



王苏苏,李涛,丁宁,等. 声波脉冲治疗对奶牛生产性能及乳房炎的影响[J]. 南京农业大学学报,2024,47(5):957-966.

WANG Susu, LI Tao, DING Ning, et al. The effects of acoustic pulse therapy (APT) on performance and mastitis in dairy cows[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(5): 957-966.

声波脉冲治疗对奶牛生产性能及乳房炎的影响

王苏苏¹,李涛¹,丁宁²,王莹²,邓子晗¹,张威¹,陈芷希¹,
徐俊杰¹,时晓丽³,向小娥³,仲伟臣⁴,蔡亚非^{1*}

(1.南京农业大学动物科技学院/江苏省奶牛生产性能测定中心/奶牛疾病诊断联合创新实验室,江苏 南京 210095;
2.广州海关技术中心,广东 广州 510623;3.南京农业大学动物科学类国家级实验教学示范中心,
江苏 南京 210095;4.上海方顺医疗器械有限公司,上海 200032)

摘要:[目的]奶牛乳房炎是奶牛养殖过程中的高发疾病,本研究旨在对声波脉冲技术(acoustic pulse therapy, APT)治疗奶牛乳房炎的效果进行初步探究。[方法]根据致病菌和牛奶体细胞检测结果,选择江苏省某牧场临床乳房炎和亚临床乳房炎奶牛100头,其中临床乳房炎奶牛60头,分为 APT 治疗组20头、抗生素治疗组20头、APT 和抗生素联合治疗组20头;亚临床乳房炎(隐性乳房炎)奶牛20头,采用 APT 治疗;20头健康奶牛作为阴性对照组。对比探究 APT 治疗奶牛乳房炎的效果。[结果]当奶牛罹患乳房炎后,生产性能指标牛奶中体细胞数显著升高($P<0.05$),日产奶量显著下降($P<0.05$);血液中白细胞数显著升高($P<0.05$),淋巴细胞数和中性粒细胞数极显著升高($P<0.01$),炎症因子 IL-1 β 含量显著升高($P<0.05$)、IL-6 和 IL-8 含量极显著升高($P<0.01$),糖皮质激素含量显著升高($P<0.05$)。在使用 APT 治疗后,体细胞数显著下降($P<0.05$),日产奶量显著升高($P<0.05$),乳脂、乳蛋白、乳糖、非脂固形物、总固形物和尿素氮无显著变化($P>0.05$);白细胞数、中性粒细胞数和淋巴细胞数显著下降($P<0.05$),其他血液生理指标无显著变化($P>0.05$);亚临床组炎症因子 IL-1 β 含量显著下降($P<0.05$),IL-6 和 IL-8 含量显著降低($P<0.05$),糖皮质激素含量显著下降($P<0.05$)。[结论] APT 作为一种新的奶牛乳房炎治疗技术,可以有效治愈奶牛乳房炎,且没有引起产奶量损失。

关键词:奶牛;乳房炎;声波脉冲治疗(APT);产奶量

中图分类号:S823.9

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2024)05-0957-10

The effects of acoustic pulse therapy (APT) on performance and mastitis in dairy cows

WANG Susu¹, LI Tao¹, DING Ning², WANG Ying², DENG Zihan¹, ZHANG Wei¹,
CHEN Zhixi¹, XU Junjie¹, SHI Xiaoli³, XIANG Xiao'e³, ZHONG Weichen⁴, CAI Yafei^{1*}

(1.College of Animal Science and Technology/Jiangsu Dairy Herd Improvement Center/Dairy Cow Disease Diagnosis Joint Innovation Laboratory, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.Guangzhou Customs Technology Center, Guangzhou 510623, China; 3.National Experimental Teaching Demonstration Center for Animal Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 4.Shanghai Fangshun Medical Device Co., Ltd., Shanghai 200032, China)

Abstract:[Objectives] Cow mastitis is a common disease in the process of dairy farming. This study aimed to investigate the effectiveness of acoustic pulse therapy (APT) in treating cow mastitis. [Methods] Based on the results of pathogen and milk somatic cell detection, 100 cows with clinical mastitis and subclinical mastitis from a farm in Jiangsu Province were selected. Among them, there were 60 cows with clinical mastitis, including 20 in the APT treatment group, 20 in the antibiotic treatment group, and 20 in the combined APT and antibiotic treatment group. Twenty cows with subclinical mastitis (latent mastitis) were treated with APT. Twenty healthy cows were used as the negative control group. The effectiveness of APT in treating cow mastitis was explored through comparative experiments. [Results] After cows suffered from mastitis, productive performance indicators such as somatic cell count significantly increased ($P<0.05$), and daily milk production significantly decreased ($P<0.05$). The number of white blood cells in the blood significantly increased ($P<0.05$), with a significant increase in lymphocyte count and neutrophil count ($P<0.01$). The content of inflammatory factors IL-1 β significantly increased ($P<0.05$), while the content of inflammatory factors IL-6 and IL-8 significantly

收稿日期:2023-09-25

*通信作者:蔡亚非,教授,博导,研究方向为牛遗传育种,ycail@njau.edu.cn.

increased ($P < 0.01$), and the content of glucocorticoids significantly increased ($P < 0.05$). After APT treatment, the somatic cell counts significantly decreased ($P < 0.05$), and daily milk production significantly increased ($P < 0.05$). There were no significant changes in milk fat, milk protein, lactose, non-fat solids, total solids, and urea nitrogen ($P > 0.05$). The number of white blood cells, neutrophils, and lymphocytes significantly decreased ($P < 0.05$), while the other health blood physiological indicators did not change significantly ($P > 0.05$). In the subclinical group, the inflammatory factor IL-1 β significantly decreased ($P < 0.05$), and the inflammatory factors IL-6 and IL-8 significantly decreased ($P < 0.05$), while glucocorticoids in the subclinical group significantly decreased ($P < 0.05$). [Conclusions] APT as a new kind of dairy cow mastitis treatment technology, can effectively cure the cow mastitis with no loss of production.

Keywords: cow; mastitis; acoustic pulse therapy (APT); milk production

奶牛乳房炎 (mastitis) 是在世界范围内对奶牛养殖造成严重危害的疾病, 不仅造成奶牛业的经济损失, 而且使得乳品安全面临严重的考验。有研究表明奶牛乳房炎会降低奶牛的产奶量, 严重时会让机体停止泌乳, 乳腺丧失功能直至萎缩^[1]。当奶牛患有乳房炎后, 会发生明显的体细胞数 (SCC) 升高、产奶量下降、乳成分变化等, 牛奶中营养成分含量会降低, 乳脂和钙含量也会小幅度下降, 而钠和氯含量升高^[2], 因此奶牛乳房炎会影响乳制品品质和牛奶利用价值^[3]。

在大多数情况下, 奶牛乳房炎是指病原体侵入乳腺的反应。在细胞因子风暴过程中, 多形核细胞和巨噬细胞与病原体战斗, 无论细菌清除与否, 乳腺组织或有限区域的深部损伤都可能发生大面积闭塞^[4]。因此, 为了减少这种组织损伤, 奶牛场更喜欢早期积极治疗, 通常使用抗生素。然而, 抗生素治疗会导致牛奶中出现残留药物, 从而导致牛奶损耗, 进而导致细菌的耐药性增强, 若人长期食用这类奶产品后会引发机体抗药性, 危害人体健康^[5]。药物治疗可以杀灭细菌或减缓细菌生长, 可使免疫细胞能够根除细菌, 但无助于受损组织再生。因此, 如何激活免疫细胞, 并加速再生腺体组织恢复, 尽可能减少因抗生素治疗引起的药物残留而导致的牛奶损耗是本研究的重点。声压脉冲是一种声波, 也称为冲击波 (或径向波), 适合将能量传递到身体组织, 其可以被定向到生物组织进行组织治疗, 声波脉冲治疗 (acoustic pulse therapy, APT) 又称为低强度冲击波 (low intensity shock wave, LiSWT) 治疗, 是通过机械转导、刺激和重塑新小动脉的生长改善血液供应和氧合来影响细胞^[6-14], 其治疗的独特优势是恢复乳房功能、减少药物使用, 减少因抗生素残留导致的牛奶损失^[14]。APT 可以帮助损伤的乳房组织自我治愈, 并在不使用药物的情况下产生抗炎作用。国外在 50 年代就有了对冲击波的研究, 并将冲击波技术用于临床, 德国科学家们研究了冲击波对动物体内组织的影响^[15]。声波脉冲的治疗效果现已被广泛报道, 并已知在生物组织中产生各种反应, 如促血管生成和抗炎作用^[16], 用于人类^[17]、马^[18]和狗^[19]肌肉和骨骼疾病的治疗。

本研究通过比对声波脉冲治疗与常规抗生素治疗临床乳房炎的效果, 评估 APT 治疗的效果, 为应用该技术治疗奶牛乳房炎提供了依据, 为奶牛乳房炎的防治提供新思路和新方法。

1 材料与方法

1.1 试验场地及时间

试验在江苏省某中等规模牧场进行。根据该牧场 2021 年 11 个月的 855 头母奶牛中患乳房炎的奶牛数据 (图 1), 选取 7—11 月乳房炎高发时期的奶牛进行采样。

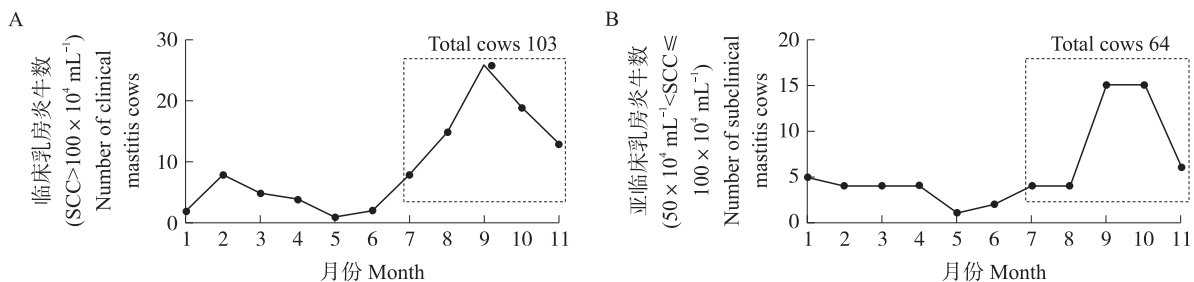


图 1 某牧场 2021 年患乳房炎奶牛统计结果

Fig. 1 Statistics results of cows with mastitis of a pasture in 2021

1.2 试验动物及分组处理

健康奶牛牛奶中的体细胞数(somatic cell count, SCC)为 $(2\sim 20)\times 10^4\text{ mL}^{-1}$,当牛奶中 SCC 达到 $(20\sim 50)\times 10^4\text{ mL}^{-1}$ 时为隐性乳房炎,当 SCC 高于 $50\times 10^4\text{ mL}^{-1}$ 时为临床型乳房炎^[20]。据此选取 60 头患临床乳房炎($\text{SCC}>50\times 10^4\text{ mL}^{-1}$)的病牛、20 头患亚临床乳房炎($\text{SCC}>20\times 10^4\text{ mL}^{-1}$)的病牛、20 头健康奶牛($\text{SCC}<2\times 10^4\text{ mL}^{-1}$)共 100 头奶牛作为试验对象。其中 60 头临床乳房炎奶牛均分为 3 个处理组: APT 治疗组、抗生素治疗组和 APT 及抗生素联合治疗组,各 20 头;20 头亚临床乳房炎奶牛采用 APT 治疗;20 头健康奶牛作为阴性对照组。治疗完成后采集鲜奶样,跟踪记录每头奶牛乳房炎致病菌的变化情况和生产性能。相关生产性能检测指标:日产奶量(daily milk yield, DMY)、乳蛋白率(milk protein percentage, MPP)、乳脂率(milk fat percentage, MFP)、SCC、乳尿素氮(milk urea nitrogen, MUN)等。采集时间分别为治疗后 0、15、30、45 和 75 d。

具体治疗方案: APT 处理组,完整的治疗包括在 1 周内 3 个疗程,共 1 200 次脉冲,分别在第 1 天、第 (4 ± 1) 天和第 (7 ± 1) 天各进行 1 次治疗,每次治疗共 400 次脉冲,冲击时间约 3 min;抗生素处理组,选用头孢菌素、土霉素、新霉素、安普霉素、卡那霉素等共 20 种药敏纸片进行药敏试验,根据药敏结果给出的治疗建议,选择广谱抗生素(头孢菌素类)进行治疗。治疗方式为每天 30 mL 共 3 d 肌肉注射(intramuscular injection, IM)或者乳房内注射(intramammary injection, IMM); APT 和抗生素联合治疗组,1 周内 3 次 APT 治疗,同时注射头孢菌素。

1.3 APT 治疗设备和治疗过程

APT 设备(APT-X, Armenta 公司,以色列)是基于声波脉冲技术专门为治疗奶牛乳房炎而开发的,是通过高压反复驱动弹丸撞击连接在治疗头^[14]上的砧片,产生大面积的治疗效果。声波脉冲无创,治疗区域约 $3\ 487\text{ cm}^3$ 的乳房组织。APT 设备见图 2。

APT 治疗时, APT-X 是一种手持设备,由加压气瓶产生的气压驱动,可以方便进入处理点,而不会影响挤奶(图 3-A)。该设备产生低功率声脉冲,具有深层组织穿透能力,使压力波分布在奶牛乳房的大部分治疗区域,能够产生治疗效果(图 3-B)。治疗涂抹器放置在被治疗部位的皮肤上,使用了一种特殊的凝胶,以确保声波脉冲更好地传递到被治疗组织(图 3-C)。

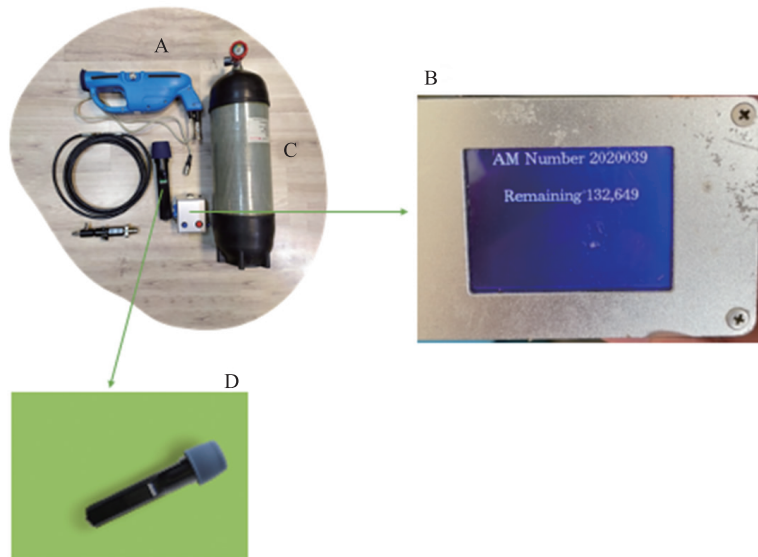


图 2 声波脉冲治疗(APT)设备

Fig. 2 Acoustic pulse therapy (APT) device

A. 基于声波脉冲技术的 APT 手持设备(设备的骨架); B. 控制单元(提供治疗管理所需信息的数字显示,可以在此设置治疗所需的脉冲次数); C. 压缩空气罐(设备的动力系统,6 L 的储气罐充气完成后每次可以治疗 18~20 头奶牛); D. 应用器模块(设备的大脑,设备正常运行的支柱,将压缩空气转换为治疗所需的冲击波)。

A. APT handheld devices, based on the technology of acoustic pulse (The skeleton of the equipment); B. The control unit (The digital display of the information needed to provide treatment management, can be treated in this setting the pulse number required); C. The dynamic system of compressed air tank (The whole equipment, 6 L gasholder inflatable every time after the completion of 18~20 cows can be treated); D. Application module (The brain of the equipment. The pillar of the normal operation of equipment, converts compressed air to the shock wave treatment).

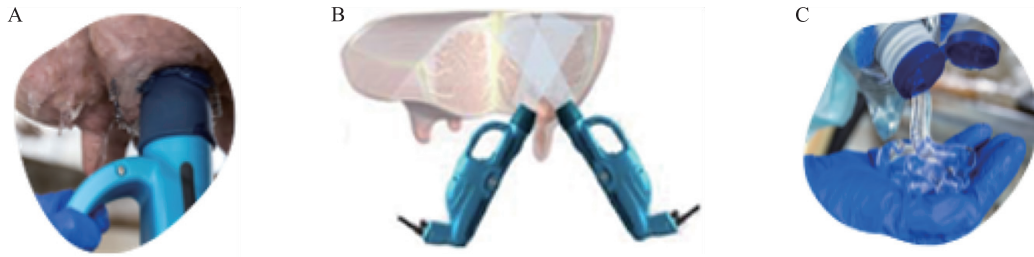


图 3 APT 治疗过程

Fig. 3 APT treatment process

A. 用手持 APT-X 对准涂抹了凝胶的乳房部位; B. 设备产生低功率声脉冲对乳房进行治疗; C. 专用于乳房类治疗的凝胶。

A. Point the hand-held APT-X at the area of the breast where the gel is applied; B. The device generate low-power acoustic pulses to treat the breast; C. Gel specific for the treatment of mastitis.

1.4 试验指标的检测方法

1.4.1 奶牛产奶性能数据测定 江苏省奶牛生产性能测定中心每月对送检牧场定期按时收集分析泌乳牛群的 DHI 数据。首先采集牛群奶牛的基础信息,然后 3 d 内完成鲜奶样品检测。步骤如下:1) 奶样在 $(45\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 下孵育;2) 调试福斯/Foss 乳成分及体细胞分析仪(型号 CombiFoss FT+);3) 按照福斯/FOSS 机器检测步骤上机检测。通过红外光谱分析原理以及流式细胞技术原理检测奶样中的 SCC 和 MLP、MFP、MPP 等成分的含量。测试完成后从原始记录数据库中调取数据,导入报告制作专用软件 Dairy Champ 和 PCDHI 中,应用相关的计算机程序进行数据统计分析。

1.4.2 血液生化指标的测定 从奶牛尾静脉采血后注入一次性真空抗凝管中,立即送检。使用全自动血细胞分析仪进行血样分析并记录测定结果。检测项目分别为白细胞数(WBC)、淋巴细胞数(LYM)、中间细胞数(MID)、粒细胞数(GRA)、红细胞数(RBC)、血红蛋白含量(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度(SD)、红细胞分布宽度(CV)、血小板数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、血小板压积(PCT)、大血小板比率(P-LCR)。

1.4.3 炎症因子指标测定 用酶联免疫测定法(ELISA)依次测定奶样中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、GC 含量。在 450 nm 处测量吸光值(D_{450}),利用标准曲线分别计算样品中的炎症因子含量。

1.4.4 奶牛乳房炎致病菌检测 采集奶样,使用样本 DNA 提取-吸附柱法提取 DNA,测定滤液纯度均值 A_{260}/A_{280} 为 1.8,满足 PCR 扩增条件。取 -20°C 保存的 DNA 溶液,冰上融化后,进行荧光定量 PCR 扩增。扩增体系(25 μL)包括 2.5 μL 含细菌 DNA 的滤液、21.5 μL 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 含 TaqMan 探针的混合引物、1 μL 5 U $\cdot\mu\text{L}^{-1}$ Enzyme Mix 组成。PCR 反应条件:在 50°C 条件下去污性 3 min,然后设置 95°C 预变性 3 min。PCR 反应程序: 95°C 扩增 10 s,最后 60°C 延伸 40 s,并收集荧光信号,去污与预变性为 1 个循环,扩增与延伸共 40 个循环。使用实时荧光定量 PCR 仪(YR-8000)的配套软件,获得扩增曲线及对应的 Ct 值,再使用 Foss Integrator 软件对 Ct 值展开对比和分析,最终产生乳房炎分析结果,并给出优势菌群与治疗建议。

1.5 数据处理与统计方法

使用 Excel 2010 对数据进行初步处理,然后利用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析和差异显著性检验。数据结果以平均值 \pm 标准误($\bar{x}\pm SE$)表示。使用 GraphPad Prism 9.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 APT 治疗对奶牛产奶性能的影响

如图 4 所示:APT 治疗后,与未治疗时相比,亚临床组牛奶中体细胞数(SCC)显著下降($P<0.05$);0 d 时 SCC 由 $6.8\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 下降到 $4.7\times 10^5\text{ mL}^{-1}$;15 d 时 SCC 达到 $5.6\times 10^5\text{ mL}^{-1}$,45 和 75 d 时 SCC 达到 $5.7\times 10^5\text{ mL}^{-1}$,较未治疗相比,减少了 $1.1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$;临床组、联合组和抗生素组 SCC 极显著下降($P<0.01$),临床组 SCC 由 $2.32\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 下降到 $4.5\times 10^5\text{ mL}^{-1}$,联合组 SCC 由 $4.89\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 下降到 $1.26\times 10^6\text{ mL}^{-1}$,抗生素组 SCC 由 $4.55\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 下降到 $3.7\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 。

与未治疗相比,亚临床组和抗生素组日产奶量显著升高($P<0.05$),75 d 时分别提高了 1.2 和 3.8 kg,

临床组和联合组日产奶量极显著升高 ($P < 0.01$), 75 d 时分别提高了 11.1 和 12.2 kg。

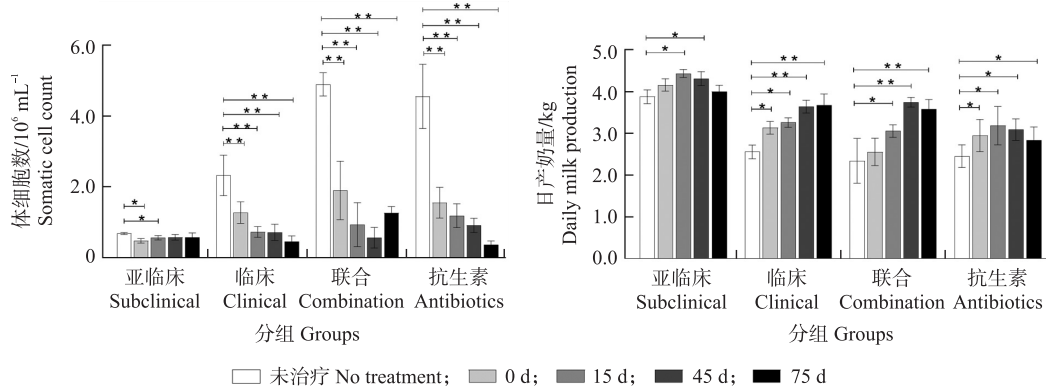


图 4 各处理组奶牛体细胞数 (SCC) 和日产奶量变化 ($n = 20$)

Fig. 4 Changes in somatic cell count (SCC) of milk and daily milk production in different treatment cows ($n = 20$)

亚临床、临床、抗生素、联合组分别代表 APT 治疗的 20 头亚临床乳房炎奶牛、APT 治疗的 20 头临床乳房炎奶牛、抗生素治疗的 20 头临床乳房炎奶牛、APT 和抗生素联合治疗的 20 头临床乳房炎奶牛。未治疗代表临床、亚临床、联合治疗和抗生素治疗各组未治疗前的奶牛。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。下同。Subclinical, clinical, antibiotics and combination, represent data from 20 cows with subclinical mastitis treated with APT, 20 cows with clinical mastitis treated with APT, 20 cows with clinical mastitis treated with antibiotics, and 20 cows with clinical mastitis treated with APT and antibiotic combination, respectively. Untreated representatives used data from cows before clinical, subclinical, combination, and antibiotic treatment. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. The same as follows.

如图 5 所示: 治疗前后乳脂、乳蛋白、乳糖和尿素氮含量无显著变化 ($P > 0.05$), 非脂固形物和总固形物也没有显著变化 ($P > 0.05$)。

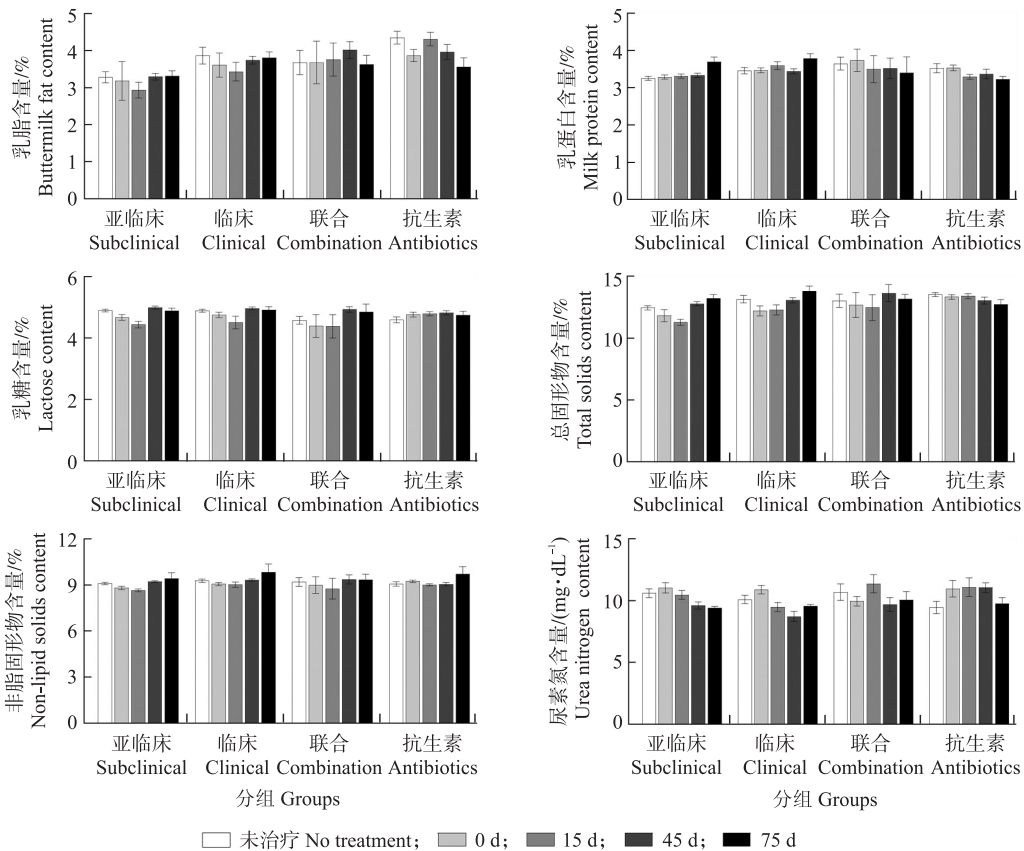


图 5 各处理组奶牛其他产奶性能指标含量变化

Fig. 5 Other milk performance content changes in different treatment cows

综上所述, 与未治疗相比, APT 治疗后患病奶牛的奶中体细胞数显著下降, 而日产奶量显著升高, 乳脂、乳蛋白、乳糖、非脂固形物、总固形物和尿素氮含量均没有显著变化。

2.2 APT 治疗对患乳房炎奶牛血液相关指标的影响

如图 6-A 所示:与健康组相比,奶牛患乳房炎后,血液中白细胞数显著升高($P<0.05$);APT 治疗后,与未治疗相比,亚临床和临床组在 0、15、45 和 75 d 时,白细胞数均显著下降($P<0.05$),75 d 时分别下降了 1.26×10^9 和 $1.69\times 10^9 L^{-1}$;联合组在 0、15、45 和 75 d 时,白细胞数极显著下降($P<0.01$),下降了 $7.23\times 10^9 L^{-1}$,且逐渐恢复正常水平。

如图 6-B 所示:奶牛患乳房炎后,与健康组相比,淋巴细胞数极显著升高($P<0.01$),APT 治疗后,与未治疗相比,亚临床组和临床组在 0、15、45 和 75 d 时,淋巴细胞数极显著下降($P<0.01$),75 d 时分别下降了 2.72×10^9 和 $6.17\times 10^9 L^{-1}$;联合组在 0、15、45 和 75 d 时,淋巴细胞数极显著下降($P<0.01$),75 d 时淋巴细胞数显著下降($P<0.05$),下降了 $4.13\times 10^9 L^{-1}$,且恢复正常水平。

如图 6-C 所示:奶牛患乳房炎后,与健康组相比,中性粒细胞数极显著升高($P<0.01$);APT 治疗后与未治疗相比,亚临床组在 0、15 和 75 d 时,中性粒细胞数显著下降($P<0.05$),75 d 时下降了 $0.14\times 10^9 L^{-1}$,45 d 时,中性粒细胞数极显著下降($P<0.01$),下降了 $0.22\times 10^9 L^{-1}$;临床组在 0、15、45 和 75 d 时,中性粒细胞数极显著下降($P<0.01$),75 d 时下降了 $0.18\times 10^9 L^{-1}$,且逐渐恢复正常水平;联合组在 0、15 和 75 d 时,中性粒细胞数显著下降($P<0.05$),75 d 时下降了 $0.15\times 10^9 L^{-1}$,在 45 d 时,中性粒细胞数极显著下降($P<0.01$),下降了 $0.13\times 10^9 L^{-1}$ 。

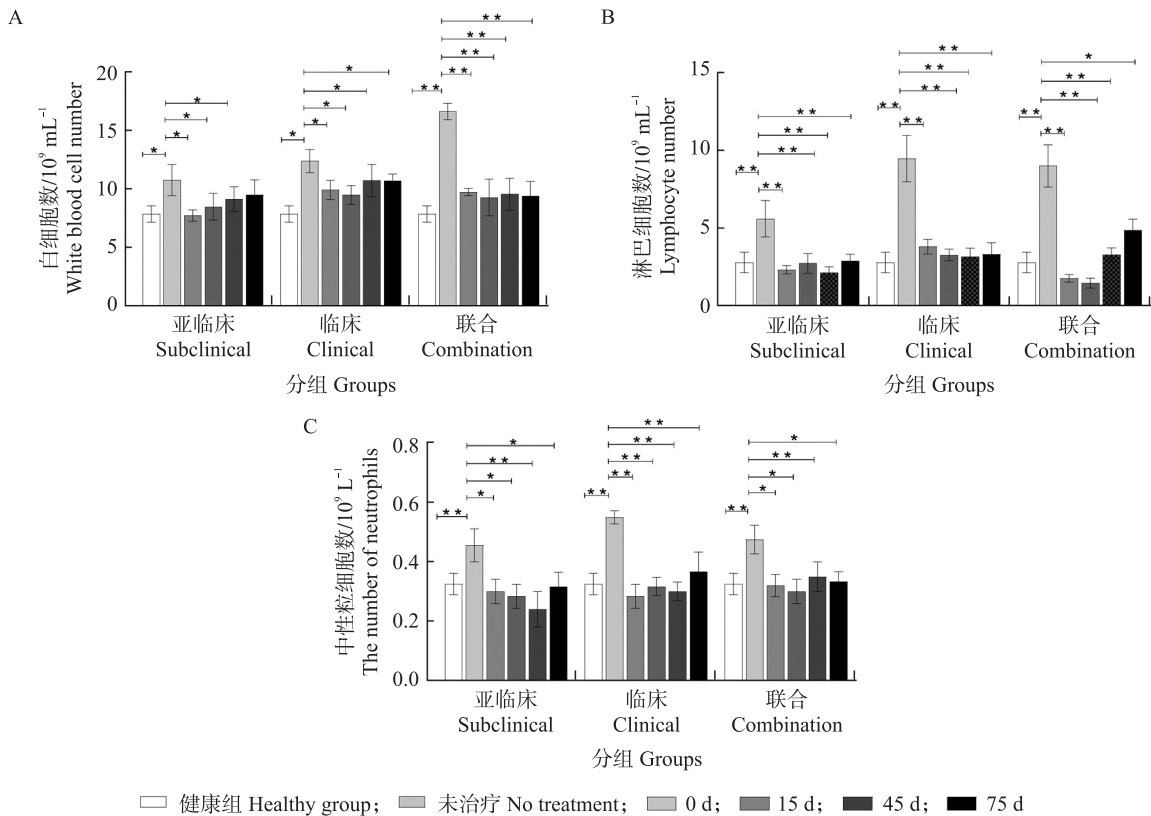


图 6 各处理奶牛血液中白细胞数(A)、淋巴细胞数(B)和中性粒细胞数(C)的变化

Fig. 6 Changes in white blood cell count(A), lymphocyte count(B) and neutrophil count(C) of blood in different treatment cows

健康组代表 20 头阴性对照组的健康奶牛。下同。

The health group represents 20 health cows that served as negative control. The same as follows.

如图 7 所示:奶牛患乳房炎后,粒细胞数、红细胞数、血红蛋白含量、红细胞压积、平均红细胞体积、平均红细胞血红蛋白含量、平均红细胞血红蛋白浓度、红细胞分布宽度、血小板数、平均血小板体积、血小板分布宽度、血小板压积和大血小板比率均无显著变化($P>0.05$)。

综上所述,APT 治疗后,与未治疗相比,白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞均显著下降,其他血液生理指标均没有显著变化。

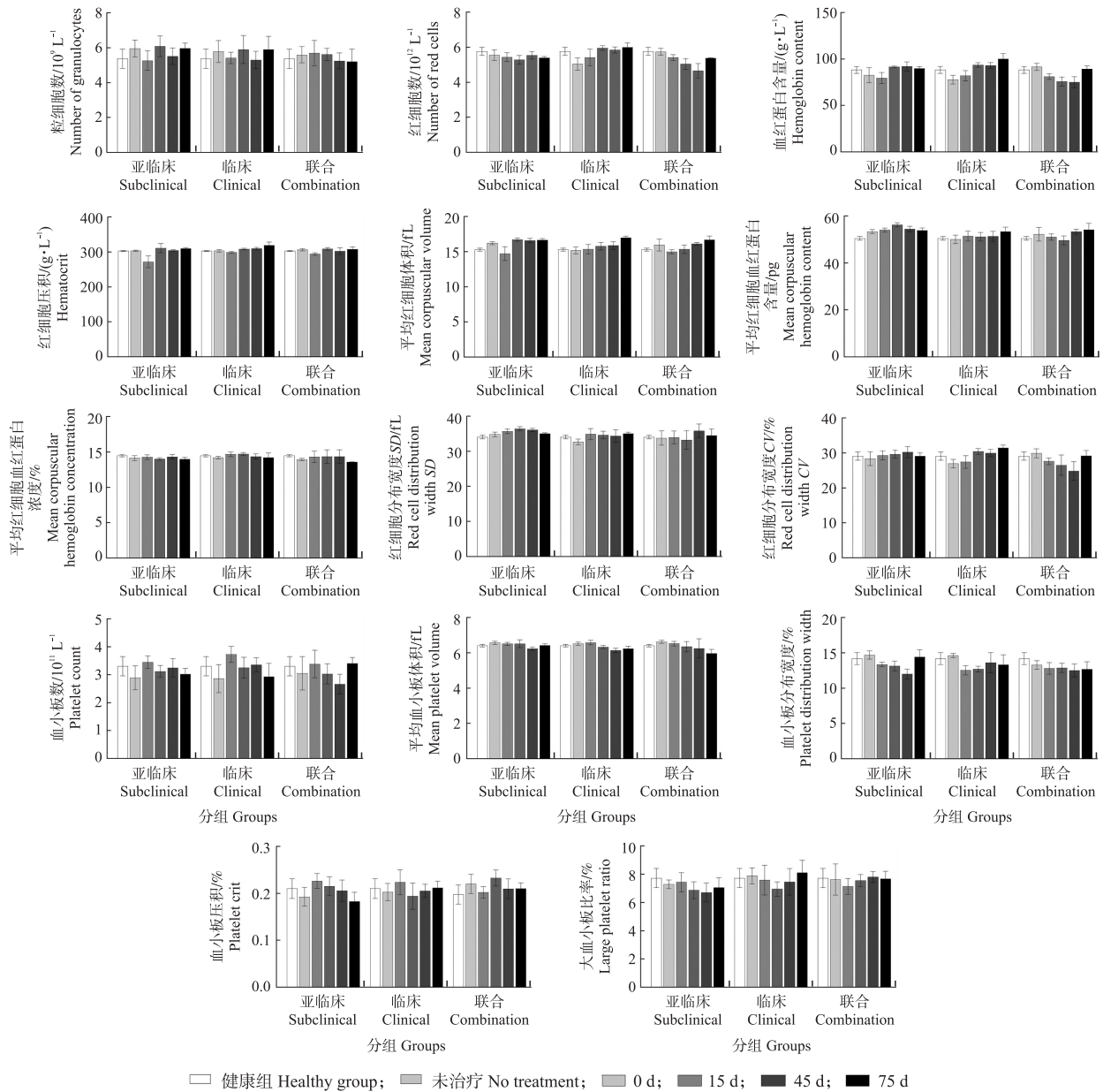


图 7 各处理奶牛其他血液相关指标变化

Fig. 7 Changes of other blood-related indexes in different treatment cows

SD: 标准差 Standard deviation; CV: 变异系数 Coefficient of variation.

2.3 APT 治疗对患乳房炎奶牛炎症相关指标的影响

如图 8 所示:奶牛患乳房炎后,炎症因子 IL-1 β 含量显著升高 ($P < 0.05$); APT 治疗后与未治疗相比,临床组 IL-1 β 含量在 45 和 75 d 呈下降的趋势 ($P > 0.05$); 亚临床组在治疗后 0 d 时,与未治疗时相比,IL-1 β 含量差异不显著 ($P > 0.05$), 治疗后 15、45 和 75 d 时,IL-1 β 含量显著降低 ($P < 0.05$), 75 d 时下降了 $27.65 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 联合组与未治疗时相比,IL-1 β 含量均差异不显著 ($P > 0.05$)。

奶牛患乳房炎后,炎症因子 IL-6 含量极显著升高 ($P < 0.01$); APT 治疗后与未治疗相比,临床组 0 d 时 IL-6 含量差异不显著 ($P > 0.05$), 15、45 和 75 d 时,IL-6 含量均显著降低 ($P < 0.05$), 75 d 时降低了 $7.4 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 亚临床组 0 d 时 IL-6 含量差异不显著 ($P > 0.05$), 15、45 和 75 d 时,IL-6 含量均显著降低 ($P < 0.05$), 75 d 时降低了 $6.21 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 联合组 0 d 时 IL-6 含量差异不显著 ($P > 0.05$), 15 d 时 IL-6 含量极显著降低 ($P < 0.01$), 降低了 $13.37 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 45 和 75 d 时,IL-6 含量均显著降低 ($P < 0.05$), 75 d 时降低了 $5.74 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

奶牛患乳房炎后,炎症因子 IL-8 含量极显著升高 ($P < 0.01$); 与未治疗相比, APT 治疗后临床组和亚临床组 0、15、45 和 75 d 时,IL-8 含量均显著下降 ($P < 0.05$), 75 d 时分别下降了 10.77 和 $6.78 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 15、45

和75 d时,IL-8含量均显著下降($P<0.05$),75 d时下降了 $10.38 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

奶牛患乳房炎后,糖皮质激素含量显著升高($P<0.05$);与未治疗相比,APT治疗后临床组糖皮质激素含量呈下降趋势,但差异不显著($P>0.05$);亚临床组在0、15、45和75 d时,糖皮质激素含量均显著下降($P<0.05$),75 d时下降了 $0.96 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$;联合组0、15和75 d时,糖皮质激素含量差异均不显著($P>0.05$),45 d时糖皮质激素含量显著下降($P<0.05$),下降了 $0.77 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

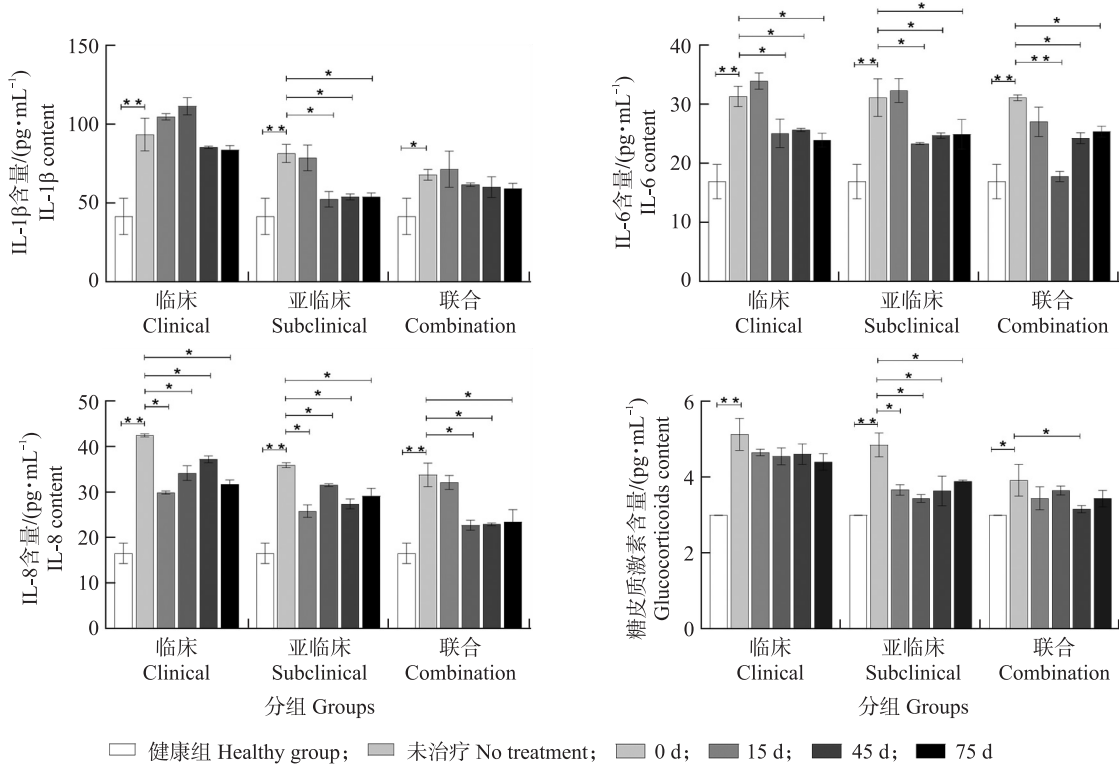


图8 不同处理组奶牛炎症相关指标含量的变化

Fig. 8 The content changes of the relevant indicators of inflammation in different treatment cows

2.4 致病菌检测结果分析

由表1可知,利用深圳市易瑞生物技术公司的八联奶牛乳房炎致病菌检测试剂盒检测后可知,APT治疗后奶牛支原体属感染未见明显变化,亚临床组和联合组金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、乳房链球菌完全消失,大肠杆菌、克雷伯氏菌和葡萄球菌明显减少。

表1 不同处理组致病菌及感染奶牛数

Table 1 Pathogenic bacteria and its infection number of cows in different treatments

项目 Project	临床(60头) Clinical groups (60 cows)					亚临床(20头) Subclinical group (20 cows)					联合(20头) Combined treatment group (20 cows)						
	未治疗 No treatment	治疗后时间/d				未治疗 No treatment	治疗时间/d				未治疗 No treatment	治疗时间/d					
		0	15	45	75		0	15	45	75		0	15	45	75		
牛支原体 <i>Mycoplasma bovis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
支原体属 <i>Mycoplasma</i>	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	20	20	0	0	0	20	12	0	5	4	20	20	0	10	10	0	0
克雷伯氏菌 <i>Klebsiella</i> spp.	20	10	10	20	10	12	8	8	15	12	20	15	0	20	0	0	0
无乳链球菌 <i>Streptococcus agalactiae</i>	20	0	0	0	0	8	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> spp.	20	20	10	0	0	20	16	20	5	4	20	20	20	10	0	0	0
乳房链球菌 <i>Streptococcus mammasii</i>	20	10	0	0	0	8	0	4	0	0	0	10	10	10	0	0	0

3 讨论

3.1 APT 治疗后奶牛产奶性能变化

当奶牛患有乳房炎后,其体细胞数升高,产奶量下降,乳成分发生变化等,牛奶中营养成分含量与健康

牛奶相比会降低,乳脂和钙含量小幅度下降^[2]。本研究中,在使用 APT 设备治疗后,牛奶中的体细胞数显著下降,日产奶量显著上升,与传统抗生素治疗相比,体细胞数极显著下降,说明 APT 技术可以有效治疗奶牛乳房炎,而乳脂、乳糖、乳蛋白等产奶性能指标含量在治疗前后无显著变化,说明 APT 治疗对牛奶中的这些指标无影响,不会降低牛奶品质,疗效与使用抗生素相当,又不导致细菌产生耐药性^[14]。综上,APT 治疗疗效好且避免了生产治疗中抗生素残留和超标导致的机体病变和环境危害^[5]。APT 的优越性使其在实际应用中会备受青睐。

3.2 APT 治疗后奶牛血液生理指标变化

本试验血样分析结果表明,奶牛在患乳房炎后,与健康组相比,血液中的白细胞数、淋巴细胞数、中性粒细胞数都会显著升高,在经过 APT 治疗后,奶牛血液中的白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞数显著下降,表明 APT 治疗可以有效缓解炎症症状。在 APT 治疗前后奶牛血液中的红细胞计数、红细胞压积、平均红细胞体积和平均红细胞体积分布宽度均与健康组无显著差异,表明 APT 治疗对奶牛红细胞无明显影响;血红蛋白、平均红细胞血红蛋白和平均红细胞血红蛋白浓度均与健康组无显著差异,说明 APT 治疗不会对奶牛的造血功能产生影响,不会造成贫血等临床症状;血小板计数、血小板压积、平均血小板体积和血小板体积分布宽度与健康组无显著差异,说明 APT 治疗不会引起奶牛凝血功能的改变。另外,临床组和联合组相比差异不显著,也就是说 APT 治疗和联合治疗疗效相当,并且合理推测联合组中 APT 有效改善了抗生素治疗带来的弊端——细菌耐药性。考虑到抗生素残留对健康的潜在危害,未来是否可以用 APT 取代传统治疗抗生素,这也是我们需要进一步研究的问题。

3.3 APT 治疗后奶牛炎症相关指标变化

本文酶联免疫测定结果表明,奶牛在患乳房炎后 IL-1 β 、IL-6、IL-8 的含量显著升高。在 APT 治疗后,与对照组相比,临床组和联合组 IL-1 β 含量无显著变化,但是呈逐渐下降的趋势。亚临床组 IL-1 β 含量显著降低,IL-6 含量显著下降,IL-8 含量显著下降,说明 APT 治疗可以有效激活机体自身的免疫能力,清除致病菌,可以减少促炎细胞因子的分泌,缓解奶牛的乳房炎症状。奶牛发生乳房炎后,与健康奶牛相比,机体内糖皮质激素含量显著升高。在 APT 治疗后,与对照组相比,只有亚临床组糖皮质激素含量显著下降,临床组和联合组糖皮质激素含量呈下降趋势但并不显著,可能原因是临床组和联合组乳房炎症状较严重,APT 治疗后恢复较为缓慢,还需要糖皮质激素发挥抗炎作用^[21],故其含量下降不明显。

3.4 APT 治疗后奶牛乳房炎致病菌变化

本文乳房炎分析结果表明,使用 APT 治疗可以激活奶牛自身的免疫能力,清除致病菌,达到治疗或者缓解奶牛乳房炎的效果。APT 治疗通过将冲击波传导到损伤区域,刺激小动脉重构和新生小动脉的生长。新生的血管可以提高损伤部位的血流、氧含量,在降低炎症反应的情况下,加快伤口的愈合速度,提高组织的功能^[16,22],但是对于环境中反复存在的支原体等环境性病原体引起的乳房炎,治疗效果并不理想,在使用抗生素和 APT 联合治疗后,也无法完全消除。因此解决措施还是应通过改善牛舍环境,对感染的病牛生活过的空间及时消杀,从而达到预防和治疗的目的。

4 结论

本研究对患乳房炎奶牛创新性使用 APT 治疗,根据奶牛的产奶性能、血液生理指标、炎症相关指标、乳房炎致病菌等方面变化可知,使用 APT 治疗可以在激发奶牛免疫力的基础上,促进乳房新生血管的形成,使奶牛的乳房功能恢复的同时提高产奶性能,降低机体内炎症细胞和炎症因子水平,减少奶牛乳房炎所带来的损失。因此,APT 可以用于治疗奶牛乳房炎。

参考文献 References:

- [1] 夏振海,谢本华,何生平,等. TaqMan 探针-荧光定量 PCR 筛查奶牛乳房炎主要致病菌的研究[J]. 中国奶牛,2021(7):42-48.
Xia Z H, Xie B H, He S P, et al. Screening of main pathogenic bacteria of dairy mastitis by TaqMan probe-based fluorescence quantitative PCR[J]. Chinese Dairy Cattle, 2021(7):42-48(in Chinese).
- [2] 王德香,李红宇,王树茂,等. 利用 DHI 体细胞数指标管控规模化奶牛场乳房炎[J]. 现代畜牧科技,2017(9):8-10.
Wang D X, Li H Y, Wang S M, et al. Using DHI somatic cell count index to control mastitis in large-scale dairy farm[J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2017(9):8-10(in Chinese).
- [3] 张官祥. 奶牛乳房炎引发的经济损失[J]. 农业技术与装备,2009(7):32-33.

- Zhang G X. Economic losses caused by mastitis in dairy cows[J]. *Agricultural Technology & Equipment*,2009(7):32-33(in Chinese).
- [4] Blum S E, Heller D E, Jacoby S, et al. Author correction: physiological response of mammary glands to *Escherichia coli* infection: a conflict between glucose need for milk production and immune response[J]. *Scientific Reports*,2021,11:5398.
- [5] 侯薄,王卫,付智星,等. 养禽业抗生素使用现状及无抗养殖研究进展[J]. *食品工业*,2017,38(8):216-220.
Hou B, Wang W, Fu Z X, et al. On the status of antibiotics usage and the progress in antibiotic-free breeding in poultry farming[J]. *The Food Industry*,2017,38(8):216-220(in Chinese with English abstract).
- [6] 麻志峰. 牛乳房炎影响因素及防控措施[J]. *畜牧兽医科学(电子版)*,2022(22):185-186,204.
Ma Z F. Influencing factors and prevention and control measures of bovine mastitis[J]. *Graziery Veterinary Sciences(Electronic Version)*,2022(22):185-186,204(in Chinese with English abstract).
- [7] de Girolamo L, Stanco D, Galliera E, et al. Soft-focused extracorporeal shock waves increase the expression of tendon-specific markers and the release of anti-inflammatory cytokines in an adherent culture model of primary human tendon cells[J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*,2014,40(6):1204-1215.
- [8] Ito K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Extracorporeal shock wave therapy for ischemic cardiovascular disorders [J]. *American Journal of Cardiovascular Drugs*,2011,11(5):295-302.
- [9] Holfeld J, Tepeköylü C, Blunder S, et al. Low energy shock wave therapy induces angiogenesis in acute hind-limb ischemia via VEGF receptor 2 phosphorylation[J]. *PLoS One*,2014,9(8):e103982.
- [10] Tara S, Miyamoto M, Takagi G, et al. Low-energy extracorporeal shock wave therapy improves microcirculation blood flow of ischemic limbs in patients with peripheral arterial disease:pilot study[J]. *Journal of Nippon Medical School*,2014,81(1):19-27.
- [11] Waugh C M, Morrissey D, Jones E, et al. *In vivo* biological response to extracorporeal shockwave therapy in human tendinopathy[J]. *European Cells & Materials*,2015,29:268-280.
- [12] Mantovani A, Biswas S K, Galdiero M R, et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling[J]. *The Journal of Pathology*,2013,229(2):176-185.
- [13] Yip L, Woehrlé T, Corriden R, et al. Autocrine regulation of T-cell activation by ATP release and P2X7 receptors[J]. *FASEB Journal*,2009,23(6):1685-1693.
- [14] Leitner G, Zilberman D, Papiro E, et al. Assessment of acoustic pulse therapy (APT), a non-antibiotic treatment for dairy cows with clinical and subclinical mastitis[J]. *PLoS One*,2018,13(7):e0199195.
- [15] Wang C J, Yang K D, Wang F S, et al. Shock wave treatment shows dose-dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of the femur[J]. *Bone*,2004,34(1):225-230.
- [16] Mariotto S, de Prati A C, Cavalieri E, et al. Extracorporeal shock wave therapy in inflammatory diseases: molecular mechanism that triggers anti-inflammatory action[J]. *Current Medicinal Chemistry*,2009,16(19):2366-2372.
- [17] Crowe O, Dyson S J, Wright I M, et al. Treatment of 45 cases of chronic hindlimb proximal suspensory desmitis by radial extracorporeal shockwave therapy[J]. *Medicine*,2020,12(10):322-325.
- [18] Johnson J E, McClure S R, Liskey C C. Shockwave therapy for treatment of a burn injury in a horse[J]. *Equine Veterinary Education*,2010,22(2):67-72.
- [19] 余诗强,李留学,赵小博,等. 不同泌乳阶段和体细胞水平的中国荷斯坦奶牛泌乳性能差异和相关性研究[J]. *畜牧兽医学报*,2023,54(3):1003-1014.
Yu S Q, Li L X, Zhao X B, et al. Differences and correlations of lactation performance in Chinese Holstein dairy cows at different lactation stages and somatic levels[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*,2023,54(3):1003-1014(in Chinese with English abstract).
- [20] Yu T C, Junger W G, Yuan C J, et al. Shockwaves increase T-cell proliferation and IL-2 expression through ATP release, P2X7 receptors, and FAK activation[J]. *American Journal of Physiology Cell Physiology*,2010,298(3):C457-C464.
- [21] 韩晓英. 噻托溴铵联合激素吸入治疗哮喘-慢阻肺重叠综合征的临床效果[J]. *临床合理用药*,2024,17(2):83-85,92.
Han X Y. Clinical effect of tiotropium bromide combined with hormone inhalation on asthma-COPD overlap syndrome[J]. *Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use*,2024,17(2):83-85,92(in Chinese).
- [22] Huang C Y, Holfeld J, Schaden W, et al. Mechanotherapy: revisiting physical therapy and recruiting mechanobiology for a new era in medicine[J]. *Trends in Molecular Medicine*,2013,19(9):555-564.

责任编辑:周广礼