

血清抗体分析与禽场疫病监测 与病例讨论

美国礼来公司禽病研习班
2014. 01. 03

血清抗体分析与禽场疫病监测

美国礼来公司禽病研习班
2014. 01. 03

动保中心血清抗体水平监测

家禽生产医学-血清学检测

- 在固定实验室采用相同检测方式
- 在特定鸡场及鸡种
- 采用固定的免疫程序
- 检测样品数需具代表性
- 尝试建立该场的抗体基准线

为何要检测鸡群的抗体

- 了解母源抗体的高低及均匀度
- 监控免疫程序之成效
- 进而建立禽群抗体基准线
- 当有异常抗体时立即发出警讯
- 辅助回溯疾病诊断之参考

种鸡血清抗体检测项目

- ELISA試驗
AI/IBD/IB/Reo/ILT/CAV/MG/MS
- HI試驗
AI/ND/EDS
平板凝集試驗
PD

肉鸡血清抗体检测项目

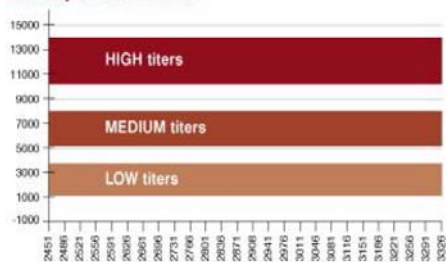
- ELISA試驗
AI/IBD/IB/Reo
- HI試驗
AI/ND

IDEXX



Graph 1

FlockChek® Infectious Bronchitis Disease
Antibody Test Kit Baseline



IDEXX 力價參考值

IDEXX Production
Animal Services

TEST	VACCINE TYPE	MEAN TITER	WEEKS AFTER VACCINATION	MEAN TITER DAY-OLD CHICKS
AE	Live	3000 - 4000	5 - 8 Wks	-
IBV	Live	1000 - 4000	3 - 5 Wks	-
	Inactivated	5000 - 16000	5 - 8 Wks	2000 - 6000
IBD	Live	1000 - 4000	3 - 5 Wks	-
	Inactivated	4000 - 20000	5 - 8 Wks	3000 - 10000
NDV	Live	1000 - 4000	3 - 5 Wks	-
	Inactivated	10000 - 32000	5 - 8 Wks	5000 - 15000
REO	Live	2000 - 4000	3 - 5 Wks	-
	Inactivated	4000 - 10000	5 - 8 Wks	3000 - 9000

Based on two times live priming and one time inactivated boosting at 16-18 weeks, 1:500 dilution
Titer may vary according to type of birds, vaccine type, vaccination program etc.

*接种二次活毒疫苗后于16-18周龄以死毒疫苗补强

IDEXX
LABORATORIES
IDEXX LABORATORIES, INC. 200

SYNBIOTICS



Pfizer Animal Health

Chicken ProFLOCK ELISA Kits

- Avian Encephalomyelitis
- Avian Influenza *Plus*
- Avian Leukosis Virus *Plus*-Antigen
- Avian Leukosis Virus *Plus* Subgroup J
- Avian Reovirus
- Chicken Anemia Virus *Plus*
- Infectious Bronchitis Virus
- Infectious Bursal Disease
- Infectious Bursal Disease *Plus*
- Infectious Laryngotracheitis
- MG
- MS
- MG/MS
- Newcastle Disease Virus *Plus*
- Pasteurella multocida

Pfizer Animal Health

Synbiotics 保護性力價參考值

TARGET SYNBIOTICS ELISA TITERS

Synbiotics ELISA titer values and corresponding conventional test titers below are considered to be "adequate/protective". These values should serve only as guidelines for adult breeder flocks that have received both live and killed vaccinations. Protection titers will vary depending on a variety of factors including severity of challenge strain, environmental stresses, age, geographic location, vaccine, etc.

	Synbiotics ELISA	Conventional Test
CHICKEN	IBD > 3,000	VN 600
	IBD+ > 4,000	VN 600
	IBV > 5,000	HI 100
	NDV+ > 1,800	HI 40
	REO > 1,700	VN 40
	ILT > 2,000	VN 16
	AE > 5,000	AGP+
	PM > 2,500	AGP+

Pfizer Animal Health

IBD titer ranges for various IBD vaccines

Vaccines	ProFLOCK Titer		
	Min	Average	Max
IBD			
VACUTEX	0	500-1000	1500
D78	500	1500-2000	4000
Winterfold-2512	1500	2700-3200	4500
BC	2500	3900	6000
E228	2000	3200	5500
Inactivated	5000	> 9000	20000
IBV			
H-120	0	1000-1500	3000
Ma5	500	1000-2000	3500
4/91 (CR88, IB var)	1500	2000-3000	6000
Inactivated	4500	> 9000	20000
NDV			
B1 (C2)	0	500-750	1500
Avinrow	500	1000-2000	3500
Boron-74 VGNK	500	2000-2500	4000
LaSota	2000	5000-7000	10000
Inactivated	10000	> 15000	25000

Pfizer Animal Health



检测前预期的结果

BIOCHEK VACCINATION BASELINES BROILERS

Titer values may vary according to age and type of bird, vaccine type, vaccination program, and other factors such as placement program. You may find different results under different circumstances.

TEST	VACCINE	MEAN TITER RANGE	SUSPECT
TITER	TYPE	AT PROCESSING (35D-40D)	INFECTION
IBV	live, 1x (H120)	500 - 1,500	> 3,000
	live, 1x (MA5, IB Primer)	1,000 - 2,000	> 4,000
	live, 2x (H120)	1,000 - 2,000	> 4,000
	live, 2x (MA5, IB Primer)	1,000 - 4,000	> 6,000
	live, 2x (H120 + 4/91, or H120 + CR88)	5,000 - 6,000	> 9,000
NDV	live, 2x Dr. Water (Close 30, NDV, LaSota)	2,000 - 5,000	
	live, 2x Spray (Close 30, NDV, LaSota)	4,000 - 8,000	
	Inact. 01D - 2x Live LaSota	8,000 - 12,000	
REO	none		positive and > 4,000*
AKT	live, A strain	1,000 - 2,000	
	live, B strain	1,000 - 4,000	
ORT	none	negative	positive and > 3,000*

* REO: Suspect Titer of non-vaccinated birds with potentially more virulent strains.
* ORT: Mean Titers > 3,000 often correlate with clinical disease.

These guidelines are based on our experience and information from our clients.
BioChek does not accept any responsibility for the results using these guidelines.

检测前预期的结果

BIOCHEK IBD VACCINATION BASELINES BROILERS

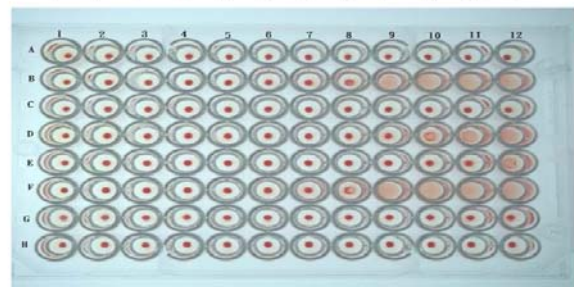
Titer values may vary according to age and type of bird, vaccine type, vaccination program, and other factors such as placement program. You may find different results under different circumstances.

TEST	VACCINE	MEAN TITER RANGE	SUSPECT TITER
	TYPE	AT PROCESSING (35D-40D), WHEN VACCINATED IN PRESENCE OF MATERNAL ANTIBODIES	OF INFECTION, OR WHEN VACCINATED WITHOUT PRESENCE OF MATERNAL ANTIBODIES
IBD	Intermediate vaccines, up to 2x live vaccination:		
	Burina-2	2,500 - 6,500	> 9,000
	D78, Ceva Gambo L, Avipro precis, Burina-2	2,500 - 8,000	> 10,000
	Gallivac IBD	3,000 - 9,000	> 11,000
	Intermediate vaccines, up to 3x live vaccination:		
	Burina-2	4,000 - 7,500	> 10,000
	Intermediate Plus vaccines, 1x application:		
	224E, Bursa plus	6,000 - 10,000	> 14,000
	Ceva IBD L, Vialimur Inst. BG,	6,000 - 12,000	> 14,000
	Abic MB	6,000 - 14,000	> 16,000
	Intermediate Plus vaccines, 2x application:		
	224E	8,000 - 14,000	> 16,000
	Immune Complex Vaccines		
	Transimmune IBD (In Ovo vac., or 01D s.c.)	5,000 - 14,000	
	Recombinant Vector Vaccines		
	Vaxxitek HVT-IBD (In Ovo vac., or 01D s.c.)	500 - 3,000	> 6,000

These guidelines are based on our experience and information from our clients.
BioChek does not accept any responsibility for the results using these guidelines.

血球凝集抑制HI试验

2x 4x 8x 16x 32x 64x 128x 256x 512x 1024x 2048x 4096x
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

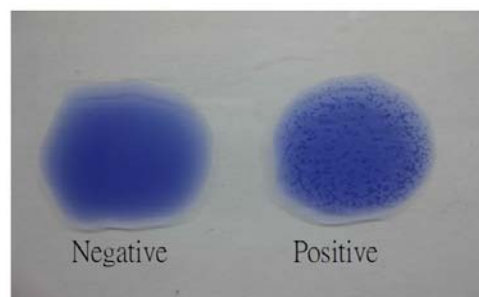


平板凝集试验 PD/MG/MS



19

平板凝集试验 PD/MG/MS



20

血清样本送检的注意事项

- 抽血的血量：至少 2 ml
- 血清样本的数量：依族群数量为定 (20只)
- 血清样本保存的温度：4℃-8℃
- 自送或邮寄血清样本



家禽血清抗体如何判读

- AMn: 算数平均值(mean)
- GMn: 几何平均值(GMT)
- SD: 标准偏差值
- CV: 变异系数(%CV)
- Min: 最小值
- Max: 最大值

家禽血清抗体如何判读

- 抗体力价的高低
 - 算数平均(mean)
 - 几何平均(GMT)

算数平均力价 (AMT):
$$\frac{A + B + C}{3}$$

(适用于力价较平均时)

几何平均力价 (GMT):
$$\sqrt[3]{A \times B \times C}$$

(适用于力价较不平均时)

血清力价均匀度之判读

- 抗体的整齐度:以变异系数(%CV)评估
- $CV < 30\%$ = 非常均匀
- 30-50% = 均匀
- 50-80% = 勉强均匀
- $> 80\%$ = 不均匀
- $> 150\%$ = 非常不均匀

抗体检测的时间建议

- **肉鸡**:至少两次
分别在1-4日龄, 4-5周龄。
- **种小鸡**:至少检测三-四次。
分别在1-4日龄, 5-6周龄, 11-13周龄或产蛋前完成最后免疫后3-4周龄。
- **产蛋种鸡**:产蛋后至少每1-2个月一次。

血清学检测数据判读

- 需完整免疫接种的时间方法及疫苗厂牌
- 免疫后1-3周间可测得抗体
- 发病时抗体低或无
- 配对血清样本再确认
- 难以区分疫苗免疫或野外毒感染的抗体

台湾动保中心抗体力价参考值

种鸡场	ND (HI)	IBD	IB	ILT	REO
• 异常	2048	> 10000	> 20000	> 2000	> 10000
• 安全	32-512	> 5000	> 5000	> 500	> 5000
• 危险	< 32	< 3000	< 3000		< 2000

肉鸡场	ND (HI)	IBD	IB	ILT	REO
• 异常	256	> 3000	> 5000	> 500	> 2000
• 安全	16-256	> 1000	> 1000		
• 危险	8	< 300	< 1000		

依使用套组而异

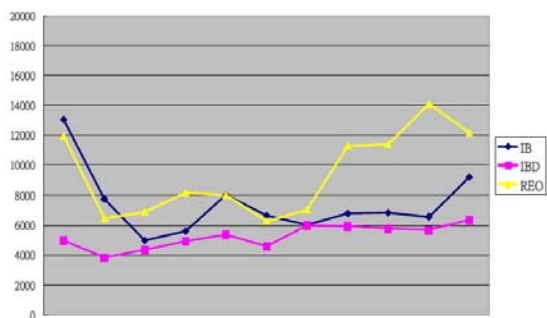
评估免疫成效

- 指将疾病造成的伤害降到最低
- 评估方式差异性大
- 鸡群育成率及饲效率
- 一般以无发病及死亡作为标准
- 检测抗体产生情形及均匀度
- 现场野外毒检出评估

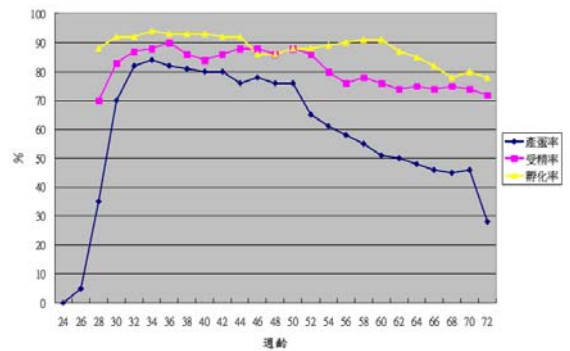
建立禽群抗体基准线

- 建立抗体ELISA值与禽群生产性能的关系
- 利用抗体数据用于流行病学调查

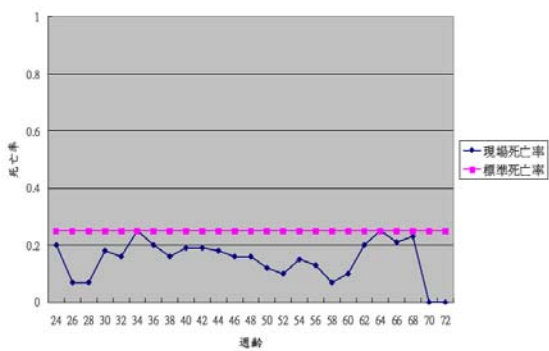
种鸡血清抗体定期监测建立农场基础数据



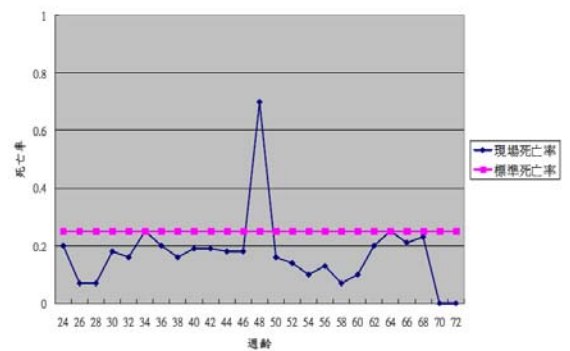
种鸡定期生产纪录监测建立农场基础数据



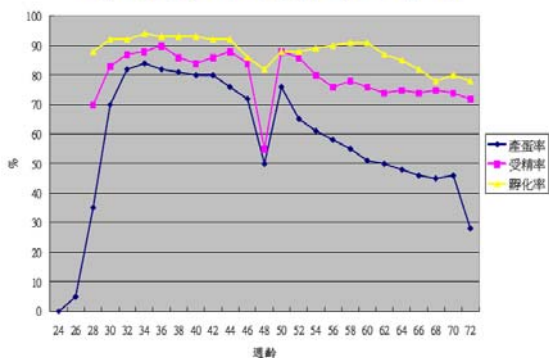
种鸡定期生产纪录监测建立农场基础数据



种鸡异常死亡率之警讯



种鸡生产性能异常之警讯



无法孵出毛蛋



啄壳肌病变



脐炎弱小雏鸡

孵化场绒毛微生物检测

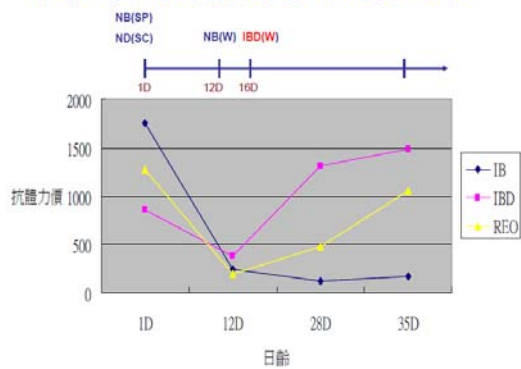


绒毛含菌数与雏鸡的死亡率有关

孵化场绒毛微生物检测



肉鸡血清抗体定期监测建立农场基础数据



生产指数评估

饲养天数34

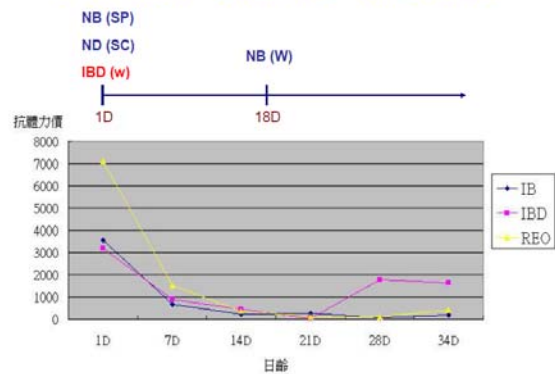
育成率99%

平均体重2kg

料肉比1.61

生产指数343

肉鸡血清抗体定期监测建立农场基础数据



生产指数评估

饲养天数35 育成率99%

平均体重1.8kg 料肉比1.58

生产指数322

生产指数计算

- 成活率×体重（公斤）/饲养天数×饲效 ×100
- 饲养期42天
- 体重2652克
- 存活率97.2%
- 饲料转换率1.75
- 范例

$$97.2 \times 2.652 / 42 \times 1.75 \times 100 = 351$$

生产指数计算

- 范例

$$97.2 \times 2.652 / 42 \times 1.75 \times 100 = 351$$
- 生產效率指數（PEF）越高表示飼養水平越高
- 日增重對該計算方式影響很大
- 應以相同屠宰日齡進行比較

辅助回朔疾病诊断之参考

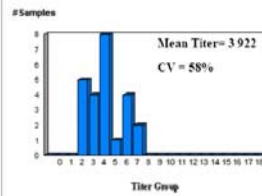


畸形蛋

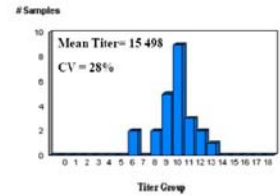


Broiler Breeders at 35W, egg-drop 15%

Before Infection 34W



After Infection 37W



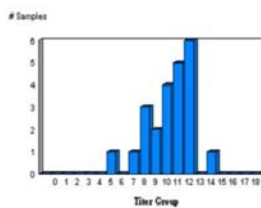
Clinical signs : small, misshaped eggs and egg-drop 15%

Corresponding increase of IB titers and decrease of %CV



IBV: Infection Serology in Broilers

Case: Broilers were vaccinated at 01D Coarse Spray H120 & 19D Dr. Water H120.
At 28D of age birds showed clinical signs of respiratory infection coupled with mortality.
Shown below is serology at 44D.



Array: IBV Lat: PS4063
Bleeding Date: 03/02/2005 Testing Date: 04/02/2005

Expected Vac Titer: 1000 - 2000
Expected % CV range: 40 - 60

Details Vaccination Program:

Vaccine	Method	Age	Vacc. Batch/Applicator
H-120	H. spraying	01D	
H-120	H. drinking	19D	/

免疫成效之评估参考

协同场血清抗体检测之应用

- 订定雏鸡质量参考
- 了解母源抗体值高低及均匀度 (入雏)
藉此调整免疫计划之实施
- 异常抗体之警讯 (入雏)
强化育雏管理作业之依据
了解是否有介蛋传染性疾病(PD/MG/MS)
强化开口药及饲料质量营养

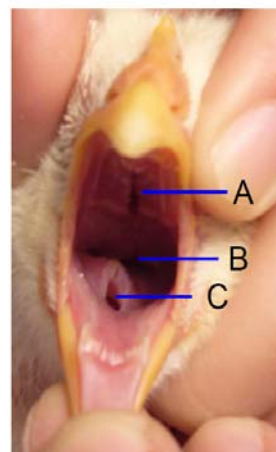
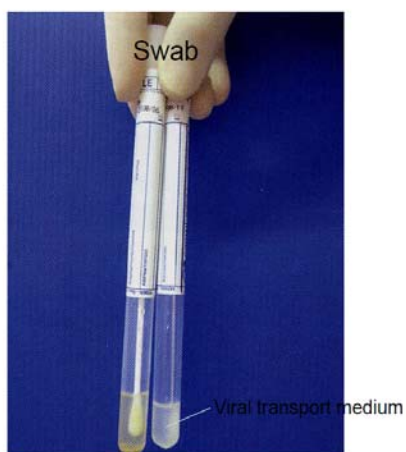
合同场血清抗体检测之应用

- 监控免疫程序之成效
- 异常抗体之警讯 (出栏)
加强野毒污染场后续消毒
延长空栏期
调整下批入雏免疫计划

血清抗体分析与禽场疫病监测

分子层级快速诊断技术

- PCR/RT-PCR
- IHC
- 免疫层析检测试条



喉头采样时，采样的位置是哪里

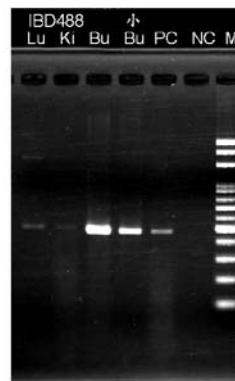


ND及AI單管多引子檢測

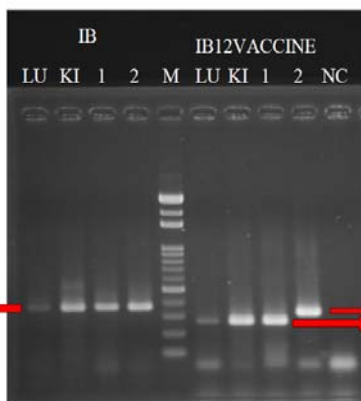


1-3:spleen, comb, kidney of F1 strain(field 1); 4-6:spleen, comb, kidney of F2 strain(field 2);
7-9:spleen, comb, kidney of F3 strain(field 3); 10:positive control of WND only
11:positive control of AI only 12:positive control of WND+AI

IBDV

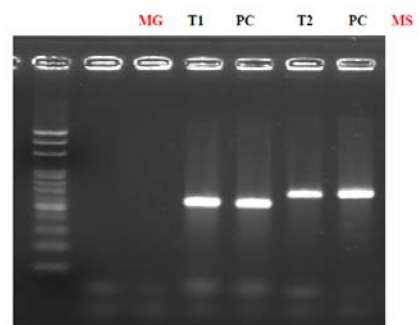


M: 100 bp Maker
Sample: Lung (Lu), Kidney (Ki), Bursa (Bu), and Bursa (Bu) 小
PC: positive control
NC: negative control
Result:
Lung (Lu), Kidney (Ki), Bursa (Bu), and Bursa (Bu) 小 are IBDV positive



LU=lung
KI=kidney
1=台灣一型
2=台灣二型
M=maker
NC=negative control

PCR分子层级快速诊断技术



水质菌数检测

- 养禽场取样点**总水源**采1件，**水线管线末端**随机采取2件。
- 采样材料每件以15ml灭菌塑料试管采10ml。
- 采样后水样尽速置入 0~5℃ 冰箱中保存。
- **检测大肠菌数及总生菌数**

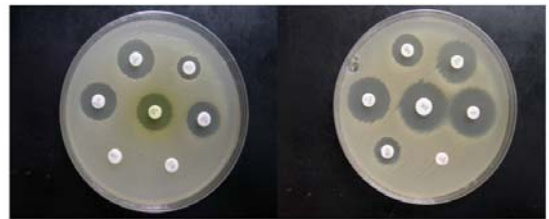
水质检测的真正意义

- 在于**提供家禽场饮用水的预警效果**
- 检验的结果还需对照现场的实际状况来配合
- 建立家禽场的各项基准线，以达到监控的效能

水质检测结果

- 如**总菌落数**>100 CFU/mL表示受污染
- 如**大肠杆菌落数**>10 CFU/mL表示受污染
- 总菌落数以 菌落数 (CFU)/mL (Colony Forming Units/mL) 表示
代表水样中每1 mL含有多少个细菌

抗菌剂感受性试验



病例提供投药建议的流程



药物使用经验分享

- 抗菌剂抗药性的盛行率具有地区性的差异
- 大肠杆菌症的发生与饲养环境的优劣有关
- **建议以每场为单位建立禽场内常在菌的抗菌剂感受性资料**
- **畜主需建立抗药性药物管理策略**
- 轮换/交替搭配药物使用
- 绝对需避免药物残留

病例讨论与血清抗体分析

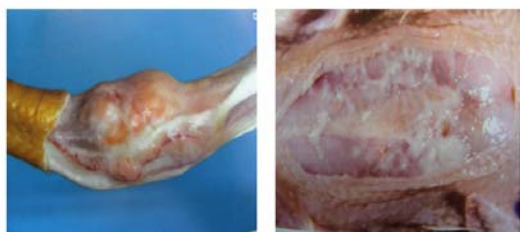
商品肉鸡MG、MS的污染调查



- 這種起泡性的氣囊炎常見於急性 CRD的早期感染階段



- CRD的後期併發感染*E.coli*.....CCRD



- 關節炎造成雞隻跛腳，間接引起胸肌摩擦地表而化膿

當接種活苗以後有這些現象？



該要考慮：檢討疫苗的選擇與接種方式

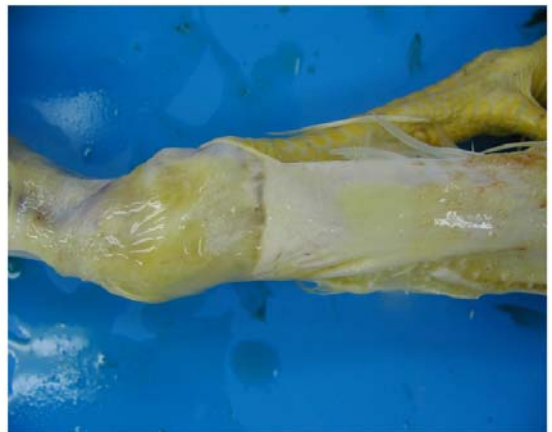
支原體商業肉雞藥物淨化程序

- 1-5日齡連用三日
- 第二次新支苗補強免疫前7日連用三日

父母代種雞MG、MS的污染調查



關節周圍腫脹





附关节及爪垫感染



附关节及爪垫感染



附关节及爪垫感染



附关节及爪垫感染



霉菌菌对产蛋的影响

- MG在蛋鸡的感染导致产蛋下降
- 每只母鸡约损失7-25颗蛋

产业对肉鸡群的要求

- 雏鸡品质佳
- 无介蛋传染性疾病
- 一周内雏鸡淘汰率低
- 移行抗体均匀良好
- 育成率高飼效好
- 生產指數佳

高发生率的群体性传染病

- 病毒性疾病有禽流感(AI)、新城疫(ND)、华氏囊病(IBD)、传染性支气管炎(IB)、呼肠孤病毒(Reo)、鸡传染性贫血(CAV)、肿头症候群(SHS)
- 细菌性疾病则有大肠杆菌症、沙门氏菌、慢性呼吸器病(CRD)、葡萄球菌
- 球虫病

影响育成率的疾病

- 需要以高移行抗体保护雏鸡的疾病
新城疫
华氏囊病
呼肠孤病毒感染症
- 介蛋传播影响小鸡发育的疾病
雏白痢
慢性呼吸器病(CRD)

企业对种鸡群的要求

- 产蛋率
- 受精率
- 孵化率
- 雏鸡育成率

威胁种鸡本身生命的疾病

- 禽流感
- 马立克病
- 新城疫
- 华氏囊病
- 球虫病
- 住血原虫白冠病

直接侵犯卵泡或输卵管，而导致产蛋异常或介蛋传播影响孵化率及雏鸡育成率的疾病

- 传染性支气管炎
- 鸡脑脊髓炎
- 产蛋下降症
- 新城疫
- 大肠杆菌症
- 雏白痢
- 家禽霍乱

影响鸡只健康，使其摄食减少导致产蛋下降的疾病

- 传染性鼻炎(可利查)
- 传染性喉气管炎
- 慢性呼吸器病
- 鸡痘

影响育成率的疾病

- 需要以高移行抗体保护雏鸡的疾病
 - 新城疫
 - 华氏囊病
 - 呼肠孤病毒感染症
- 介蛋传播影响小鸡发育的疾病
 - 雏白痢
 - 慢性呼吸器病 (CRD)

家禽免疫程序之拟定

- 没有标准的免疫程序
- 只有适合的免疫程序
- 没有一成不变的免疫程序
- 需在科学化评估中应变的免疫程序