o 9 (47,4%)

arkliams, kurių amžius nuo 10 iki 23 metų ( $M \pm 12,5$ ,  $p < 0,05$ ), diagnozavome sunkios formos LOPL. Iš anamnezės apie sergančius arklius nustatėme, kad LOPL sirgusių arklių ( $n = 19$ ) ligos trukmė buvo nuo 2 mėn. iki 8 metų ( $M \pm m$   $6,4 \pm 0,2$  mėn.,  $p < 0,05$ ). Visi tirti ( $n = 19$ )

LOPL sirgę ir kontroliniai arkliai ( $n = 4$ ) buvo vakcinuoti nuo gripo ir stabilgės Nobis® - equenza T vakcina. Vakcinuoti reguliariai, du kartus per metus. Kiekvieną pavasarį ir vėlyvą rudenį tirti arkliai buvo dehelmintizuoti Equalan® ir Piritel® antihelmintikais.

2 lentelė. Arklių, sergančių LOPL ( $n=19$ ) ir kontrolinių arklių ( $n=4$ ) trachėjos sekreto citologinio tyrimo duomenys, pateikti skaitmenine, procentine ląstelių išraiška (sk./%) ir  $M \pm m$ , (p)

Neutrofilai sk./(%)	Makrofagai sk./(%)	Limfocitai sk./(%)	Eozinofilai sk./(%)	Bazofilai sk./(%)	Epitelinės ląstelės sk./(%)	Bendras sk./(%)
Sunki LOPL forma ( $n=6$ ), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
62/42,17	19/13	29/19,8	12/8,2	-	25/17	147/100
70/40,3	32/18,4	24/13,6	10/5,8	-	38/21,9	174/100
69/32,0	26/12	42/19,5	12/5,6	6/2,8	60/27,9	215/100
75/36,5	30/14,6	40/19,5	11/5,3	-	49/23,9	205/100
79/40	24/12,2	32/16,1	19/9,6	15/7,6	29/14,6	198/100
64/38,3	16/9,5	22/13,2	32/19,2	4/2,3	29/17,3	167/100
69,8 $\pm$ 17	24,5 $\pm$ 16	31,5 $\pm$ 20	16 $\pm$ 22	4,1 $\pm$ 11	38,3 $\pm$ 35	184 $\pm$ 68
Vidutinė LOPL forma ( $n=4$ ), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
89/41,2	40/34,5	30/13,8	8/3,8	-	49/22,7	216/100
70/34,6	26/12,9	14/6,9	20/9,9	14/6,9	58/28,7	202/100
59/35,3	38/22,7	25/15	12/7,2	-	33/19,8	167/100
82/40	28/13,6	32/15,6	13/6,3	-	50/24,3	205/100
75 $\pm$ 23	33 $\pm$ 14	25,2 $\pm$ 18	13,2 $\pm$ 12	2,3 $\pm$ 6,9	47,5 $\pm$ 25	197,5 $\pm$ 49
Sunki LOPL forma ( $n=9$ ), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
98/57,9	24/17,3	18/12,9	8/5,8	2/1,4	19/13,7	169/100
74/34,4	42/19,5	35/16,3	12/5,6	-	52/24,2	215/100
78/39,3	38/19,2	16/8	16/8	8/4,4	42/21,2	198/100
78/35,6	34/17,8	38/19,8	9/4,7	-	42/22	101/100
80/50,0	30/18,7	18/11,2	14/8,7	-	18/11,2	160/100
91/43,7	18/8,6	29/13,9	22/10,5	12/1,1	36/17,3	208/100
78/37,8	38/18,4	14/6,7	18/8,3	-	58/28	206/100
91/43,5	40/21,2	19/10	18/9,5	2/1	39/20,6	209/100
82/40,7	8/4,4	19/10,5	34/18,7	18/9,9	40/22	201/100
83,3 $\pm$ 24	30,2 $\pm$ 34	22,8 $\pm$ 24	16,7 $\pm$ 26	4,8 $\pm$ 16	38,4 $\pm$ 40	185,2 $\pm$ 55
Bendras sergančių LOPL ( $n=19$ ) $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
76,0 $\pm$ 36	29,2 $\pm$ 34	79,5 $\pm$ 28	15,3 $\pm$ 26	3,7 $\pm$ 16	41,4 $\pm$ 38	188,9 $\pm$ 55
Kontrolinė grupė ( $n=4$ ), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
14/17,5	15/18,8	25/31,2	-	2/2,5	24/30	80/100
19/22,6	10/11,9	31/36,9	11/13	-	13/15,5	84/100
22/23,4	12/12,7	29/30,9	13/13,8	-	18/19,1	94/100
30/29,1	19/18,4	19/18,4	12/11,6	2/1,9	21/20,3	103/100
21,2 $\pm$ 16	14 $\pm$ 9	26 $\pm$ 12	9 $\pm$ 2	1 $\pm$ 2	19 $\pm$ 11	90,2 $\pm$ 13
Sveikų arklių norma (Larson, 1985), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
39 $\pm$ 21,0	34 $\pm$ 18,0	4,9 $\pm$ 3,1	3,5 $\pm$ 2,0	1,6 $\pm$ 1,9	13,0 $\pm$ 5,8	100
Sveikų arklių norma (Derksen, 1989), $M \pm m$ , ( $p < 0,05$ )						
32 $\pm$ 28,1	24 $\pm$ 12,7	8,2 $\pm$ 6,0	<1,0	0	34 $\pm$ 20,9	100

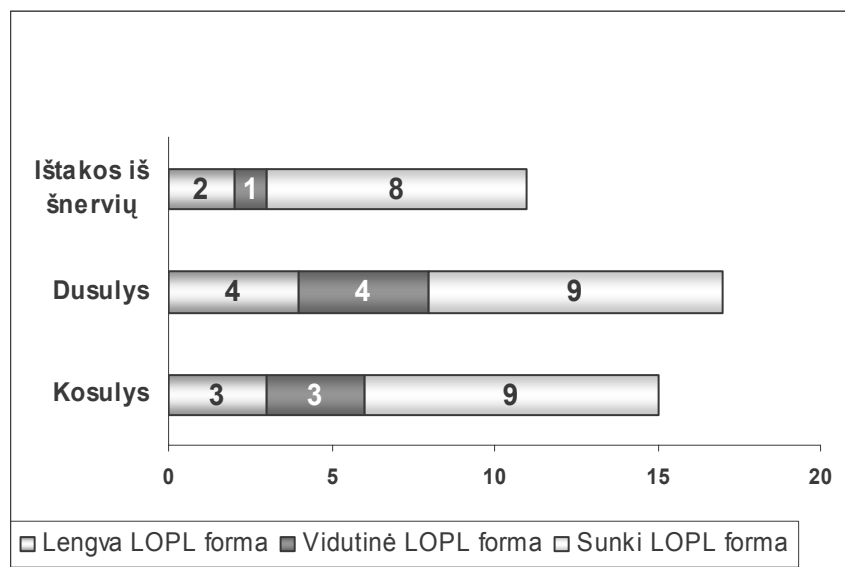
Nustatėme, jog visi 19 LOPL sergantys arkliai turėjo nevienodai ryškius kvėpavimo organų patologijos simptomus (kosulį, dusulį, greitai nuovargdavo, prakaitavo) (1 pav.). Klinikinių ligos simptomų ryškumas priklausė nuo LOPL formos, o ši – nuo ligos trukmės. 9 (47,4%) sunkia LOPL forma sergantiems arkliams nuo menko fizinio krūvio prasidėdavo dusulio ir kosulio priepuoliai. Šie arkliai 1 mėn. iki tyrimo nebuvo gydyti antibiotikais ir/ar kitais medikamentais. Lengva ir vidutine LOPL formomis sergantiems arkliams klinikiniai

simptomai (dusulys, kosulys, ištakos iš šnervių) išryškėdavo tik po sunkesnio fizinio krūvio. 15 (78,9%) LOPL sirgusių arklių nustatėme ekspiracinį dusulį (apsunkęs iškvėpimas, dusulio vaga) ramybės būsenoje, iš jų 6 (31,5%) jis buvo beveik nepastebimas, o atliekant kvėpavimo organų funkcinį tyrimą, kvėpavimo ir pulso dažnumas atsistatė tik per 20–30 min. Kontroliniams arkliams šie rodikliai atsistatė per 7–10 min. Dviem (10,6%) arkliams dėl stipraus dusulio kvėpavimo organų funkcinio tyrimo neatlikome. Jų kvėpavimas, pulsas ir

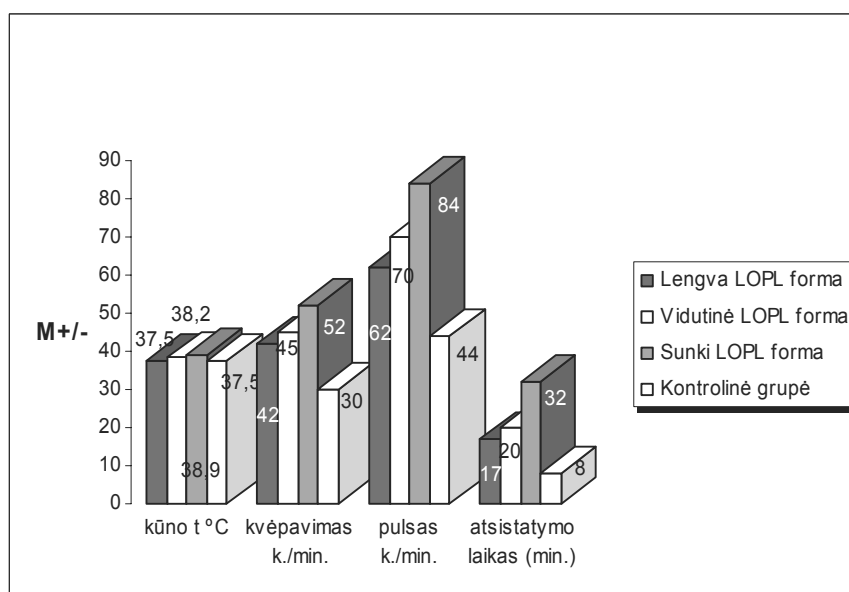
kūno temperatūra buvo fiksuoti tik ramybės būsenoje (2 pav.). Klinikiniai simptomai: kosulys, dusulys, ištakos iš šnervių ir greitas nuovargis – pagrindiniai kriterijai, nusakantys LOPL formą.

16 (84,2%) LOPL sergančių arklių šnervės nevie-nodai intensyviai buvo išsitemę tirštomis, lipniomis, gelsvai pilkšvos spalvos išskyromis. 4 (21%) arkliais nustatėme ypač daug išskyrų, o 3 (15,7%) arkliais šner-

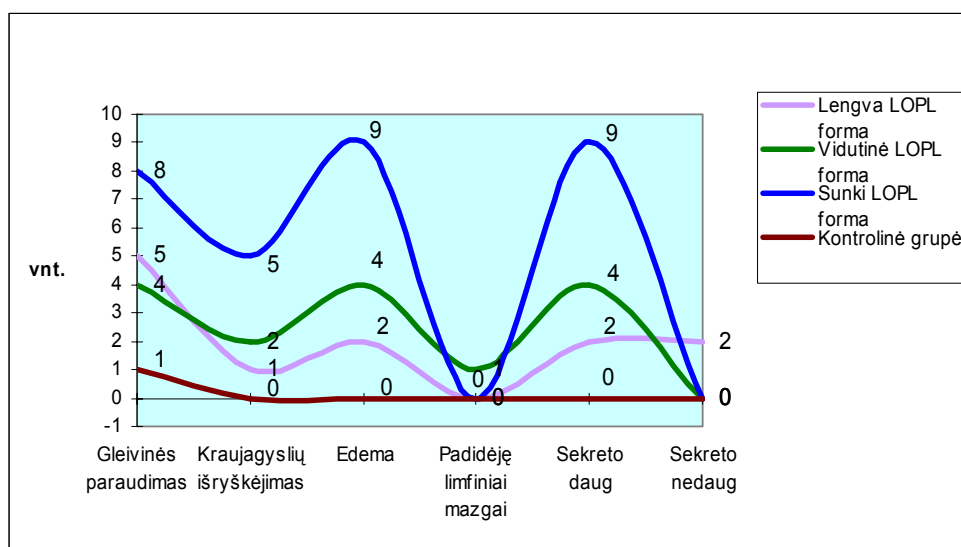
vių išskyrų neradome. Literatūros duomenimis (Chapman et al., 2000), žalsvai geltonos, baltai pilkšvos ar rusvos spalvos išskyros iš šnervių – būdingas arklių, sergančių LOPL, simptomas. Dėl kvėpavimo organų gleivinės metaplazijos išsivyravusios taurinės ląstelės išskiria lipnias gleives, kurios kaupiasi trachėjoje ir bronchuose, dirgina jų gleivinę ir sukelia kosulį. Gleivėto sekreto perteklius arkliai palenkus galvą ar kosint išteka per šnerves.



1 pav. Sergančių arklių klinikinių simptomų ryškumas, vnt.



2 pav. Arklių funkcinio kvėpavimo organų tyrimo rezultatų aritmetiniai vidurkiai (n=23)



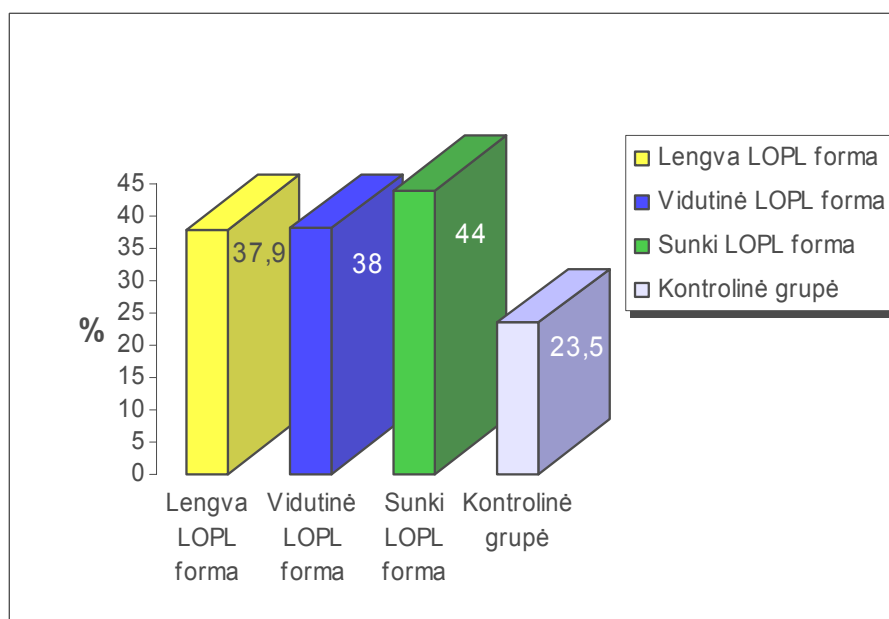
3 pav. LOPL sergančių arklių trachėjos endoskopijos rezultatai (n=23)

Atlikę endoskopinį tyrimą, 15 (78,9%) LOPL sergančių arklių trachėjoje radome daug tiršto ir lipnaus sekreto, nors daugumai iš jų (n = 11) išskyros iš šnervių nebuvo gausios. Endoskopinio trachėjos tyrimo metu matytas trachėjos gleivinės ir susikaupusio joje sekreto vaizdas gana tiksliai atspindėjo klinikinio tyrimo metu nustatytą diagnozę (3 pav.). Tyrimo metu paimitas, o laboratorijoje citologiškai, bakterioskopiškai ir bakteriologiškai ištirtas trachėjos sekreto mėginys padėjo tiksliau įvertinti kvėpavimo takų gleivinės pažeidimo laipsnį, uždegimo pobūdį ir eigą, skirti adekvatų gydymą arkliams.

Iš trachėjos sekreto mėginių, paimtų endoskopijos metu, buvo ruošiami tepinėliai citologiniam tyrimui. Dažytuose tepinėliuose ląstelių branduoliai nusidažė tamsiai violetine spalva, ląstelių citoplazma buvo rausvai melsvos, o mucinai (gleivės) – rausvos spalvos.

Tepinėlyje buvo gerai matomos lazdelės (išsidėstę grandinėlėmis) ir kokai (išsidėstę kekėmis). Pastarieji buvo nusidažę tamsiai violetine spalva.

Visų LOPL sergančių arklių trachėjos sekreto mėginių tepinėliuose citologiniu tyrimu (2 lentelė) nustatėme padidėjusį neutrofilų kiekį – 37,9–44,0%, ( $M \pm m$  76,0 $\pm$ 36;  $p < 0,05$ ) (4 pav.). F.J. Derksen, C.M. Brown ir J.M. Sonea teigia (1989), jog sunkia LOPL forma sergantiems arkliams neutrofilų trachėjos sekrete aptinkama 50–80% (ar daugiau) bendro ląstelių skaičiaus. T.S. Mair, C.R. Sweeney (1990) ir kiti mokslininkai tvirtina, kad trachėjos sekrete aptikus daugiau kaip 20% neutrofilų, jauni arkliai gali būti įtariami sergantys lengvos formos LOPL. Anot P.M. Dixon (1992), sveikų arklių trachėjos ir bronchų sekrete vyrauja makrofagai ir limfocitai, o neutrofilų gali būti ne daugiau kaip 5% bendro ląstelių skaičiaus.



4 pav. LOPL sergančių ir kontrolinės grupės arklių neutrofilų kiekis (%)

Visų LOPL sergančių ( $n = 19$ ) ir kontrolinių arklių ( $n = 4$ ) trachėjos sekreto mėginių tepinėliuose nustatėme didelį eozinofilų kiekį – 4,7–19,2% ( $M \pm m$  15,7 $\pm$ 26;  $p < 0,05$ ). Tai būdinga šia liga sergantiems, tačiau nebūdinga kliniškai sveikiems arkliams. Literatūroje yra pranešimų (Dixon, 1997), jog eozinofilų santykinai gali padaugėti kliniškai sveikus arklius šeriant dulkėtu šienu, laikant prastai vėdinamoje arklidėje, transportuojant, helmintozės ir/ar žiemos laikotarpiu. Tačiau mūsų tirti arkliai ne mažiau kaip 8 val. prieš tyrimą nebuvo transportuoti ar treniruoti.

12 LOPL sergančių arklių trachėjos sekreto mėginių tepinėliuose nustatėme didelį kiekį, nuo 11,2% iki 28,7% ( $M \pm m$  40,3 $\pm$ 42;  $p < 0,05$ ) deskvamuoto virpamojo epitelio ląstelių, o bakteriologinio tyrimo metu iš šių trachėjos sekreto mėginių buvo išaugintos mikrobų kultūros. Duomenys, mūsų nuomone, rodo progresuojantį bakterinės kilmės kvėpavimo takų uždegimą, kadangi R. M. Christley, D. R. Hodgson, R. J. Rose ir kitų mokslininkų duomenimis (1999), sveikų arklių trachėjos sekrete virpamojo epitelio ląstelės būna pavienės. Jos paprastai randamos, jei patenka mėginio ėmimo metu, esant aerogeniniam kvėpavimo takų užkrėtimui arba viršutinių kvėpavimo takų disfunkcijai. V.C. Speirs (1997) ir kiti tvirtina, jog daug deskvamuoto virpamojo epitelio ląstelių ir sutrikęs mukociliarinis klirensas – gera terpė bakterijoms daugintis. Tos pačios nuomonės yra K.E. Whitwell ir T. R. C. Greet (1984) ir kiti mokslininkai, teigiantys, kad didesnis šių ląstelių kiekis, aptiktas sekreto mėginyje, leidžia nuspėti ir mikrobų kultūrų išauginimo rezultatus.

Daugelis mokslininkų (Whitwell et al., 1984; Christley et al., 1999) mano, jog nedideli epitelinių ląstelių pasikeitimai (branduolio pakitimai ir žiuželių netekimas) nustatomi ir sveikiems arkliams. Tokie pokyčiai yra normalus ląstelių nusidėvėjimas ir keitimasis naujomis, todėl šiuos požymius reikia vertinti atsargiai. Patologinius epitelinių ląstelių pasikeitimus (atipiškas epitelis) sukelia uždegimas – makrofagų ir leukocitų išskiriamų uždegimo mediatorių veiklos pasekmė, o sergant virusine kvėpavimo takų liga (gripas, rinopneumonija) epitelis gali būti žalojamas tiesiogiai (Whitwell et al., 1984; Christley et al., 1999).

Bakterioskopiniu tyrimu 13 (68,5%) LOPL sergančių arklių trachėjos sekreto mėginių tepinėliuose nustatėme bakterijas (kokus ir/ar lazdeles) ir 1 (5,2%) arkliui – grybelius. Iš šių sekreto mėginių terpėse išauginome tokius mikroorganizmus: *Staphylococcus arletae* – 3 (23%), *Streptococcus aureus* – 1 (7,6%), *Staphylococcus hyicus* – 1 (7,6%), *Staph. intermedius* – 1 (7,6%), *Staph. aureus* – 1 (7,6%), *Pseudomonas cepacia* – 4 (30,8%), *Pseudomonas putida* – 2 (15,4%) arkliams ir *Acidobacillus equuli* – 1 (7,6%) arkliui.

Kai kurie tyrėjai (Burrell, Wood, Whitwell, 1996) teigia, kad išauginti mikroorganizmai yra sąlyginai patogeniški, t. y. mikroorganizmai – oportunistai, patekę į trachėją su oro srove arkliui kosint arba endoskopinio tyrimo metu. Tačiau kai jie aptinkami giliuosiuose kvėpavimo takuose (smulkiuose bronchuose, bronchiolėse, alveolėse), o citologiniame sekreto mikropreparate randama daug deskvamuoto epitelio ląstelių – jie laikomi patogenais. Laboratorijoje išauginti mikroorganizmai jautrūs šiems antibiotikams: penicilinui, streptomycinui, gentamicinui, linkomicinui, norsulfazolui, linkospektinui.

Nors trachėjos sekreto ėmimas endoskopuojant arklius, sergančius įvairiomis kvėpavimo takų ligomis, pasaulyje laikomas įprasta procedūra, ji vertinama prieštaringai. Interpretuojant citologinio tyrimo rezultatus, F.J. Derksen (2001), N. Malikides et al., (2002) ir kiti siūlo atsižvelgti į sekreto mėginių ėmimo metodą (ETA, BAL) ir įvairius aplinkos veiksnius (metų laiką, arklio laikymo sąlygas, eksploataciją ir transportavimą). Iki šiol nežinoma tiksli trachėjos sekreto citologinių pasikeitimų priežastis, nors manoma, kad tai glaudžiai susiję su įvairiais arklio aplinkos veiksniais (dulkėmis, amoniaku, šaltu oru, bakterijomis, virusais, pelėsių grybų sporomis ir pan.). Todėl LOPL sergančių arklių diagnozei patikslinti reikalingi ir arklio aplinką formuojančių veiksnių tyrimai. Tik surinkus anamnezę ir klinikiniais tyrimo metodais ištyrus sergantį arklių, galima sieti kvėpavimo takų sekreto pokyčių svyravimus su fiziniu krūviu ir/ar arklių laikymo sąlygomis (Christley et al., 2001).

### Išvados.

1. Klinikiniais tyrimo metodais (įvairios veislės, amžiaus ir paskirties) 19 arklių diagnozavome LOPL, didžiąjai jų daliai – 9 (47,4%) nustatyta sunki LOPL forma, kuriai būdinga nuolat pasikartojantys stiprūs dusulio ir kosulio priepuoliai, gausios išskyros iš šnervių, fizinis nepajėgumas, trachėjoje gausus sekretas, kuriame daug neutrofilų, eozinofilų, deskvamuoto epitelio ląstelių ir mikroorganizmų, 4 (21,0%) vidutinės formos ir 6 (5,5%) arkliams nustatėme lengvos formos LOPL. Jiems būdinga ne tokie ryškūs klinikiniai požymiai, fizinis pajėgumas sumažėja nežymiai.

2. LOPL sirgo darbai ir sportui naudojami suaugę ir vyresni arkliai ( $M \pm m$  8,9 metai,  $p < 0,05$ ).

3. LOPL sergantiems arkliams būdingas ekspiracinis dusulys. Mūsų duomenimis, nuo dusulio kentėjo 15 (78,9%) arklių. Jų kvėpavimo ir pulso dažnis po 10 min. lengvos risčios dėl dusulio atsistato (pasiekia pradinę reikšmę) tik po 18–30 min.

4. Tirtų arklių LOPL forma (lengva, vidutinė, sunki) priklausė nuo ligos trukmės. 9 (47,4%) arkliams, kurių ligos trukmė  $M \pm m$  12,5 mėn., ( $p < 0,05$ ) – diagnozuota sunkios formos LOPL, nustatyti ryškūs klinikiniai požymiai, o citologinio tyrimo metu – destruktiniai kvėpavimo takų epitelio pokyčiai.

5. Trachėjos sekrete nustatyta: neutrofilų lengvos 37,9% ( $M \pm m$  69,8 $\pm$ 17) ( $p < 0,05$ ), vidutinės – 38,0%, ( $M \pm m$  75 $\pm$ 23) ( $p < 0,05$ ) ir sunkios formos LOPL – 44,9% ( $M \pm m$  83,3 $\pm$ 24) ( $p < 0,05$ ) sergančių arklių, o tai rodo lėtinį kvėpavimo takų uždegimą.

6. Mikrobinis faktorius nelemia LOPL klinikos ir formos. Nors 47,4% arklių sirgo sunkia LOPL forma, iš trachėjos sekreto mėginių išauginti mikroorganizmai nepasizymėjo ypatingu patogeniškumu (išskyrus 2 arklius, kuriems išskirta *Staphylococcus aureus* ir *Streptococcus aureus*). Tai rodo didelę įtaką aplinkos veiksnių ir arklio eksploatacijos LOPL etiopatogenezės mechanizmams.

### Literatūra

1. Beech J. Tracheobronchial aspirates. Equine respiratory disorders. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991. P. 41–53.
2. Blunden A.S., Hannant D., Livesay G.J. Susceptibility of ponies to infection with *Streptococcus pneumoniae* (capsular type 3).

Equine Vet. J. 1994. P. 26–22.

3. Burrell M.H. Endoscopic and virological observations on respiratory disease in a group of young Thoroughbred horses in training. *Equine Vet. J.* 1985. Vol.17. P. 99–103.

4. Burrell M.H., Wood J.L.N., Whitwell K.E. Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationships between disease viruses, bacteria and environment. *Vet. Rec.* 1996. Vol.139. P. 308–313.

5. Chapman P.S., Green C., Main J.P.M. Retrospective study of the relationships between age, inflammation and the isolation of bacteria from the lower respiratory tract of thoroughbred horses. *Vet. Rec.* 2000. Vol. 146. P. 91–95.

6. Christley R.M., Hodgson D.R., Rose R.J. Comparison of bacteriology and cytology of tracheal fluid samples collected by percutaneous transtracheal aspiration or via an endoscope using plugged, guarded catheter. *Equine Vet. J.* 1999. Vol. 31. P. 197–202.

7. Christley R.M., Hodgson D.R., Rose R.J. A case-control study of respiratory disease in thoroughbred racehorses in Sydney. Australia. *Equine Vet. J.* 2001. Vol. 33. P. 256–264.

8. Derksen F.J. Evaluation of airway inflammation. *Proceedings of the AEVA (Bain-Fallon Memorial Lectures) 2001.* Vol. 23. P. 21–41.

9. Derksen F.J., Brown C.M., Sonea I.M. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. *Equine Vet. J.* 1989. Vol. 21. P. 23–26.

10. Dixon P.M. Ancillary diagnostic techniques for the investigation of equine pulmonary disease. *Equine Vet. Educ.* 1997. Vol. 9. P. 72–80.

11. Dixon P.M. Respiratory mucociliary clearance in the horse in health and disease, and its pharmaceutical modification. *Vet. Rec.* 1992. Vol. 131. P. 229–235.

12. Gabrijolavičius V. Vidaus ligų klinikinė diagnostika. 1991. P. 113.

13. Gerber V. Mucus in equine lower airway disease. In: *Proceedings of the 2nd World Equine Airways Symp. and 19th Comp. Respir. Soc. Meet, CD-ROM, 2001.* P. 1–11.

14. Hewson J., Viel L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. *International veterinary information service (IVIS), Ithaca Ny 2002.* P. 32–38.

15. Hoquet F., Higgins R., Lessard P. Comparison of the bacterial and fungal flora in the pharynx of normal horses and horses affected with pharyngitis. *Can. Vet. J.* 1985. Vol. 26. P. 342–346.

16. Larson V.L., Busch R.H. Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. *Am. J. Vet. Res.* 1985. N. 46. P. 144–146.

17. MacNamara B., Bauer S., Lefe J. Endoscopic evaluation of exercise-induced pulmonary hemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990. Vol. 196. P. 443–445.

18. Mair T.S., Sweeney C.R. Advances in the diagnosis of equine lung disease: sampling from the lower airways. *Equine Vet. J.* 1990. Vol. 22. P. 147–148.

19. Malikides N., Hughes K.J., Hodgson D.R. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2: evaluation of the relative percentage of neutrophils. *Aust. Vet. J.* 2002. P. 21.

20. Malikides N., Pike A., Kane K. Endotoxin concentrations in respirable dust over time in horses bedded on straw versus sawdust. In: *Proceedings of the Vet. Comp. Resp. Soc. Symp.* 2000. P. 18–51.

21. Moore B.R., Krakowka S., Cummins J.M. Changes in airway inflammatory cell populations in Standardbred racehorses after interferon-alpha administration. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996. Vol. 49. P. 347–358.

22. Robinson N.E., Derksen F.J., Jackson C.A. Management of heaves. *Equine Vet. Educ.* 2001. Vol. 13. P. 247–259.

23. Rush Moore B., Krakowka S., Robertson J.T. Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from Standardbred racehorses with inflammatory airway disease. *Am. J. Vet. Res.* 1995. Vol. 56. P. 562–567.

24. Speirs V.C. *Clinical examination of horses.* Book. 1997. P. 27–48.

25. Whitwell K.E., Greet T.R.C. Collection and evaluation of tracheobronchial washes in the horse. *Equine Vet. J.* 1984. Vol. 16. P. 499–508.