(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 695 172**

(51) Int. Cl.:

A61K 39/02 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.12.2014** **PCT/EP2014/076243**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015** **WO15082465**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2014** **E 14808935 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018** **EP 3076997**

(54) Título: **Vacuna porcina contra SRRP y Lawsonia intracellularis**

(30) Prioridad:

03.12.2013 EP 13195529

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.01.2019

(73) Titular/es:

INTERVET INTERNATIONAL B.V. (100.0%)
Wim de Körverstraat 35
5831 AN Boxmeer, NL

(72) Inventor/es:

DREXLER, CHRISTA y
JACOBS, ANTONIUS ARNOLDUS CHRISTIAAN

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 695 172 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Vacuna porcina contra SRRP y *Lawsonia intracellularis*

Campo general de la invención

La invención en general se refiere al campo de la salud porcina. Los cerdos son propensos a muchos microorganismos patógenos. El control de la infección se realiza habitualmente mediante la gestión del establo y de la alimentación, el tratamiento con productos farmacéuticos tales como fármacos antivíricos y antibióticos, o el tratamiento profiláctico usando vacunas.

Objetivo de la invención

Existe una necesidad continua de medios convenientes, seguros y eficaces para la gestión de la salud porcina.

Sumario de la invención

Con el fin de satisfacer el objetivo de la invención, se diseña una nueva vacuna para la protección combinada de los cerdos frente a infecciones con diversos microorganismos que provocan enfermedades, comprendiendo la vacuna en combinación un adyuvante, un SRRP (síndrome reproductor y respiratorio porcino) vivo atenuado y un antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado, en la que el antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado comprende células completas inactivadas de bacterias *Lawsonia intracellularis*. El virus del SRRP y las bacterias *Lawsonia intracellularis* son responsables de pérdidas económicas sustanciales debido a su influencia negativa en la salud porcina. Aunque se conocen y hay disponibles en el mercado fármacos, así como vacunas, para ambos tipos de microorganismos, no existe una vacuna de combinación disponible que sea adecuada para la protección combinada contra una infección o enfermedad clínica de estos patógenos, vacuna que sea eficaz y de buena calidad. (por ejemplo, estable, sin interferencia de antígenos) y al mismo tiempo segura para su uso en animales jóvenes. Como se sabe habitualmente, no todas las combinaciones de antígenos contemplados o sugeridos pueden conducir a una vacuna de combinación segura y eficaz. De hecho, existe un alto nivel de incertidumbre con respecto a la estabilidad, seguridad y eficacia de la vacuna de combinación, incluso cuando las vacunas simples (monovalentes) son seguras y eficaces.

Se observa que el término "combinación" no excluye que los antígenos se proporcionen en la forma combinada del virus del SRRP vivo y células completas inactivadas de bacterias *Lawsonia intracellularis*, solo después de la administración a un animal sujeto, por ejemplo, mediante la inyección de dos vacunas separadas en un solo sitio de inyección.

El comité de medicamentos veterinarios de la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMEA, por sus siglas en inglés) en su publicación "Nota de orientación: requisitos para productos veterinarios combinados" (EMEA, 2000, CVMP/IWP/52/97FINAL), afirmó (página 2/6) que el “desarrollo de vacunas combinadas no es sencillo. Cada combinación debe desarrollarse y estudiarse individualmente en términos de calidad, seguridad y eficacia”. El comité afirma adicionalmente que la búsqueda de una buena vacuna combinada incluye normalmente la estabilidad y compatibilidad entre los componentes individuales de la vacuna combinada, incluyendo, por ejemplo, conservantes, excipientes y estabilizantes, agentes inactivadores y adyuvantes. En la página 3, párrafo superior, se afirma que “en las vacunas combinadas, la presencia de más de un componente puede provocar con frecuencia una interacción, lo que conduce a una respuesta ya sea disminuida o aumentada a los componentes individuales, en comparación con cuando el componente o componentes específicos se administran solos... Dichas interacciones con frecuencia son de naturaleza inmunitaria, pero también pueden estar provocadas por otros factores con efectos menos directos sobre el sistema inmunitario" y además "cuando se usa un adyuvante para aumentar la respuesta inmunitaria a una vacuna combinada, pueden aparecer problemas especiales”.

El Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE.UU., Administración de Alimentos y Fármacos, Centro para la Evaluación e Investigación Biológica, publicó en abril de 1997 una “Directriz para la industria, para la evaluación de vacunas de combinación para enfermedades prevenibles: Producción, Ensayos y Estudios Clínicos”, directriz en la que se afirma (página 3, bajo “Compatibilidad de los componentes”) que “La experiencia ha demostrado que la combinación de vacunas monovalentes puede dar como resultado una nueva combinación que es menos segura o eficaz de lo deseable. A veces, los componentes de las vacunas inactivadas pueden actuar de manera adversa sobre uno o más de los componentes activos", lo que indica que especialmente una vacuna inactivada puede influir negativamente en la eficacia de una vacuna viva, tal como, por ejemplo, ocurrió cuando se combinó una vacuna de tos ferina viva y una vacuna de poliovirus inactivada, que dio como resultado una vacuna con una disminución de la potencia contra la tos ferina. Se indica que cualquier componente adicional en la vacuna podría complicar la seguridad y la potencia del producto final en comparación con las vacunas individuales.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado un curso de aprendizaje virtual denominado "Fundamentos de Seguridad de Vacunas", que en el MÓDULO 2 contempla las vacunas de combinación. Este módulo comienza con "Las vacunas de combinación con licencia se someten a ensayos exhaustivos antes de la aprobación de las

autoridades nacionales para garantizar que los productos son seguros, eficaces y de una calidad aceptable". También se afirma que "Con todas las combinaciones, los fabricantes deben evaluar la potencia de cada componente antigénico, la eficacia de los componentes de la vacuna cuando se combinan para inducir la inmunidad, el riesgo de una posible reversión a la toxicidad y la reacción con otros componentes de la vacuna". El documento WO2007/116032 desvela una vacuna de combinación que comprende virus del SRRP vivo y antígeno de *Mycoplasma hyopneumoniae* para su uso en la vacunación de cerdos sensibilizados al *Mycoplasma hyopneumoniae*. La presente invención, junto con la vacuna como tal, también se refiere a la vacuna para su uso en la protección de un cerdo contra una infección con el virus del SRRP y bacterias *Lawsonia intracellularis*, que comprende administrar dicha vacuna.

Definiciones

Una vacuna es una constitución que protege contra una infección posterior a la vacunación con un microorganismo patógeno, es decir, una constitución que previene o reduce la infección por el microorganismo, o previene o reduce una enfermedad clínica que es resultado de la infección, normalmente interfiriendo con el propio microorganismo, por ejemplo, a través de anticuerpos, en el hospedador vacunado. Por tanto, la vacunación previene, o al menos disminuye, el nivel de infección y/o previene, o al menos disminuye, el nivel de enfermedad clínica resultante de esa infección.

El antígeno inactivado de una bacteria de tipo silvestre es cualquier sustancia o compuesto, distinto de la bacteria viva como tal, contra el que ha de desencadenarse una respuesta inmunitaria, de manera que la bacteria virulenta correspondiente o uno o más de sus factores de virulencia sean reconocidos por el sistema inmunitario del hospedador como resultado de esta respuesta inmunitaria y, en última instancia, se neutralicen al menos parcialmente. Son ejemplos normales de antígeno inactivado de una bacteria de tipo silvestre bacterias completas inactivadas (el término "completa" no excluye que las células bacterianas se rompan, al menos en parte, durante el proceso de inactivación o que, un extracto u hornogenato de la bacteria de célula completa inactivada se proporcione en realidad como el antígeno en la vacuna de "bacterias de células completas inactivadas"), subunidades de la bacteria tales como proteínas expresadas en la superficie y toxinas. Las dos últimas pueden o no expresarse de forma recombinante. Con respecto a *Lawsonia intracellularis*, se conocen varios tipos de antígenos inactivados en la técnica y se conocen, por ejemplo, a partir del documento WO2009/144088 (bacterias de células completas muertas, Ejemplos 1 y 2), documento WO2005/070958 (subunidades) y el documento WO97/20050 (célula completa inactivada).

Un virus vivo atenuado es un virus que es capaz de replicarse como tal, pero es incapaz de inducir un conjunto completo de síntomas de la enfermedad que normalmente se asocian a su homólogo patógeno virulento (con frecuencia de tipo silvestre). Normalmente, el virus vivo no se replica dentro de un hospedador diana o se replica a una velocidad que no es significativamente perjudicial para las células hospedadoras o no induce una respuesta perjudicial del hospedador. Con respecto al virus del SRRP, se conocen varias vacunas en la técnica que comprenden un virus vivo atenuado que deriva de un virus de tipo silvestre que se atenúa mediante pases múltiples en una estirpe de células hospedadoras cultivadas in vitro, tal como, por ejemplo, Porcilis® SRRP (MSD Animal Health), Ingelvac® PRRS MLV (Boehringer Ingelheim), Amervac-PRRS (Laboratorios Hipra), Pyrsvac-183® (Laboratorios Hipra) y Fostera® PRRS (Zoetis). En la técnica, se han descrito otros virus del SRRP vivos atenuados, por ejemplo, en *Veterinary Microbiology*, volumen 138, números 1-2, 2 de julio de 2009, páginas 34-40; *Veterinary Immunology and Immunopathology*, volumen 106, números 3-4, 15 de julio de 2005, páginas 309-319 y en *Vaccine*, volumen 26, números 29-30, 4 de julio de 2008, páginas 3594-3600.

Realizaciones de la invención

En una realización, la vacuna es para la protección de un cerdo contra una infección con el virus del SRRP y bacterias *Lawsonia intracellularis* después de una administración en una sola inyección. Se descubrió ventajosamente que un cerdo está protegido contra ambos patógenos incluso después de una administración en una sola inyección de la vacuna. Esta realización no excluye que se proporcione una vacunación de seguimiento, por ejemplo, de 6 a 12 meses después de la primera vacunación para renovar el nivel de protección. Esta vacunación de seguimiento difiere de una vacunación de refuerzo en una pauta de vacunación de sensibilización-refuerzo, en la que la protección se obtiene solamente después de la vacunación de refuerzo. En una pauta de sensibilización-refuerzo, las dos vacunaciones son normalmente con 2 a 3 semanas de diferencia.

La vacuna comprende un adyuvante. Se descubrió que un adyuvante, que se usa normalmente para mejorar la respuesta inmunitaria de antígenos inactivados, no interfiere negativamente con el virus del SRRP vivo atenuado, ni aumenta excesivamente la reactividad al otro antígeno, a pesar de que la OMS advierte explícitamente sobre este tipo de interferencia y reactividad en su curso de Fundamentos de Seguridad de Vacunas (véase anteriormente) en la página 1 del curso, las dos últimas líneas (sección "Vacunas de combinación"). En una realización adicional, el adyuvante comprende un aceite mineral, tal como, por ejemplo, un aceite hidrocarbonado saturado que puede obtenerse de ExxonMobil® (Marcol® 52).

En otra realización más, el antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado comprende bacterias *Lawsonia*

intracellularis de células completas inactivadas, preferentemente con una carga de manera que la vacuna comprenda un antígeno de *Lawsonia intracellularis* correspondiente a 1×10^7 bacterias *Lawsonia intracellularis* por dosis. Una mayor carga de antígeno, que no se excluye en esta realización, puede influir positivamente en el nivel de protección y la duración de la inmunidad. Con respecto a la carga de vSRRP de la vacuna, en una realización, la vacuna comprende 4,0 log10 (4 unidades de 10 log) $DICT_{50}$ del virus del SRRP atenuado por dosis. Una mayor carga de antígeno, que no se excluye en esta realización, puede influir positivamente en el nivel de protección y duración de la inmunidad.

La invención se explicará adicionalmente usando el siguiente ejemplo y las figuras. El Ejemplo 1 describe un estudio con una vacuna de combinación de virus del SRRP y Lawsonia.

La Figura 1 muestra las temperaturas corporales después de la exposición.
La Figura 2 muestra la de ganancia de peso diaria promedio (GPDP) después de la exposición.
La Figura 3 muestra la serología del virus del SRRP después de la exposición.
La Figura 4 muestra la serología de Lawsonia después de la exposición.
La Figura 5 muestra la viremia del virus del SRRP después de la exposición.

El Ejemplo 2 describe un segundo estudio con una vacuna de combinación de virus del SRRP y Lawsonia.

Ejemplo 1

Diseño del estudio

Se usó la progenie de cinco cerdas (23 lechones) para este ensayo. Cuando los lechones tenían aproximadamente dos semanas de edad se vacunaron como se indica a continuación:

- Un primer grupo (Grupo 1, 8 animales) se vacunó (IM) con la vacuna del SRRP Porcilis® liofilizada (disponible en MSD Animal Health, Boxmeer, Países Bajos) disuelta usando Diluvac Forte® (MSD Animal Health). Una dosis única contenía una cantidad calculada de 4 log10$DICT_{50}$ de virus en 2 ml (la dosis inyectada) y se administró en el lado derecho del cuello.
- Un segundo grupo (Grupo 2, 9 animales) se vacunó con la misma vacuna del SRRP disuelta en una vacuna de *Lawsonia intracellularis* lista para su uso (véase el documento WO 2009/127684, ejemplo 2 para los antígenos: células completas inactivadas, en este experimento formuladas en una emulsión de aceite en agua, que comprendía el 12,5 % v/v (= volumen de aceite sobre el volumen total de la vacuna) del aceite mineral Marcol® 52 (ExxonMobil), el 0,75 % p/v de acetato de vitamina E y el 0,80 % de Polisorbato 80 (Tween 80; Sigma Aldrich) y agua para inyección. Las vacunas se mezclaron a temperatura ambiente y se dejaron durante hasta 30 minutos antes de la administración. Una dosis única contenía una cantidad calculada de 4 $\log_{10}DICT_{50}$ de virus y $2x10^7$ células bacterianas en 2 ml (la dosis inyectada) y se administró en el lado derecho del cuello.
- Los lechones de un tercer grupo (Grupo 3, 6 animales) no fueron vacunados, pero sirvieron como controles de exposición sin vacunar. La infección por exposición se realizó 4 semanas después de la vacunación usando el virus de exposición del SRRP virulento por vía intranasal.

Después de la vacunación y la exposición, todos los lechones se observaron a diario para detectar signos clínicos. Las temperaturas corporales se midieron un día antes y el día de la infección y a diario a partir de entonces durante diez días. Los pesos corporales se determinaron el día antes de la exposición, diez días después de la exposición y un día antes del final del experimento (día 27 después de la exposición). Las muestras de sangre se recogieron en el momento de la exposición y tres, cinco, siete, diez, 14, 21 y 28 días después.

Procedimientos experimentales

Examen veterinario

El día anterior a la vacunación, los lechones se examinaron para determinar su salud general.

Observación de signos clínicos

Comenzando el día de su llegada, todos los cerdos se examinaron a diario en busca de signos clínicos. Comenzando el día de la exposición se realizó el registro individual de posibles reacciones sistémicas tales como la pérdida de apetito, la renuencia a moverse, la tendencia a acostarse, la apatía o somnolencia, escalofríos, erizamiento y posiblemente edema, especialmente alrededor de los ojos, vómitos y diarrea o taquipnea abdominal y respiración abdominal.

Mediciones de la temperatura corporal

Las temperaturas corporales de todos los animales se tomaron un día antes y el día de la exposición y a diario a partir de entonces durante 10 días (a la misma hora del día).

Mediciones del peso corporal

Los pesos corporales de los lechones se midieron el día antes de la exposición, 10 y 27 días después de la exposición.

Muestreo de sangre

Se tomó una muestra de sangre de todas las cerdas el día antes de la vacunación para confirmar el estado negativo. En el momento de la exposición y tres, cinco, siete, diez, 14, 21 y 28 días después, se tomaron muestras de sangre de los lechones. Las muestras de suero se examinaron para detectar la posible presencia del virus del SRRP y la posible presencia de anticuerpos específicos para el VSRRP y anticuerpos específicos para *Lawsonia*.

Resultados

Signos clínicos

No se observaron reacciones clínicas después de la vacunación o la exposición durante el transcurso del experimento. A menos que el aceite mineral sea un adyuvante muy fuerte, en particular para los cerdos, que pueda conducir a reacciones locales graves, parece que el uso de este adyuvante es seguro para la nueva vacuna de combinación. Para cualquier adyuvante más suave, se entiende que la seguridad, por tanto, no es un problema en absoluto.

Temperatura corporal

Se calculó la temperatura corporal promedio antes de la exposición, medida un día antes y el día de la exposición, para cada grupo. La Figura 1 muestra la elevación de las temperaturas corporales promedio hasta el día 10 de (después de la exposición) con respecto a la temperatura corporal promedio antes de la exposición. El día 2 de solamente en el grupo de los lechones de control sin vacunar, la temperatura corporal promedio se elevó en 1 ºC. En todos los demás puntos temporales posteriores a la exposición, no se midió la elevación ni en el grupo de los lechones vacunados ni en los lechones del grupo de control.

Peso corporal y aumento de peso

Al comienzo del experimento, los lechones se asignaron a los grupos al azar, independientemente del peso inicial y el sexo. Como puede verse en la Figura 2, la tendencia es que la vacuna combinada del Grupo 2 proporciona el mismo GPDP (aumento de peso diario promedio) que la vacuna VSRRP individual, más alta que los controles.

Serología del VSRRP

Solo los cerdos que recibieron una vacuna del SRRP son positivos en la exposición. Como puede observarse en la Figura 3 (los resultados se indican como una relación de "muestra a positivo o M/P", usando el ELISA IDEXX SRRP X3), el título anti SRRP parece no estar influenciado negativamente por los antígenos de Lawsonia. Por el contrario, parece haber un efecto positivo inesperado para el título anti-SRRP puesto que en cada momento el título de SRRP es mayor para los animales que recibieron la vacuna de combinación. Esto implica que los antígenos de Lawsonia, por alguna razón aún no entendida, potencian la reacción inmunológica contra el virus del SRRP vivo.

Serología de Lawsonia intracellularis

La Figura 4 proporciona los resultados de la serología de Lawsonia. Como puede observarse, los animales del Grupo 1 permanecieron negativos durante todo el experimento. De los animales del Grupo 2, el 80-90 % proporcionaron una buena seroconversión, comparable a la conversión que corresponde a animales protegidos contra la exposición a Lawsonia virulenta.

Viremia de VSRRP después de la exposición

Como se sabe habitualmente, la viremia es una lectura importante para la protección contra la infección por el virus del SRRP y la enfermedad clínica resultante. Los resultados se muestran en la Figura 5. Ambos grupos 1 y 2 tienen una reducción muy alta y comparable en la viremia.

Ejemplo 2

Diseño del estudio

Este estudio fue diseñado para confirmar que la vacuna de combinación actual es independiente del tipo de adyuvante y del tipo de cepa de SRRP viva. Para esto, se usaron adyuvantes alternativos Diluvac Forte (que puede obtenerse de MDS Animal Health, Boxmeer, Países Bajos) y Carbopol (que puede obtenerse como Carbopol 974P

de Lubrizol, Cleveland, Ohio, EE.UU.). La cepa de vSRRP alternativa es una cepa de tipo 2 (en lugar de la cepa de tipo 1 utilizada en el Ejemplo 1) como la presente en la vacuna Prime Pac SRRP (disponible en el mercado en Merck Animal Health, Millsboro, Delaware, EE.UU.).

Se usó la progenie de varias cerdas para asignar 15 lechones a 3 grupos de tratamiento de cinco lechones. A la edad de aproximadamente 1 semana, los lechones de los grupos 1 y 2 se vacunaron con la vacuna de Lawsonia inactivada liofilizada (los mismos antígenos que se usaron en el Ejemplo 1, pero ahora liofilizados y, por tanto, en combinación con un estabilizador liofilizado) reconstituida en Diluvac Forte (DF) o Carbopol (0,8 % p/v) como se enumera en la tabla 1 a continuación. Las vacunas se administraron por vía intramuscular (IM) en el lado izquierdo del cuello. A la edad de aproximadamente 5 semanas, los lechones se volvieron a vacunar con dos cepas diferentes de VSRRP vivo y los antígenos de Lawsonia, combinados en una vacuna por reconstitución de los antígenos en DF o Carbopol (0,8 % p/v). La vacuna de VSRRP de Tipo 2 Prime Pac SRRP se disolvió para contener una cantidad de $10^{4,5}DICT_{50}$ de virus en 2 ml y VSRRP de Tipo 1, la vacuna Porcilis SRRP se disolvió para contener una cantidad de $10^{4,0}DICT_{50}$ de virus en 2 ml. Para la segunda vacunación, las vacunas se administraron por vía intramuscular (IM) en el lado derecho del cuello. Los lechones del grupo 3 no fueron vacunados y sirvieron como controles sin vacunar.

Tabla 1 Pauta de vacunación

Grupo	Primera vacunación	Segunda vacunación
1	Lawsonia, liofilizada reconstituida en DF, 2 ml	Vacuna de combinación de Lawsonia, liofilizada y vSRRP vivo de tipo 2 en DF, 2 ml
2	Lawsonia, liofilizada reconstituida en Carbopol, 2 ml	Vacuna de combinación de Lawsonia, liofilizada y vSRRP vivo de tipo 1 en carbopol, 2 ml
3	-	-

Después de la primera vacunación, se observaron a diario los lechones para determinar signos clínicos. Se tomaron muestras de sangre de todos los lechones antes de la primera vacunación, antes de la segunda vacunación y dos, cuatro y seis semanas después de la segunda vacunación. Se comprobaron muestras de suero para detectar anticuerpos contra el virus del SRRP y *Lawsonia intracellularis.*

Resultados

No se observaron reacciones clínicas durante el transcurso del experimento. Todos los animales fueron negativos para anticuerpos contra *Lawsonia* y SRRP el día de la segunda vacunación. A las seis semanas después de la segunda vacunación, todos los animales, excepto los controles, dieron positivo para los anticuerpos específicos de *Lawsonia* y vSRRP. Esto demuestra que la vacuna de combinación era segura y condujo a la inmunización activa contra *Lawsonia intracellularis* y el virus del SRRP.

REIVINDICACIONES

1. Una vacuna que comprende en combinación un adyuvante, un virus del SRRP vivo atenuado y un antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado, en la que el antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado comprende bacterias *Lawsonia intracellularis* de células completas muertas.

2. Una vacuna que comprende en combinación un adyuvante, un virus del SRRP vivo atenuado y un antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado para su uso en la protección de un cerdo frente a una infección con el virus del SRRP y bacterias *Lawsonia intracellularis*, en la que el antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado comprende bacterias *Lawsonia intracellularis* de células completas muertas.

3. Una vacuna que comprende en combinación un adyuvante, un virus del SRRP vivo atenuado y un antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado para su uso en la protección de un cerdo frente a una enfermedad clínica que es resultado de una infección con el virus del SRRP y bacterias *Lawsonia intracellularis*, en la que el antígeno de *Lawsonia intracellularis* inactivado comprende bacterias *Lawsonia intracellularis* de células completas muertas.

4. Una vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 y 3, **caracterizada por que** la vacuna es para su uso en la protección de un cerdo frente a una infección con el virus del SRRP y bacterias *Lawsonia intracellularis* después de la administración en una sola inyección.

5. Una vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** el adyuvante comprende un aceite mineral.

6. Una vacuna para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, **caracterizada por que** el adyuvante comprende un aceite mineral.

7. Una vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** la vacuna comprende el antígeno de *Lawsonia intracellularis* correspondiente a $1x10^7$ bacterias de *Lawsonia intracellularis* por dosis.

8. Una vacuna para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, **caracterizada por que** la vacuna comprende el antígeno de *Lawsonia intracellularis* correspondiente a $1x10^7$ bacterias de *Lawsonia intracellularis* por dosis.

9. Una vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** la vacuna comprende 4,0 log10 $DICT_{50}$ del virus del SRRP atenuado por dosis.

10. Una vacuna para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, **caracterizado por que** la vacuna comprende 4,0 log10 $DICT_{50}$ del virus del SRRP atenuado por dosis.

Figura 1

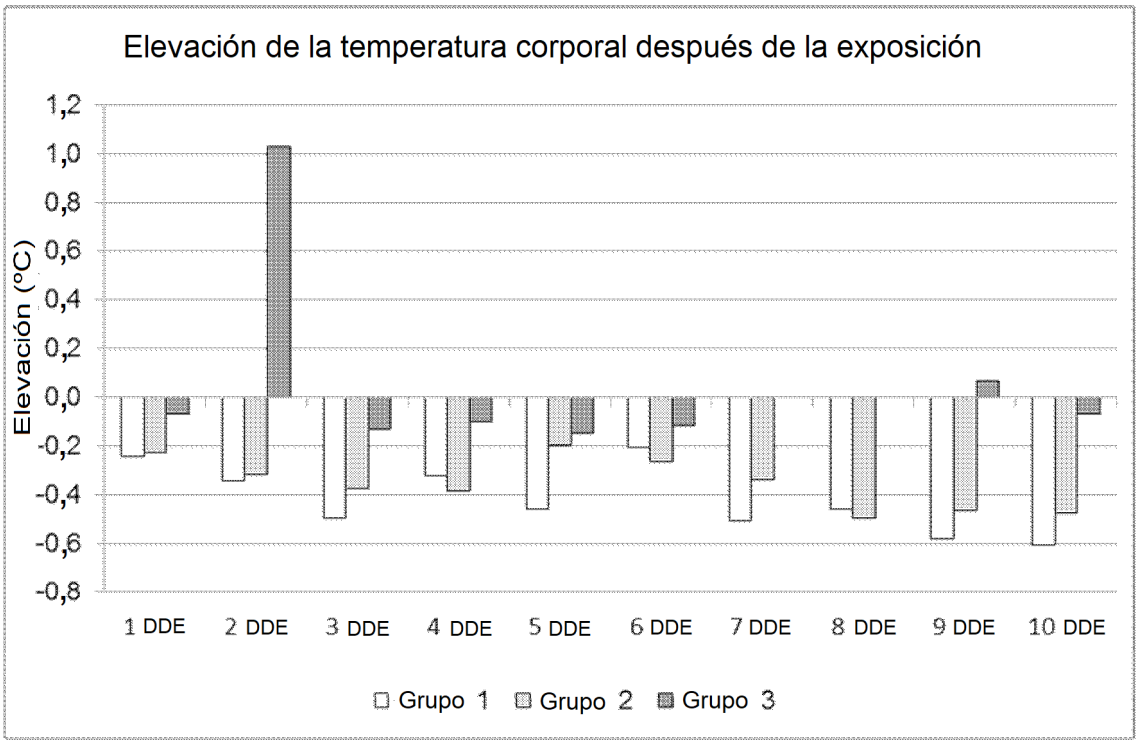


Figura 2

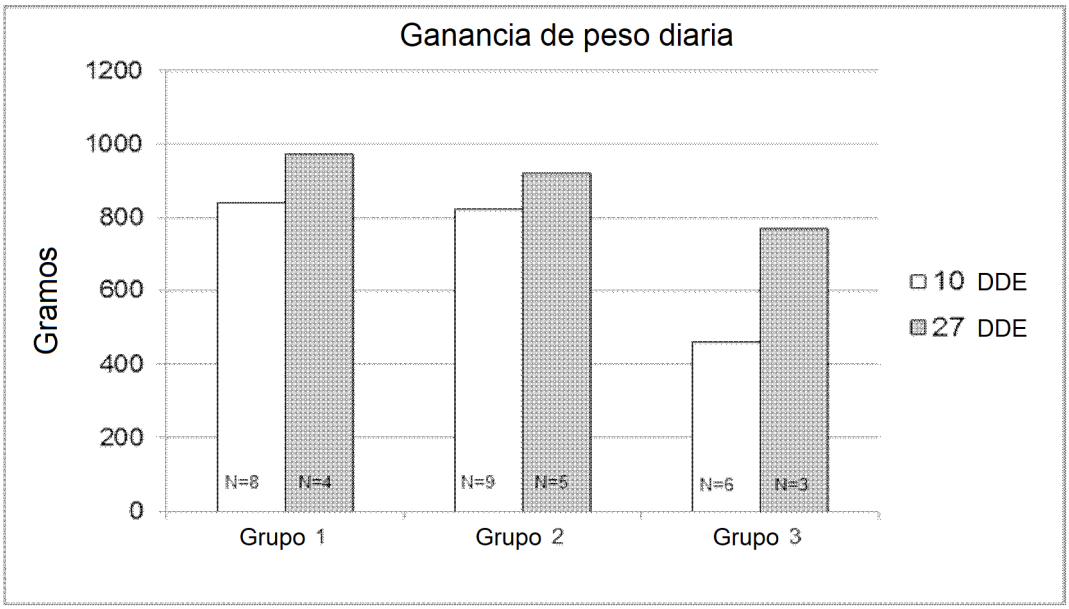


Figura 3

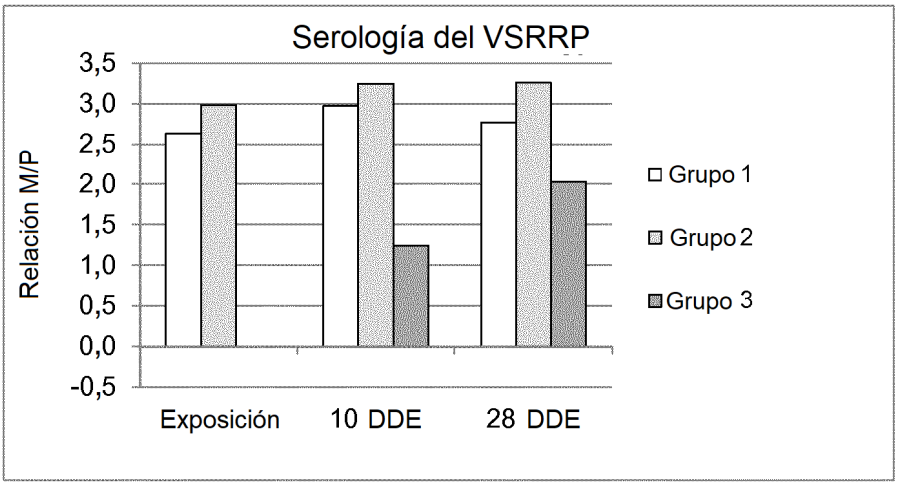


Figura 4

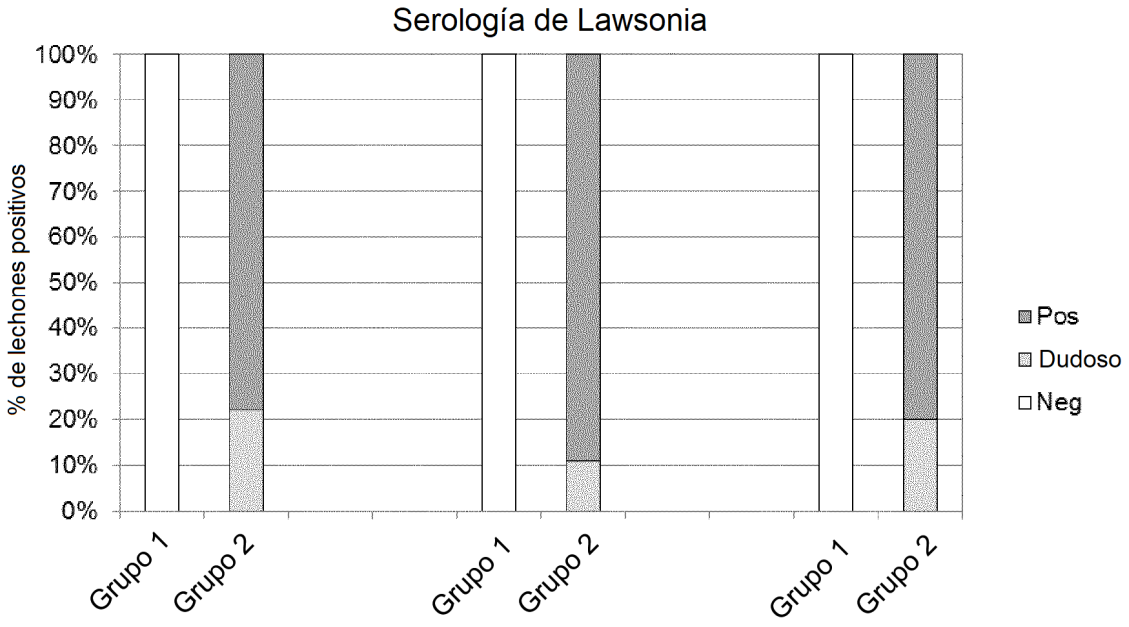
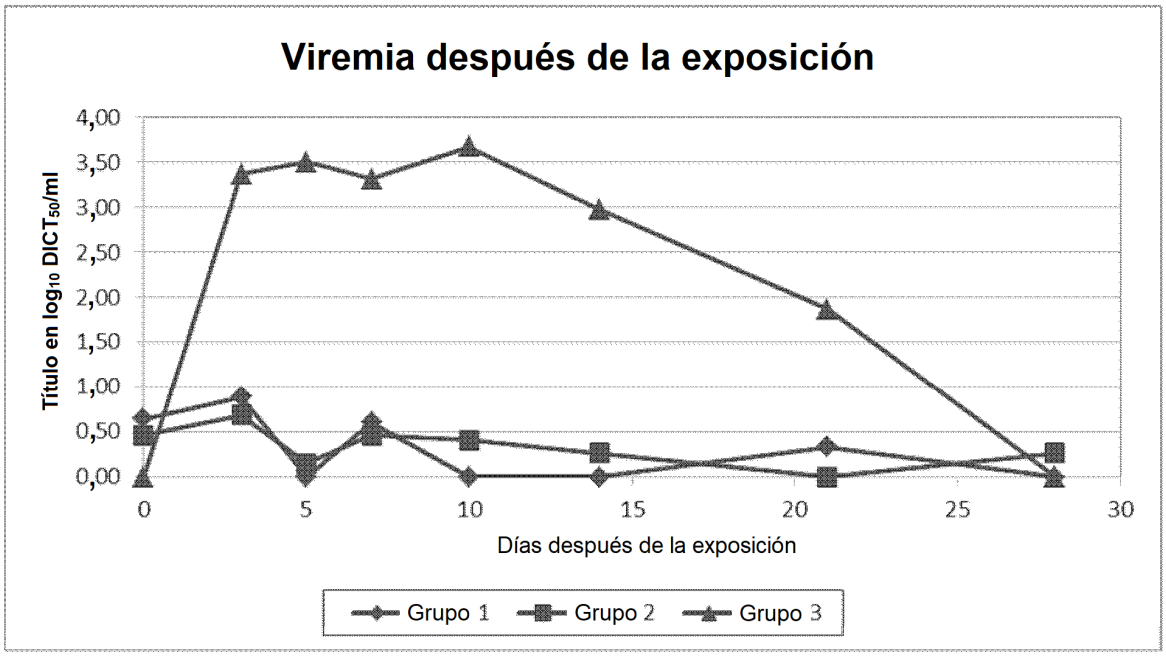


Figura 5


Viremia después de la exposición
Título en log10 DICT50/ml
4,00
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
0
5
10
15
20
25
30
Días después de la exposición
Grupo 1
Grupo 2
Grupo 3