

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.06.06

卡洛芬注射液辅助治疗牛细菌性呼吸疾病的疗效研究

刘静^{1,2}, 王玉欣^{1,2}, 宋婷婷^{1,2*}, 耿智霞^{1,2}, 贾兴^{1,2},
郭李珉^{1,2}, 刘欣^{1,2}, 魏占勇^{1,2}, 曹兴元³

(1. 河北远征药业有限公司, 石家庄 050041; 2. 河北省兽药技术创新中心, 石家庄 050041; 3. 中国农业大学, 北京 100083)

[收稿日期] 2023-10-20 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 06-0047-11 [中图分类号] S859.79

[摘要] 为评价卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗牛呼吸道疾病 (bovine respiratory disease, BRD) 的效果, 并确定合理的给药剂量, 试验选择 64 头患呼吸道疾病的牛, 随机分为 A、B 两组, 每组 32 头, 其中 A 组皮下注射给予泰拉霉素注射液 (推荐剂量 2.5 mg/kg · bw), 同时肌内注射给予卡洛芬注射液 (II 期临床试验确认剂量 1.4 mg/kg · bw); B 组只皮下注射给予泰拉霉素注射液 (推荐剂量 2.5 mg/kg · bw)。所有试验牛各种药均只给予 1 次。试验期间观察记录各组牛的临床症状, 并对其进行评分; 通过对各试验牛的炎症因子、致病菌、特定病原抗原/抗体的检测, 评价卡洛芬注射液对牛呼吸道疾病的辅助治疗效果。试验结果显示, 相比于单独使用泰拉霉素注射液, 卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗 BRD 可以在更短时间内消除牛体内病原菌感染带来的炎症反应; 泰拉霉素注射液单独使用或与卡洛芬注射液联用治疗 BRD, 给药 3 d 病牛的血清 PCT 浓度均明显下降 ($P < 0.05$), 但两药联用的下降速度更加显著 ($P < 0.05$)。结果表明, 临床上推荐卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用, 皮下注射, 一次量为 1.4 mg/kg · bw, 可有效辅助治疗牛呼吸道疾病。

[关键词] 卡洛芬; 牛呼吸道疾病; 临床疗效

Study on the Adjuvant Treatment of Bovine Respiratory Diseases by Carprofen Injection

LIU Jing^{1,2}, WANG Yu-xin^{1,2}, SONG Ting-ting^{1,2*}, GENG Zhi-xia^{1,2}, JIA Xing^{1,2},
GUO Li-min^{1,2}, LIU Xin^{1,2}, WEI Zhan-yong^{1,2}, CAO Xing-yuan³

(1. Hebei Yuanzheng Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050041, China; 2. Hebei Technology Innovation Center of Veterinary Drugs, Shijiazhuang 050041, China; 3. China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Corresponding author: SONG Ting-ting, E-mail: 1831219739@qq.com

Abstract: The trial was designed to evaluate the efficacy of carprofen injection combined with telamycin injection in the treatment of bovine respiratory disease (BRD) and to determine the appropriate dose to administer. Six -

作者简介: 刘静, 工程师, 从事药物制剂研究。

通讯作者: 宋婷婷。E-mail: 340466336@qq.com

four cattle with BRD, randomly divided into 2 groups, groups A and B, with 32 cows each, among them, group A was administered subcutaneously telamycin injection (recommended dose 2.5 mg/kg·bw) and carprofen injection (phase II confirmed dose 1.4 mg/kg·bw), group B was administered subcutaneously telamycin injection (recommended dose 2.5 mg/kg·bw). All drugs were given only once in all test cattle. The clinical symptoms of each group were recorded during the trial and scored it; the adjuvant treatment efficacy of carprofen injection on bovine respiratory diseases was evaluated by the detection of inflammatory factors, pathogenic bacteria and specific pathogen antigens/antibodies in each test cattle. The results showed that carprofen injection combined with thalamycin injection to treat BRD could eliminate the inflammatory response from pathogen infection in cattle in a shorter time than thalamycin injection alone; Using thalamycin injection alone or in combination with carprofen injection for BRD, the serum PCT concentration in sick cattle decreased significantly ($P < 0.05$), but the decrease in the two drugs was more significant ($P < 0.05$). The results showed that carprofen injection is clinically recommended in combination with telamycin injection, one dose, 1.4 mg/kg·bw, which can effectively assist in the treatment of bovine respiratory diseases.

Key words: carprofen; dairy cow; bovine respiratory disease; clinical efficacy

细菌或病毒等病原体引发的牛呼吸道疾病 (bovine respiratory disease, BRD) 为牛的常发病,是造成全世界养牛业经济损失的主要原因之一。引起 BRD 的病原菌主要有多样杀性巴氏杆菌、溶血性曼氏杆菌、睡眠嗜组织菌等,病毒有牛疱疹病毒 1 型 (BHV-1)、副流感 III 型病毒 (PI-3)、牛呼吸道合胞体病毒 (BRSV) 等。无论是原发性细菌感染或是病毒引起的牛体免疫力低下而继发性细菌感染,均会引起肺炎,临床表现为发热、精神萎靡、咳嗽流涕、食欲减退甚至废绝,机体消瘦等症状,若治疗不及时,将影响牛的生长发育,甚至导致死亡,给牛场带来严重损失。目前临床上常依靠抗菌药物或合并使用解热镇痛抗炎药物治疗牛呼吸道疾病^[1-3]。

卡洛芬 (carprofen) 是 2-芳基丙酸类非甾体抗炎药 (NSAIDs), 是花生四烯酸级联酶环加氧酶的抑制剂,通过抑制前列腺素合成而发挥抗炎、镇痛、解热作用。其作用强于阿司匹林、保泰松、对乙酰氨基酚、布洛芬,且具有吸收快、副作用小等特点。卡洛芬注射液于 20 世纪 70 年代由美国辉瑞公司开发,是高效的动物用抗炎药,已在美国、加拿大和欧洲多个国家广泛用于辅助治疗牛呼吸道疾病和急性乳腺炎。在使用抗菌药的同时联合使用卡洛芬注射液,可以快速缓解病牛发热并显著降低肺组

织炎症反应。

BRD 是我国奶牛和肉牛的常发病,而对于牛的炎性疾病,兽医临床上在抗菌治疗的同时,常辅助使用非甾体类抗炎药以控制炎症发展,缩短恢复期,减小损失^[4-5]。但目前市场上进行辅助治疗的抗炎药相对缺乏,因此就卡洛芬注射液与抗菌药联合应用进行了研究,以提高 BRD 的治疗水平。

1 材料方法

1.1 药品与试剂 卡洛芬注射液,河北远征药业有限公司,规格:每 100 mL:5 g;批号:KLF020902。泰拉霉素注射液(瑞可新),法瑞瓦公司法国生产商 (Fareva Ambois),规格:50 mL:5 g;批号:B575806。牛疱疹病毒 1 型抗原 (BHV1 Ag) ELISA 试剂盒;牛副流感病毒 3 型抗原 (PIV-3 Ag) ELISA 试剂盒;牛呼吸道合胞病毒抗原 (BRSV Ag) ELISA 试剂盒;牛支原体抗体 (Mycoplasma Ab) ELISA 试剂盒。

1.2 仪器设备 Biotek synergy2 酶标仪 (伯腾); MJX-160B-Z 型酶标板孵育温箱 (上海博迅实业有限公司)。

1.3 试验动物 64 头 BRD 荷斯坦母牛由江苏省丰县康宏牧业有限公司提供,年龄 50~190 日龄。

1.4 入选标准与动物分组 对目标牛群(已确诊

正在发生 BRD 的牛群)中的病牛进行临床检查(测量体温并按标准进行 BRD 五项症状评分),按试验牛入选标准(体温 ≥ 39.5 °C,且 BRD 五项症状评分之和 ≥ 5)和排除标准(入选前 21 d 内接受过抗菌药和/或抗炎药治疗;病重或垂死,不太可能通过单一用药治疗得到改善;因并发疾病需要额外的

抗菌药和/或抗炎药治疗接种过试验药物靶细菌疫苗;怀孕或泌乳牛)进行筛选。随机分为 2 组,分别为 A、B 组,每组 32 头,即卡洛芬注射液与泰拉菌素注射液联合用药组(A 组)、泰拉菌素注射液单独用药组(B 组)。试验分组与给药信息见表 1。

表 1 试验病牛给药方案

Tab 1 The dosing program of the experimental sick cattle

组别	给药品种	给药剂量	给药方式
A	卡洛芬注射液	1.4 mg/kg · bw (相当于 1 mL/35 kg · bw)	颈部皮下注射,只用药 1 次
	泰拉霉素注射液	2.5 mg/kg · bw (相当于 1 mL/40 kg · bw)	颈部皮下注射(每个注射部位不超过 7.5 mL),只用药 1 次
B	泰拉霉素注射液	2.5 mg/kg · bw (相当于 1 mL/40 kg · bw)	颈部皮下注射(每个注射部位不超过 7.5 mL),只用药 1 次

2 观察和测定指标

2.1 临床检查 试验期间,对试验牛进行临床检查,测量体温,按 BRD 五项症状评分法系统^[8]对试验牛的发热、咳嗽、鼻孔分泌物、眼分泌物、耳朵状况分别进行评分,做好记录。各项评分标准见表 2。

2.2 注射部位疼痛评分与异常反应观察 从 D0 给药后到 D7,每日对试验牛注射部位的疼痛情况进行检查与评分,做好记录。疼痛评分标准见表 3。同时观察试验牛注射部位是否出现异常情况(如水肿、硬结、蜂窝织炎、血肿、脓肿、坏死等),对出现的任何异常反应进行记录(出现时间、严重程度和持续时间等)。

表 3 注射部位疼痛评分标准

Tab 3 Clinical score criteria of Pain at the injection site

观察项目	评分标准	评分
疼痛	无疼痛(注射部位及个体无任何异常表现)	0
	轻度疼痛(注射部位偶尔出现皮肤肌肉震颤/痉挛)	1
	中度疼痛(注射部位肌肉明显震颤/痉挛,出现磨蹭注射部位等动作)	2
	重度疼痛(出现摇头,跳动,地上打滚,发出哀鸣等)	3

表 2 BRD 五项症状评分标准

Tab 2 Score criteria of BRD five symptoms

观察项目	评分标准	评分
发热	正常(<39.5 °C)	0
	轻度(39.5 ~ 40.5 °C)	1
	中度(40.6 ~ 41.0 °C)	2
	严重(>41.0 °C)	3
鼻孔分泌物	正常(正常水样分泌物)	0
	轻度(单侧鼻孔少量白色分泌物)	1
	中度(双侧鼻孔多量白色分泌物)	2
咳嗽	严重(双侧鼻孔大量粘液脓性分泌物)	3
	正常(无咳嗽)	0
	轻度(触捏喉头单次咳嗽)	1
眼分泌物	中度(触捏喉头反复咳嗽或偶尔自然咳嗽)	2
	严重(无需触捏喉头就反复自然咳嗽)	3
	正常(明亮无任何分泌物)	0
耳朵状况	轻度(有少量分泌物)	1
	中度(双眼多量分泌物)	2
	严重(双眼大量分泌物)	3
正常不会出现咳嗽	正常(两耳扇动正常)	0
	轻度(不断扇耳及摇头)	1
	中度(单侧耳耷拉)	2
	严重(头歪斜或双侧耳耷拉)	3

用左手拇指、食指和中指在喉头部位反复轻捏刺激诱发咳嗽,正常不会出现咳嗽

2.3 炎症因子检测 分别在 D0、D3、D7,采集两组每头试验病牛的血液样品制备血清,使用专用 ELISA 试剂盒;牛降钙素原(PCT)检测试剂盒检测降钙素原(PCT)浓度水平。检测方法按各 ELISA 试剂盒说明书和酶标仪操作规程进行,做好检测记录。

2.4 BRD 致病菌检测

2.4.1 样品采集 在 D0(给药前),采集所有入选试验牛的鼻拭子;在 D14(试验结束日),采集所有未退出试验牛的鼻拭子;在 D1 ~ D14,若有试验牛退出试验,在当天采集退出牛的鼻拭子。

2.4.2 细菌分离鉴定 将运送回实验室盛放鼻拭子的肉汤试管用涡动仪充分震荡洗脱(若为肺部病料则剪碎后加 5 mL 的 TSB 肉汤震荡),用接种环蘸取悬液在含 5% 脱纤羊血的 BHI 琼脂上划线,将培养皿置于含 5% CO₂ 的培养箱内 37 °C 静置培养 24 ~ 48 h,挑取平板上不同形态的典型菌落进行革兰氏染色镜检,并转接到含 5% 牛血清的 BHI 肉汤进行纯培养,保存以待鉴定。纯化后进行 PCR 扩增电泳,将扩增子送测序公司(北京擎科生物科技有限公司)测序,获得序列后上网(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行序列比对(BLAST),鉴定细菌种。

2.5 BRD 特定病原抗原/抗体检测 在牛群 BRD 诊断环节,从发生 BRD 的牛群中随机选择 30 头病牛(包括死亡/重症剖检牛和可能入选的试验牛),采集血液样品(10 ~ 20 mL)。做好血样标记和采样记录。将血液样品静置凝血后通过离心制备血清(约 3 mL),将血清转移至保存管中,做好标记,将血清样品低温(2 ~ 8 °C)转运至实验室进行血清学分析。

2.6 数据统计与分析 选择 SPSS 软件包中合适的统计程序进行数据分析。各组试验牛的体温、体温恢复正常时间、BRD 五项症状评分、BRD 症状解除时间、PCT 浓度、注射部位疼痛评分、日增重等,分别以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *T* 检验或非参检验进行统计分析;各组试验牛的病原菌检出率、体温降幅、体温异常减少率、血清 PCT 浓度降

幅、死亡率、D7 治疗成功率、D14 治疗成功率、后期复发率、注射部位异常反应发生率、不良反应发生率等,分别以百分率(%)表示,采用卡方(X^2)检验进行统计分析。比较组内不同时间点和/或组间相同时间点上述指标的差异显著性,所有假设检验均在 0.05 显著性水平进行。

2.7 疗效评价指标 试验结束后,通过比较 A 组和 B 组的体温降幅、体温恢复正常牛占比、体温恢复正常时间、BRD 五项症状评分降幅、BRD 症状解除牛占比、BRD 症状解除时间、血清 PCT 浓度降幅、D7 治疗成功率等指标评估卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗牛呼吸道疾病(BRD)的效果。

3 结果与分析

3.1 临床观察 试验牛在 D0、D1 ~ D7 上下午、D14 的体温测量值以及发热、鼻孔分泌物、咳嗽、眼分泌物、耳朵状况等 BRD 五项症状评分。

3.1.1 试验牛体温测量结果 统计 A、B 组试验牛的体温均值和体温降幅均值,结果见表 4;统计 A、B 组的体温恢复正常牛占比,结果见表 5;统计 A、B 组试验牛的体温恢复正常时间范围与均值以及 50% 和 90% 试验牛体温恢复正常时间,结果见表 6。

统计数据显示,A、B 组试验牛体温恢复正常时间范围均为 0.5 ~ 2.5 d,而体温恢复正常时间均值分别为 0.88 d 和 1.54 d,A 组显著快于 B 组($P < 0.05$)。另外,A 组 50% 和 90% 试验牛体温恢复正常时间分别为 1.0 d 和 1.5 d,B 组 50% 和 90% 试验牛体温恢复正常时间分别为 1.5 d 和 2.5 d,A 组比 B 组快 0.5 d ~ 1.0 d。

3.1.2 试验牛 BRD 五项症状评分结果 参照表 2 进行评分,统计两组试验牛 BRD 五项症状(发热、鼻孔分泌物、咳嗽、眼分泌物、耳朵状况)评分之和的均值和降幅,结果见表 7;计算 D1 ~ D7 上、下午 A、B 两组 BRD 症状解除牛数占比,结果见表 8;统计 A、B 组试验牛的 BRD 症状解除所需时间范围、均值以及 50% 和 90% 试验牛 BRD 症状解除所需时间,结果见表 9。

表 4 试验牛体温和体温降幅统计 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Body temperature and temperature drop statistics of experimental cattle

检查时间	试验牛体温/°C		试验牛体温降幅/%	
	A 组	B 组	A 组	B 组
D0	40.27 ± 0.46 ^{Aa} (n = 32)	40.25 ± 0.4 ^{Aa} (n = 32)	0.0 ^{Aa} (n = 32)	0.0 ^{Aa} (n = 32)
D1	AM 39.53 ± 0.52 ^{Ab} (n = 32)	39.92 ± 0.53 ^{Bb} (n = 32)	1.85 ± 1.12 ^{Ab} (n = 32)	0.82 ± 0.99 ^{Bb} (n = 32)
	PM 39.08 ± 0.55 ^{Ab} (n = 32)	39.65 ± 0.61 ^{Bb} (n = 32)	2.97 ± 1.12 ^{Ab} (n = 32)	1.47 ± 1.46 ^{Bb} (n = 32)
D2	AM 38.81 ± 0.43 ^{Ab} (n = 31)	39.35 ± 0.54 ^{Bb} (n = 31)	3.55 ± 1.16 ^{Ab} (n = 31)	2.15 ± 1.4 ^{Bb} (n = 31)
	PM 38.86 ± 0.46 ^{Ab} (n = 31)	39.04 ± 0.62 ^{Ab} (n = 30)	3.43 ± 1.44 ^{Ab} (n = 31)	2.92 ± 1.49 ^{Ab} (n = 30)
D3	AM 38.81 ± 0.25 ^{Ab} (n = 30)	38.84 ± 0.29 ^{Ab} (n = 28)	3.53 ± 1.25 ^{Ab} (n = 30)	3.39 ± 1.17 ^{Ab} (n = 28)
	PM 39.02 ± 0.17 ^{Ab} (n = 30)	38.86 ± 0.23 ^{Bb} (n = 28)	3.01 ± 1.09 ^{Ab} (n = 30)	3.33 ± 1.09 ^{Ab} (n = 28)
D4	AM 38.82 ± 0.24 ^{Ab} (n = 30)	38.74 ± 0.26 ^{Ab} (n = 28)	3.51 ± 1.14 ^{Ab} (n = 30)	3.63 ± 1.18 ^{Ab} (n = 28)
	PM 38.83 ± 0.34 ^{Ab} (n = 30)	38.98 ± 0.25 ^{Ab} (n = 28)	3.46 ± 1.6 ^{Ab} (n = 30)	3.03 ± 1.14 ^{Ab} (n = 28)
D5	AM 38.99 ± 0.28 ^{Ab} (n = 30)	38.92 ± 0.29 ^{Ab} (n = 28)	3.07 ± 1.22 ^{Ab} (n = 30)	3.19 ± 1.12 ^{Ab} (n = 28)
	PM 38.95 ± 0.25 ^{Ab} (n = 30)	38.98 ± 0.27 ^{Ab} (n = 28)	3.19 ± 1.23 ^{Ab} (n = 30)	3.04 ± 1.14 ^{Ab} (n = 28)
D6	AM 38.79 ± 0.3 ^{Ab} (n = 30)	38.78 ± 0.27 ^{Ab} (n = 28)	3.58 ± 1.36 ^{Ab} (n = 30)	3.53 ± 1.16 ^{Ab} (n = 28)
	PM 38.75 ± 0.23 ^{Ab} (n = 30)	38.97 ± 0.25 ^{Bb} (n = 28)	3.68 ± 0.94 ^{Ab} (n = 30)	3.07 ± 1.06 ^{Ab} (n = 28)
D7	AM 39.07 ± 0.16 ^{Ab} (n = 30)	38.84 ± 0.22 ^{Bb} (n = 28)	2.89 ± 1.3 ^{Ab} (n = 30)	3.38 ± 1.26 ^{Ab} (n = 28)
	PM 38.75 ± 0.25 ^{Ab} (n = 30)	38.7 ± 0.27 ^{Ab} (n = 28)	3.68 ± 1.18 ^{Ab} (n = 30)	3.72 ± 1.03 ^{Ab} (n = 28)
D14	38.77 ± 0.22 ^{Ab} (n = 30)	38.85 ± 0.31 ^{Ab} (n = 28)	—	—

(1) 括号内 n 值表示该时间点观测试验牛数。(2) 体温降幅 (%) = [(D0 上午试验牛体温 - 其他观测日上下午试验牛体温) / D0 上午试验牛体温] × 100; (3) 体温和体温降幅数据的组间和组内差异性比较采用 T 检验; 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)、有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 5 体温恢复正常牛占比统计

Tab 5 Statistics on the percentage of cows whose body temperature returns to normal

检查时间	体温恢复正常牛占比/%	
	A 组	B 组
D0	0 ^{Aa} (0/32)	0 ^{Aa} (0/32)
D1	AM 43.75 ^{Ab} (14/32)	9.38 ^{Ba} (3/32)
	PM 81.25 ^{Ab} (26/32)	31.25 ^{Bb} (10/32)
D2	AM 90.32 ^{Ab} (28/31)	54.84 ^{Bb} (17/31)
	PM 93.55 ^{Ab} (29/31)	76.67 ^{Ab} (23/30)
D3	AM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D4	AM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
	PM 96.67 ^{Ab} (29/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D5	AM 100 ^{Ab} (30/30)	92.86 ^{Ab} (26/28)
	PM 96.67 ^{Ab} (29/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D6	AM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D7	AM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)

体温恢复正常牛占比 (%) = (D0 ~ D7、D14 各日上下午组内体温恢复正常牛数 / 当日组内试验牛数) × 100; 体温恢复正常牛占比的组间和组内差异性比较采用卡方检验 (χ^2), 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)、有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 6 试验牛体温恢复正常时间统计

Tab 6 Statistics on the time of experimental cattle whose body temperature returns to normal d

组别	体温恢复时间	$\bar{x} \pm s$	50% 试验牛体温恢复正常时间	90% 试验牛体温恢复正常时间
A 组 ($n=30$)	0.5 ~ 2.5	0.88 ± 0.86 ^A	1.0	1.5
B 组 ($n=28$)	0.5 ~ 2.5	1.54 ± 0.64 ^B	1.5	2.5

(1) 括号内 n 值表示该时间点观测试验牛数。(2) 体温恢复正常时间组间差异性比较采用 T 检验, 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 7 试验牛五项症状评分和及降幅统计 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 7 Five symptom scores and reduction statistics in test cattle

检查时间	BRD 五项症状评分和/°C		BRD 五项症状评分和降幅/%	
	A 组	B 组	A 组	B 组
D0	5.66 ± 0.97 ^{Aa} ($n=32$)	5.75 ± 0.72 ^{Aa} ($n=32$)	0 ^{Aa} ($n=32$)	0 ^{Aa} ($n=32$)
D1	AM 2.34 ± 0.87 ^{Ab} ($n=32$)	2.91 ± 0.3 ^{Bb} ($n=32$)	58.49 ± 15.39 ^{Ab} ($n=32$)	48.93 ± 7.00 ^{Bb} ($n=32$)
	PM 1 ± 1.19 ^{Ab} ($n=32$)	2.5 ± 0.76 ^{Bb} ($n=32$)	83.89 ± 18.56 ^{Ab} ($n=32$)	56.67 ± 12.51 ^{Bb} ($n=32$)
D2	AM 0.35 ± 0.8 ^{Ab} ($n=31$)	2.06 ± 0.96 ^{Bb} ($n=31$)	93.62 ± 15.47 ^{Ab} ($n=31$)	64.30 ± 15.98 ^{Bb} ($n=31$)
	PM 0.19 ± 0.91 ^{Ab} ($n=31$)	1.27 ± 1.31 ^{Bb} ($n=30$)	96.31 ± 18.06 ^{Ab} ($n=31$)	77.95 ± 23.40 ^{Bb} ($n=30$)
D3	AM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0.14 ± 0.36 ^{Bb} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	97.38 ± 6.56 ^{Bb} ($n=28$)
	PM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0 ± 0 ^{Ab} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=28$)
D4	AM 0.03 ± 0.18 ^{Ab} ($n=30$)	0.11 ± 0.42 ^{Ab} ($n=28$)	99.58 ± 2.28 ^{Ab} ($n=30$)	98.38 ± 6.15 ^{Ab} ($n=28$)
	PM 0.03 ± 0.18 ^{Ab} ($n=30$)	0.04 ± 0.19 ^{Ab} ($n=28$)	99.33 ± 3.65 ^{Ab} ($n=30$)	99.49 ± 2.70 ^{Ab} ($n=28$)
D5	AM 0.03 ± 0.18 ^{Ab} ($n=30$)	0.14 ± 0.45 ^{Ab} ($n=28$)	99.33 ± 3.65 ^{Ab} ($n=30$)	97.70 ± 7.32 ^{Ab} ($n=28$)
	PM 0.07 ± 0.25 ^{Ab} ($n=30$)	0 ± 0 ^{Ab} ($n=28$)	98.86 ± 4.41 ^{Ab} ($n=30$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=28$)
D6	AM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0.04 ± 0.19 ^{Ab} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	99.29 ± 3.78 ^{Ab} ($n=28$)
	PM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0.04 ± 0.19 ^{Ab} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	99.40 ± 3.15 ^{Ab} ($n=28$)
D7	AM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0 ± 0 ^{Ab} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=28$)
	PM 0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0 ± 0 ^{Ab} ($n=28$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=30$)	100 ± 0.00 ^{Ab} ($n=28$)
D14	0 ± 0 ^{Ab} ($n=30$)	0 ± 0 ^{Ab} ($n=28$)	—	—

(1) 括号内 n 值表示该时间点观测试验牛数。(2) BRD 五项症状评分和降幅 (%) = [(D0 试验牛 BRD 五项症状评分和 - 其他观测日上午试验牛 BRD 五项症状评分和) / D0 试验牛 BRD 五项症状评分和] × 100; (3) BRD 五项症状评分和及降幅数据的组间和组内差异性比较采用 T 检验; 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 8 BRD 症状解除牛占比统计

Tab 8 Statistics on the proportion of cows with relieved BRD symptoms

检查时间	BRD 症状解除牛占比/%	
	A 组	B 组
D0	0 ^{Aa} (0/32)	0 ^{Aa} (0/32)
D1	AM 6.25 ^{Aa} (2/32)	0 ^{Aa} (0/32)
	PM 48.39 ^{Ab} (15/32)	0 ^{Ba} (0/32)
D2	AM 77.42 ^{Ab} (24/31)	6.45 ^{Ba} (2/31)
	PM 93.55 ^{Ab} (29/31)	30.00 ^{Bb} (9/30)
D3	AM 100 ^{Ab} (30/30)	85.71 ^{Bb} (24/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D4	AM 96.67 ^{Ab} (29/30)	92.86 ^{Ab} (26/28)
	PM 96.67 ^{Ab} (29/30)	96.43 ^{Ab} (27/28)
D5	AM 96.67 ^{Ab} (29/30)	89.29 ^{Ab} (25/28)
	PM 93.33 ^{Ab} (28/30)	100 ^{Ab} (28/28)
D6	AM 100 ^{Ab} (30/30)	96.43 ^{Ab} (27/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	96.43 ^{Ab} (27/28)
D7	AM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)
	PM 100 ^{Ab} (30/30)	100 ^{Ab} (28/28)

BRD 症状解除牛占比 (%) = (各检测日上午组内 BRD 症状解除牛数 / 当日组内试验牛数) × 100; BRD 症状解除牛占比的组间和组内差异性比较采用卡方检验 (χ^2), 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 9 试验牛 BRD 症状解除时间统计

Tab 9 Statistics on the relieved time of BRD symptoms in experimental cattle d

组别	症状接触时间	$\bar{x} \pm s$	50% 试验牛 BRD 症状解除时间	90% 试验牛 BRD 症状解除时间
A 组 (n = 30)	0.5 ~ 2.5	1.33 ± 0.48 ^A	1.5	2.5
B 组 (n = 28)	1.5 ~ 3.0	2.37 ± 0.40 ^B	2.5	3.0

(1) 括号内 n 值表示该时间点观测试验牛数。(2) 试验牛 BRD 症状解除时间组间差异性比较采用 T 检验, 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 (P > 0.05), 有不同大写字母表示差异显著 (P < 0.05)

统计数据显示, A 组五项症状评分之和均显著低于 B 组 (P < 0.05), 而五项症状评分之和显著高于 B 组。在 D3 ~ D7 及试验结束日 (D14), 未退出试验牛的 BRD 症状基本解除并保持健康状态, A、B 两组之间无明显差异 (P > 0.05)。单独使用推荐剂量 (2.5 mg/kg · bw) 的泰拉霉素注射液, BRD 症状解除时间平均为 2.37 d, 50% 和 90% 试验牛 BRD 症状解除时间分别为 2.5 d 和 3.0 d。在使用泰拉霉素注射液的同时单次皮下注射推荐剂量 (1.4 mg/kg · bw) 的卡洛芬注射液 BRD 症状解除时间平均为 1.33 d, 50% 和 90% 试验牛 BRD 症状解除时间分别为 1.5 d 和 2.5 d。

3.2 试验牛注射部位疼痛评分与异常反应发生情况 试验期间观察记录牛注射部位的疼痛评分和异常反应, 参照表 3 进行评分, 结果显示卡洛芬注射液对用药牛注射部位的刺激性较小。单次颈部皮下注射 1.4 mg/kg · bw 剂量的卡洛芬注射液, 仅个别牛在注射部位出现短暂性的轻微疼痛, 未见水肿、硬结、蜂窝织炎、血肿、脓肿、坏死等异常反应。

3.3 试验牛采集样品实验室检测结果

3.3.1 试验牛血清降钙素原 (PCT) 浓度检测结果 采集 A、B 两组试验牛在 D0、D3 和 D7 的血液样品并制备血清, 测定血清 PCT 浓度。统计血清 PCT 浓度降幅结果见表 10。

表 10 试验牛血清 PCT 浓度检测结果及其降幅统计 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 10 Statistical results of serum PCT concentration and its decrease in experimental cattle

检测时间	血清 PCT 浓度 / (ng · L ⁻¹)		血清 PCT 浓度降幅 / %	
	A 组	B 组	A 组	B 组
D0	176.7 ± 13.6 ^{Aa} (n = 32)	174.2 ± 2.1 ^{Aa} (n = 32)	0.0 ^{Aa} (n = 32)	0.0 ^{Aa} (n = 32)
D3	54.4 ± 7.2 ^{Ab} (n = 30)	69.3 ± 18.2 ^{Bb} (n = 28)	68.9 ± 4.7 ^{Ab} (n = 30)	59.5 ± 11.3 ^{Bb} (n = 28)
D7	54.8 ± 4.78 ^{Ab} (n = 30)	55.8 ± 5.0 ^{Ab} (n = 28)	68.6 ± 4.1 ^{Ab} (n = 30)	67.3 ± 5.5 ^{Ab} (n = 28)

(1) 括号内 n 值表示该时间点观测试验牛数。(2) 血清 PCT 浓度数据组间和组内差异性比较采用 T 检验; 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 (P > 0.05), 有不同大写字母表示差异显著 (P < 0.05); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 (P > 0.05), 有不同小写字母表示差异显著 (P < 0.05)。(3) 血清 PCT 浓度降幅 (%) = [(D0 试验牛血清 PCT 浓度 - D3/D7 试验牛血清 PCT 浓度) / D0 试验牛血清 PCT 浓度] × 100; 血清 PCT 浓度降幅数据组间和组内差异性比较采用 T 检验, 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 (P > 0.05), 有不同大写字母表示差异显著 (P < 0.05); 组内其他时间点与 D0 比较, 有相同小写字母表示差异不显著 (P > 0.05), 有不同小写字母表示差异显著 (P < 0.05)

在 D0, A、B 两组试验牛的 PCT 浓度组间对比无显著差异 (P > 0.05)。在 D3, 两组未退出试验牛的 PCT 浓度分别下降至 54.4 和 69.3 pg/mL, A 组 PCT 浓度显著低于 B 组 (P < 0.05), 降幅显著高于 B 组 (P < 0.05)。在 D7 (用药后), 两组未退出

试验牛的 PCT 浓度分别为 54.8 和 55.8 pg/mL, 两组 PCT 浓度均恢复至正常范围, 组间对比无显著差异 (P > 0.05)。

3.3.2 试验牛鼻拭子细菌分离鉴定结果 采集 D0 试验牛、D14 未退出试验牛、D1 ~ D13 试验牛退

出当日鼻拭子,进行细菌分离鉴定。部分试验牛鼻拭子样品的菌落形态、菌株染色镜检形态、菌株序

列及比对 (Blast) 结果见图 1 - 图 6; 所有试验牛鼻拭子的细菌分离鉴定结果统计见表 11。

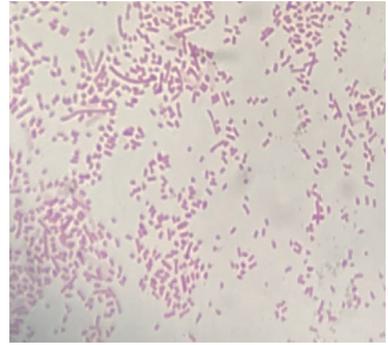


图 1 试验牛鼻拭子 TSA 琼脂血平板培养长出的菌落形态 (多杀巴氏杆菌)

图 2 试验牛鼻拭子分离菌株革兰染色镜检形态 (多杀巴氏杆菌)

Fig 1 Morphology of colonies grown by culture of TSA agar blood plates from test bovine nasal swabs (*Pasteurella multocida*)

Fig 2 Gram - stained microscopic morphology of test bovine nasal swab isolates (*Pasteurella multocida*)

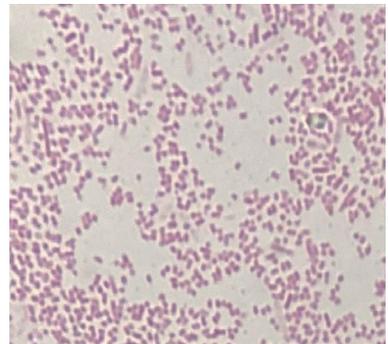


图 3 试验牛鼻拭子 TSA 琼脂血平板培养长出的菌落形态 (溶血曼氏杆菌)

图 4 试验牛鼻拭子分离菌株革兰染色镜检形态 (溶血曼氏杆菌)

Fig 3 Morphology of colonies grown in culture on TSA agar blood plates from test bovine nasal swabs (*Mansonia haemolytica*)

Fig 4 Gram - stained microscopic morphology of test bovine nasal swab isolates (*Mannheimia haemolytica*)

表 11 试验牛鼻拭子细菌分离鉴定结果统计

Tab 11 Statistics on the isolation and identification of bacteria from nasal swabs of test cattle

采样时间	组别	鼻拭子各种/类细菌分离率/%			
		多杀巴氏杆菌	溶血曼氏杆菌	睡眠嗜组织菌	其它细菌
D0 (给药前)	A	34.4 ^{Aa} (11/32)	21.9 ^{Aa} (7/32)	0(0/32)	100 ^{Aa} (32/32)
	B	31.3 ^{Aa} (10/32)	18.8 ^{Aa} (6/32)	0(0/32)	100 ^{Aa} (32/32)
D14 (试验结束日)	A	6.3 ^{Ab} (2/30)	0 ^{Ab} (0/30)	0(0/30)	100 ^{Aa} (30/30)
	B	7.1 ^{Ab} (2/28)	0 ^{Ab} (0/28)	0(0/28)	100 ^{Aa} (28/28)

(1) 其他细菌 - 包括肺炎克雷伯菌、链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌、芽孢杆菌等。(2) 组间相同时间点和组内不同时间点数据差异性比较采用卡方检验 (X^2)。 (3) 组间相同时间点有相同大写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)、有不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) ; 组内不同时间点有相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$) , 有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Pasteurella multocida strain VP161 chromosome_complete genome	Pasteurella multocida	1456	8737	100%	0.0	99.87%	2246076	CP048792.1
Pasteurella multocida strain CQ2 chromosome_complete genome	Pasteurella multocida	1456	8715	100%	0.0	99.87%	2363600	CP033599.1
Pasteurella multocida strain Q chromosome_complete genome	Pasteurella multocida	1456	8708	100%	0.0	99.87%	2278563	CP033597.1
Pasteurella multocida strain PM22 chromosome_complete genome	Pasteurella multocida	1456	8709	100%	0.0	99.87%	2345387	CP045724.1
Pasteurella multocida subsp_galicida strain MA150_16S_ribosomal RNA gene_partial sequence	Pasteurella multocida subsp_g...	1456	1456	100%	0.0	99.87%	953	MN588319.1
Pasteurella multocida strain LSBS1_16S_ribosomal RNA gene_partial sequence	Pasteurella multocida	1456	1456	100%	0.0	99.87%	1446	MN090875.1
Pasteurella multocida strain PM 8.6 chromosome_c complete genome	Pasteurella multocida	1456	8647	100%	0.0	99.87%	2448652	CP040918.1
Pasteurella multocida subsp_multocida strain HN01 chromosome_complete genome	Pasteurella multocida subsp...	1456	8737	100%	0.0	99.87%	2349898	CP037861.1
Pasteurella multocida strain FC783 chromosome_complete genome	Pasteurella multocida	1456	8732	100%	0.0	99.87%	2325022	CP038875.1

图 5 试验牛鼻拭子分离株 16S rRNA 基因序列比对 (BLAST) 结果 (多杀巴氏杆菌)

Fig 5 Results of 16S rRNA gene sequence alignment (BLAST) of test bovine nasal swab isolates (Pasteurella multocida)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Mannheimia haemolytica strain NCTC10643 genome assembly_chromosome_1	Mannheimia haemolytica	1633	9801	100%	0.0	100.00%	2335738	LR134495.1
Mannheimia glucosida strain P733_CCUG 38460_16S_ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia glucosida	1633	1633	100%	0.0	100.00%	1504	AF053892.1
Mannheimia glucosida strain H62_16S_small subunit ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia glucosida	1616	1616	100%	0.0	99.66%	1517	DQ301921.2
Mannheimia glucosida strain P933_16S_small subunit ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia glucosida	1611	1611	100%	0.0	99.55%	1504	DQ301923.1
Pasteurella haemolytica strain PH344_serotype A11_16S_rRNA gene	Mannheimia haemolytica	1611	1611	100%	0.0	99.55%	1471	U57067.1
Mannheimia glucosida strain CCUG 38457_16S_ribosomal RNA_partial sequence	Mannheimia glucosida	1609	1609	100%	0.0	99.32%	1362	NR_115214.1
Pasteurella haemolytica strain PH192_serotype UG3_16S_rRNA gene	Mannheimia haemolytica	1607	1607	100%	0.0	99.32%	1471	U57069.1
Mannheimia glucosida strain BR1441_16S_ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia glucosida	1600	1600	98%	0.0	99.88%	1464	KT222023.1
Mannheimia glucosida strain P741_16S_small subunit ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia glucosida	1600	1600	100%	0.0	99.32%	1504	DQ301922.2
Mannheimia glucosida strain P925_16S_ribosomal RNA_partial sequence	Mannheimia glucosida	1596	1596	100%	0.0	99.21%	1504	NR_024896.1
Mannheimia haemolytica strain NIVEDI/MHS-4_16S_ribosomal RNA gene_partial sequence	Mannheimia haemolytica	1585	1585	99%	0.0	99.09%	1439	KU598687.1

图 6 试验牛鼻拭子分离株 16S rRNA 基因序列比对 (BLAST) 结果 (溶血曼氏杆菌)

Fig 6 Results of 16S rRNA gene sequence alignment (BLAST) of test bovine nasal swab isolates (Mannheimia haemolytica)

统计数据表明,单次皮下注射推荐剂量的泰拉霉素注射液,给药 14 d 病牛鼻拭子的多杀巴氏杆菌、溶血曼氏杆菌分离率显著下降;在使用泰拉霉素注射液的同时单次皮下注射推荐剂量的卡洛芬注射液,对泰拉霉素注射液抑杀 BRD 病牛体内致病菌无促进作用。

3.3.3 试验牛血清 BRD 特定病原抗原/抗体检测结果 采集 D0 试验牛、D14 未退出试验牛以及试验期间退出试验牛(退出当日)的血液样品,制备血清,

使用牛疱疹病毒 I 型(BHV - 1)、牛副流感病毒 3 型(PI - 3)、牛呼吸道合胞病毒(BRSV)抗原 ELISA 试剂盒以及牛支原体(MB)抗体 ELISA 试剂盒进行检测。所有样品的检测结果均为阴性,证明试验牛不存在 BHV - 1、PI - 3、BRSV 等病毒和牛支原体感染。

3.4 试验牛的治疗成功率、后期复发率及死亡率统计 A、B 组试验牛的治疗成功率、D14 治疗成功率、D8 ~ D14 期间复发率和 D0 ~ D14 死亡率,结果见表 12。

表 12 试验牛的治疗成功率、后期复发率及死亡率统计

Tab 12 Statistics of treatment success and late recurrence and mortality of test cattle

组别	牛数/头	D7 治疗成功率/%	D14 治疗成功率/%	D8 ~ D14 复发率/%	D0 ~ D14 死亡率/%
A	35	93.8(30/32)	93.8(30/32)	0(0/30)	0(0/32)
B	35	87.5(28/32)	87.5(28/32)	0(0/28)	0(0/32)

(1) 括号内分子为组内治疗成功/复发/死亡牛数,分母为组内用药牛数。(2) D7 治疗成功率(%) = (D7 治疗成功试验牛数/接受治疗试验牛数) × 100; D14 治疗成功率(%) = (D14 治疗成功试验牛数/接受治疗试验牛数) × 100; 后期复发率(%) = (D8 ~ D14 复发试验牛数/D7 判定治疗成功试验牛数) × 100。(3) D7 治疗成功率、D14 治疗成功率、死亡率差异性组间比较采用卡方检验(χ^2),结果差异均不显著($P > 0.05$)

上述统计数据表明,卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗 BRD,可小幅提高病牛的治疗成功率。单次皮下注射推荐剂量的泰拉霉素注射液,给药 7 d BRD 病牛的治疗成功率为 87.5% (28/32),治疗成功牛 7 d 内未见病情反复;在使用泰拉霉素注射液的同时单次皮下注射推荐剂量的卡洛芬注射液,给药 7 d BRD 病牛的治疗成功率为 93.8% (30/32),治疗成功牛 7 d 内也未见病情反复。

4 分析讨论

BRD 是一种传染性强、致病因素复杂的疾病,给全世界的养牛业造成了巨大的经济损失。犊牛或育肥牛常因运输、天气等外界因素引起应激^[9-10],继而引起细菌和支原体感染,引起呼吸道症状,甚至导致死亡。而对于牛的炎性疾病,在兽医临床常辅助使用非甾体类抗炎药^[11-12],以控制炎症发展,改善牛的全身状况,减轻动物临床症状,缩短疾病恢复期。兽医临床常用的非甾体抗炎药有氟尼辛葡甲胺、美洛昔康及酮洛芬等,这些药物在牛疾病治疗过程中存在给药次数多,剂量大,弃奶期长,副作用大等问题。卡洛芬是动物专用的抗炎药,具有较强的抗炎、镇痛、解热作用,兽医临床使用具有吸收快、副作用小,且在牛奶中不残留,弃奶期为 0 h。

本研究表明,卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗 BRD,可以让病牛发热、咳嗽、流涕等症状在更短时间内获得缓解及至解除,缩短疾病恢复期($P < 0.05$);相比于单独使用泰拉霉素注射液,卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用治疗 BRD 可以在更短时间内消除牛体病原菌感染带来的炎症反应,使异常的血清 PCT 浓度下降速度更加显著。

5 结论

卡洛芬注射液与泰拉霉素注射液联用辅助治疗 BRD 病牛安全、有效,临床中可推广应用。推荐与泰拉霉素注射液联用,皮下注射,推荐剂量为以卡洛芬计 1.4 mg/kg · bw(相当于每 35 kg 体重 1 mL)。

参考文献:

- [1] 郭爱珍. 牛呼吸疾病综合征及其防治[J]. 中国奶牛, 2011, 24: 7-11.
Guo A Z. Bovine respiratory disease syndrome and its prevention [J]. China Dairy Cattle, 2011, 24: 7-11.
- [2] 纪苏荣, 王光伟, 卡斯旦, 等. 犊牛呼吸道混合感染疾病的防治[J]. 新疆畜牧业, 2019, 34: 41-43.
Ji S R, Wang G W, Ka S D, et al. Prevention and treatment of mixed respiratory tract infections in calves[J]. Xinjiang Animal Husbandry, 2019, 34: 41-43.
- [3] 唐虹. 肉牛呼吸道疾病综合征的病因分析、临床症状、剖检变化与防治[J]. 现代畜牧科技, 2021, 11: 110-111.
Tang H. Etiological analysis, clinical symptoms, changes of autopsy and prevention of respiratory syndrome in beef cattle[J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2021, 11: 110-111.
- [4] Elitok B, Elitok O M. Clinical efficacy of carprofen as an adjunct to the antibacterial treatment of bovine respiratory disease[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2004, 27 (5): 317-320.
- [5] Lockwood P W, Johnson J C, Katz T L. Clinical efficacy of flunixin, carprofen and ketoprofen as adjuncts to the antibacterial treatment of bovine respiratory disease [J]. The Veterinary Record, 2003, 152 (13): 392-394.
- [6] 农业部公告第 1247 号, 2009. 抗菌药物 II、III 期临床药效评价试验指导原则[Z].
Ministry of Agriculture Bulletin No. 1247, 2009. Guidelines for Phase II and III clinical efficacy evaluation trials of antimicrobials[Z].
- [7] 农业部公告第 2337 号, 2015. 兽药临床试验质量管理规范[Z].
Ministry of Agriculture Bulletin No. 2337, 2015. Good quality management for veterinary drug clinical trial[Z].
- [8] Peer J. Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves[J]. 2014, 2: 238.
- [9] 陈晨, 董朕, 吴灵玉, 等. 注射用头孢噻唑钠对自然感染细菌性牛呼吸道疾病的治疗试验研究[J]. 中国兽医学, 2021, 8: 1-12.
Chen Cn, Dong L, Wu L Y, et al. Experimental study on the treatment of ceftiofur sodium for injection on natural bacterial respiratory diseases in cattle[J]. Chinese Veterinary Science, 2021, 8: 1-12.

- [10] Holger Heuer, Martin Krsek, Paul Baker, *et al.* Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel - electrophoretic separation in denaturing gradients [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(8): 3233 - 3241.
- [11] Wael El - Deeb, Ibrahim Elsohaby, Mahmoud Fayez, *et al.* Use of procalcitonin, neopterin, haptoglobin, serum amyloid A and proinflammatory cytokines in diagnosis and prognosis of bovine respiratory disease in feedlot calves under field conditions [J]. *Acta Tropica*, 2020, 204: 105336.
- [12] 陆一鸣. 降钙素原 PCT 感染诊治新技术——早期诊断、快速鉴别、及时评估感染程度、指导抗生素使用[J/OL]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2013, 7 (03): 129 - 131.
- Lu Y M. A new technique for diagnosis and treatment of procalcitonin PCT infection: early diagnosis, rapid identification, timely evaluation of infection degree and guidance of antibiotic use [J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases(Electronic Edition)*, 2013, 7 (03): 129 - 131.

(编辑:李文平)