

## ISPITIVANJE ZAŠTITNOG DEJSTVA ATENUISANE ŽIVE VAKCINE LAVIR-K® PROTIV KLASIČNE KUGE SVINJA U EKSPERIMENTALNIM USLOVIMA

Dragica Stojanović<sup>1\*</sup>, Budimir Plavšić<sup>2</sup>, Radomir Ratajac<sup>1</sup>, Maja Velhner<sup>1</sup>,  
Jasna Prodanov-Radulović<sup>1</sup>, Tamaš Petrović<sup>1</sup>, Branka Vidić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, Rumenački put 20

<sup>2</sup> Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede RS,  
Uprava za veterinu, Beograd

### Kratak sadržaj

U radu su prezentovani rezultati ispitivanja zaštitnog delovanja atenuisane žive vakcine protiv klasične kuge svinja (KKS) u kontrolisanim eksperimentalnim uslovima. Ispitivana vakcina u svom sastavu sadrži Kina soj virusa KKS i u Republici Srbiji se koristi za sistemsku imunoprofilaksu. Ispitivanje zaštitnog delovanja izvršeno je u skladu sa smernicama Evropske farmakopeje, 5. izdanje, 2005. (01/2005:0065) i smernicama koje je objavila Međunarodna kancelarija za epizootije (OIE) (Priručnik o dijagnostičkim testovima i vakcinama za kopnene životinje, 2008). Eksperimentalna ispitivanja su izvedena na ukupno 12 zalučene prasadi, uzrasta 7 nedelja koja su podeljena u dve grupe od 5, odnosno 2 praseta u trećoj kontrolnoj grupi. Kod prasadi, pre uključivanja u eksperimentalni protokol vakcinacije i veštačke infekcije, imunoenzimskim testom nije utvrđeno prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KKS, takođe serum-neutralizacionim testom nije utvrđeno prisustvo antitela protiv virusa bovine virusne dijareje (BVDV). Prasad prve grupe su vakcinisana atenuiranom živom vakcinom Lavir-K<sup>®</sup> (Veterinarski zavod Zemun a.d., Beograd) u razređenju 1:40, a prasad druge grupe su vakcinisana istom vakcinom u razređenju 1:160, dok prasad treće kontrolne grupe nisu vakcinisane. Četrnaest dana nakon vakcinacije sve životinje su veštački inficirane visoko virulentnim sojem virusa KKS – soj Backer, a tokom dve nedelje nakon veštačke infekcije, životinje su svakodnevno klinički opservirane uključujući i termometriranje. U grupi životinja koja je vakcinisana vakcinom Lavir-K<sup>®</sup> pri razređenju 1:40 nisu ustanovljeni klinički znaci oboljenja karakterističnih za KKS, dok su u grupi

\* E-mail: dragica@niv.ns.ac.rs

Rezultati rada su iz Projekta (Ugovor br. 401-00-13700/2006-5) koji je finansiran od strane Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za veterinu.

koja je vakcinisana pri razređenju 1:160 dva praseta obolela sa jasno izraženim kliničkim znacima KKS, od kojih je jedno uginulo 7. dana nakon sprovedene veštačke infekcije. U kontrolnoj grupi životinja, odnosno kod dva nevakcinisana praseta došlo je do pojave karakteristične akutne forme KKS i uginuća u roku od sedam dana nakon infekcije. Primenom jednačine po Spearman-Karberu, utvrđeno je da zaštitna vrednost ( $PD_{50}$ ) jedne doze vakcine Lavir-K iznosi 184. Ako se ima u vidu da jedna vakcinalna doza treba da sadrži protektivnu vrednost  $\geq 100$ , može se zaključiti da efikasnost ispitivane vakcine ispunjava zahteve Evropske farmakopeje i zahteve OIE Priručnika o dijagnostičkim testovima i vakcinama za kopnene životinje.

**Ključne reči:** klasična kuga svinja, atenuisana živa vakcina, ispitivanje potčnosti.

## POTENCY TESTING OF ATTENUATED LIVE VACCINE LAVIR- K<sup>®</sup> AGAINST CLASSICAL SWINE FEVER

Dragica Stojanović<sup>1</sup>, Budimir Plavšić<sup>2</sup>, Radomir Ratajac<sup>1</sup>, Maja Velhner<sup>1</sup>,  
Jasna Prodanov-Radulović<sup>1</sup>, Tamaš Petrović<sup>1</sup>, Branka Vidić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad

<sup>2</sup>Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management RS,  
Veterinary Directorate, Beograd

### Abstract

In the paper are presented the results of investigating protective effect of attenuated live vaccine against classical swine fever (CSF) under experimental conditions. The vaccine contains C-strain of CSF. In the Republic of Serbia it is used for systemic immunoprophylaxis. Potency testing was performed according to the guidelines of the European Pharmacopoeia, 5th Edition, 2005 (01/2005:0065) and the guidelines published by the World Organisation for Animal Health (OIE) (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th Edition, 2008, Vol. 1, Chapter 2.8.3). The experiments were carried out on twelve weaner pigs seven weeks of age randomly assigned to two groups consisting of five, and one group consisting of two pigs. Before introducing the experimental protocol of vaccination and artificial infection, the presence of specific antibodies against CSF was controlled by ELISA test, i.e. by serum neutralisation test that proved no presence of antibodies against bovine virus diarrhea (BVD). The pigs in the first group were vaccinated with attenuated live vaccine Lavir-K<sup>®</sup> (Veterinary Institute Zemun a.d. Belgrade) in a 1:40 dilution, and the pigs from second group were vaccinated in a 1:160 dilution. The group three served as a control group that was not vaccinated.

Fourteen days post vaccination all animals were challenged with highly virulent CSF virus strain Beker, and fourteen days after artificial infection animals were daily observed and their body temperature was recorded. In the group of animals vaccinated with vaccine Lavir-K® in a 1:40 dilution there were no clinical characteristic symptoms of CSF, while in the group vaccinated in a 1:160 dilution two pigs became ill with obvious CSF symptoms. One pig died on day 7 p.v. In the control group, i.e. two non-vaccinated pigs, there was an acute form of CSF and they died seven days after the infection. Calculation of the Protective Dose 50 (PD50) of Lavir-K® was done using the equation by Spearman-Kaerber and it was calculated to be 184. Having in mind that one vaccine doses should have protective value of > 100, it may be concluded that tested vaccine fulfils the requirements for vaccine potency as laid down in the European Pharmacopoeia and the OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.

**Key words:** classical swine fever, modified live vaccine, potency testing

## UVOD

Klasična kuga svinja (KKS) je virusno kontagiozno oboljenje domaćih i divljih svinja. Uzročnik bolesti je jednolančani pozitivni RNK virus koji pripada familiji Flaviviridae, rodu Pestivirus (Moening, 2000). Infekcija se može širiti na različite načine uključujući promet životinja, prevozna sredstva, opremu, odeću zaposlenih, ishranu pomijama i dr. Problem predstavljaju životinje koje su inficirane slabo virulentnim sojevima virusa KKS i ne pokazuju kliničke znake bolesti, a predstavljaju potencijalni izvor zaraze (Dahle i Liess, 1992). Infekciji su podložne životinje i u najranijem dobu, tako da i fetusi mogu biti inficirani tokom celog perioda graviditeta, a ako do infekcije dođe u kasnom graviditetu dolazi do prašenja klinički zdrave prasadi koja su stalni rezervoar virusa u zapatu (Moenning i sar., 2003).

Uvođenje imunoprofilakse protiv KKS svinja je započeto četrdesetih godina prošlog veka. Na ovaj način oboljenje je uspešno iskorenjeno u razvijenim delovima sveta, Australiji, Kanadi, Severnoj Americi i u većini zemalja zapadne Evrope, ali u regionu Balkana se još uvek pojavljuje sporadično. Početkom 1990. godine donesena je odluka da se sa vakcinacijom svinja prekine u zemljama Evropske unije (Dong i sar., 2007). Međutim, zbog inteziteta trgovine, prometa svinja i njihovih proizvoda, s vremena na vreme KKS se pojavljuje u Evropskoj uniji (Moening, 2000). Strategija kontrole i eradikacije u ovim zemljama zahteva primenu stamping out obolelih i na oboljenje sumnjivih životinja, ali i zdravih jedinki koje se nalaze 1000 m oko zaražene farme, kao i strogu kontrolu prometa svinja i proizvoda od svinja (Chenut i sar., 1999, Moening i sar., 2003). Nerazvijene zemlje kontinuirano pokušavaju da drže bolest pod kontrolom. Imunoprofilaksa svinja protiv KKS u Srbiji je obavezna i u skladu je sa Zakonom o veterinarstvu (Službeni glasnik RS, broj 91/05, član 51) i Pravilnikom

o utvrđivanju programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2009. godinu. Obavlja se komercijalnim vakcinama koje su registrovane na našem tržištu kao što su Lavir - K<sup>®</sup> i Liolavir - A<sup>®</sup> (Veterinarski zavod Zemun A.D., Beograd), Kilapin<sup>®</sup> i Kilapin - KT<sup>®</sup> (Veterinarski zavod Subotica A.D., Subotica) i Plivak - KS<sup>®</sup> (Veterina, Hrvatska).

Cilj naših istraživanja je bio da ispitamo zaštitno delovanje jedne od nabrojanih komercijalnih vakcina koje se nalaze na našem tržištu, a prema zahtevima Evropske farmakopeje, 5. izdanje, 2005. (01/2005:0065) i smernicama koje je objavila Međunarodna kancelarija za epizootije (OIE) (Priručnik o dijagnostičkim testovima i vakcinama za kopnene životinje, 5. izdanje, 2008; Vol. 2, Poglavlje 2.8.3.).

## MATERIJAL I METODE RADA

Eksperimentalna ispitivanja su izvedena na 12 zalučene prasadi uzrasta 7 nedelja. Prasad su podeljena u dve grupe od 5, odnosno 2 praseta u trećoj kontrolnoj grupi. Kod prasadi, pre uključivanja u eksperimentalni protokol vakcinacije i veštačke infekcije, imunoenzimskim (ELISA) testom nije utvrđeno prisustvo specifičnih antitela protiv KKS, odnosno serum-neutralizacionim testom nije utvrđeno prisustvo antitela protiv virusa bovine virusne dijareje (BVDV) što je bio kriterijum za odabir eksperimentalnih životinja.

U eksperimentima je korišćena vakcina Lavir-K<sup>®</sup> (serija broj: 6, pakovanje od 10 doza, Veterinarski zavod Zemun A.D., Beograd) koja sadrži Kina soj virusa KKS, koji je atenuisan serijom pasaža na kunićima. Pre aplikacije vakcina je razblažena 1:40 i 1:160 i aplikovana oglednim životinjama u količini od 1mL intramuskularno. Za veštačku infekciju korišćen je visoko virulentni virus KKS, soj Beker, titar 3 x 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/50 ml. Prethodno je utvrđeno da 2 mL virusa dovodi do uginuća svih prijemčivih životinja u roku od 7 dana.

Nakon perioda aklimatizacije od sedam dana, obavljena je intramuskularna aplikacija ispitivane vakcine Lavir-K<sup>®</sup>. Prasad prve grupe su vakcinisana vakcinom koja je razređena u 1:40, a prasad druge grupe vakcinom razređenja 1:160, dok su dve preostale jedinke treće grupe predstavljale pozitivnu kontrolu. Tokom narednih 14 dana vršen je svakodnevni klinički monitoring jedinki, a 14. dana u cilju utvrđivanja specifičnih antitela protiv virusa KKS uzorkovana je krv vakcinisanih životinja. Četrnaest dana nakon vakcinacije izvršena je veštačka infekcija svih jedinki u grupama, i.m. aplikacijom virusa KKS u količini od 2 mL, a 14 dana nakon veštačke infekcije životinje su svakodnevno klinički posmatrane uključujući i merenje telesne temperature. Nakon tog perioda životinje su žrtvovane, patoanatomski pregledane, uz uzorkovanje krvi i parenhimatoznih organa u cilju utvrđivanja prisustva antitela, odnosno antigena virusa KKS. Uginule životinje su takođe patoanatomski pregledane.

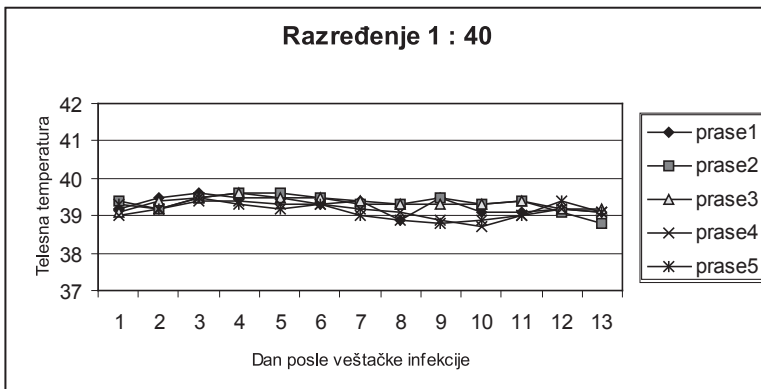
Dokazivanje antigena virusa KKS i specifičnih antitela protiv ovog virusa je vršeno primenom komercijalnih imunoenzimskih (ELISA) set kitova (Classical Swine Fever Virus Antigen Test Kit (CSFV) – SSFV Ag i Antibody Test Kit (CSFV) – SSFV

Ab (IDEXX Laboratories)), a izračunavanje protektivne doze (PD50) ispitivane vakcine je izvršeno metodom po Spearman-Karberu (Hamilton, M.A. i sar., 1977).

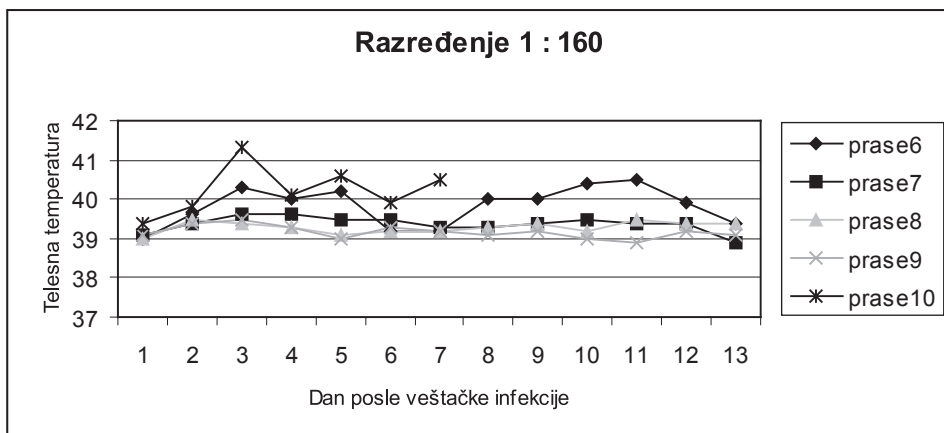
## REZULTATI ISPITIVANJA

Kod vakcinisane prasadi, 3 dana posle veštačke infekcije zabeležen je porast telesne temperature (40,3 i 41,30C) kod dve jedinice (1:160), dok se kod ostale prasadi telesna temperatura kretala u fiziološkim granicama (Slika 1 i 2). Takođe 3. i 4. dana od infekcije, kod životinja sa hipertermijom zabeležen je smanjen apetit i gubitak apetita, apatija, letargija, konjunktivitis, opstipacija i ležanje, a pojava proliva zabeležena je 5 dana od infekcije. Šestog dana kod jednog praseta došlo je do pojave lokomotornih poremećaja sa izraženim znacima ataksije i posteriorne pareze, povremeno sa konvulzijama, a do uginuća je došlo 7 dana od veštačke infekcije. Kod oba praseta zabeležene su promene na koži u vidu cijanoze, eritema i izraženih krvarenja, 5 dana nakon veštačke infekcije pa sve do uginuća, odnosno žrtvovanja. U ispitivanom periodu u grupi koja je vakcinisana vakcinom koja je razređena 1:40 nisu zabeležene promene u kliničkoj slici, ali ni promene u konzumiranju hrane i vode u odnosu na zapažanja tokom perioda aklimatizacije. U kontrolnoj grupi prasadi, nakon veštačke infekcije virusom KKS, prvi porast telesne temperature je zabeležen 3. dana (41,3°C i 41,4°C), a kontinuirana hipertermija se održavala sve do uginuća, kada je pala i bila u fiziološkim granicama (kod jednog praseta) (Slika 3). Prvi klinički simptomi u vidu smanjenja apetita i gubitak apetita, apatije, letargije, konjunktivitisa, opstipacije i ležanja zabeleženi su 2. i 3. dana, proliv 4. dana, promene na koži (eritem, cijanoza, krvarenja) 5, a 6. dana od infekcije bili su prisutni i znaci afonije i lokomotornih poremećaja (ataksija, posteriorna pareza povremeno sa konvulzijama).

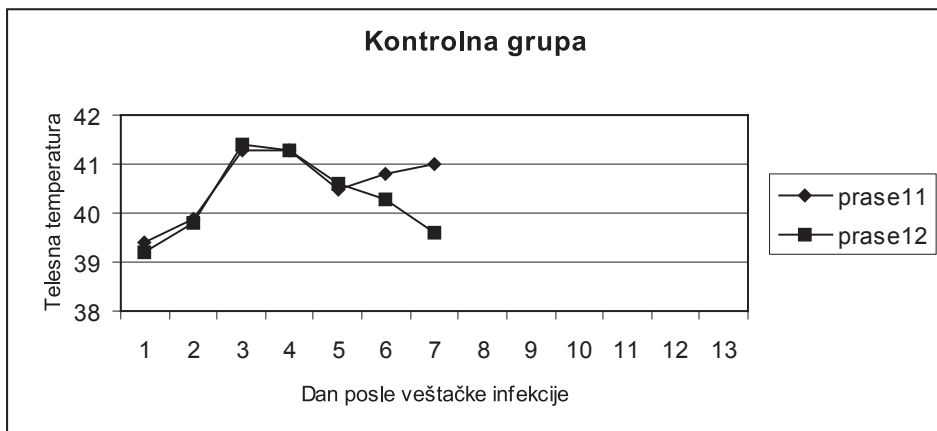
U uzorcima krvnih seruma uzorkovanih pre veštačke infekcije kod prasadi vakcinisane vakcinom razređenja 1:40, pozitivan nalaz specifičnih antitela protiv virusa KKS utvrđen je kod jedne životinje. Sumnjiv nalaz u ovoj grupi prasadi utvrđen je takođe kod jedne životinje, dok je kod preostalih životinja (3) dobijen negativan nalaz na prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KKS. U drugoj oglednoj grupi (prasad vakcinisana sa vakcinom razređenja 1:160) utvrđen je sumnjiv nalaz kod dve jedinice, dok kod ostalih kao i kod prasadi kontrolne grupe nije dokazano prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KKS pre sprovođenja veštačke infekcije. U uzorcima krvnih seruma koji su uzorkovani pre žrtvovanja, prisustvo specifičnih antitela protiv virusa KKS utvrđeno je kod svih jedinki. U uzorcima ispitivanih organa (deo slezine, bubrega, mandibularnih limfnih čvora i tonzile), poreklom od uginule prasadi (jedno iz grupe vakcinisane vakcinom razređenja 1:160 i oba praseta iz kontrolne grupe) utvrđeno je prisustvo antigena virusa KKS. Kod žrtvovane prasadi sumnjiv nalaz na prisustvo ovog antigena utvrđen je kod 3 praseta vakcinisana vakcinom razređenja 1:160. Negativan nalaz na prisustvo antigena virusa KKS utvrđen je kod svih prasadi iz grupe vakcinisane razređenom vakcinom 1:40 i kod jednog praseta iz grupe vakcinisane sa 1:160 razređenom vakcinom (Tabela 1).



Slika 1. Kretanje telesne temperature (°C) posle veštačke infekcije (razređenje vakcine 1:40)



Slika 2. Kretanje telesne temperature (°C) posle veštačke infekcije (razređenje vakcine 1:160)



Slika 3. Kretanje telesne temperature (°C) posle veštačke infekcije u kontrolnoj grupi životinja

Patoanatomskim pregledom žrtvovane i uginule prasadi, promene karakteristične za infekciju virusom KKS (hemoragični infarkti na slezini, krvarenja u mandibularnim, mezenterijalnim i ingvinalnim limfnim čvorovima, subkapsularna krvarenja na bubrezima, krvarenja u bubrežnoj karlici i hemoragično-nekrotični tonzilitis) utvrđene su kod prasadi kontrolne grupe i kod dva praseta iz grupe koja vakcinisana vakcinom razređenja 1:160. Kod ostale prasadi, patoanatomskim pregledom nisu utvrđene promene koje bi ukazivale na infekciju virusom KKS. Primenom jednačine po Spearman-Karberu, utvrđeno je da zaštitna vrednost (PD50) jedne doze vakcine Lavir-K® koja iznosi 184.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja prisustva specifičnih antitela u serumu i antigena u zbirnom uzorku ispitivanih organa eksperimentalnih životinja

Broj jedinke	Nevakcinisana i vakcinisana prasad vakcinom Lavir-K				
	Prisustvo specifičnih antitela u serumu pre veštačke infekcije	Klinički simptomi KKS (- nema, + ima)	Dan uginuća posle veštačke infekcije	14. dan posle veštačke infekcije	
				Prisustvo specifičnih antitela u serumu**	Prisustvo antigena u zbirnom uzorku organa**
Razređenje vakcine 1 : 40					
1.	- At	-	*	+ At	- Ag
2.	- At	-	*	+ At	- Ag
3.	- At	-	*	+ At	- Ag
4.	+ At	-	*	+ At	- Ag
5.	± At	-	*	+ At	- Ag
Razređenje vakcine 1 : 160					
6.	± At	+	*	+ At	± Ag
7.	- At	-	*	+ At	- Ag
8.	± At	-	*	+ At	± Ag
9.	- At	-	*	+ At	± Ag
10.	- At	+	7. dana		+ Ag
Kontrola (nevakcinisana prasad)					
11.	- At	+	7. dana		+ Ag
12.	- At	+	7. dana		+ Ag

\* žrtvovani 14. dana posle veštačke infekcije

\*\* At (+ pozitivan; - negativan; ± sumnjiv) u serumu,  
Ag (+ pozitivan; - negativan; ± sumnjiv) u uzorku zbirnih organa

## DISKUSIJA

Rezultatima naših ispitivanja je dokazano da ispitivana vakcina Lavir-K® zadovoljava zahteve Evropske farmakopeje (Ph. Eur. 5.0, 01/2005:0065), odnosno da PD50 bude iznad 100. Lapinizirani Kina soj virusa KKS se duži niz godina koristi za proizvodnju komercijalnih vakcina protiv klasične kuge svinja. Vakcine koje se baziraju na Kina soju daju dugotrajnu zaštitu i mlada prasadi ih dobro podnose (Dong i sar., 2007). Ispitivanje potentnosti vakcine Cholera Vac (PLIVAK-KS) je urađeno od strane Meindl-Boehmer i Markus-Cizelj (2006). Rezultati njihovih eksperimentalnih ispitivanja ukazuju da PD50, nakon veštačke infekcije sa visoko patogenim Koslov sojem iznosi  $\geq 320$ , a zabeleženi klinički simptomi bolesti su bili identični kliničkim simptomima testiranih životinja u našim eksperimentima.

U grupi prasadi koja je vakcinisana vakcinom razređenja 1:40, u serumu tri vakcinisana praseta nisu utvrđena specifična antitela protiv KKS pre veštačke infekcije, a ipak su bila zaštićena od infekcije visoko patogenog soja virusa, što ukazuje na kasniji razvoj humoralnog imunog odgovora koji se može da dokaže ELISA testom. U grupi koja je vakcinisana vakcinom razređenja 1:160, kod 3 praseta nisu utvrđena antitela pre veštačke infekcije. Takođe, ni kod ove prasadi se nisu razvili klinički simptomi bolesti. Antigen virusa KKS dokazan je kod oba praseta kontrolne grupe i u grupi vakcinisanih prasadi vakcinom razređenja 1:160 i to kod jedne životinje, a kod 3 životinje iz ove grupe nalaz je bio je sumnjiv. Kod svih prasadi iz grupe vakcinisane vakcinom razređenja 1:40 nije dokazano prisustvo antigena virusa KKS. Imunološki odgovor, meren utvrđivanjem prisustva specifičnih antitela ELISA testom, dve nedelje posle vakcinacije u ovom eksperimentu nije bio u korelaciji sa zaštitom protiv KKS. Testovi koji su više osetljivi kao Peroksidaza neutralizacioni imunoenzimski test (Neutralization peroxidase – linked antibody, NPLA) ili neutralizacija imunofluorescencije možda bi omogućili detekciju antitela i kod malih koncentracija. U eksperimentu Meindl-Boehmer i Markus-Cizelj (2006) NPLA titar antitela je bio nizak 13 dana posle infekcije. Tokom infekcije virusom KKS, prvo se razvija ćelijski imuni odgovor, a kasnije se razvijaju efektori humoralnog imunog odgovora. Posle infekcije Alforth 187 visoko patogenim sojem virusa, u ogledu koji su sproveli Sanchez-Cordon i sar. (2006), ustanovljeno je da dolazi do povećanog stvaranja IgM, 9 dana posle infekcije, kao i povećanje produkcije B ćelija (C- $\lambda$ +), ali to nije bilo praćeno odgovarajućim porastom koncentracije virus neutralizacionih antitela koja su se mogla detektovati, 14 dana posle infekcije. Autori sugerišu da T ćelije imunog odgovora prelaze iz tipa 1 u tip 2 posle povećanja produkcije IL-4 u datoj sredini, 11 do 14 dana posle infekcije. Smatra se da IL-4 prouzrokuje maturaciju B ćelija u imunoglobulin produkujuće ćelije plazme (Sanchez Cordon i sar., 2005a). Ovim bi se eventualno moglo objasniti odlaganje stvaranja antitela u našim eksperimentima. Zadovoljavajuća zaštita je verovatno posledica ćelijskog imunog odgovora prouzrokovano vakcinalnim sojem virusa. Suradhat i sar. (2001) su ustanovili da dolazi do



pojačanog stvaranje interferona gama (IFN $\gamma$ ), 6 dana posle infekcije. U njihovom eksperimentu postojala je dobra veza između stvaranja IFN $\gamma$  i zaštite svinja protiv visoko virulentnog virusa KKS.

Interpretacija rezultata ELISA testa u sagledavanju zaštite svinja posle vakcinacije može biti problematična u terenskim uslovima. Naime, ukoliko vakcinisane svinje dođu u kontakt sa divljim – terenskim sojem virusa biće teško, odnosno nemoguće, ustanoviti infekciju primenom seroloških testova. Iako je ELISA test jednostavan za izvođenje i prikladan za veliki broj uzoraka, nije uvek pouzdan, obzirom da može da da lažno pozitivne nalaze. Kada je u Holandiji u periodu od 1997-1998. godine prilikom izbijanja KKS ispitano 1,5 miliona uzoraka upotrebom ELISA testa, virus-neutralizacionim testom je utvrđeno da među uzorcima pozitivnog nalaza ELISA testom 15% uzoraka je bilo pozitivno na virus KKS, 35% na BVDV, a čak 50% je bilo negativnog nalaza na virus KKS (Smit i sar., 2000).

U našem ogledu sve životinje koje su bile antigen (Ag-ELISA) pozitivne, pokazale su kliničke znake bolesti. Ovim testom, ukoliko se dobije pozitivan nalaz, nedvosmisleno ukazuje na infekciju. Kod jedne životinje u grupi koja je vakcinisana Lavir-K<sup>®</sup> vakcinom razređenja 1:160, utvrđeni su klinički znakovi bolesti, a dobijen je sumnjiv nalaz ELISA-Ag testom. Detekcija antigena je rađena iz zbirnih uzoraka organa pa postoji mogućnost da kod ove jedinice virus nije bio distribuiran u svim organima. Možda je bio stacioniran samo u timusu, što je i razlog da je nivo detekcije nizak. Vakcinalni virus može biti detektovan u timusu primenom Real time PCR, do 42 dana posle vakcinacije (Koenig i sar., 2007). Ispitivanje prisustva virusa u pojedinačnim organima korišćenjem visoko osetljivih testova, ukazalo bi na distribuciju divljeg – terenskog tipa virusa kod vakcinisanih životinja.

Na osnovu izvršenih ispitivanja utvrđeno je da testirana vakcina Lavir-K<sup>®</sup> protiv KKS, registrovana u Republici Srbiji, pruža adekvatnu zaštitu svinja od infekcije virusom KKS. Međutim, imunoenzimski testovi detektuju prisustvo antigena virusa KKS sa visokom verovatnoćom, dok detekcija specifičnih antitela dve nedelje posle vakcinacije u ovom ogledu nije bila pouzdana. Trenutno se u Srbiji sprovodi vakcinacija protiv KKS u skladu sa zakonom i pravilnikom, ali uspeh programa kontrole KKS u Srbiji umnogome zavisi od stroge kontrole prometa životinja i dobrog menadžmenta u zapatima svinja.

## ZAKLJUČAK

Rezultati naših ispitivanja ukazuju da je živa atenuisana vakcina protiv KKS, Lavir K<sup>®</sup>, bila efikasna u zaštiti vakcinisane prasade od letalne doze visoko virulentnog soja virusa Beker, čak i kada se aplikuju u razređenju 1:40 i 1:160, pod uslovom da se vakcinacija izvrši dve nedelje pre veštačke infekcije. Izuzetak su dva praseta, gde je vakcina aplikovana u većem razređenju i koja su obolela od KKS. Izračunato je da je protektivna doza PD50 iznosi  $\geq 184$ , odnosno vakcina Lavir K sadrži najmanje 184 PD50 u dozi.

Stoga se može zaključiti da efikasnost ispitivane vakcine zadovoljava zahte Evropske farmakopeje i zahteve OIE Priručnika o dijagnostičkim testovima i vakcinama za kopnene životinje.

## LITERATURA

1. Chenut, D., Saintilan, A.F., Burger, C., Rosenthal, F., Cruciere, C., Picard, M., Bruyere, V., Albina, E.: Oral immunization of swine with classical swine fever vaccine (Chinese strain) and transmission studies in rabbits and sheep. *Vet Microbiol*, 64, 265-276, 1999
2. Dahle, J., Liess, B.: A review on classical swine fever infections in pigs: Epizootiology, clinical disease and pathology. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 15, 203-211, 1992
3. Dong, X.N., Chen, Y.H.: Marker vaccine strategies and candidate CSFV marker vaccines. *Vaccine*, 25, 205-230, 2007.
4. Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, R.V.: "Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays," *Environ Sci Technol*, 117, 714-719, 1977
5. Koenig, P., Hoffmann, B., Depner, K.R., Reimann, I., Teifke, J.P., Beer, M.: Detection of classical swine fever vaccine virus in blood and tissue samples of pigs vaccinated either with a conventional C-strain vaccine or a modified live marker vaccine. *Vet Microbiol* 120, 343-351, 2007
6. Meindi-Boehmer, A., Markus-Cuzelj, Lj.: Potency testing of CholerevacÒ a classical swine fever modified live vaccine. *Praxis Veterinaria*, 54, 109-115, 2006
7. Moennig, V.: Introduction to classical swine fever virus, disease and control policy. *Vet Microbiol*, 73, 93-102, 2000
8. Moennig, V., Floegel-Neismann, G., Grieser-Wilke, I.: Clinical signs and epidemiology of classical swine fever a review of new knowledge. *Vet J* 165, 11-20, 2003
9. Sanchez-Cordon, P.J., Nunez, A., Salguero, F.J., Carrasco, L., Gomez-Villamandos, J.C.: Evolution of T lymphocytes and cytokine expression in classical swine fever (CSF virus infection. *J Comp Path*, 132, 249-260, 2005
10. Sanchez-Cordon, P.J., Romero-Trejejo, J.L., Pedrera, M., Raya, A.I., Gomez-Villamandos: *J Comp Path*, 135, 32-41, 2006
11. Smit, A.J., Eble, P.L., de Kluijver, E.P., Bloemraad, M., Bouma, A.: Laboratory experience during the classical swine fever virus epizootic in the Netherlands in 1997-1998, *Vet Microbiol*, 73, 197-208, 2000
12. Suradhat, S., Intrakamhaeng, M., Damrongwatanapokin, S.: The correlation of virus-specific interferon gamma production and protection against classical swine fever virus infection. *Vet Immunol Immunopath*, 83, 177-189, 2001

Primljeno: 15.07.2010.

Odobreno: 17.09.2010.