(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 742 262**

(51) Int. CI.:

A61K 39/12 (2006.01)
C07K 14/08 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.04.2011 PCT/EP2011/055941**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **20.10.2011 WO11128415**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2011 E 11714556 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019 EP 2558118**

(54) Título: **Vacuna con protección cruzada para el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino**

(30) Prioridad:

16.04.2010 EP 10160139

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2020

(73) Titular/es:

UNIVERSITEIT GENT (100.0%)
Sint-Pietersnieuwstraat 25
9000 Gent, BE

(72) Inventor/es:

DELPUTTE, PETER;
NAUWYNCK, HANS y
GELDHOF, MARC

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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 con protección cruzada para el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

La presente invención se refiere a una vacuna para la prevención de viremia inducida por infección por Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV). Más específicamente, se refiere a una vacuna que protege frente a infecciones con la cepa de tipo PRRSV europeo y sus derivados, así como frente a infecciones con aislados contra los que las vacunas actualmente disponibles en el comercio, con base en la cepa de tipo europeo, no ofrecen una protección eficiente. La invención se refiere además a métodos para preparar dicha vacuna, y a métodos para proteger a cerdos frente al síndrome reproductivo y respiratorio, con el uso de esta vacuna.

El virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV) es un miembro de la familia *Arteriviridae*, orden Nidovirales (Cavanagh, 1997; Snijder y Meulenberg, 1998), que provoca pérdidas económicas importantes a nivel mundial en la industria del cerdo (Neumann et al., 2005). La infección por PRRSV puede dar como resultado insuficiencia reproductora en cerdas, y está implicada en el complejo de la enfermedad respiratoria porcina (PRDC) (Christianson et al., 1992, 1993; Lager y Mengeling, 1995; Mengeling et al., 1994; Rossow et al., 1994; Terpstra et al., 1991). El genotipado permite hacer una distinción entre el genotipo europeo (EU, tipo 1) y el norteamericano (NA, tipo 2), que comparten alrededor de 63% de homología nucleotídica en base a la secuencia de longitud completa (Allende et al., 1999). Sin embargo, incluso dentro de los genotipos europeo, respectivamente norteamericano, se ha demostrado una gran cantidad de variabilidad genética. PRRSV parece evolucionar mediante mutagénesis al azar y sucesos de recombinación (Cho y Dee, 2006). Esta heterogeneidad plantea un obstáculo importante para la prevención y control eficaces de PRRSV (Meng, 2000).

De hecho, se han desarrollado varias vacunas y están comercialmente disponibles, pero esas vacunas son solamente eficaces en el subgrupo europeo o en el norteamericano, e incluso dentro del subgrupo específico, no proporcionan un control sustancial de la enfermedad, especialmente frente a aislados recientes, genéticamente más diversos. Por lo tanto, existe la necesidad de una vacuna que pueda proteger frente a la infección con esos aislados que no están cubiertos totalmente por las vacunas comerciales actualmente disponibles, al menos aquellos aislados que pertenecen al mismo genotipo.

Se han hecho intentos por producir una vacuna con base en los nuevos aislados, pero al menos en algunos casos, se ha dado a conocer que esas vacunas son menos eficientes frente a la exposición heteróloga que la vacuna comercial disponible (Diaz et al., 2006).

Además, las presentes vacunas son vacunas normalmente vivas atenuadas. Una vacuna inactivada sería más segura de usar, pero las vacunas inactivadas son menos eficientes que las vacunas vivas atenuadas. A este respecto, es importante comparar la eficacia de una vacuna dentro de su propio grupo (viva atenuada o inactivada). Una vacuna inactivada que se acercase a la eficacia de una vacuna viva atenuada tendría ciertamente un uso ventajoso.

Sorprendentemente, encontramos que una vacuna, con base en un nuevo aislado 07V-063, caracterizada por su secuencia genómica como se encuentra en SEQ ID Nº 1, confiere una protección eficiente frente a la exposición homóloga así como frente a la heteróloga, incluso cuando la vacuna se basa en un virus inactivado. Además, dos nuevos aislados de PRRSV adicionales, es decir, 08V-204 y 08V-194, caracterizados por las secuencias genómicas como se muestran en SEQ ID Nº 13 y SEQ ID Nº 12 respectivamente, demuestran ser buenas candidatas a vacunas.

El alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones, y cualquier realización que no caiga dentro de las reivindicaciones se proporciona solamente para información.

Se describe una vacuna frente a PRRSV en cerdos, preferiblemente una vacuna de amplio espectro, incluso más preferiblemente una vacuna de amplio espectro frente a PRRSV de tipo 1, comprendiendo dicha vacuna una cepa de PRRSV de tipo 1 con menos de 90% de identidad a nivel del ADN con la EuroPRRSV (número de acceso Genbank AY366525; versión AY366525.1), o una parte funcional de dicha cepa de PRRSV, capaz de inducir una respuesta inmune anti-PRRSV.

Una “vacuna”, como se usa aquí, se refiere a una composición que comprende la cepa de PRRSV, ácidos nucleicos o proteínas derivados de ella, como se describe aquí, que se administra para estimular una respuesta inmune que protegerá al sujeto de la enfermedad. La vacuna de la presente invención se puede usar para la inmunización profiláctica o terapéutica, y las vías de vacunación adecuadas incluyen, pero no se limitan a, inmunización intranasal, subcutánea e intramuscular. Las vías de vacunación adecuadas también comprenden administraciones de combinación (por ejemplo, administración oral/intramuscular). La vacuna se puede diseñar de manera que se administre en cerdos de una manera conveniente. Por ejemplo, la vacuna se puede administrar a cerdos oralmente a través del suministro alimentario (por ejemplo, con el pienso, leche o sustituto de la leche, y/o agua). Como alternativa, la vacuna se puede administrar de otra manera adecuada, incluyendo parenteralmente, intravenosamente, intramuscularmente, tópicamente, o subcutáneamente. Por supuesto, la vía de administración puede estar dictada, o determinada de otro modo, por la forma de la vacuna. Opcionalmente, la vacuna se administra con un vehículo o diluyentes farmacológicamente aceptables, conocidos en la técnica. Como se usa aquí,

una cepa de tipo 1 es una cepa que muestra un mayor porcentaje de identidad a nivel nucleotídico con la cepa de tipo europeo (EuroPRRSV) que con la cepa de tipo norteamericano (VR-2332, número de acceso GenBank U87392 AF030244 U00153; versión U87392.3), según se mide mediante alineamiento de BLASTn (Zhang et al, 2000) para al menos un marco de lectura abierto, preferiblemente según se mide con base en todo el genoma. Una cepa de tipo 2 es una cepa que muestra un mayor porcentaje de identidad a nivel nucleotídico con la cepa de tipo norteamericano que con la cepa de tipo europeo, según se mide mediante BLASTn para al menos un marco de lectura abierto, preferiblemente según se mide con base en todo el genoma. La identidad del 90%, como se usa aquí, se calcula usando un alineamiento de BLASTn (Zhang et al, 2000), usando los marcos de lectura abiertos homólogos de ORF3, ORF4 u ORF5 (Mardassi et al, 1995; Morozov et al., 1995), preferiblemente de ORF3, ORF4 y ORF5, más preferiblemente usando toda la secuencia genómica. Preferiblemente, la identidad está en un intervalo de 50%-89% con EuroPRRSV, incluso más preferiblemente entre 60%-89%, lo más preferible entre 70% y 89%. Puesto que la mayoría de las cepas europeas muestran un porcentaje elevado de identidad a nivel nucleotídico (Ropp et al. 2004), es sorprendente que se pueda usar como vacuna de amplio espectro una cepa con menor identidad genética.

En una realización específica de la presente descripción, el genoma de la cepa de PRRSV de tipo I comprende SEQ ID Nº 1, o un homólogo de la misma. En una realización adicional, el genoma de la cepa de PRRSV de tipo I comprende SEQ ID Nº 13, o un homólogo de la misma. En una realización incluso adicional, el genoma de la cepa de PRRSV de tipo I comprende SEQ ID Nº 12, o un homólogo de la misma.

Un homólogo, como se usa aquí, es una cepa con al menos 95% de identidad, preferiblemente al menos 96%, más preferiblemente al menos 97% de identidad, más preferiblemente al menos 98% de identidad, incluso más preferiblemente al menos 99% de identidad a nivel nucleotídico, medido usando BLASTn, usando los marcos de lectura abiertos homólogos, en particular de ORF3, ORF4 u ORF5, preferiblemente de ORF3, ORF4 y ORF5, más preferiblemente usando toda la secuencia genómica. En una realización particular, el genoma de dicha cepa de PRRSV consiste en un ácido nucleico con la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 1.

En una realización específica, la vacuna como se describe aquí comprende el virus completo de origen natural, o un virus vivo modificado. En otra realización, dicha vacuna es una vacuna viva atenuada, o una variante de origen natural que muestra infección reducida en cerdos, tanto en el nivel como en la duración de la viremia. Los métodos para la atenuación son conocidos por la persona experta en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a, el aislamiento de mutantes menos virulentos, posiblemente tras mutagénesis. Un virus vivo atenuado ya no provoca viremia ni síntomas de la enfermedad. Los síntomas de la enfermedad, como se usa aquí, son fiebre (>40ºC), pérdida de apetito y pérdida de actividad. En una realización adicional, dicha vacuna comprende un virus inactivado. Los métodos para la inactivación son conocidos por la persona experta en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a, tratamiento con formaldehído, tratamiento con glutaraldehído, tratamiento con AT-2, desnaturalización mediante pH y/o temperatura, irradiación gamma, irradiación UV, y tratamiento con etilenimina binaria (BEI). Preferiblemente, dicho virus inactivado es un virus inactivado mediante BEI. En el documento WO2009106629 se describe un método preferido para la inactivación. La cepa de PRRSV de tipo I que comprende en su genoma la secuencia de ácido nucleico caracterizada por SEQ ID Nº 13 es un ejemplo de una cepa viral que puede ser parte de una vacuna como un virus atenuado de origen natural, o una cepa atenuada natural, que muestra infección reducida en cerdos, tanto en el nivel como en la duración de la viremia. Virus de origen natural significa un virus que no se ha hecho pasar extensamente in vitro para obtener un virus atenuado, preferiblemente se usa menos de una 10ª pasada del virus. Con la infección de los cerdos, la viremia de tal virus es preferiblemente menor que 10exp3/ml de suero a nivel del pico, y la duración de la viremia es preferiblemente menor que 14 días tras la inoculación.

Una parte funcional del virus PRRSV, como se usa aquí, es una parte del virus que puede inducir inmunidad en el hospedante, es decir, que es capaz de inducir una respuesta inmune anti-PRRSV, es decir, una respuesta de anticuerpo y/o celular frente a la cepa de PRRSV como se describe aquí. Tales partes son, como ejemplo no limitante, una o más proteínas del virus, fragmentos proteicos o péptidos que portan al menos un epítopo capaz de inducir una respuesta inmune (protectora) frente a la infección por PRRSV, o partes del ADN viral, que codifican tal proteína o fragmentos proteicos o péptidos. Por lo tanto, una realización preferida de la descripción es una vacuna frente a PRRSV, en el que dicha vacuna comprende al menos una proteína o fragmento proteico derivado de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-194, o una variante de la misma. Preferiblemente, dicha vacuna comprende al menos una proteína o fragmento proteico derivado de la cepa 07V-063 o 08V-204; lo más preferible, comprende al menos una proteína de la cepa 07V-063. La cepa 07V-063 se caracteriza por su material genético, como se muestra en SEQ ID Nº 1 o SEQ ID Nº 11. La cepa 08V-204 se caracteriza por su material genético, que comprende la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 13. La cepa 08V-194 se caracteriza por su material genético, que comprende la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 12. Como se usa aquí, una variante es una cepa con mutaciones menores en el genoma, en la que dichas mutaciones pueden estar provocadas, como ejemplo no limitante, por varias pasadas en cultivo celular. Preferiblemente, dicha variante muestra al menos 95% de identidad, preferiblemente al menos 96%, más preferiblemente al menos 97% de identidad, más preferiblemente al menos 98% de identidad, incluso más preferiblemente al menos 99% de identidad a nivel nucleotídico del ácido nucleico que codifica la proteína, medido usando BLASTn, usando los marcos de lectura abiertos homólogos de ORF3, ORF4 u ORF5, preferiblemente de ORF3, ORF4 y ORF5, más preferiblemente usando toda la secuencia genómica. Preferiblemente, dicha proteína deriva de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-194. Incluso más preferiblemente, dicha proteína deriva de la cepa 07V-063 o 08V-204; lo más preferible, dicha proteína deriva de la cepa 07V-063. En otra realización, dicha vacuna consiste en una o más proteínas purificadas de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-194, o una variante de la misma.

Preferiblemente, dicha proteína o proteínas derivan de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-194, incluso más preferiblemente, dicha proteína o proteínas derivan de la cepa 07V-063 o 08V-204, lo más preferible, dicha proteína o proteínas derivan de la cepa 07V-063. Dicha proteína se puede aislar con base en la cepa natural, o como alternativa, se pueden producir usando técnicas recombinantes. En este último caso, dichas proteínas se pueden fusionar, ya sea química o genéticamente, a portadores para mejorar la respuesta genética. En otra realización preferida, dicha vacuna es una vacuna de ADN que comprende SEQ ID Nº 1, SEQ ID Nº 13 o SEQ ID Nº 12, o una variante de la misma, o fragmentos funcionales de dicha SEQ ID o variante. Un fragmento funcional, como se usa aquí, es un marco de lectura abierto (ORF) que codifica uno o más determinantes antigénicos del virus. Preferiblemente, es uno de los ORF conocidos del virus. Preferiblemente, dicha vacuna es una vacuna de ADN que comprende SEQ ID Nº 1 o SEQ ID Nº 13, incluso más preferiblemente, dicha vacuna es una vacuna de ADN que comprende SEQ ID Nº 1.

Se describe aquí una cepa de PRRSV de tipo 1 con menos de 90% de identidad a nivel del ADN con la cepa de EuroPRRSV (número de acceso AY366525; versión AY366525.1), o un fragmento funcional de la misma, para uso como un medicamento, preferiblemente para la preparación de una vacuna frente a la infección por PRRSV tipo 1 en cerdos. El 90% de identidad, como se usa aquí, se calcula usando un alineamiento de BLASTn (Zhang et al, 2000), usando los marcos de lectura abiertos homólogos, preferiblemente usando toda la secuencia genómica. Preferiblemente, la identidad está en un intervalo de 50%-89% con EuroPRRSV, incluso más preferiblemente entre 60%-89%, lo más preferible entre 70% y 89%. Preferiblemente, el genoma de dicha cepa de PRRSV de tipo 1 comprende SEQ ID Nº 1, SEQ ID Nº 13 o SEQ ID Nº 12, o un homólogo de la misma. Un homólogo, como se usa aquí, es una cepa con al menos 95% de identidad, preferiblemente al menos 96%, más preferiblemente al menos 97% de identidad, más preferiblemente al menos 98% de identidad, incluso más preferiblemente al menos 99% de identidad a nivel nucleotídico, medido usando BLASTn, usando los marcos de lectura abiertos homólogos de ORF3, ORF4 u ORF5, preferiblemente de ORF3, ORF4 y ORF5, más preferiblemente con base en toda la secuencia genómica. Lo más preferible, el genoma de dicha cepa de PRRSV consiste en un ácido nucleico con la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 1. En una realización preferida, dicha cepa es una cepa viva atenuada. En otra realización preferida, dicha cepa es una cepa inactivada, preferiblemente una cepa inactivada mediante BEI.

En una realización preferida, la vacuna según la invención comprende una forma inactivada completa de la cepa 07V-063 según se deposita en la BCCM™ con el número de acceso LMBP 6660. Preferiblemente, dicha inactivación es una inactivación mediante BEI. El uso de la cepa 07V-063 tiene varias ventajas con respecto a la cepa usada en vacunas comerciales. En primer lugar, es fácil de hacer crecer, ya sea en células Marc-145, o en células PK15$^{Sn-CD163}$. Además, tras la vacunación, hay una protección frente a la exposición homóloga, así como frente a la exposición heteróloga. Es importante señalar que las vacunas comerciales no protegen frente a la infección con la cepa 07V-063, mientras que esta cepa, cuando se usa como vacuna inactivada segura, todavía muestra una protección de amplio espectro.

En otra realización preferida, la vacuna según la invención comprende una forma naturalmente atenuada completa de la cepa 08V-204. Una ventaja particular de la cepa 08V-204 es que esta cepa, cuando se usa como vacuna atenuada de forma natural, da una excelente protección en experimentos de exposición heteróloga, que es incluso mejor que la protección obtenida con vacunas atenuadas comerciales.

Se describe una cepa de PRRSV de tipo 1 completa con menos de 90% de identidad a nivel del ADN con la cepa de EuroPRRSV (número de acceso AY366525; versión AY366525.1), o un fragmento funcional de la misma, para uso en el tratamiento de infección por PRRSV, preferiblemente infección por PRRSV de tipo 1 en cerdos. El 90% de identidad, como se usa aquí, se calcula usando un alineamiento de BLASTn (Zhang et al, 2000), usando los marcos de lectura abiertos homólogos, preferiblemente usando toda la secuencia genómica. Preferiblemente, la identidad está en un intervalo de 50%-89% con EuroPRRSV, incluso más preferiblemente entre 60%-89%, lo más preferible entre 70% y 89%. Preferiblemente, el genoma de dicha cepa de PRRSV de tipo 1 comprende SEQ ID Nº 1, SEQ ID Nº 13 o SEQ ID Nº 12, o un homólogo de la misma, incluso más preferiblemente, dicho genoma comprende SEQ ID Nº 1 o SEQ ID Nº 13, lo más preferible, dicho genoma comprende SEQ ID Nº 1. Un homólogo, como se usa aquí, es una cepa con al menos 95% de identidad, preferiblemente al menos 96%, más preferiblemente al menos 97% de identidad, más preferiblemente al menos 98% de identidad, incluso más preferiblemente al menos 99% de identidad a nivel nucleotídico, medido usando BLASTn, usando los marcos de lectura abiertos homólogos de ORF3, ORF4 u ORF5, preferiblemente de ORF3, ORF4 y ORF5, más preferiblemente usando toda la secuencia genómica. Más preferiblemente, el genoma de dicha cepa de PRRSV consiste en un ácido nucleico con la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 1, SEQ ID Nº 13 o SEQ ID Nº 12, incluso más preferiblemente, el genoma de dicha cepa de PRRSV consiste en un ácido nucleico con la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 1 o SEQ ID Nº 13, lo más preferible, el genoma de dicha cepa de PRRSV consiste en un ácido nucleico con la secuencia como se muestra en SEQ ID Nº 1. En una realización específica, dicha cepa es una cepa viva atenuada. En otra realización preferida, dicha cepa es una cepa natural o una cepa viva atenuada, preferiblemente la cepa 08V-204. En otra realización, dicha cepa es una cepa inactivada, preferiblemente una cepa inactivada mediante BEI, incluso más preferiblemente, es una cepa 07V-063 inactivada, lo más preferible es una cepa 07V-063 inactivada mediante BEI.

Todavía otro aspecto de la descripción es un método para prevenir o reducir insuficiencia reproductiva o respiratoria en un cerdo, preferiblemente PRRSV de tipo 1, comprendiendo dicho método (a) proporcionar una vacuna frente a PRRSV, en el que dicha vacuna comprende al menos una proteína derivada de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-

194, preferiblemente derivada de 07V-063 o 08V-204, incluso más preferiblemente derivada de 07V-063, o una variante de la misma, y (b) administrar dicha vacuna a dicho cerdo. Reducir la insuficiencia reproductiva o respiratoria, como se usa aquí, significa que los síntomas clínicos de la enfermedad en los animales tratados son menos graves que en los animales no tratados. Tal reducción se puede medir, como ejemplo no limitante, como una reducción en la fiebre, o una reducción en la viremia. Preferiblemente, dicha proteína deriva de las cepas 07V-063, 08V-204 o 08V-194, preferiblemente deriva de 07V-063 o 08V-204, incluso más preferiblemente deriva de 07V-063. En una realización particular, dicha vacuna es un virus atenuado natural, un virus vivo modificado, o una vacuna viva atenuada. En otra realización, dicha vacuna comprende un virus inactivado. Los métodos para la inactivación son conocidos por la persona experta en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a, irradiación con UV y tratamiento con etilenimina binaria (BEI). Preferiblemente, dicho virus inactivado es un virus inactivado mediante BEI. En el documento WO2009106629 se describe un método preferido para la inactivación. En otra realización preferida, dicha vacuna comprende o consiste en una o más proteínas purificadas de la cepa 07V-063, 08V-204 o 08V-194, preferiblemente una o más proteínas de la cepa 07V-063 o 08V-204, incluso más preferiblemente una o más proteínas de la cepa 07V-063, o una variante de la misma. Preferiblemente, dichas proteínas derivan de la cepa 07V-063, 08V-204, o 08V-194, preferiblemente derivan de 07V-063 o 08V-204, incluso más preferiblemente derivan de 07V-063. Dicha proteína se puede aislar con base en la cepa natural, o como alternativa, se pueden producir usando técnicas recombinantes. En este último caso, dichas proteínas se pueden fusionar, ya sea química o genéticamente, a portadores para mejorar la respuesta genética. En una realización preferida, dicha vacuna es una vacuna de ADN que comprende SEQ ID Nº 1, SEQ ID Nº 13 o SEQ ID Nº 12, o una variante de la misma, o fragmentos funcionales de dicha SEQ ID o variante. Un fragmento funcional, como se usa aquí, es un marco de lectura abierto (ORF) que codifica uno o más determinantes antigénicos del virus. Preferiblemente, es uno de los ORF conocidos del virus.

El trabajo que condujo a esta invención ha recibido financiación del Seventh Framework Programme de la Comunidad Europea (FP7/2007-2013) con el convenio de subvención nº 245141.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Calendario del experimento de vacunación: tiempo de toma de muestra, con indicación de los análisis llevados a cabo en la muestra (IPMA, SN y titulación del virus)

Figura 2: Evolución de los anticuerpos y viremia tras la vacunación con LV inactivado mediante BEI y 07V-063 inactivado mediante BEI. Los anticuerpos específicos del virus se determinaron usando el ensayo de IPMA (A y B), los anticuerpos neutralizantes del virus se determinaron mediante un ensayo de SN (C y D), y la viremia se midió tras la exposición, mediante titulación del virus en macrófagos (E y F). Los valores individuales de cada grupo se muestran como círculos; las líneas muestran la media del grupo. Los círculos en negro y las líneas continuas representan los grupos vacunados, los círculos en blanco y las líneas discontinuas representan el control no vacunado. Las flechas indican el tiempo de vacunación (primera flecha: primovacunación, segunda flecha: vacunación de recuerdo), el símbolo parecido a un virus: el tiempo de exposición. La línea recta paralela al eje X indica el límite de detección.

Figura 3: Calendario del experimento de vacunación del ejemplo 3: tiempo de toma de muestras, con indicación de los análisis llevados a cabo en la muestra (IPMA, SN y titulación del virus)

Figura 4: Resultados de los ensayos de IPMA tras la vacunación con Progressis (A), Porcilis® PRRS (B), Ingelvac® PRRS (C) y 07V-063 inactivado mediante BEI (D). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 5: Resultados de los ensayos de SN tras la vacunación con Progressis (A), Porcilis® PRRS (B), Ingelvac® PRRS (C) y 07V-063 inactivado mediante BEI (D). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 6: Resultados de la determinación de la viremia tras la vacunación con Progressis (A), Porcilis® PRRS (B), Ingelvac® PRRS (C) y 07V-063 inactivado mediante BEI (D). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 7: Calendario del experimento de vacunación del ejemplo 4: tiempo de toma de muestras, con indicación de los análisis llevados a cabo en la muestra (IPMA, SN y titulación del virus)

Figura 8: Resultados de los ensayos de IPMA tras la vacunación para el grupo de control (A), 08V-204 inactivado mediante BEI (B), 07V-063 inactivado mediante BEI (C), vacuna de combinación inactivada mediante BEI (D), LV inactivado mediante BEI (E) y Porcilis® PRRS (F). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 9: Resultados de los ensayos de SN tras la vacunación para el grupo de control (A), 08V-204 inactivado mediante BEI (B), 07V-063 inactivado mediante BEI (C), vacuna de combinación inactivada mediante BEI (D), LV inactivado mediante BEI (E) y Porcilis® PRRS (F). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 10: Resultados de la titulación de la viremia tras la vacunación para el grupo de control (A), 08V-204 inactivado mediante BEI (B), 07V-063 inactivado mediante BEI (C), vacuna de combinación inactivada

mediante BEI (D), LV inactivado mediante BEI (E) y Porcilis® PRRS (F). Los símbolos son como en la Figura 2.

Figura 11: Secuencia de ácido nucleico de ORF2-7 para la cepa 07V-063 (SEQ ID Nº 11); el gris es el primer nucleótido del codón de partida, y subrayado se encuentra el último nucleótido del codón de parada

- ORF2a(1-750) → GP2
- ORF3(609-1406) → GP3
- ORF4(1151-1702) → GP4
- ORF5(1699-2304) → GP5
- ORF6(2292-2813) → M
- ORF7(2803-3189) → N

Figura 12: Secuencia de ácido nucleico de ORF2-7 para la cepa 08V-194 (SEQ ID Nº 12); el gris es el primer nucleótido del codón de partida, y subrayado se encuentra el último nucleótido del codón de parada

- ORF2a(1-750) → GP2
- ORF3(609-1388) → GP3
- ORF4(1151-1684) → GP4
- ORF5(1681-2286) → GP5
- ORF6(2274-2795) → M
- ORF7(2785-3171) → N

Figura 13: Secuencia de ácido nucleico de ORF2-7 para la cepa 08V-204 (SEQ ID Nº 13); el gris es el primer nucleótido del codón de partida, y subrayado se encuentra el último nucleótido del codón de parada

- ORF2a(1-750) → GP2
- ORF3(609-1391) → GP3
- ORF4(1151-1690) → GP4
- ORF5(1687-2292) → GP5
- ORF6(2280-2802) → M
- ORF7(2791-3178) → N

Figura 14: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B) para 7 cerdos no vacunados, expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

Figura 15: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B), para 6 cerdos, vacunados con la cepa 08V-194 inactivada que se hace crecer en células Marc, expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

Figura16: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B), para 6 cerdos, vacunados con la cepa 08V-194 inactivada que se hace crecer en células PK15, expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

Figura 17: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B), para 6 cerdos, vacunados con la cepa 07V-063 inactivada que se hace crecer en células Marc, expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

Figura 18: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B), para 6 cerdos, vacunados con la cepa 07V-063 inactivada que se hace crecer en células PK15, expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

Figura 19: Desarrollo de anticuerpos (según se mide mediante el título de SN; A) y el título del virus (B), para 6 cerdos, vacunados con la cepa 08V-204 atenuada de forma natural, que se hace crecer en células Marc,

expuestos a la cepa 08V-194. Los números se refieren a las medidas en los cerdos individuales, “gem” indica la media.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Aislamiento y caracterización de la cepa 07V-063

La cepa 07V-063 del PRRSV se aisló de una cerda procedente de una granja de cerdos en la que los animales se vacunaron con una vacuna de PRRSV atenuada del virus de tipo 1 europeo. La cepa 07V-063 se aisló de tejido fetal y se cultivó en macrófagos de cerdo alveolares. La cepa se adaptó a células Marc-145 mediante pasadas repetidas. La cepa se caracterizó mediante secuenciación; en la Tabla 1 se muestra la identidad de secuencia de partes del genoma o del genoma total con respecto a los aislados europeo y norteamericano secuenciados. De forma similar, las cepas 08V-204 y 08V-194 de PRRSV se aislaron de sueros de lechones recogidos a la edad de 8 y 14 semanas respectivamente.

Tabla 1: Resumen de un número de secuencias de PRRSV de longitud completa y porcentaje de identidad con 07V-063

Número de acc.	Nombre	Ref. citada con acceso	Tamaño (pb)	Tipo	% de identidad del ADN (07V063 como referencia)
GQ914997	SD1-100	Zhang et al, sin publicar	15458	Tipo II (aislado en China)	3479-4475: 68% 7288-10128: 67% 10595-11410: 66% 11734-15014: 66%
GQ857656	SX-1	Zhang et al, sin publicar	15344	Tipo II (aislado en China)	11734-15014: 66%
GQ359108	SD-CXA/2008	Zhu et al, sin publicar	15358	Tipo II (en China)	180-718: 69% 11734-15014: 66%
FJ524377	VR-2332 (mutante)	Han et al, 2008	15180	Tipo II	180-704: 68% 11734-15014: 66%
GQ351601	BJ0706	Li et al, sin publicar	15444	Tipo II (en China)	180-718: 69% 11734-15017: 66%
EU939312	Jsyx	Zhao et al, sin publicar	15351	Tipo II (en China)	180-718: 68% 11734-15014: 66%
EU708726	JX143	Lv et al, sin publicar	15373	Tipo II (en China)	180-718: 68% 11734-15014: 66%
NC_001961	16244B	Allende et al, sin publicar	15428	Tipo II	180-704: 66% 11734-15014: 66%
U87392	VR-2332	Murtaugh et al, 1995	15411	Tipo II	180-704: 68% 11734-15014: 66%
AY150564	VR-2332	Nielsen et al, 2003	15451	Tipo II	Véase U87392
FJ536165	NB/04	Yun et al, sin publicar	15434	Tipo II	180-718: 69% 11734-15014: 66%
AF159149	MLV RespPRRS/Repro	Allende et al, 2000	15390	Tipo II	180-704: 68% 11734-15014: 66%
AF494042	P129	Calvert et al, Patente: JP (2000189178/A/1)-A	15450	Tipo II	193-752: 68% 11734-15014: 66%
DQ988080	Ingelvac ATP	Faaberg et al, 2006	15413	Tipo II	180-704: 68% 11734-15014: 66%
AF066183	Vacuna respPRRS	Nelsen et al,	15412	Tipo II	180-704: 68% 11734-15014: 66%
EF532801	IngelvacATP	Murtaugh et al,	15071	Tipo II	Véase U87392
DQ779791	PrimePac	Kwon et al, 2006	15521	Tipo II	180-704: 68% 11750-15014 : 66%
AY262352	HB-2(Sh)/2002	Gao et al, 2004	15398	Tipo II (China)	180-704: 69% 11750-15014: 66%

Número de acc.	Nombre	Ref. citada con acceso	Tamaño (pb)	Tipo	% de identidad del ADN (07V063 como referencia)
FJ950747	BJSD	Liu et al, 2009	15345	Tipo II (China)	ND
EU880443	GS2004	Chen, 2008	15423	Tipo II (China)	ND
EU880437	HN2007	Chen, 2008	15334	Tipo II (China)	ND
EF536000	MN30100	Murtaugh et al, 2007	15207	Tipo II	ND
GU168569	08SDWF	Zhu et al, sin publicar	15345	Tipo II (China)	ND
GU067771	Amervac	Chen et al, sin publicar	15098	Tipo I	1-2321: 86%; 2379-12386: 88%
GU047345	NMEU09-1	Chen et al, sin publicar	15068	Tipo I (aislado en China)	1-2178: 83%; 2580-10491: 84%; 6537-15014:86%
GU047344	BJEU06-1	Chen et al, sin publicar	15059	Tipo I (aislado en China)	1-2288: 84% 5727-15014: 87% 2374-11298:86%
AY366525	EuroPRRSV	Ropp et al, 2004	15428	Tipo I	1-15014: 86%
M96262	LV	Meulenberg et al, 1993	15111	Tipo I	1-2321: 87% 2379-13100: 89%
A268843	LV	Patente: WO 9221375-A 1	15108	Tipo I	11-2321: 86% 2344-15014: 89%
GQ461593	SHE	Zhuang et al, 2008	15120	Tipo I (en China)	1-2321: 85% 2345-15014: 88%
FJ349261	KNU-07	Nam et al, 2009	15038	Tipo I (en Korea)	1-2327: 83% 2435-15014: 85%
DQ864705	01CB1	Amonsin et al, sin publicar	14943	Tipo I (en Tailandia)	78-2321: 86% 2345-14936: 89%
DQ489311	SD01-08	Fang et al, 2006	15047	Tipo I	1-15014: 86%
EU076704	Hkeu-16	Li et al, sin publicar	15074	Tipo I (en Hong Kong)	1-2270: 84% 2345-15014: 86%

Ejemplo 2: Vacunación con vacuna específica de la cepa

Inactivación viral

Se preparó un lote de 0,1 M de BEI mediante ciclación de 2-bromoetilamina en NaOH 0,175 M durante 1 h a 37ºC, y se almacenó a 4ºC. 07V-063 (10^8 $TCID_{50}$/ml), así como LV (documento WO9221375) (10^8 $TCID_{50}$/ml), se inactivaron con etilenimina binaria (BEI) 1 mM durante 24 h a 37ºC. Después, la BEI se neutralizó mediante incubación con tiosulfato sódico 0,1 mM durante 2 h a 37ºC. La inactivación completa se comprobó inoculando una botella de Marc-145 con una dosis completa de vacuna (1 ml), con lo que las células Marc-145 fueron seguidas durante dos pasadas a ciegas. La detección del virus infeccioso se llevó a cabo mediante inmunotinción de la nucleocápside de PRRSV. No se pudo detectar ningún virus infeccioso en la suspensión de virus inactivado.

Vacunación

Dos grupos de 6 lechones se vacunaron cada uno usando el virus inactivado mediante BEI; un grupo se vacunó con la vacuna a base de 07V-063, el otro con la vacuna a base de LV. Los lechones se vacunaron con una dosis de 10^8 $TCID_{50}$ en adyuvante de o/w Suvaxin. Un tercer grupo de control se trató solamente con el adyuvante. Cuatro semanas después de la segunda vacunación, todos los lechones se expusieron a 07V-063 infecciosa, que se hizo crecer en macrófagos SPF. La Tabla 2 da un resumen de los diferentes tratamientos.

Tabla 2. Resumen de los diferentes tratamientos durante la vacunación.

Grupo	Nº de animales	Primovacunación (T= 5 semanas)	Vacunación de recuerdo (T= 9 semanas)	Exposición (T= 13 semanas)
A	6	Control de adyuvante	Control de adyuvante	Cepa 07V-063 10^6 $TCID_{50}$/ 2 ml
B	6	07V-063 inactivado mediante BEI	07V-063 inactivado mediante BEI	Cepa 07V-063 10^6 $TCID_{50}$/ 2 ml

Grupo	Nº de animales	Primovacunación (T= 5 semanas)	Vacunación de recuerdo (T= 9 semanas)	Exposición (T= 13 semanas)
C	6	LV inactivado mediante BEI	LV inactivado mediante BEI	Cepa 07V-063 10^6 $TCID_{50}$/ 2 ml

Resultados

En todas las muestras de suero, la cantidad total de anticuerpos específicos del virus se determinó con el ensayo de IPMA, y la cantidad de anticuerpos neutralizantes del virus se determinó con el ensayo de SN. A medida que se llevó a cabo la exposición usando la cepa 07V-063, se detectaron anticuerpos frente a esta cepa. La cantidad de virus infeccioso en el suero se detectó mediante titulación del virus en macrófagos. En ninguno de los animales se pudo detectar el virus una semana después de la primovacunación y la vacunación de recuerdo, indicando que no se indujo ninguna viremia por la vacunación.

En el grupo de control no vacunado, no se detectaron anticuerpos específicos del virus antes de la exposición (Figura 2A y B). 7 días después de la exposición, se pudieron detectar anticuerpos en todos los animales del grupo de control no vacunado. En el grupo vacunado con LV inactivado mediante BEI, se pudieron detectar antígenos específicos del virus frente a 07V-063 a partir de dos semanas tras la primovacunación; tras las vacunaciones de recuerdo, todos los animales puntuaron positivamente. 7 días tras la exposición, el título de anticuerpos en este grupo puntuó de forma significativamente mayor que en el grupo de control no vacunado. En el grupo de 07V-063 inactivado mediante BEI, en algunos animales, ya se pudieron detectar anticuerpos tres semanas tras la primovacunación; todos los animales de este grupo puntuaron positivamente tras la vacunación de recuerdo. 10 días tras la exposición, el título de anticuerpos en este grupo puntuó de forma significativamente mayor que en el grupo de control no vacunado (Figura 1A y B).

No se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus en el grupo de control no vacunado hasta 5 semanas tras la exposición. Incluso 6 semanas después de la exposición, no todos los animales de este grupo puntuaron positivamente. (Figura 2, B y C). En el grupo vacunado con el LV inactivado mediante BEI, ya se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus frente a 07V-063 tras la vacunación de recuerdo. Los títulos de los anticuerpos disminuyeron tras la exposición, pero aumentaron nuevamente 10 días tras la infección. Algunos animales puntuaron negativamente para los anticuerpos neutralizantes del virus en el período entre una semana antes de la exposición y 10 días después de la exposición, pero tras esos 10 días, se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus en todos los animales. En un animal, solamente se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus 4 semanas después de la exposición. El título de los anticuerpos neutralizantes del virus fue significativamente mayor que para el grupo de control.

En el grupo vacunado con el 07V-063 inactivado mediante BEI, ya se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus frente a 07V-063 tras la vacunación de recuerdo. Los títulos de los anticuerpos disminuyeron tras la exposición, pero aumentaron nuevamente 10 días tras la infección. Algunos animales puntuaron negativamente para los anticuerpos neutralizantes del virus en el período entre dos semanas antes de la exposición y 10 días tras la exposición, pero tras esos 10 días, se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus en todos los animales. El título de los anticuerpos neutralizantes del virus fue significativamente mayor que para el grupo de control.

En el grupo de control no vacunado, la viremia se detectó un día después de la exposición, para 3/6 cerdos con una media máxima después de 10 días. 4 semanas tras la exposición, todos los animales de los grupos de control puntuaron nuevamente de forma negativa. En el grupo vacunado con LV inactivado mediante BEI, todos los animales mostraron viremia, con un pico en el día 7, y el título medio del virus no fue significativamente menor que el grupo de control. 4 semanas tras la exposición, todos los animales de los grupos puntuaron nuevamente de forma negativa. En el grupo vacunado con 07V-063 inactivado mediante BEI, todos los animales mostraron viremia, pero el pico apareció más pronto (día 5) y fue más pequeño. 10 días después de la exposición, todos los animales ya eran negativos al virus, pero un animal mostró un título del virus positivo en el día 21 tras la exposición. Los resultados se resumen en la Figura 2, D y E. Los resultados demuestran que la vacuna a base de 07V-063 da una mejor protección frente a una exposición homóloga que la vacuna a base de LV.

Ejemplo 3: Vacunación con una vacuna específica del virus en comparación con vacunas comerciales

Diseño experimental

En el experimento se usaron 5 grupos de 6 lechones, que proceden de una granja negativa a PRRSV. A la edad de 7 semanas, dos grupos de 6 cerdos se vacunaron intramuscularmente en el cuello, respectivamente con la vacuna atenuada de tipo americano (Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim, 10^4 $TCID_{50}$/2 ml) y la vacuna atenuada de tipo europeo (Porcilis® PRRS, Intervet, 10^4 $TCID_{50}$/2 ml). Dos grupos de 6 cerdos se vacunaron a las 5 semanas (primovacunación) y 9 semanas (vacunación de recuerdo), un grupo con la vacuna de 07V-063 inactivada mediante BEI (10^8 $TCID_{50}$ /2 ml), y el otro grupo con la vacuna inactivada comercial (PROGRESSIS, Merial, cepa P120, mínimo 2,5 unidades de log IF). Un grupo de control de 6 lechones recibió solamente RPMI en adyuvante de Suvaxyn. Todos los cerdos se expusieron intranasalmente, 4 semanas tras la vacunación de recuerdo con 07V-063

infecciosa (10^6 $TCID_{50}$) suspendida en disolución salina amortiguada con fosfato (1 ml por fosa nasal). En la Tabla 3 se da un resumen del calendario de vacunación; en la Figura 3 se muestra el calendario de toma de muestras.

Resultados

En todas las muestras séricas, la cantidad total de anticuerpos específicos del virus se determinó con el ensayo de IPMA, y la cantidad de anticuerpos neutralizantes del virus se determinó con el ensayo de SN. A medida que la exposición se llevó a cabo usando la cepa 07V-063, se detectaron anticuerpos frente a esta cepa. La cantidad de virus infeccioso en el suero se detectó mediante titulación del virus en macrófagos. No se pudo detectar el virus en ninguno de los animales una semana después de la primovacunación y de la vacunación de recuerdo, indicando que no se indujo viremia por la vacunación.

Tabla 3. Resumen de los grupos en el experimento de vacunación

Grupo	Nº de animales	Primovacunación (T= 5 semanas)	Vacunación de recuerdo (T= 9 semanas)	Exposición (T= 13 semanas)
A	6	Control de adyuvante	Control de adyuvante	Cepa 07V-063 10^6TCID_{50}/ 2 ml
B	6	07V-063 inactivado mediante BEI	07V-063 inactivado mediante BEI	Cepa 07V-063 10^6TCID_{50}/ 2 ml
C	6	PROGRESS IS (Merial)	PROGRESSIS (Merial)	Cepa 07V-063 10^6TCID_{50}/ 2 ml
Grupo	Nº de animales	Primovacunación (T= 7 semanas)	Vacunación de recuerdo	Exposición (T= 13 semanas)
D	6	Ingelvac® PRRS MLV (Boehringer Ingelheim)	/	Cepa 07V-063 10^6 $TCID_{50}$/ 2 ml
E	6	Porcilis® PRRS (Intervet)	/	Cepa 07V-063 10^6 $TCID_{50}$/ 2 ml

En el grupo de control no vacunado, no se detectaron anticuerpos específicos del virus antes de la exposición (Figura 4 A-D). 7 días tras la exposición, los anticuerpos se pudieron detectar en todos los animales del grupo de control no vacunado; 1 A y B). En el grupo vacunado con Progressis, solamente un animal mostró anticuerpos específicos del virus una semana después de la vacunación de recuerdo, y solamente tras la exposición, todos los animales puntuaron positivamente (Figura 4 A). Sin embargo, tras la exposición, el título de anticuerpos de este grupo no fue significativamente mayor que el título del grupo de control no vacunado. En el grupo vacunado con una única inyección de Porcilis® PRRS, dos semanas después de la vacunación, se pudieron detectar anticuerpos específicos del virus en 3 de los 6 cerdos (Figura 4B). Los anticuerpos específicos del virus se pudieron detectar hasta el final del experimento, y el título tras la exposición fue significativamente mayor que aquel para el grupo de control no vacunado. En el grupo vacunado con una única inyección de Inglevac® PRRS, dos semanas después de la vacunación, se pudieron detectar anticuerpos específicos del virus en 3 de los 6 cerdos (Figura 4C). Los anticuerpos específicos del virus se pudieron detectar hasta el final del experimento, pero 10 días después de la exposición, el título ya no fue significativamente mayor que para el grupo de control no vacunado. En el grupo vacunado con 07V-063 inactivado mediante BEI, para un número de animales, ya se pudieron detectar anticuerpos específicos del virus tres semanas después de la primovacunación; tras la vacunación de recuerdo, todos los animales de este grupo puntuaron positivamente. A partir de 10 días tras la exposición, el título de anticuerpos en este grupo fue significativamente mayor que para el grupo de control no vacunado (Figura 4 D).

En el grupo no vacunado, solamente se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus 5 semanas tras la exposición, e incluso 6 semanas tras la exposición, no todos los animales puntuaron positivamente (Figura 5, A-D). Los grupos vacunados con Progressis (dos inyecciones), Porcilis® PRRS (una única inyección) e Inglevac® PRRS (una única inyección) mostraron una evolución similar con respecto al grupo de control no vacunado, con la excepción del grupo vacunado con Porcilis®, en el que se observó un incremento notable de anticuerpos neutralizantes del virus 4 semanas tras la exposición (Figura 5, A-C). En el grupo vacunado con el 07V-063 inactivado mediante BEI, ya se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus tras la vacunación de recuerdo. El título medio de anticuerpos fue decreciendo directamente tras la exposición, pero aumentó nuevamente 10 días tras la exposición (Figura 5 D). Algunos animales puntuaron negativamente para anticuerpos neutralizantes del virus en el período desde las 2 semanas antes de la exposición hasta 10 días después de la exposición, pero tras 10 días, todos los animales puntuaron positivamente. El título de anticuerpos neutralizantes del virus fue significativamente mayor, en comparación con el control no vacunado, así como en comparación con los otros grupos.

En el grupo no vacunado, se detectó viremia desde el día 1 tras la exposición (3 cerdos de 6), y un pico de viremia, de media, tras 10 días después de la exposición. 4 semanas tras la exposición, todos los animales puntuaron nuevamente de forma negativa (Figura 6, A-D). En el grupo vacunado con Progressis, se detectó viremia en todos los animales, con un pico alrededor de 10-14 días tras la exposición; el valor medio de la viremia no se redujo en comparación con el grupo de control. 5 semanas tras la exposición, todos los animales de este grupo puntuaron de nuevo negativamente (Figura 6, A). Los dos grupos vacunados con las vacunas de PRRS comerciales mostraron una reducción parcial en la viremia, con un pico medio en el día 5 tras la exposición (Figura 6, B y C). Solamente 5 semanas tras la exposición, todos los animales de estos grupos fueron consistentemente negativos al virus. En el grupo vacunado con el 07V-063 inactivado mediante BEI, todos los animales mostraron cierta viremia (pico medio pequeño en el día 5 tras la exposición), pero 10 días tras la exposición, todos los animales de este grupo fueron negativos al virus (Figura 6 D).

Este experimento demuestra que el 07V-063 inactivado mediante BEI da una mejor protección frente a un reto homólogo que las vacunas comerciales ensayadas.

Ejemplo 4: Vacuna de PRRSV inactivada mediante BEI homóloga frente a heteróloga

Cepas

El aislamiento de la cepa 07V-063 se describe en el ejemplo 1. La cepa 08V-204 de PRRSV se aisló de una cerda que procede de una granja de cerdos en la que los animales se vacunaron con una vacuna de PRRSV atenuada del virus de tipo 1 europeo. La cepa 08V-204 se aisló de sueros de lechones de 4 semanas, y se cultivó en macrófagos alveolares de cerdo. La cepa se adaptó a células Marc-145 mediante pasadas repetidas. La cepa se caracterizó mediante secuenciación, y es claramente diferente tanto de la cepa 07V-063 como de la cepa LV.

Crecimiento del virus, purificación, y producción de la vacuna

Las cepas 07V-063, 08V-204 y LV de PRRSV se hicieron crecer en células MARC-145, cuando se usaron para la producción de vacunas. El virus se purificó mediante ultracentrifugación. La cepa 08V-204 de PRRSV se hizo crecer en macrófagos SPF cuando se usó para la exposición.

La producción de vacuna se llevó a cabo como se describe en el ejemplo 2.

Diseño experimental

4 grupos de 6 lechones se vacunaron dos veces usando una vacuna de PRRSV inactivada mediante BEI. Un grupo se vacunó con LV inactivado mediante BEI, un grupo con 07V-063 inactivado mediante BEI, un grupo con 08V-204 inactivado mediante BEI, y uno con una vacuna de combinación inactivada mediante BEI, que consiste en cantidades iguales de 08V-204 y 07V-063. Un quinto grupo solamente se inyectó con adyuvante y se usó como grupo de control. El último grupo se vacunó una vez usando la vacuna atenuada europea comercial (Porcilis® PRRSV, Intervet). 4 semanas tras la vacunación de recuerdo, todos los lechones se expusieron a 08V-204 infecciosa. El calendario de vacunación se resume en la Tabla 4.

A diferentes etapas de tiempo, se tomaron muestras de sangre para la determinación de anticuerpos específicos del virus (ensayo de IPMA), anticuerpos neutralizantes del virus (ensayo de SN), y de la viremia (titulación del virus en macrófagos. La Figura 7 da un resumen esquemático de la toma de muestras

Resultados

En todas las muestras de suero, la cantidad total de anticuerpos específicos del virus se determinó usando el ensayo de IPMA, y la cantidad de anticuerpos neutralizantes del virus usando el ensayo de SN. Debido al hecho de que la exposición se llevó a cabo con la cepa 08V-204, se detectaron específicamente anticuerpos frente a esta cepa. A diferentes etapas de tiempo tras la exposición, se determinó la cantidad de virus infeccioso usando titulación del virus en macrófagos. 1 semana tras la primovacunación y la vacunación de recuerdo, se llevó a cabo la titulación del virus, que muestra que en ninguno de los animales se indujo viremia por la vacunación. Solamente en un animal del grupo de Porcilis® se pudo detectar virus dos semanas después de la vacunación. Los resultados de los anticuerpos específicos del virus se muestran en la Figura 8, los de los anticuerpos neutralizantes del virus en la figura 9, y la evolución de la viremia se muestra en la figura 10.

Tabla 4: Calendario de vacunación del ejemplo 4

Grupo	Nº de animales	Vacuna	Aplicación
A	7	Control de adyuvante	2X, 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
B	6	LV inactivado	2X, 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
C	6	07V-063 inactivado	2X, 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)

Grupo	Nº de animales	Vacuna	Aplicación
D	6	08V-204 inactivado	2X, 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
E	6	Vacuna de combinación 08V-204 / 07V-063	2X, 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
F	6	Porcilis® PRRS (Intervet)	1X, 6 semanas antes de la exposición (edad: 7 semanas)

En el grupo de control no vacunado, no se pudieron detectar anticuerpos específicos frente a 08V-204 antes de la exposición. En el día 7 tras la exposición, se pudieron detectar anticuerpos de IPMA en 6 de 7 animales. En el grupo vacunado con una única inyección de Porcilis® PRRS, se pudieron detectar anticuerpos específicos del virus en todos los animales, 2 semanas después de la exposición. Los anticuerpos específicos del virus siguieron siendo detectables hasta el final del ensayo; tras la exposición, el título de anticuerpos no fue significativamente mayor que para el grupo de control no vacunado ($p<0,0001$). En los grupos vacunados con las vacunas 08V-204, 07V-063, LV y la vacuna de combinación, inactivadas mediante BEI, ya se pudieron detectar anticuerpos específicos del virus tras la primovacunación. Tras la vacunación de recuerdo, todos los animales puntuaron positivamente hasta el final del experimento. En comparación con el grupo de control no vacunado, se encontró una diferencia significativa en el título de los anticuerpos para los cuatro grupos vacunados con vacunas inactivadas mediante BEI (Figura 8).

En el grupo de control no vacunado, solamente se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus a partir de 6 semanas tras la exposición, en 5 de 7 animales. El grupo vacunado con el LV inactivado mediante BEI mostró una evolución similar a la del grupo de control no vacunado, con lo que se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus en 2 de 6 animales, 6 semanas después de la exposición. En el grupo vacunado con la Porcilis® PRRS (una única inyección), ya se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus 2 semanas tras la exposición. Sin embargo, el análisis estadístico mostró que no había ninguna diferencia significativa con el grupo de control no vacunado. En los grupos vacunados con 08V-204, 07V-063 y vacuna de combinación inactivados mediante BEI ya se pudieron detectar anticuerpos neutralizantes del virus tras la vacunación de recuerdo (significativamente diferente del grupo de control, $P< 0,001$). El título medio de anticuerpos disminuyó por debajo del límite de detección, directamente tras la exposición, pero aumentó nuevamente 10 días tras la exposición. En estos grupos se observó la mayor variabilidad en el título entre los animales individuales; algunos animales mostraron un título de SN muy elevado, mientras que en otros no se pudieron detectar anticuerpos. Los títulos de anticuerpos neutralizantes del virus en los grupos vacunados con 08V-204 y 07V-063 inactivados mediante BEI fueron significativamente diferentes en comparación con todos los otros grupos (Figura 9).

Tras la exposición, se siguió la evolución de la temperatura rectal durante 14 días para todos los lechones. En todos los grupos, se observó desarrollo de fiebre. En el grupo de control no vacunado, se detectó viremia 3 días después de la exposición (en uno de 6 cerdos), con un pico medio tras 7 hasta 10 días. Dos semanas después de la exposición, todos los animales puntuaron nuevamente de forma negativa. Como se muestra en la Figura 10, la viremia en el grupo vacunado con Porcilis® PRRS es muy corta, con un pico medio en el día 7 tras la exposición. Sin embargo, el análisis estadístico demostró que no hubo ninguna diferencia significativa con el grupo de control no vacunado. En el grupo vacunado con LV inactivado mediante BEI, solamente en el día 7 tras la exposición se pudo detectar viremia en todos los animales, pero la viremia media no se redujo en comparación con el grupo de control. 10 días tras la exposición, todos los animales de este grupo puntuaron de nuevo negativamente. En los grupos vacunados con 08V-204, 07V-063 y vacuna de combinación inactivados mediante BEI, no se pudo demostrar ninguna reducción en la viremia. Tres semanas tras la exposición, 1 de 6 cerdos puntuó de nuevo positivamente en los grupos vacunados con 08V-204 y vacunados con la vacuna de combinación. 4 semanas tras la exposición, todos los animales en los tres grupos puntuaron negativamente. (Figura 10)

Ejemplo 5: Comparación de la vacuna inactivada con vacunas comerciales en cerdas inmunes a la infección

Animales

Se adquirieron veinticuatro cerdas retiradas de una granja positiva a PRRSV, en la que 07V-063 es la cepa de PRRSV circulante. Las cerdas se dividieron en cinco grupos (designados grupos A, B, C, D y E), y se alojaron en un establo según las directrices europeas. Se les administró comida y agua a voluntad.

Vacunas

Las vacunas de PRRSV que se usan son la cepa del virus europeo atenuada (Porcilis® PRRS, Intervet, 10^4 $TCID_{50}$/2 ml), la cepa del virus americano atenuada (Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim, $10^{4,9}TCID_{50}$/2 ml), la cepa del virus europeo inactivada (PROGRESSIS, Merial, cepa P120; min 2,5 unidades de log IF), y la vacuna inactivada con base en la cepa 07V-063 del PRRSV.

Vacunación

Una semana después de la llegada, las cerdas de los grupos B, C, D y E (cada grupo, n = 5 cerdas) se vacunaron intramuscularmente en el cuello respectivamente con la autovacuna desarrollada experimentalmente, la cepa del virus atenuado europeo. Las cerdas del grupo A (n = 4 cerdas) se mantienen sin vacunar, y servirán como cerdos de control.

Grupo	Nº de cerdas	Vacunación
A	4	Control de adyuvante
B	5	Título del PRRSV inactivado: 10^8 $TCID_{50}$/ 2 ml
C	5	Porcilis® PRRS, Intervet
D	5	Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim
E	5	PROGRESSIS, Merial

Observaciones clínicas y toma de muestras

Tras la vacunación, las cerdas se monitorizaron clínicamente mediante inspección visual. El lugar de la vacunación se examina en busca de inflamación local. Se toman muestras de sangre mediante venipunción yugular a las 0, 1, 2 y 3 semanas tras la vacunación.

Determinación de los títulos de anticuerpos: ensayo de IPMA

Los IPMA con células MARC-145 se establecen para determinar los anticuerpos específicos del PRRSV. Se siembran células MARC-145 en placas de cultivo celular de 96 pocillos, se inoculan con 50 µl de un aislado de PRRSV europeo (07V-063), y se incuban durante 18 h (37ºC, 5% de CO_2). Después, el medio de cultivo se elimina, y las células se lavan en PBS y se secan a 37ºC durante 1 h. Las placas se mantienen a -70ºC. Las placas se descongelan, y después se fijan en paraformaldehído al 4% durante 10 min. Se elimina el paraformaldehído; las células se lavan dos veces con PBS. Se añaden diluciones de cuatro veces en serie de los sueros. Los sueros se incubarán durante 1 h a 37ºC. Las placas se lavan tres veces con PBS, y se añaden 50 µl de anticuerpo secundario de conejo anti-cerdos 1/250 por pocillo, y se incuban a 37ºC durante 1 h. Las placas se lavan tres veces, y se añaden a cada pocillo 50 µl de una disolución de sustrato (250 µl de AEC, 5 ml de amortiguador de acetato, y 4 µl de H_2O_2 (30%)), seguido de la incubación a temperatura ambiente durante 20 min. Después, la reacción se bloquea sustituyendo el sustrato por amortiguador de acetato (100 µl/pocillo), y los resultados se determinan mediante examen con un microscopio.

Determinación de títulos de anticuerpos neutralizantes: ensayo de SN

Las muestras de suero se inactivan por calor a 56ºC durante 30 minutos y se diluyen en serie dos veces, comenzando a una dilución 1:2. El diluyente es medio esencial mínimo, que contiene 0,5% de gentamicina, 1% de glutamina, 1% de P/S y 5% de FCS. A cada dilución, se añadirán 100 $TCID_{50}$/50 µl de PRRSV (07V-063). Tras el mezclamiento, las placas se incuban a 37ºC durante 1 h, y se colocan 50 µl de la mezcla en monocapa confluente de células MARC-145 en placas de 96 pocillos. Las células se propagan en el mismo medio usado para diluir los sueros. Las células se observan 7 días tras la inoculación, y el título de neutralización de los sueros se registra como la inversa de la dilución más elevada en la que no se observa efecto citopático.

En todos los ensayos, la vacuna inactivada, con base en la cepa 07V-063 de PRRSV, puntúa significativamente mejor que las vacunas comerciales.

Ejemplo 6: Comparación de vacuna que se hace crecer en diferentes células en una exposición homóloga

Para comparar si una vacuna con base en la cepa 07V-063 que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$ da los mismos buenos resultados que la vacuna con base en la cepa 07V-063 que se hace crecer en células MARC frente a una exposición homóloga con esta cepa, se montó el siguiente experimento:

Animales

Se adquirieron dieciocho cerdos de una granja seronegativa a PRRSV, a la edad de 4 semanas. Los cerdos se dividieron en tres grupos (designados grupos A, B y C), y se alojaron en un establo de aislamiento con una lámpara de infrarrojos. Se tomó sangre mediante venipunción yugular en el momento de la llegada, para controlar si los lechones eran negativos a PRRSV por medio de un ensayo de IPMA. Se les dio comida y agua a voluntad.

Vacunas y virus de exposición

Las vacunas de PRRSV que se usaron son dos vacunas inactivadas desarrolladas experimentalmente en nuestro laboratorio de Virología, una basada en la cepa de exposición que se hace crecer en células Marc, y una basada en la cepa de exposición que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$. Se usó, a una concentración de 10^6 $TCID_{50}$/2 ml, un lote de segunda pasada de este aislado de PRRSV europeo (07V-063) obtenido en macrófagos SPF. El virus de exposición se obtuvo de cerdos mortinatos de una epidemia en una piara de cerdos vacunados (Porcilis® PRRS, Intervet).

Vacunación e inoculación

El grupo A (n = 6 cerdos), B (n = 6 cerdos) y C (n = 6 cerdos) se vacunaron dos veces, a las 5 y 9 semanas de edad, respectivamente con una autovacuna inactivada desarrollada experimentalmente, con base en un nuevo procedimiento en nuestro laboratorio de Virología y la cepa del virus inactivado comercial. Los cerdos del grupo A (n = 6 cerdos) se mantuvieron sin vacunar, y sirvieron como cerdos de control.

Dieciocho cerdos se inocularon intranasalmente ocho semanas tras la primovacunación con 10^6 $TCID_{50}$ del virus del aislado europeo (07V-063) en 2 ml de disolución salina amortiguada con fosfato (PBS) (1ml en cada fosa nasal).

En todos los casos, no se pudo detectar ninguna diferencia entre la vacuna que se hizo crecer en células Marc-145 y la vacuna que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$. Además, se obtiene una buena protección frente a la exposición homóloga.

Grupo	Cerdos	Vacuna	Forma de administración
A	6	Control de adyuvante	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
B	6	07V-063 inactivado que se hace crecer en células MARC	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
C	6	07V-063 inactivado que se hace crecer en PK1 $5^{Sn\text{-}CD163}$	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)

Ejemplo 7: Comparación de vacuna que se hace crecer en diferentes células en una exposición heteróloga

Para comparar si una vacuna con base en la cepa 07V-063 o en la cepa 08V194 (que se hacen crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$ y que se hacen crecer en células MARC) da los mismos buenos resultados frente a una exposición heteróloga como en la situación homóloga con la cepa 07V-063, se montó el siguiente experimento:

Animales

Se adquirieron treinta y un cerdos de una granja seronegativa a PRRSV, a la edad de 4 semanas. Los cerdos se dividieron en siete grupos (designados grupos A, B, C, D, y E) y se alojaron en un establo de aislamiento con una lámpara de infrarrojos. Se tomó sangre mediante venipunción yugular en el momento de la llegada, para controlar si los lechones son negativos a PRRSV por medio de un ensayo de IPMA. Se les dio alimento y agua a voluntad.

Vacunas y virus de exposición

Las vacunas de PRRSV que se usaron fueron cuatro vacunas inactivadas desarrolladas experimentalmente en nuestro laboratorio de Virología, dos con base en la cepa de exposición (08V-194), una que se hace crecer en células Marc y una que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$, y dos con base en la cepa heteróloga (07V-063), una que se hace crecer en células Marc y una que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$.

Se usó un lote de segunda pasada del aislado de PRRSV europeo (08V-194) obtenido en macrófagos convencionales, a una concentración de 10^6 $TCID_{50}$/2 ml. El virus de exposición se obtuvo de suero de un cerdo de 14 semanas de una granja con epidemias relacionadas con el PRRSV en la piara de cerdos.

Vacunación e inoculación

Cuatro grupos (cada grupo, n = 6 cerdos) se vacunaron dos veces, a la edad de 5 y 9 semanas. Un grupo (n = 6 cerdos) se vacunó a las 7 semanas de edad (vacuna atenuada). Los cerdos del grupo A (n = 7 cerdos) se mantuvieron sin vacunar, y sirvieron como cerdos de control. Cuarenta y dos cerdos se inocularon intranasalmente ocho o seis semanas tras la (primo)vacunación con 10^6 $TCID_{50}$ del virus del aislado europeo (08V-194) en 2 ml de disolución salina amortiguada con fosfato (PBS) (1 ml en cada fosa nasal).

Grupo	Cerdos	Vacuna	Forma de administración
A	7	Control de adyuvante	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
B	6	08V-194 inactivado que se hace crecer en células MARC	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
C	6	08V-194 inactivado que se hace crecer en	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9

Grupo	Cerdos	Vacuna	Forma de administración
		PK15Sn-CD163	semanas)
D	6	07V-063 inactivado que se hace crecer en células Marc	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)
E	6	07V-063 inactivado que se hace crecer en PK15Sn-CD163	2X con 4 semanas entre medias (edad: 5 y 9 semanas)

No se encontró ninguna diferencia significativa entre la vacuna que se hace crecer en células Marc-145 y la vacuna que se hace crecer en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$. Además, al usar una vacuna con base en 07V-063, se obtuvo una buena protección frente a una exposición heteróloga por 08V-194. Los resultados se resumen en las figuras 14-18.

Ejemplo 8: Eficacia de una cepa de PRRSV atenuada de forma natural usada como vacuna

Para investigar si una vacuna con base en la cepa 08V-204 (que se hace crecer en células MARC o en células PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$) proporciona protección suficiente frente a una exposición heteróloga, se montó el siguiente experimento:

Animales

Se adquirieron doce cerdos de una granja seronegativa para PRRSV, a la edad de 4 semanas. Los cerdos se dividieron en dos grupos (denominados grupos A y B, cada grupo n = 6), y se alojaron en un establo de aislamiento con una lámpara de infrarrojos. Se tomó sangre mediante venipunción yugular en el momento de la llegada, para controlar si los lechones eran negativos a PRRSV por medio de un ensayo de IPMA. Se les dio comida y agua a voluntad.

Vacunas y virus de exposición

La vacuna de PRRSV que se usó es la cepa de PRRSV atenuada de forma natural 08V204, que se hace crecer en células Marc. Como virus de exposición, se usó un lote de segunda pasada del aislado de PRRSV europeo (08V-194) obtenido en macrófagos SPF, a una concentración de 10^6 $TCID_{50}$/2 ml.

Vacunación e inoculación

Un grupo se vacunó una vez, a la edad de 5 semanas, mediante inyección intramuscular de 2 ml de suspensión de virus 08V-204 (10^5 $TCID_{50}$/ml) diluida en disolución salina amortiguada con fosfato (PBS). Un grupo se mantuvo sin vacunar, y sirve como cerdos de control. Todos los cerdos se inocularon intranasalmente ocho o seis semanas tras la (primo)vacunación, con 10^6 $TCID_{50}$ del virus del aislado europeo (08V-194) en 2 ml de disolución salina amortiguada con fosfato (PBS) (1 ml en cada fosa nasal).

Usando una vacuna viva atenuada de forma natural, 08V-204, se obtuvo una buena protección frente a una exposición heteróloga por 08V-194. Los resultados se resumen en la figura 19: la protección, según se mide mediante el título del virus, es mejor que la protección obtenida con una vacuna comercial (Porcilis).

Ejemplo 9: Evaluación in vitro de la protección cruzada inducida por 07V-063 de PRRSV inactivado en comparación con LV de PRRSV inactivado

Para comparar la protección cruzada inducida por 07V-063 de PRRSV en comparación con LV de PRRSV, se usó suero procedente de cerdos vacunados dos veces y expuestos (de forma homóloga) a los virus respectivos, para un ensayo de neutralización de virus in vitro.

La inactivación del virus, la vacunación y la exposición se realizaron como se describió en el ejemplo 2.

La detección de anticuerpos neutralizantes se realizó usando diferentes aislados de PRRSV como diana para la detección de anticuerpos neutralizantes, tanto con el virus usado para la vacunación como con los otros virus heterólogos.

El suero procedente de cerdos vacunados con el 07V-063 inactivado mediante BEI tuvo claramente anticuerpos neutralizantes frente a todos los aislados de PRRSV ensayados, tanto contra la cepa 07V-063 (virus usado para la vacunación) como contra otros virus heterólogos. Por el contrario, la vacunación con LV indujo solamente niveles claros de anticuerpos neutralizantes contra sí mismo, y solamente se detectaron niveles bajos de anticuerpos neutralizantes frente a otros virus. Los virus usados para los ensayos de neutralización son las cepas EU (tipo I), LENA W8 es una cepa europea del este subtipo 3.

	Lectura del título de SN obtenido tras 7 días

	Lectura del título de SN obtenido tras 7 días					
	resultados expresados en log_2					
Cepa de PRRSV usada para la detección de anticuerpos neutralizantes	07V-063	08V-204	08V-120	08V-194	LENA W8	LV
Suero 4 semanas después de la segunda vacunación con 07V-063	4,1	6,1	5,2	5,2	5,5	3,5
Suero 4 semanas después de la segunda vacunación con LV	3,9	5,4	4,7	5,1	5,4	3,9
dos vacunaciones con 07V-063 + 07V-063 de exposición (suero 10 d tras la exposición)	4,8	6,1	6,3	3,3	5	2,3
dos vacunaciones con LV + LV de exposición (suero 10 d tras la exposición)	1,6	1,6	2	1,6	1,6	5,6

Ejemplo 10: Uso de una vacuna inactivada para reforzar la inmunidad humoral de cerdas, en comparación con vacunas comerciales

Montaje experimental

Los aislados 07V063, 08V194 y 08V204 usados en este estudio se originaron de granjas no relacionadas que muestran signos clínicos compatibles con PRRS en cerdas o en cerdos en crecimiento. En el momento de la toma de muestras, cerdas de las tres piaras se vacunaron con la vacuna atenuada de genotipo EU (Porcilis® PRRS). A partir de cada cepa específica de la granja (07V063, 08V194 y 08V204) se obtuvieron vacunas inactivadas según el método descrito por Delrue et al. (2009). Se incluyeron en el experimento veinticinco cerdas, procedentes de cada granja positiva a PRRSV, y se transportaron a las instalaciones para animales del Laboratorio de Virología de la Universidad de Gante. El diseño experimental fue como sigue: un primer grupo (n = 5 cerdas) fue un grupo de control vacunado ficticiamente, que recibió 1 ml de RPMI en 1 ml de Suvaxyn o/w. El grupo 2 (n = 5 cerdas) se vacunó con 1 ml de virus específico de la granja que se hace crecer en Marc inactivado mediante BEI (10^8 $TCID_{50}$) en 1 ml de Suvaxyn o/w. El grupo 3 (n = 5 cerdas) recibió 2 ml de una vacuna de PRRSV inactivada de tipo europeo comercial (Progressis®, Merial, cepa P120: min 2,5 unidades de log IF). Los grupos 4 y 5 se vacunaron con la vacuna atenuada de tipo europeo (Porcilis® PRRS, Intervet, 10^4 $TCID_{50}$/2 ml) y la vacuna atenuada de tipo americano (Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim, $10^{4,9}$ $TCID_{50}$/2 ml), respectivamente. Todas las vacunaciones en todos los grupos se administraron una vez (una única inyección), una semana después de la llegada. Todas las cerdas se monitorizaron clínicamente. Se tomó sangre a las 0, 1, 2 y 3 semanas tras la vacunación, para la determinación tanto de IPMA como de los anticuerpos neutralizantes del virus. Se detectaron anticuerpos contra la cepa de PRRSV, que se origina de la granja de la que proceden las cerdas. Las muestras de suero recogidas tras la vacunación se examinaron para determinar el virus de la vacuna mediante titulación en células Marc-145 y macrófagos alveolares pulmonares.

Resultados

Todas las cerdas siguieron teniendo buena salud y condición después de que se vacunaron, y no se observaron reacciones locales o generales. No se aisló PRRSV de ninguna de las muestras. En los tres montajes, la vacuna inactivada específica de la cepa fue la única vacuna que indujo tanto una respuesta de anticuerpos específicos del virus como una fuerte respuesta de anticuerpos neutralizantes tras la vacunación de refuerzo, en comparación con las vacunas comerciales, tanto inactivada como atenuada (tipo europeo y americano). La eficacia de las vacunas de PRRS comercialmente atenuadas e inactivadas dependió del aislado del virus circulante.

Depósito seguro

El siguiente depósito seguro se ha realizado el 8 de enero de 2010 en la Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (BCCM™):

PK-$15^{Sn\text{-}CD163}$: número de acceso LMBP7117CB, número SD: SD10-01

Depósitos bajo el tratado de Budapest:

Los siguientes depósitos bajo el tratado de Budapest se han realizado el 1 de abril de 2010 en la Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (BCCM™):

07V063: número de acceso LMBP 6660 (IDA10-04)

08V194: número de acceso LMBP 6661 (IDA10-05)

08V204: número de acceso LMBP 6662 (IDA10-06)

REFERENCIAS

- Allende R, Lewis TL, Lu Z, Rock DL, Kutisch GF, Ali A, Doster AR, Osorio FA: North American and European porcine and respiratory syndrome viruses differ in non-structural protein coding regions. J Gen Virol 1999, 80(Pt2): 307-315.
- Cavanagh D: Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. Archives of virology 1997, 142(3):629-633.
- Choo JG, Dee SA: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Terigenology 2006, 122: 175-182.
- Christianson WT, Collins JE, Benfield DA, Harris L, Gorcyca DE, Chladek DW, Morrison RB, Joo HS: Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows. American journal of veterinary research 1992, 53(4):485-488.
- Christianson WT, Choi CS, Collins JE, Molitor TW, Morrison RB, Joo HS: Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in mid-gestation sows and fetuses. Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire 1993, 57(4):262-268.
- Delrue I, Delputte PL, Nauwynck H: Assessing the functionality of viral entry-associated domains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during inactivation procedures, a potential tool to optimize inactivated vaccines. Veterinary Research 2009, 62
- Diaz I, Darwich L, Pappaterra G, Pujols J, Mateu E: Different European-type vaccines against poricine reproductive and respiratory syndrome virus have different immunological properties and confer different protection to pigs. Virology 2006, 351, 249-259.
- Lager KM, Mengeling WL: Pathogenesis of in utero infection in porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire 1995, 59(3):187-192.
- Mardassi H, Mounir S, Dea S: Molecular analysis of the ORFs 3 to 7 of procine reproductive and respiratory syndrome virus, Quebec reference strain. Arch Virol 1995, 140(8):1405-1418.
- Morozov I, Mang XJ, P aul PS: Sequence analysis of open reading frames (ORFs) 2 to 4 of a US isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Arch Virol 1995, 140(7): 1313-1319.
- Meng XJ: Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. Veterinary Microbiology, 2000, 74: 309-329.
- Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC: Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. American journal of veterinary research 1994, 55(10):1391-1398.
- Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmerman JJ: Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. Journal of the American Veterinary Medical Association 2005, 227(3):385-392.
- Ropp SL, Wees CEM, Fanf Y, Nelson EA, Rossow KD, Bien M, Arndt B, Preszler S, Steen P, Christopher-Hennings J, Collins JE, Benfield DA, Faaberg KS: Characterization of emerging European-like porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the united states. Journal of Virology 2004, 78(7):3684-3703.
- Rossow KD, Bautista EM, Goyal SM, Molitor TW, Murtaugh MP, Morrison RB, Benfield DA, Collins JE: Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one-, four-, and 10-week-old pigs. J Vet Diagn Invest 1994, 6(1):3-12.
- Snijder EJ, Meulenberg JJ: The molecular biology of arteriviruses. The Journal of general virology 1998, 79(Pt 5):961-979.
- Terpstra C, Wensvoort G, Pol JM: Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. The Veterinary quarterly 1991, 13(3):131-136.

– Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W: A greedy algorithm for aligning DNA sequences. J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> UNIVERSITEIT GENT

<120> VACUNA CON PROTECCIÓN CRUZADA PARA EL VIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO PORCINO

<130> P09/036

<150> EP 10160139.1

<151> 2010-04-16

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15014

<212> ADN

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (222)..(224)

<223> Marco de lectura abierto 1a del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (7326)..(7328)

<223> Marco de lectura abierto 1a del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (7329)..(7331)

<223> Marco de lectura abierto 1b del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (11699)..(11701)

<223> Marco de lectura abierto 1b del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (11712)..(11714)

<223> Marco de lectura abierto 2a del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (11717)..(11719)

<223> Marco de lectura abierto 2b del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (11927)..(11929)

<223> Marco de lectura abierto 2b del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (12320)..(12322)

<223> Marco de lectura abierto 3 del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (12459)..(12461)

<223> Marco de lectura abierto 2a del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (12862)..(12864)

<223> Marco de lectura abierto 4 del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (13115)..(13117)

<223> Marco de lectura abierto 3 del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (13410)..(13412)

<223> Marco de lectura abierto 5 del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (13411)..(13413)

<223> Marco de lectura abierto 4 del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (14003)..(14005)

<223> Marco de lectura abierto 6 del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (14013)..(14015)

<223> Marco de lectura abierto 5 del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (14514)..(14516)

<223> Marco de lectura abierto 7 del codón de inicio

<220>

<221> característica diversa

<222> (14522)..(14524)

<223> Marco de lectura abierto 6 del codón de parada

<220>

<221> característica diversa

<222> (14898)..(14900)

<223> Marco de lectura abierto 7 del codón de parada

<400> 1

atgatgtgta gggtattccc cctacacaca caacactgtt agtgtttgtg tgctttggag 60

gtgtgggtac agccccgccc cacctcttgg cccctgttcc agcccaacag gtacccttct 120

ccctcggggc gagtgcgccg cctgctgctc tctcacagca ggaaggacct cccgagtatt 180

tccggagcgc acctgcttta caggatctcc acccctttaac catgtctggg acgttctccc 240

ggtgcatgtg caccccggct gcccgggtgt tttggaacgc cggccaagtc tactgcacac 300

ggtgtctcag tgcgcggtcc cttctccctc ttgagcttca agacactgat cttggggcaa 360

ttggcttgtt tcacaaacct aaagacaaac ttcgctggaa agtccctatc ggcatccccc 420

aggtggagtg ttccccatcc gggtgctgct ggctttctgt cattttccct ttggcgcgta 480

tgacctccgg caatcacaac ttcctccaac ggcttgtgaa agttgctgaa gtattgtacc 540

gtgatggttg cttgaccccc cgacatcttc gtgaactcca agtttatgag cgtggctgca 600

actggtaccc gatcacgggg ccagtgcccg gaatgggtgt gttcgcaaac tccatgcacg 660

tatctgacca accgtttcct ggagccaccc atgtgttgac gaactcacct ctgcctcaac 720

aggcttgccg gcagccgttc tgcccatttg aggaggctca ctctgacgta tacaaatgga 780

aggaattcgt gatttttgtg gactctcttt ccgacggcca acctcgcatg atgtggacac 840

cggggtctag cgattcggct gccttagaag cactgccgcc tggactagaa tgtcaagtcg 900

aaattctcat tcggagtttc cctgcccacc accctgtcaa tctcgctgac tgggagctca 960

ccgaatcccc tgagcacgga ttttccttta gtacgtctca gtccagtggt tatctggccc 1020

agggccctga cgggtttgac ggcaagtgtt ggctttcctg cttcttgagc ctgcctgcca 1080

aagtgtggcg tcatgaggag catttggcta gtgcctacgg ttatcaaacc aagtggggcg 1140

tgcacggcaa ataccttcag cgcaggcttc aaatcaatgg tattcgtgct gtggtcgacc 1200

ctgacggtcc cattcacgtt gaagcgctgt cttgccccca gtcttggatt aggcacctga 1260

ccatggagga tgatgtgacc ccagggttcg tccgtttggc atctctccgc attgtgccga 1320

acacagaacc caccgccctc ccgatctttc ggtttggagc gcataagtgg tatggtgctg 1380

ccggcaaacg agctcgcgcc aagcgtgccg ccaaaagtga gaaggatccg gcccttaccc 1440

ccaaggttgc ccagtcggcc cccactaacg gaaccaccat ctactctcca ccggcggacg 1500

ggtcctgtgg ttggcatgtc ctcgccgcca taatgaaccg gatggtgaat aatgacttca 1560

catcccctct ggcccagtac aacagaccgg aggatgattg ggcttctgat tatgatcttg 1620

ctcaggcgat tcaatgccta caactgcccg ctgccatagt tcggaatcgt gcctgcccca 1680

acgccaaata cctcgtgaaa cttaacgggg ttcattggga ggtagaggtg agatctggaa 1740

tggccccccg ctccctttct cgtgagtgtg tggttggcgt ctgctccgaa ggctgcattg 1800

cactacctta cccaaaagac gggctaccta aacgtgcgcc cgaggccttg gcgtctgctt 1860

acagactacc ctccgactgt gtcagtgctg gtatcgctga ttttcttgct aatccaaccc 1920

ctcaagaatt ttggaccctc gacaaaatgt tgacctcccc gtcaccagag cggtccggct 1980

tctccagctt gtataaattg ctattggagg tagttccgca aaaatgtggt gccacagaag 2040

gagctttcgt ctatgctgtt gagaggatgt tgaaggattg tccaagttcc aaacaggcca 2100

tggccctcct gtcaaaaatt aaagttccat cttcaaaggc cccgtctgtg tctttggacg 2160

agtgtttccc tacggatgtt tcggccgact tcgagccaac atttcatgaa aggtcccaag 2220

gttccggcac tgcaggtgtc tcgtgttcac cggatgcaaa aaggttcgag aaggcgaccc 2280

cagaagaagt ccaggaggat ggccacgagg ctgtccgctc tacgcccttc accgacgacc 2340

ctactctggc ttcggctggt tcaaccaacc cagtggatgg gaatctgtcc tcttcagact 2400

cagcggaaga aagcacgctc aacagccggg aagacgaacc actggaccta tctcaacctg 2460

caccggttgt aacaacaggc ctcgtaaggg aacaaacacc ttgcgaccta ggtttcgatg 2520

ccggtgcccc cttcgtcact gtccgaaaat ttgtcccaat agggtctacg tttcgccacg 2580

ttgagcactg tggcacagaa tccgacaaca tcagctcgcc tctgactttg cctgatgcgc 2640

aggccttaga ccagcccttg gatctgtctc tggccgcctg gccggtaagg gcaaccgcgt 2700

ctgaccccgg ctgggttcac ggcaggcgtg aacctgtttt cgtaaagccc aggggcactc 2760

tttccgatgg cgactcagtc ctccagtttg gggagctttc tgaggccagt tccgtcgttg 2820

agtttgaccg gttaagagag attccggcgg tcgacgcccc tgtcgatttg acaccttcga 2880

atgaggccct ctctgcagat gacccctttca gatctgccga gttcaagcgc ccacgtttct 2940

ctgcacaggc cctaattgac cgaggcggtc ctctcgccga tgtccatgca aaaataaaga 3000

gccgggtata cgaacagtgc cttcaggctt gtgaacccgg tagtcgtgcg accccagcca 3060

ccaaggcgtg gctcgacaaa atgtgggata gggtggacat gaaaacttgg cgctgcacgt 3120

cgcagttcca agctggtcgc attcttgcgt cccttaaatt tctccctgat atgattcagg 3180

atacaccgcc tcctgttccc aggaagagcc gaaccagcgg tagtgccggt ctgaagcaac 3240

tggtagcaca gtgggatagg aagttgagtg cgacctccca aaaaaaaccg gttgagccaa 3300

tgcgcaacca ggccacccct ccacctacgg atatccagca agaagaagtc acccccccg 3360

atgggtcacc ccatgcgcca gacttcccta gtcgagtgag catgagctgg aattggaaag 3420

gcttcatgct ttccggcacc cgtttcgcgg ggtccattag ccagcgcctc atggcatggg 3480

tttttgaaat tgtctcccat ctcccagctt ttatgctcac acttttctcg ccgcggggct 3540

ctatggctcc aggtgattgg ttgtttgcag gtgttgtttt acttgctctc ttgctctgtc 3600

gttcttaccc aatactcggg tgtctaccct tattgggtgt cttttctgga tctttgcggc 3660

gtgttcgtct gggtgttttt ggttcttgga tggcttttgc tgtattttta ttctcgactc 3720

catccaaccc agtcggttct tcttgtgacc acgattcgcc ggagtgtcat gctgagcttc 3780

tggctcttga gcagcgccaa ctttgggaac ctgtgcgcgg ccttgttgtt ggcccctcag 3840

gtctcttatg tgtcattctt ggcaagttac tcggtgggtc acgttatttc tggcatgttt 3900

tcctacgttt atgcatgctt gcagatttgg ccctttctct tgtttatgtg gtgtcccagg 3960

ggcgttgtca caagtgttgg ggaaagtgta taaggacggc tcctgcggag gtggctctca 4020

atgtgttccc tttctcgcgt gctacccgca actctcttgt gtctttgtgc gatcgatttc 4080

aagcgcctaa aggggttgac cctgtgcatt tggcaacagg ttggcgcggg tgttggcacg 4140

gcgagagccc cattcatcaa cagcaccaaa agcctatagc ctatgccaat ttggatgaaa 4200

agaagatatc tgcccaaacg gtggtcgctg tcccatatga tcccagccaa gctatcaaat 4260

gcctgaaagt tttgcaagcg ggaggagcta tcgtggacca gcccatacct gaggtcgttc 4320

gtgtgtccga gatccctttc tcagccccat tctttccgaa ggtaccagtc aacccggatt 4380

gtaggattgt agtggactcg gacacttttg tggctgcggt tcgctgcggt tactcaacga 4440

cacaactagt cctaggccga ggcaacttcg ccaagttaaa tcagaccccc cttaggggct 4500

ccgtctccac caaaacgatt ggtggggcct cctacaccat ggctgttgcc caagtgtctg 4560

tgtggactct tgttcatttc gtcctcggtc tttggctcac gtcacctcag gtgtgtggtc 4620

gaggaacctc tgacccatgg tgttcgaatc ctttctcata tcctacttat ggccccgggg 4680

ttgtgtgctc ctctcgactt tgcgtgtctg ccgacggagt caccctacca ttgttttcag 4740

cagtggcaca actctccggt agagaagtgg gggtttttat cttggtactc gtttccttgt 4800

gtgctttggc ccaccgcatg gctcttaagg cagacatgct gatggtcttc ttggcttttt 4860

gtgcttacgc ctggcccatg agctcctggt taatttgctt ctttcctata ctcttgaagt 4920

gggtcaccct tcacccccctc accttgtttt gggtacactc attcttggtg ttctgtttgc 4980

cagcagctgg tgtcctctca ctaggaataa ccggccttct ctgggcagtt ggccgcttca 5040

cccagattgc aggaattatc acccctatg acatccacca gtacacctcc gggccgcgcg 5100

gtgcagctgc cgtagcaaca gccccagaag gcacttacat ggctgctgtt cggagggctg 5160

ctttaaccgg gcgaactctg attttcacac catctgcagt cggatccctt cttgaaggcg 5220

cctttagaac ccataaaccc tgccttaaca ccgtaaatgt tgtgggctct tcccttggtt 5280

ccgggggggt tttcaccatt gacggcagaa aaactatcgt caccgccacc catgtgttga 5340

acggcgacac agctagggtc acaggcgact cctataatcg tatgcacact tttaagacaa 5400

atggtgatta tgcctggtcc cacgctgatg attggcgagg cgttgccccg gcggtcaatg 5460

tcgcaaaggg atactgcggt cgtgcttatt ggcaaacatc aactggcgtc gaacccggta 5520

tcattgggaa tggatttgcc ttctgtttta ctaactgtgg cgattcgggg tcacccgtta 5580

tctcagaaac tggtgatctc attggaatcc acaccggttc aaacaaactt ggctctggtc 5640

ttgtgacaac tcctgcaggg gagacctgcg ccatcaaaga aaccaagctc tctgaccttt 5700

ccaagcactt cgcaggtccg agcgtccctc ttggggacat taagttgagc ccggctatca 5760

ttcctgatgt aacatccgtt ccgagtgact tggcatcgct cctagcctct gttcctgtga 5820

tggaaggtgg cctctcgacc gtccaacttt tgtgtgtctt tttccttctc tggcgcatga 5880

tgggccatgc ctggacaccc attgttgccg tgggcttctt tttgctgaat gaaatccttc 5940

cagctgtttt agtccgagcc gtgttttctt tcgcactctt tgtgcttgca tgggttaccc 6000

cctggtctgc acaggtgttg atgattagac tcctcacggc atctctcaac cgcaacaagc 6060

tttctctggc gttttacgcg cttggtggtg tcgccggctt ggctgccgaa atcgggactt 6120

ttgctggcag attctctgaa ctgtctcaag ctctttcgac atactgcttc ttacccagag 6180

tccttgctgt gaccagttgt gtccctatca tcatcattgg tggacttcac gccctcggcg 6240

taattttgtg gttattcaaa taccggtgcc tccacaatat gctggttggt gacgggagtt 6300

tttcgagcgc cttcttcctg cggtattttg cagagggtaa tctcagaaaa ggtgtttcgc 6360

agtcctgtgg catgaataac gagtccctaa cggctgcttt agcttgcaaa ttgtcacagg 6420

ctgaccttga ttttctgtcc agcttaacga acttcaagtg ctttgtgtcc gcctcaaaca 6480

tgaaaaatgc agctggccag tatattgaag cagcgtacgc caaggccttg cgccaagagc 6540

tggcctcttt agttcagatt gacaaaatga agggagtctt gtctaaactc gaggcctttg 6600

ctgaaacagc caccccgtcc cttgacacag gtgacgtgat tgtcctgctt gggcaacatc 6660

ctcacggatc cattctcgac atcaacgtgg ggactgaaag gaaaactgtg tctgtgcaag 6720

agacccggag cctaggcggc accaaattca gtgtttgcac tgtcgtgtcc aacacacccg 6780

tggacgcatt aaccagcatc cctctccaga caccaactcc tctttttgag aatggtccgc 6840

gtcatcgtag tgaggaggac gatcttaaag tcgagaggat gaaaaaacac tgtgtatccc 6900

tcggctacca caacataaat ggcaaagttt actgcaaaat ttgggataag tctaccggtg 6960

acacctttta tacggacgat tctcggtaca cccaagatta tgctttccag gacaggtcag 7020

ccgactacag agatgggggc tatgagggtg tgcaaaccgc ccctcaacat gggttcgacc 7080

caaagtctga gacccctatt ggcactgttg tgatcggcgg tattacttat aacaggtacc 7140

tgattaaagg taaggaggtt ctggtcccca agcctgacaa ctgccttgaa gccgccaagc 7200

tgtcccttga acaagctctc gctgggatgg gccaaacttg tgacctcaca gccgccgagg 7260

tggaaaagtt aaaacgcatc attagtcaac ttcaaggttt gactactgag caggctttaa 7320

actgttagcc gccagcggtt tgacccgctg tggccgcggc ggcctagttg tgactgacac 7380

ggcggtaaaa atcataaaat accacagcag aaccttcacc ttgggcccta tagacctaaa 7440

agtcacttca gaggtagagg tgaagaaatc aactgagcaa ggtcacgctg ttgtggcaaa 7500

cttatgttcc ggtgtcgtct taatgagacc tcacccgcca tcccttgttg acgttcttct 7560

gaaacccgga cttgacatag cacccggcat acaacccgga catggagccg gaaatatggg 7620

tgtggacggt tccgtttggg attttgaaac cgcacccaca aaagcagagc ttgagctgtc 7680

caagcaaata attcaggcat gtgaggtcag gcgcggagac gccccgaacc tccaactccc 7740

ctacaagctt taccctgtta gaggggaccc tgagcggcat gaaggttacc tcatcaacac 7800

caggtttgga gatttgcctt acaagactcc tcaagacacc aagtctgcta tccatgcggc 7860

ttgttgtcta caccccaatg gagtccttgt gtccgatggc aagtccgcac taggcactac 7920

tcttcaacat gggttcgagc tttatgttcc cacagtgccc tacagcgtca tggagtacct 7980

tgattcacgt cctgacactc ctcccatgtt cactaaacat ggcacttcta aggctgctgc 8040

agaagacctc caaaaatatg acctatccac tcaaggattc gtcttgcctg gggttctacg 8100

cctaatgcgc agatttatct ttggccatat tggtaaggca ccgccattat ttcttccatc 8160

aacatatccc gccaagaact ccatggcagg tattaatggc cagagattcc caacaaaaga 8220

cgtccaaagc atacctgaaa ttgatgaagt gtgcgcccgc gccgtcaagg agaactggca 8280

aactgtgaca ccttgtactc tcaaaaaaca gtactgttcc aagcccaaga ccaggactat 8340

cctgggcacc aacaacttca tcgccttggc tcacagatcg gcgctcagtg gtgtcaccca 8400

ggcattcatg aaaaaggcct ggaagtcccc aattgcctta gggaaaaaca aattcaagga 8460

gttgcattgc acagtcgccg gcaggtgtct tgaggccgat ttagcttcct gtgaccgcag 8520

caccccgcc attgtaagat ggtttgttgc caacctcctg tatgaacttg caggatgtga 8580

ggagtacttg cccagctacg tgctcaactg ttgccacgac ctagtggcaa cgcaagatgg 8640

cgcctttaca aaacgtggtg gcctatcatc tggggacccc gtcaccagtg tgtctaacac 8700

cgtatattca ctgataattt atgctcagca tatggtgctg tctgctctaa aaatgggtca 8760

tgaaatcggc cttaagttcc tcgaggaaca gctcaagttt gaggacctcc ttgaaatcca 8820

gcccatgctg gtatactctg atgatcttgt gctgtatgct gaaaaaccca ctttccccaa 8880

ttaccattgg tgggttgagc accttgacct aatgttgggt tttaaaacgg accccaaaaa 8940

gactgtcatc actgacaaac ccagctttct tggctgtaaa atcgaagccg ggcgacagtt 9000

ggtccccaat cgcgaccgca ttctggccgc tcttgcatac cacatgaaag cgcagaacgc 9060

ttcagagtac tacgcatctg ctgccgcgat cctgatggat tcgtgtgctt gtatcgacca 9120

tgaccctgag tggtatgaag acctcatttg cggtattgcc cggtgcgccc gtcaggacgg 9180

ctacagtttt ccaggcccac cgtttttctt gtccatgtgg gagaaactga aaagccacaa 9240

tgaaggcaag aaattccgtc actgcggcat ctgcgacgct aaggccgacc atgcgtccgc 9300

ctgtgggctt gacttgtgtt tgtttcactc acactttcat caacactgcc ctgtcactct 9360

tagctgcggc caccacgccg gctcaagaga atgcccacag tgtcagtcac ccgttggggc 9420

tggtaagtcc ccccttgacg ctgtgttgaa acagattccg tacaaacccc cccgtactgt 9480

cattatgaag gtggataata aaacaacaac ccttgacccg ggaaggtatc aatcccgtcg 9540

aggacttgtt gcagtcaaga ggggcattgc aggcaatgag gttgatctca ctgatggaga 9600

ctaccaggtg gtgcccttac tgccgacctg caaggacata aatatggtaa aggtggctgt 9660

taatgtgcta ctcagtaagt tcatagttgg gccgccaggt tctggaaaga ccacctggct 9720

actgagccaa gtccaggatg atgatgttat ctatacaccc acccatcaga ccatgtttga 9780

catagtcaac gctcttaaag tttgcaggta ttccatcccg ggggcttcag ggctcccttt 9840

cccaccacct gctagatccg gaccgtgggt cagacttgtt gccagcgggc acatccctgg 9900

ccgaatatca tacctcgacg aggctggata ttgcaaccac ctggatattc tcagattgct 9960

ttctaaaaca cctctggtgt gtttgggtga ccttcagcag cttcaccctg ttggctttga 10020

ctcttactgt tatgtgtttg atcaaatgcc tcagaaacag ctgactacca tctacagatt 10080

tggccctaac atctgtgctg ccatccaatc ttgttacagg gagaaacttg aatctaaggc 10140

caggaacacc agggtggtct ttaccactcg gcctgtagat tttggtcagg tgctgacgcc 10200

gtaccacaaa gatcgcatcg gctcagctat aaccatagac tcatcccagg gggccacctt 10260

tgatgttgtg acgttgcact taccatcgcc aatgtcccta aataaatccc gtgcactggt 10320

agccatcact cgggcgagat atgggttatt catttatgac cctcacgacc aacttcggga 10380

gtttttcaac ttgacccctg agcgtactga ttgcaatctc gtgttcaacc gaggggaaga 10440

gttggtagtt ttgaacgctg acaatgcagt cacgactgtg gcgaaggccc ttgaggcagg 10500

tccctctaga tttcaagtgt cagacccgag gtgcaagtct cttctggccg cttgttcggt 10560

cagttttgaa gggtgttgta tgccactacc gcaagtggca cataacttgg ggttttactt 10620

ttccccagac agcccagtat ttgcaccttt gccgaaggag ttggcaccac attggccggt 10680

ggttacttac cagaacaaca aggcatggcc tgatcggctc gtcgctagca tgcggccaat 10740

tgatgcccac tacagcaagc ctatggttgg cgcagggtat gtggtcgggc cgtccacctt 10800

tcttggtgcc cctggtgtgg tgtcatacta cctcacactg tacatcaagg gcgagcctca 10860

ggccttgccg gagacactcg tctcaacagg acgtatagcc acagattgtc gagagtacct 10920

cgacgcagct gaggaagaag cagccaaaga actcccccat gcattcattg gtgatgtcaa 10980

aggcaccaca gttgggggat gtcatcacat cacatcaaaa tacttaccca ggttcctgcc 11040

caaggactct gttgccgtgg ttggagtgag ttctcccggc aaggctgcta aggctgtgtg 11100

tactcttact gacgtgtacc tccctgagct ccggccgtac ttgcaaccag agacagcatc 11160

gaagtgctgg aaactcaaac tagatttcag ggatgtcaga ctgatggtct ggaaagggtc 11220

caccgcctac ttccagcttg aaggacttac atggtcggcg ctgcccgact atgccaggtt 11280

catccaggta cccaaagacg ccgtcgtgta tatcgaccca tgcataggac cagcaacagc 11340

caaccgtaag gttgtgcgaa ccacggactg gcgtgccgac ctggcggtga caccgtatga 11400

ttacggcgct ccgaatattt tgacaacagc ttggttcgag gacctcgggc cgcaatggaa 11460

gattttgggg ttgcagccct ttaagcgggc atttggtttc gaaaccactg aggattgggc 11520

gatccttgcg cgccgcatga acgacggcaa ggactacact gactataact ggaattgtgt 11580

tcgacaacgc ccacacgctg tccacgggcg cgcccgtgac catacgtacc actttgcccc 11640

tggcatagaa ctgcaagtgg agctgggaaa accccggctg caacctgagc aagtaccgtg 11700

aattcagagc gatgcaatgg ggtcactgtg gagcaaaatc acccagttat ttgtggacgc 11760

cttcactgag ttccttgtta gtgtggttga cattgtcatc ttccttgcca tactgtttgg 11820

gttcaccgtc gcaggatggt tactggtctt tcttctcaga gtggtttgct ccgcgcttct 11880

ccgttcgcgc tctgccattc actcttccga actatcgaag gtcttatgag ggcttacttc 11940

ccaattgcag accggatgtt ccacaatttg catttaagca cccattgggt atgttttggc 12000

acatgcgggt ttcccatctg attgatgaaa tggtctctcg ccgcatctac cagaccatgg 12060

aacattcagg tcaagcggct tggaagcagg tggttagtga ggccactctc acaaaactgt 12120

caaatctcga catagttctt cacttccaac acctggccgc ggtggaggcg gattcttgcc 12180

gcttcctcag ctcacgactt gtgatgctga aaaatcttgc cgttggcaat gtgagcctgc 12240

actacaacac cacgttggac agcgttgagc tcatcttccc cacaccaggt acgagaccta 12300

agttgaccga tttcaggcaa tggcttgtca gtgtacacgc ttctattttt tcctctgtgg 12360

cctcatctgt taccttattc atagtgcttt ggcttcgaat tccagctcta cgctatgttt 12420

ttggtttcca ttggcccacg gcaacacgtc attcgaattg accatcaact acaccatatg 12480

caagccctgc cttactagtc aggcggcttc ccagaggctc gaacccggtc gcaacgtgtg 12540

gtgtaaaata gggcatgata aatgtgagga gcgcgaccat gatgagttat taatgtccat 12600

tccgtctggg tacgacaacc tcaaactcga gggttattat gcttggttgg cgtttttgtc 12660

cttttcctac gcggcccaat tccatccaga gttgtttggg atagggaatg tgtcgcgtgt 12720

ctttgtggac aagcgacacc agttcatttg tgccgcacat gatggacaca attcaaccgt 12780

gtctaccagc cacaacatct ccgcatcata tgcagtgtat taccaccacc aaatagacgg 12840

gggcaattgg tttcatttgg aatggctgcg gccattcttt tcctcatggt tggtgctcaa 12900

catatcatgg tttctgaggc gttcgcctgc aagccctgtt tctcgacgca tttatcagat 12960

attaagacca acacgaccgc ggctgccggt ttcatgggcc ttcagaacat cgattgcctc 13020

cgacatcaca gggtcacggc agcgcagggg cgaatttaca ccagagggcc gtcccaatgc 13080

cgtgaagtcg tcggtactcc gcagtacatc acggtaacgg ccaatgtgac cgacgagtca 13140

tacttgtaca acgcggacct gctgatgctt tctgcgtgcc ttttctatgc ctcggaaatg 13200

agcgagaagg gcttcaaagt catctttggg aatgtctctg gcgttgtttc cgcttgcgtc 13260

aatttcactg attatgtggc tcatgtgact caacacaccc agcagcatca tctggtgatc 13320

gatcatgtcc ggttgctgca tttcttgaca ccgtctgcaa tgaggtgggc cacaaccatt 13380

gcttgtttgt tcgccatcct cttggcggta tgagatgttc tcacaaattg gggcgcttct 13440

tgactccaca ctcttgcttc tggtggcttt ttttgctgtg taccggcttg tcttggtcct 13500

ttgccgatgg caacggcaac agctcgacat accaatacat atataatttg acgatatgcg 13560

agctgaatgg gaccacttgg ttgtccgatc acttttattg ggcagtcgag acttttgtgc 13620

tttacccagt ggcaactcac attctctcat tgggttttct tacaacaagc catctccttg 13680

acgcgctcgg tctcggagcc gtgtccgttg ccggttttca tggcggacgg tacgtactca 13740

gcagcgtgta cagcgcttgt gcattagcag cgcttgtgtg ttttgttatc cgcgctgcca 13800

aaaattgcat ggcttgccgc tatgctcgta cccgatttac caacttcatt gtggacgacc 13860

gggggagaat ccatcgatgg aggtctccaa tagtggtgga gagattgggc aaagctgacg 13920

tcagcggcga ccttgtcacc atcaaacatg ttgtcctcga gggagttaaa gctcaaccct 13980

tgacaaggac ttcggccgag caatgggaag cctagatgac ttttgtggcg atcccaccgc 14040

cgcacaaaag cttgtgctag cctttagcat cacatataca cctattatga tatacgccct 14100

taaggtgtca cgcggccggc tcctggggct gttgcacatc ttgatatttc tgaactgttc 14160

cttcacgttc ggatacatga catatgtaca ttttgagtcc accaaccgtg tcgcatttac 14220

tatgggggcc gtcgttgccc ttttgtgggg cgtctatagc ttcatagagt catggaagtt 14280

tatcacttcc agatgcagat tgtgttgcct aggccggcga tacattctgg cccctgccca 14340

ccacgtagaa agtgctgcag gcctccatcc gattccagcg tctggtaacc atgcatatgc 14400

tgtgagaaag cccggactaa catcagtgaa cggcactcta gtaccaggac ttcggggcct 14460

cgtgttgggc ggcaaacgag ctgttagacg aggagtggtt aacctcgtta agtatggccg 14520

gtaacaaccg gagccagaag aaaaagaaaa atccagctcc aatggggaat ggccagccag 14580

tcaatcaact gtgccagttg ctgggtgcaa tgatgaagtc ccagcgccag caacctaggg 14640

gaggacaggc aagaaaaaga aagcctgaga agccacactt tcccctggct gctgaagatg 14700

acgttcggca ccatctcacc cagactgagc gctccctctg cttgcaatcg atccagacgg 14760

ccttcaatca aggcgcagga gttgcatcgc tttcatccag tgggaaggtc agttttcagg 14820

ttgagttcat gttgccggtc gctcatacag tgcgcctgat tcgcgtgact tccacatccg 14880

ccggtcagga tgcaaattaa tttaatagtc aggtgaatgg ccgcgattgg cgtgtggcct 14940

ctgagtcacc tattcaatta gggcgatcac atgggggtca gacttaatta ggcaagaacc 15000

atgtgaccga aatt 15014

<210> 2

<211> 2368

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(2368)

<223> Marco de lectura abierto 1a

<400> 2

Met Ser Gly Thr Phe Ser Arg Cys Met Cys Thr Pro Ala Ala Arg Val
1 5 10 15

Phe Trp Asn Ala Gly Gln Val Tyr Cys Thr Arg Cys Leu Ser Ala Arg
20 25 30

Ser Leu Leu Pro Leu Glu Leu Gln Asp Thr Asp Leu Gly Ala Ile Gly
35 40 45

Leu Phe His Lys Pro Lys Asp Lys Leu Arg Trp Lys Val Pro Ile Gly
50 55 60

Ile Pro Gln Val Glu Cys Ser Pro Ser Gly Cys Cys Trp Leu Ser Val
65 70 75 80

Ile Phe Pro Leu Ala Arg Met Thr Ser Gly Asn His Asn Phe Leu Gln

```
                85                  90                  95

Arg Leu Val Lys Val Ala Glu Val Leu Tyr Arg Asp Gly Cys Leu Thr
            100                 105                 110

Pro Arg His Leu Arg Glu Leu Gln Val Tyr Glu Arg Gly Cys Asn Trp
        115                 120                 125

Tyr Pro Ile Thr Gly Pro Val Pro Gly Met Gly Val Phe Ala Asn Ser
    130                 135                 140

Met His Val Ser Asp Gln Pro Phe Pro Gly Ala Thr His Val Leu Thr
145                 150                 155                 160

Asn Ser Pro Leu Pro Gln Gln Ala Cys Arg Gln Pro Phe Cys Pro Phe
                165                 170                 175

Glu Glu Ala His Ser Asp Val Tyr Lys Trp Lys Glu Phe Val Ile Phe
            180                 185                 190

Val Asp Ser Leu Ser Asp Gly Gln Pro Arg Met Met Trp Thr Pro Gly
        195                 200                 205

Ser Ser Asp Ser Ala Ala Leu Glu Ala Leu Pro Pro Gly Leu Glu Cys
    210                 215                 220

Gln Val Glu Ile Leu Ile Arg Ser Phe Pro Ala His His Pro Val Asn
225                 230                 235                 240

Leu Ala Asp Trp Glu Leu Thr Glu Ser Pro Glu His Gly Phe Ser Phe
                245                 250                 255

Ser Thr Ser Gln Ser Ser Gly Tyr Leu Ala Gln Gly Pro Asp Gly Phe
            260                 265                 270

Asp Gly Lys Cys Trp Leu Ser Cys Phe Leu Ser Leu Pro Ala Lys Val
        275                 280                 285

Trp Arg His Glu Glu His Leu Ala Ser Ala Tyr Gly Tyr Gln Thr Lys
    290                 295                 300

Trp Gly Val His Gly Lys Tyr Leu Gln Arg Arg Leu Gln Ile Asn Gly
305                 310                 315                 320

Ile Arg Ala Val Val Asp Pro Asp Gly Pro Ile His Val Glu Ala Leu
                325                 330                 335

Ser Cys Pro Gln Ser Trp Ile Arg His Leu Thr Met Glu Asp Asp Val
            340                 345                 350
```

```
Thr Pro Gly Phe Val Arg Leu Ala Ser Leu Arg Ile Val Pro Asn Thr
        355                 360                 365

Glu Pro Thr Ala Leu Pro Ile Phe Arg Phe Gly Ala His Lys Trp Tyr
    370                 375                 380

Gly Ala Ala Gly Lys Arg Ala Arg Ala Lys Arg Ala Ala Lys Ser Glu
385                 390                 395                 400

Lys Asp Pro Ala Leu Thr Pro Lys Val Ala Gln Ser Ala Pro Thr Asn
                405                 410                 415

Gly Thr Thr Ile Tyr Ser Pro Pro Ala Asp Gly Ser Cys Gly Trp His
            420                 425                 430

Val Leu Ala Ala Ile Met Asn Arg Met Val Asn Asn Asp Phe Thr Ser
        435                 440                 445

Pro Leu Ala Gln Tyr Asn Arg Pro Glu Asp Asp Trp Ala Ser Asp Tyr
    450                 455                 460

Asp Leu Ala Gln Ala Ile Gln Cys Leu Gln Leu Pro Ala Ala Ile Val
465                 470                 475                 480

Arg Asn Arg Ala Cys Pro Asn Ala Lys Tyr Leu Val Lys Leu Asn Gly
                485                 490                 495

Val His Trp Glu Val Glu Val Arg Ser Gly Met Ala Pro Arg Ser Leu
            500                 505                 510

Ser Arg Glu Cys Val Val Gly Val Cys Ser Glu Gly Cys Ile Ala Leu
        515                 520                 525

Pro Tyr Pro Lys Asp Gly Leu Pro Lys Arg Ala Pro Glu Ala Leu Ala
    530                 535                 540

Ser Ala Tyr Arg Leu Pro Ser Asp Cys Val Ser Ala Gly Ile Ala Asp
545                 550                 555                 560

Phe Leu Ala Asn Pro Thr Pro Gln Glu Phe Trp Thr Leu Asp Lys Met
                565                 570                 575

Leu Thr Ser Pro Ser Pro Glu Arg Ser Gly Phe Ser Ser Leu Tyr Lys
            580                 585                 590

Leu Leu Leu Glu Val Val Pro Gln Lys Cys Gly Ala Thr Glu Gly Ala
        595                 600                 605
```

```
Phe Val Tyr Ala Val Glu Arg Met Leu Lys Asp Cys Pro Ser Ser Lys
    610                 615                 620

Gln Ala Met Ala Leu Leu Ser Lys Ile Lys Val Pro Ser Ser Lys Ala
625                 630                 635                 640

Pro Ser Val Ser Leu Asp Glu Cys Phe Pro Thr Asp Val Ser Ala Asp
                645                 650                 655

Phe Glu Pro Thr Phe His Glu Arg Ser Gln Gly Ser Gly Thr Ala Gly
            660                 665                 670

Val Ser Cys Ser Pro Asp Ala Lys Arg Phe Glu Lys Ala Thr Pro Glu
        675                 680                 685

Glu Val Gln Glu Asp Gly His Glu Ala Val Arg Ser Thr Pro Phe Thr
    690                 695                 700

Asp Asp Pro Thr Leu Ala Ser Ala Gly Ser Thr Asn Pro Val Asp Gly
705                 710                 715                 720

Asn Leu Ser Ser Ser Asp Ser Ala Glu Glu Ser Thr Leu Asn Ser Arg
                725                 730                 735

Glu Asp Glu Pro Leu Asp Leu Ser Gln Pro Ala Pro Val Val Thr Thr
            740                 745                 750

Gly Leu Val Arg Glu Gln Thr Pro Cys Asp Leu Gly Phe Asp Ala Gly
        755                 760                 765

Ala Pro Phe Val Thr Val Arg Lys Phe Val Pro Ile Gly Ser Thr Phe
    770                 775                 780

Arg His Val Glu His Cys Gly Thr Glu Ser Asp Asn Ile Ser Ser Pro
785                 790                 795                 800

Leu Thr Leu Pro Asp Ala Gln Ala Leu Asp Gln Pro Leu Asp Leu Ser
                805                 810                 815

Leu Ala Ala Trp Pro Val Arg Ala Thr Ala Ser Asp Pro Gly Trp Val
            820                 825                 830

His Gly Arg Arg Glu Pro Val Phe Val Lys Pro Arg Gly Thr Leu Ser
        835                 840                 845

Asp Gly Asp Ser Val Leu Gln Phe Gly Glu Leu Ser Glu Ala Ser Ser
    850                 855                 860
```

```
Val Val Glu Phe Asp Arg Leu Arg Glu Ile Pro Ala Val Asp Ala Pro
865                 870                 875                 880

Val Asp Leu Thr Pro Ser Asn Glu Ala Leu Ser Ala Asp Asp Pro Phe
                885                 890                 895

Arg Ser Ala Glu Phe Lys Arg Pro Arg Phe Ser Ala Gln Ala Leu Ile
            900                 905                 910

Asp Arg Gly Gly Pro Leu Ala Asp Val His Ala Lys Ile Lys Ser Arg
        915                 920                 925

Val Tyr Glu Gln Cys Leu Gln Ala Cys Glu Pro Gly Ser Arg Ala Thr
    930                 935                 940

Pro Ala Thr Lys Ala Trp Leu Asp Lys Met Trp Asp Arg Val Asp Met
945                 950                 955                 960

Lys Thr Trp Arg Cys Thr Ser Gln Phe Gln Ala Gly Arg Ile Leu Ala
                965                 970                 975

Ser Leu Lys Phe Leu Pro Asp Met Ile Gln Asp Thr Pro Pro Pro Val
            980                 985                 990

Pro Arg Lys Ser Arg Thr Ser Gly  Ser Ala Gly Leu Lys  Gln Leu Val
        995                 1000                1005

Ala Gln  Trp Asp Arg Lys Leu  Ser Ala Thr Ser Gln  Lys Lys Pro
    1010                1015                1020

Val Glu  Pro Met Arg Asn Gln  Ala Thr Pro Pro Pro  Thr Asp Ile
    1025                1030                1035

Gln Gln  Glu Glu Val Thr Pro  Pro Asp Gly Ser Pro  His Ala Pro
    1040                1045                1050

Asp Phe  Pro Ser Arg Val Ser  Met Ser Trp Asn Trp  Lys Gly Phe
    1055                1060                1065

Met Leu  Ser Gly Thr Arg Phe  Ala Gly Ser Ile Ser  Gln Arg Leu
    1070                1075                1080

Met Ala  Trp Val Phe Glu Ile  Val Ser His Leu Pro  Ala Phe Met
    1085                1090                1095

Leu Thr  Leu Phe Ser Pro Arg  Gly Ser Met Ala Pro  Gly Asp Trp
    1100                1105                1110

Leu Phe  Ala Gly Val Val Leu  Leu Ala Leu Leu Leu  Cys Arg Ser
```

```
    1115                1120                1125

Tyr Pro  Ile Leu Gly Cys Leu  Pro Leu Leu Gly Val  Phe Ser Gly
    1130                1135                1140

Ser Leu  Arg Arg Val Arg Leu  Gly Val Phe Gly Ser  Trp Met Ala
    1145                1150                1155

Phe Ala  Val Phe Leu Phe Ser  Thr Pro Ser Asn Pro  Val Gly Ser
    1160                1165                1170

Ser Cys  Asp His Asp Ser Pro  Glu Cys His Ala Glu  Leu Leu Ala
    1175                1180                1185

Leu Glu  Gln Arg Gln His Trp  Glu Pro Val Arg Gly  Leu Val Val
    1190                1195                1200

Gly Pro  Ser Gly Leu Leu Cys  Val Ile Leu Gly Lys  Leu Leu Gly
    1205                1210                1215

Gly Ser  Arg Tyr Phe Trp His  Val Phe Leu Arg Leu  Cys Met Leu
    1220                1225                1230

Ala Asp  Leu Ala Leu Ser Leu  Val Tyr Val Val Ser  Gln Gly Arg
    1235                1240                1245

Cys His  Lys Cys Trp Gly Lys  Cys Ile Arg Thr Ala  Pro Ala Glu
    1250                1255                1260

Val Ala  Leu Asn Val Phe Pro  Phe Ser Arg Ala Thr  Arg Asn Ser
    1265                1270                1275

Leu Val  Ser Leu Cys Asp Arg  Phe Gln Ala Pro Lys  Gly Val Asp
    1280                1285                1290

Pro Val  His Leu Ala Thr Gly  Trp Arg Gly Cys Trp  His Gly Glu
    1295                1300                1305

Ser Pro  Ile His Gln Gln His  Gln Lys Pro Ile Ala  Tyr Ala Asn
    1310                1315                1320

Leu Asp  Glu Lys Lys Ile Ser  Ala Gln Thr Val Val  Ala Val Pro
    1325                1330                1335

Tyr Asp  Pro Ser Gln Ala Ile  Lys Cys Leu Lys Val  Leu Gln Ala
    1340                1345                1350

Gly Gly  Ala Ile Val Asp Gln  Pro Ile Pro Glu Val  Val Arg Val
    1355                1360                1365
```

```
Ser Glu  Ile Pro Phe Ser Ala  Pro Phe Phe Pro Lys  Val Pro Val
    1370                1375                1380

Asn Pro  Asp Cys Arg Ile Val  Val Asp Ser Asp Thr  Phe Val Ala
    1385                1390                1395

Ala Val  Arg Cys Gly Tyr Ser  Thr Thr Gln Leu Val  Leu Gly Arg
    1400                1405                1410

Gly Asn  Phe Ala Lys Leu Asn  Gln Thr Pro Leu Arg  Gly Ser Val
    1415                1420                1425

Ser Thr  Lys Thr Ile Gly Gly  Ala Ser Tyr Thr Met  Ala Val Ala
    1430                1435                1440

Gln Val  Ser Val Trp Thr Leu  Val His Phe Val Leu  Gly Leu Trp
    1445                1450                1455

Leu Thr  Ser Pro Gln Val Cys  Gly Arg Gly Thr Ser  Asp Pro Trp
    1460                1465                1470

Cys Ser  Asn Pro Phe Ser Tyr  Pro Thr Tyr Gly Pro  Gly Val Val
    1475                1480                1485

Cys Ser  Ser Arg Leu Cys Val  Ser Ala Asp Gly Val  Thr Leu Pro
    1490                1495                1500

Leu Phe  Ser Ala Val Ala Gln  Leu Ser Gly Arg Glu  Val Gly Val
    1505                1510                1515

Phe Ile  Leu Val Leu Val Ser  Leu Cys Ala Leu Ala  His Arg Met
    1520                1525                1530

Ala Leu  Lys Ala Asp Met Leu  Met Val Phe Leu Ala  Phe Cys Ala
    1535                1540                1545

Tyr Ala  Trp Pro Met Ser Ser  Trp Leu Ile Cys Phe  Phe Pro Ile
    1550                1555                1560

Leu Leu  Lys Trp Val Thr Leu  His Pro Leu Thr Leu  Phe Trp Val
    1565                1570                1575

His Ser  Phe Leu Val Phe Cys  Leu Pro Ala Ala Gly  Val Leu Ser
    1580                1585                1590

Leu Gly  Ile Thr Gly Leu Leu  Trp Ala Val Gly Arg  Phe Thr Gln
    1595                1600                1605
```

```
Ile Ala  Gly Ile Ile Thr Pro  Tyr Asp Ile His Gln  Tyr Thr Ser
    1610                 1615                 1620

Gly Pro  Arg Gly Ala Ala Ala  Val Ala Thr Ala Pro  Glu Gly Thr
    1625                 1630                 1635

Tyr Met  Ala Ala Val Arg Arg  Ala Ala Leu Thr Gly  Arg Thr Leu
    1640                 1645                 1650

Ile Phe  Thr Pro Ser Ala Val  Gly Ser Leu Leu Glu  Gly Ala Phe
    1655                 1660                 1665

Arg Thr  His Lys Pro Cys Leu  Asn Thr Val Asn Val  Val Gly Ser
    1670                 1675                 1680

Ser Leu  Gly Ser Gly Gly Val  Phe Thr Ile Asp Gly  Arg Lys Thr
    1685                 1690                 1695

Ile Val  Thr Ala Thr His Val  Leu Asn Gly Asp Thr  Ala Arg Val
    1700                 1705                 1710

Thr Gly  Asp Ser Tyr Asn Arg  Met His Thr Phe Lys  Thr Asn Gly
    1715                 1720                 1725

Asp Tyr  Ala Trp Ser His Ala  Asp Asp Trp Arg Gly  Val Ala Pro
    1730                 1735                 1740

Ala Val  Asn Val Ala Lys Gly  Tyr Cys Gly Arg Ala  Tyr Trp Gln
    1745                 1750                 1755

Thr Ser  Thr Gly Val Glu Pro  Gly Ile Ile Gly Asn  Gly Phe Ala
    1760                 1765                 1770

Phe Cys  Phe Thr Asn Cys Gly  Asp Ser Gly Ser Pro  Val Ile Ser
    1775                 1780                 1785

Glu Thr  Gly Asp Leu Ile Gly  Ile His Thr Gly Ser  Asn Lys Leu
    1790                 1795                 1800

Gly Ser  Gly Leu Val Thr Thr  Pro Ala Gly Glu Thr  Cys Ala Ile
    1805                 1810                 1815

Lys Glu  Thr Lys Leu Ser Asp  Leu Ser Lys His Phe  Ala Gly Pro
    1820                 1825                 1830

Ser Val  Pro Leu Gly Asp Ile  Lys Leu Ser Pro Ala  Ile Ile Pro
    1835                 1840                 1845
```

```
Asp Val  Thr Ser Val Pro Ser  Asp Leu Ala Ser Leu  Leu Ala Ser
    1850                 1855                 1860

Val Pro  Val Met Glu Gly Gly  Leu Ser Thr Val Gln  Leu Leu Cys
    1865                 1870                 1875

Val Phe  Phe Leu Leu Trp Arg  Met Met Gly His Ala  Trp Thr Pro
    1880                 1885                 1890

Ile Val  Ala Val Gly Phe Phe  Leu Leu Asn Glu Ile  Leu Pro Ala
    1895                 1900                 1905

Val Leu  Val Arg Ala Val Phe  Ser Phe Ala Leu Phe  Val Leu Ala
    1910                 1915                 1920

Trp Val  Thr Pro Trp Ser Ala  Gln Val Leu Met Ile  Arg Leu Leu
    1925                 1930                 1935

Thr Ala  Ser Leu Asn Arg Asn  Lys Leu Ser Leu Ala  Phe Tyr Ala
    1940                 1945                 1950

Leu Gly  Gly Val Ala Gly Leu  Ala Ala Glu Ile Gly  Thr Phe Ala
    1955                 1960                 1965

Gly Arg  Phe Ser Glu Leu Ser  Gln Ala Leu Ser Thr  Tyr Cys Phe
    1970                 1975                 1980

Leu Pro  Arg Val Leu Ala Val  Thr Ser Cys Val Pro  Ile Ile Ile
    1985                 1990                 1995

Ile Gly  Gly Leu His Ala Leu  Gly Val Ile Leu Trp  Leu Phe Lys
    2000                 2005                 2010

Tyr Arg  Cys Leu His Asn Met  Leu Val Gly Asp Gly  Ser Phe Ser
    2015                 2020                 2025

Ser Ala  Phe Phe Leu Arg Tyr  Phe Ala Glu Gly Asn  Leu Arg Lys
    2030                 2035                 2040

Gly Val  Ser Gln Ser Cys Gly  Met Asn Asn Glu Ser  Leu Thr Ala
    2045                 2050                 2055

Ala Leu  Ala Cys Lys Leu Ser  Gln Ala Asp Leu Asp  Phe Leu Ser
    2060                 2065                 2070

Ser Leu  Thr Asn Phe Lys Cys  Phe Val Ser Ala Ser  Asn Met Lys
    2075                 2080                 2085

Asn Ala  Ala Gly Gln Tyr Ile  Glu Ala Ala Tyr Ala  Lys Ala Leu
```

```
    2090                2095                2100

Arg Gln  Glu Leu Ala Ser Leu  Val Gln Ile Asp Lys  Met Lys Gly
    2105                2110                2115

Val Leu  Ser Lys Leu Glu Ala  Phe Ala Glu Thr Ala  Thr Pro Ser
    2120                2125                2130

Leu Asp  Thr Gly Asp Val Ile  Val Leu Leu Gly Gln  His Pro His
    2135                2140                2145

Gly Ser  Ile Leu Asp Ile Asn  Val Gly Thr Glu Arg  Lys Thr Val
    2150                2155                2160

Ser Val  Gln Glu Thr Arg Ser  Leu Gly Gly Thr Lys  Phe Ser Val
    2165                2170                2175

Cys Thr  Val Val Ser Asn Thr  Pro Val Asp Ala Leu  Thr Ser Ile
    2180                2185                2190

Pro Leu  Gln Thr Pro Thr Pro  Leu Phe Glu Asn Gly  Pro Arg His
    2195                2200                2205

Arg Ser  Glu Glu Asp Asp Leu  Lys Val Glu Arg Met  Lys Lys His
    2210                2215                2220

Cys Val  Ser Leu Gly Tyr His  Asn Ile Asn Gly Lys  Val Tyr Cys
    2225                2230                2235

Lys Ile  Trp Asp Lys Ser Thr  Gly Asp Thr Phe Tyr  Thr Asp Asp
    2240                2245                2250

Ser Arg  Tyr Thr Gln Asp Tyr  Ala Phe Gln Asp Arg  Ser Ala Asp
    2255                2260                2265

Tyr Arg  Asp Gly Gly Tyr Glu  Gly Val Gln Thr Ala  Pro Gln His
    2270                2275                2280

Gly Phe  Asp Pro Lys Ser Glu  Thr Pro Ile Gly Thr  Val Val Ile
    2285                2290                2295

Gly Gly  Ile Thr Tyr Asn Arg  Tyr Leu Ile Lys Gly  Lys Glu Val
    2300                2305                2310

Leu Val  Pro Lys Pro Asp Asn  Cys Leu Glu Ala Ala  Lys Leu Ser
    2315                2320                2325

Leu Glu  Gln Ala Leu Ala Gly  Met Gly Gln Thr Cys  Asp Leu Thr
    2330                2335                2340

Ala Ala  Glu Val Glu Lys Leu  Lys Arg Ile Ile Ser  Gln Leu Gln
    2345                2350                2355

Gly Leu  Thr Thr Glu Gln Ala  Leu Asn Cys
    2360                2365
```

<210> 3

<211> 1463

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(1463)

<223> Marco de lectura abierto 1b

<400> 3

```
Ala Gly Phe Lys Leu Leu Ala Ala Ser Gly Leu Thr Arg Cys Gly Arg
1               5                  10                  15

Gly Gly Leu Val Val Thr Asp Thr Ala Val Lys Ile Ile Lys Tyr His
            20                  25                  30

Ser Arg Thr Phe Thr Leu Gly Pro Ile Asp Leu Lys Val Thr Ser Glu
        35                  40                  45

Val Glu Val Lys Lys Ser Thr Glu Gln Gly His Ala Val Val Ala Asn
    50                  55                  60

Leu Cys Ser Gly Val Val Leu Met Arg Pro His Pro Pro Ser Leu Val
65                  70                  75                  80

Asp Val Leu Leu Lys Pro Gly Leu Asp Ile Ala Pro Gly Ile Gln Pro
                85                  90                  95

Gly His Gly Ala Gly Asn Met Gly Val Asp Gly Ser Val Trp Asp Phe
            100                 105                 110

Glu Thr Ala Pro Thr Lys Ala Glu Leu Glu Leu Ser Lys Gln Ile Ile
        115                 120                 125

Gln Ala Cys Glu Val Arg Arg Gly Asp Ala Pro Asn Leu Gln Leu Pro
    130                 135                 140

Tyr Lys Leu Tyr Pro Val Arg Gly Asp Pro Glu Arg His Glu Gly Tyr
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Thr Arg Phe Gly Asp Leu Pro Tyr Lys Thr Pro Gln Asp
                165                 170                 175
```

```
Thr Lys Ser Ala Ile His Ala Ala Cys Cys Leu His Pro Asn Gly Val
            180                 185                 190

Leu Val Ser Asp Gly Lys Ser Ala Leu Gly Thr Thr Leu Gln His Gly
        195                 200                 205

Phe Glu Leu Tyr Val Pro Thr Val Pro Tyr Ser Val Met Glu Tyr Leu
    210                 215                 220

Asp Ser Arg Pro Asp Thr Pro Pro Met Phe Thr Lys His Gly Thr Ser
225                 230                 235                 240

Lys Ala Ala Ala Glu Asp Leu Gln Lys Tyr Asp Leu Ser Thr Gln Gly
                245                 250                 255

Phe Val Leu Pro Gly Val Leu Arg Leu Met Arg Arg Phe Ile Phe Gly
            260                 265                 270

His Ile Gly Lys Ala Pro Pro Leu Phe Leu Pro Ser Thr Tyr Pro Ala
        275                 280                 285

Lys Asn Ser Met Ala Gly Ile Asn Gly Gln Arg Phe Pro Thr Lys Asp
    290                 295                 300

Val Gln Ser Ile Pro Glu Ile Asp Glu Val Cys Ala Arg Ala Val Lys
305                 310                 315                 320

Glu Asn Trp Gln Thr Val Thr Pro Cys Thr Leu Lys Lys Gln Tyr Cys
                325                 330                 335

Ser Lys Pro Lys Thr Arg Thr Ile Leu Gly Thr Asn Asn Phe Ile Ala
            340                 345                 350

Leu Ala His Arg Ser Ala Leu Ser Gly Val Thr Gln Ala Phe Met Lys
        355                 360                 365

Lys Ala Trp Lys Ser Pro Ile Ala Leu Gly Lys Asn Lys Phe Lys Glu
    370                 375                 380

Leu His Cys Thr Val Ala Gly Arg Cys Leu Glu Ala Asp Leu Ala Ser
385                 390                 395                 400

Cys Asp Arg Ser Thr Pro Ala Ile Val Arg Trp Phe Val Ala Asn Leu
                405                 410                 415

Leu Tyr Glu Leu Ala Gly Cys Glu Glu Tyr Leu Pro Ser Tyr Val Leu
            420                 425                 430
```

```
Asn Cys Cys His Asp Leu Val Ala Thr Gln Asp Gly Ala Phe Thr Lys
        435                 440                 445

Arg Gly Gly Leu Ser Ser Gly Asp Pro Val Thr Ser Val Ser Asn Thr
    450                 455                 460

Val Tyr Ser Leu Ile Ile Tyr Ala Gln His Met Val Leu Ser Ala Leu
465                 470                 475                 480

Lys Met Gly His Glu Ile Gly Leu Lys Phe Leu Glu Glu Gln Leu Lys
                485                 490                 495

Phe Glu Asp Leu Leu Glu Ile Gln Pro Met Leu Val Tyr Ser Asp Asp
            500                 505                 510

Leu Val Leu Tyr Ala Glu Lys Pro Thr Phe Pro Asn Tyr His Trp Trp
        515                 520                 525

Val Glu His Leu Asp Leu Met Leu Gly Phe Lys Thr Asp Pro Lys Lys
    530                 535                 540

Thr Val Ile Thr Asp Lys Pro Ser Phe Leu Gly Cys Lys Ile Glu Ala
545                 550                 555                 560

Gly Arg Gln Leu Val Pro Asn Arg Asp Arg Ile Leu Ala Ala Leu Ala
                565                 570                 575

Tyr His Met Lys Ala Gln Asn Ala Ser Glu Tyr Tyr Ala Ser Ala Ala
            580                 585                 590

Ala Ile Leu Met Asp Ser Cys Ala Cys Ile Asp His Asp Pro Glu Trp
        595                 600                 605

Tyr Glu Asp Leu Ile Cys Gly Ile Ala Arg Cys Ala Arg Gln Asp Gly
    610                 615                 620

Tyr Ser Phe Pro Gly Pro Pro Phe Phe Leu Ser Met Trp Glu Lys Leu
625                 630                 635                 640

Lys Ser His Asn Glu Gly Lys Lys Phe Arg His Cys Gly Ile Cys Asp
                645                 650                 655

Ala Lys Ala Asp His Ala Ser Ala Cys Gly Leu Asp Leu Cys Leu Phe
            660                 665                 670

His Ser His Phe His Gln His Cys Pro Val Thr Leu Ser Cys Gly His
        675                 680                 685
```

```
His Ala Gly Ser Arg Glu Cys Pro Gln Cys Gln Ser Pro Val Gly Ala
    690                 695                 700

Gly Lys Ser Pro Leu Asp Ala Val Leu Lys Gln Ile Pro Tyr Lys Pro
705                 710                 715                 720

Pro Arg Thr Val Ile Met Lys Val Asp Asn Lys Thr Thr Thr Leu Asp
                725                 730                 735

Pro Gly Arg Tyr Gln Ser Arg Arg Gly Leu Val Ala Val Lys Arg Gly
            740                 745                 750

Ile Ala Gly Asn Glu Val Asp Leu Thr Asp Gly Asp Tyr Gln Val Val
        755                 760                 765

Pro Leu Leu Pro Thr Cys Lys Asp Ile Asn Met Val Lys Val Ala Val
    770                 775                 780

Asn Val Leu Leu Ser Lys Phe Ile Val Gly Pro Pro Gly Ser Gly Lys
785                 790                 795                 800

Thr Thr Trp Leu Leu Ser Gln Val Gln Asp Asp Asp Val Ile Tyr Thr
                805                 810                 815

Pro Thr His Gln Thr Met Phe Asp Ile Val Asn Ala Leu Lys Val Cys
            820                 825                 830

Arg Tyr Ser Ile Pro Gly Ala Ser Gly Leu Pro Phe Pro Pro Pro Ala
        835                 840                 845

Arg Ser Gly Pro Trp Val Arg Leu Val Ala Ser Gly His Ile Pro Gly
    850                 855                 860

Arg Ile Ser Tyr Leu Asp Glu Ala Gly Tyr Cys Asn His Leu Asp Ile
865                 870                 875                 880

Leu Arg Leu Leu Ser Lys Thr Pro Leu Val Cys Leu Gly Asp Leu Gln
                885                 890                 895

Gln Leu His Pro Val Gly Phe Asp Ser Tyr Cys Tyr Val Phe Asp Gln
            900                 905                 910

Met Pro Gln Lys Gln Leu Thr Thr Ile Tyr Arg Phe Gly Pro Asn Ile
        915                 920                 925

Cys Ala Ala Ile Gln Ser Cys Tyr Arg Glu Lys Leu Glu Ser Lys Ala
    930                 935                 940

Arg Asn Thr Arg Val Val Phe Thr Thr Arg Pro Val Asp Phe Gly Gln
```

945 950 955 960

Val Leu Thr Pro Tyr His Lys Asp Arg Ile Gly Ser Ala Ile Thr Ile
965 970 975

Asp Ser Ser Gln Gly Ala Thr Phe Asp Val Val Thr Leu His Leu Pro
980 985 990

Ser Pro Met Ser Leu Asn Lys Ser Arg Ala Leu Val Ala Ile Thr Arg
995 1000 1005

Ala Arg Tyr Gly Leu Phe Ile Tyr Asp Pro His Asp Gln Leu Arg
1010 1015 1020

Glu Phe Phe Asn Leu Thr Pro Glu Arg Thr Asp Cys Asn Leu Val
1025 1030 1035

Phe Asn Arg Gly Glu Glu Leu Val Val Leu Asn Ala Asp Asn Ala
1040 1045 1050

Val Thr Thr Val Ala Lys Ala Leu Glu Ala Gly Pro Ser Arg Phe
1055 1060 1065

Gln Val Ser Asp Pro Arg Cys Lys Ser Leu Leu Ala Ala Cys Ser
1070 1075 1080

Val Ser Phe Glu Gly Cys Cys Met Pro Leu Pro Gln Val Ala His
1085 1090 1095

Asn Leu Gly Phe Tyr Phe Ser Pro Asp Ser Pro Val Phe Ala Pro
1100 1105 1110

Leu Pro Lys Glu Leu Ala Pro His Trp Pro Val Val Thr Tyr Gln
1115 1120 1125

Asn Asn Lys Ala Trp Pro Asp Arg Leu Val Ala Ser Met Arg Pro
1130 1135 1140

Ile Asp Ala His Tyr Ser Lys Pro Met Val Gly Ala Gly Tyr Val
1145 1150 1155

Val Gly Pro Ser Thr Phe Leu Gly Ala Pro Gly Val Val Ser Tyr
1160 1165 1170

Tyr Leu Thr Leu Tyr Ile Lys Gly Glu Pro Gln Ala Leu Pro Glu
1175 1180 1185

Thr Leu Val Ser Thr Gly Arg Ile Ala Thr Asp Cys Arg Glu Tyr
1190 1195 1200

```
Leu Asp  Ala Ala Glu Glu Glu  Ala Ala Lys Glu Leu  Pro His Ala
    1205                 1210                 1215

Phe Ile  Gly Asp Val Lys Gly  Thr Thr Val Gly Gly  Cys His His
    1220                 1225                 1230

Ile Thr  Ser Lys Tyr Leu Pro  Arg Phe Leu Pro Lys  Asp Ser Val
    1235                 1240                 1245

Ala Val  Val Gly Val Ser Ser  Pro Gly Lys Ala Ala  Lys Ala Val
    1250                 1255                 1260

Cys Thr  Leu Thr Asp Val Tyr  Leu Pro Glu Leu Arg  Pro Tyr Leu
    1265                 1270                 1275

Gln Pro  Glu Thr Ala Ser Lys  Cys Trp Lys Leu Lys  Leu Asp Phe
    1280                 1285                 1290

Arg Asp  Val Arg Leu Met Val  Trp Lys Gly Ser Thr  Ala Tyr Phe
    1295                 1300                 1305

Gln Leu  Glu Gly Leu Thr Trp  Ser Ala Leu Pro Asp  Tyr Ala Arg
    1310                 1315                 1320

Phe Ile  Gln Val Pro Lys Asp  Ala Val Val Tyr Ile  Asp Pro Cys
    1325                 1330                 1335

Ile Gly  Pro Ala Thr Ala Asn  Arg Lys Val Val Arg  Thr Thr Asp
    1340                 1345                 1350

Trp Arg  Ala Asp Leu Ala Val  Thr Pro Tyr Asp Tyr  Gly Ala Pro
    1355                 1360                 1365

Asn Ile  Leu Thr Thr Ala Trp  Phe Glu Asp Leu Gly  Pro Gln Trp
    1370                 1375                 1380

Lys Ile  Leu Gly Leu Gln Pro  Phe Lys Arg Ala Phe  Gly Phe Glu
    1385                 1390                 1395

Thr Thr  Glu Asp Trp Ala Ile  Leu Ala Arg Arg Met  Asn Asp Gly
    1400                 1405                 1410

Lys Asp  Tyr Thr Asp Tyr Asn  Trp Asn Cys Val Arg  Gln Arg Pro
    1415                 1420                 1425

His Ala  Val His Gly Arg Ala  Arg Asp His Thr Tyr  His Phe Ala
    1430                 1435                 1440

Pro Gly  Ile Glu Leu Gln Val  Glu Leu Gly Lys Pro  Arg Leu Gln
    1445                 1450                 1455

Pro Glu  Gln Val Pro
    1460
```

<210> 4

<211> 249

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(249)

<223> Marco de lectura abierto 2a

<400> 4

```
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Ala Lys Ser Pro Ser Tyr Leu Trp Thr
1               5                  10                  15

Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Thr Leu Ser Ser Ser Leu
            20                  25                  30

Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45

Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60

Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65                  70                  75                  80

Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
                85                  90                  95

His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110

Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125

Ser Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Asn Leu Asp Ile Val Leu His
    130                 135                 140

Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160

Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
```

```
His Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Ser Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190

Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Val Ser Val
        195                 200                 205

His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220

Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240

Trp Pro Thr Ala Thr Arg His Ser Asn
                245
```

<210> 5

<211> 70

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(70)

<223> Marco de lectura abierto 2b

<400> 5

```
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Thr Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1               5                   10                  15

Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
            20                  25                  30

Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
        35                  40                  45

Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Ser
    50                  55                  60

Glu Leu Ser Lys Val Leu
65                  70
```

<210> 6

<211> 265

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(265)

<223> Marco de lectura abierto 3

<400> 6

```
Met Ala Cys Gln Cys Thr Arg Phe Tyr Phe Phe Leu Cys Gly Leu Ile
1               5                  10                  15

Cys Tyr Leu Ile His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
            20                  25                  30

Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
        35                  40                  45

Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Lys Pro Cys Leu Thr Ser Gln Ala Ala Ser
    50                  55                  60

Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Val Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65                  70                  75                  80

Lys Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
                85                  90                  95

Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
            100                 105                 110

Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
        115                 120                 125

Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
    130                 135                 140

Ala Ala His Asp Gly His Asn Ser Thr Val Ser Thr Ser His Asn Ile
145                 150                 155                 160

Ser Ala Ser Tyr Ala Val Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
                165                 170                 175

Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
            180                 185                 190

Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser Pro Val Ser
        195                 200                 205

Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
    210                 215                 220

Ser Trp Ala Phe Arg Thr Ser Ile Ala Ser Asp Ile Thr Gly Ser Arg
225                 230                 235                 240

Gln Arg Arg Gly Glu Phe Thr Pro Glu Gly Arg Pro Asn Ala Val Lys
                245                 250                 255

Ser Ser Val Leu Arg Ser Thr Ser Arg
            260                 265
```

<210> 7

<211> 183

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(183)

<223> Marco de lectura abierto 4

<400> 7

```
Met Ala Ala Ala Ile Leu Phe Leu Met Val Gly Ala Gln His Ile Met
1               5                   10                  15

Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30

Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Gly Leu Gln
        35                  40                  45

Asn Ile Asp Cys Leu Arg His His Arg Val Thr Ala Ala Gln Gly Arg
    50                  55                  60

Ile Tyr Thr Arg Gly Pro Ser Gln Cys Arg Glu Val Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80

Gln Tyr Ile Thr Val Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95

Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110

Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125

Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140

His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Val Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160

Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175

Phe Ala Ile Leu Leu Ala Val
            180
```

<210> 8

<211> 201

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(201)

<223> Marco de lectura abierto 5

<400> 8

```
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                   10                  15

Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30

Asp Gly Asn Gly Asn Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
        35                  40                  45

Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Thr Trp Leu Ser Asp His Phe Tyr Trp
    50                  55                  60

Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Leu Leu Asp Ala Leu Gly Leu Gly
                85                  90                  95

Ala Val Ser Val Ala Gly Phe His Gly Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser
            100                 105                 110

Val Tyr Ser Ala Cys Ala Leu Ala Ala Leu Val Cys Phe Val Ile Arg
        115                 120                 125

Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
    130                 135                 140

Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Ile His Arg Trp Arg Ser Pro
145                 150                 155                 160

Ile Val Val Glu Arg Leu Gly Lys Ala Asp Val Ser Gly Asp Leu Val
                165                 170                 175

Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
            180                 185                 190

Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
```

<210> 9

<211> 173

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(173)

<223> Marco de lectura abierto 6

<400> 9

```
Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Gly Asp Pro Thr Ala Ala Gln Lys
1               5                  10                  15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
            20                  25                  30

Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
        35                  40                  45

Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
    50                  55                  60

Glu Ser Thr Asn Arg Val Ala Phe Thr Met Gly Ala Val Val Ala Leu
65                  70                  75                  80

Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
                85                  90                  95

Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
            100                 105                 110

His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Ile Pro Ala Ser Gly
        115                 120                 125

Asn His Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
    130                 135                 140

Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Gly Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145                 150                 155                 160

Val Arg Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
                165                 170
```

<210> 10

<211> 128

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1)..(128)

<223> Marco de lectura abierto 7

<400> 10

```
Met Ala Gly Asn Asn Arg Ser Gln Lys Lys Lys Lys Asn Pro Ala Pro
1               5                   10                  15

Met Gly Asn Gly Gln Pro Val Asn Gln Leu Cys Gln Leu Leu Gly Ala
            20                  25                  30

Met Met Lys Ser Gln Arg Gln Gln Pro Arg Gly Gly Gln Ala Arg Lys
        35                  40                  45

Arg Lys Pro Glu Lys Pro His Phe Pro Leu Ala Ala Glu Asp Asp Val
    50                  55                  60

Arg His His Leu Thr Gln Thr Glu Arg Ser Leu Cys Leu Gln Ser Ile
65                  70                  75                  80

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Val Ala Ser Leu Ser Ser Ser
                85                  90                  95

Gly Lys Val Ser Phe Gln Val Glu Phe Met Leu Pro Val Ala His Thr
            100                 105                 110

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ser Thr Ser Ala Gly Gln Asp Ala Asn
        115                 120                 125
```

<210> 11

<211> 3189

<212> ADN

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 11

```
atgcaatggg gtcactgtgg agcaaaatca cccagttatt tgtggacgcc ttcactgagt       60

tccttgttag tgtggttgac attgtcatct tccttgccat actgtttggg ttcaccgtcg      120

caggatggtt actggtcttt cttctcagag tggtttgctc cgcgcttctc cgttcgcgct      180

ctgccattca ctcttccgaa ctatcgaagg tcttatgagg gcttacttcc caattgcaga      240

ccggatgttc cacaatttgc atttaagcac ccattgggta tgttttggca catgcgggtt      300

tcccatctga ttgatgaaat ggtctctcgc cgcatctacc agaccatgga acattcaggt      360

caagcggctt ggaagcaggt ggttagtgag gccactctca caaaactgtc aaatctcgac      420

atagttcttc acttccaaca cctggccgcg gtggaggcgg attcttgccg cttcctcagc      480

tcacgacttg tgatgctgaa aaatcttgcc gttggcaatg tgagcctgca ctacaacacc      540

acgttggaca gcgttgagct catcttcccc acaccaggta cgagacctaa gttgaccgat      600

ttcaggcaat ggcttgtcag tgtacacgct tctatttttt cctctgtggc ctcatctgtt      660
```

accttattca tagtgctttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720

tggcccacgg caacacgtca ttcgaattga ccatcaacta caccatatgc aagccctgcc 780

ttactagtca ggcggcttcc cagaggctcg aacccggtcg caacgtgtgg tgtaaaatag 840

ggcatgataa atgtgaggag cgcgaccatg atgagttatt aatgtccatt ccgtctgggt 900

acgacaacct caaactcgag ggttattatg cttggttggc gtttttgtcc ttttcctacg 960

cggcccaatt ccatccagag ttgtttggga tagggaatgt gtcgcgtgtc tttgtggaca 1020

agcgacacca gttcatttgt gccgcacatg atggacacaa ttcaaccgtg tctaccagcc 1080

acaacatctc cgcatcatat gcagtgtatt accaccacca aatagacggg ggcaattggt 1140

ttcatttgga atggctgcgg ccattctttt cctcatggtt ggtgctcaac atatcatggt 1200

ttctgaggcg ttcgcctgca agccctgttt ctcgacgcat ttatcagata ttaagaccaa 1260

cacgaccgcg gctgccggtt tcatgggcct tcagaacatc gattgcctcc gacatcacag 1320

ggtcacggca gcgcaggggc gaatttacac cagagggccg tcccaatgcc gtgaagtcgt 1380

cggtactccg cagtacatca cggtaacggc caatgtgacc gacgagtcat acttgtacaa 1440

cgcggacctg ctgatgcttt ctgcgtgcct tttctatgcc tcggaaatga gcgagaaggg 1500

cttcaaagtc atctttggga atgtctctgg cgttgtttcc gcttgcgtca atttcactga 1560

ttatgtggct catgtgactc aacacaccca gcagcatcat ctggtgatcg atcatgtccg 1620

gttgctgcat ttcttgacac cgtctgcaat gaggtgggcc acaaccattg cttgtttgtt 1680

cgccatcctc ttggcggtat gagatgttct cacaaattgg ggcgcttctt gactccacac 1740

tcttgcttct ggtggctttt tttgctgtgt accggcttgt cttggtcctt tgccgatggc 1800

aacggcaaca gctcgacata ccaatacata tataatttga cgatatgcga gctgaatggg 1860

accacttggt tgtccgatca cttttattgg gcagtcgaga cttttgtgct ttacccagtg 1920

gcaactcaca ttctctcatt gggttttctt acaacaagcc atctccttga cgcgctcggt 1980

ctcggagccg tgtccgttgc cggttttcat ggcggacggt acgtactcag cagcgtgtac 2040

agcgcttgtg cattagcagc gcttgtgtgt tttgttatcc gcgctgccaa aaattgcatg 2100

gcttgccgct atgctcgtac ccgatttacc aacttcattg tggacgaccg ggggagaatc 2160

catcgatgga ggtctccaat agtggtggag agattgggca aagctgacgt cagcggcgac 2220

cttgtcacca tcaaacatgt tgtcctcgag ggagttaaag ctcaaccctt gacaaggact 2280

tcggccgagc aatgggaagc ctagatgact tttgtggcga tcccaccgcc gcacaaaagc 2340

ttgtgctagc ctttagcatc acatatacac ctattatgat atacgccctt aaggtgtcac 2400

gcggccggct cctggggctg ttgcacatct tgatatttct gaactgttcc ttcacgttcg 2460

gatacatgac atatgtacat tttgagtcca ccaaccgtgt cgcatttact atgggggccg 2520

tcgttgccct tttgtggggc gtctatagct tcatagagtc atggaagttt atcacttcca 2580

gatgcagatt gtgttgccta ggccggcgat acattctggc ccctgcccac cacgtagaaa 2640

gtgctgcagg cctccatccg attccagcgt ctggtaacca tgcatatgct gtgagaaagc 2700

ccggactaac atcagtgaac ggcactctag taccaggact tcggggcctc gtgttgggcg 2760

gcaaacgagc tgttagacga ggagtggtta acctcgttaa gtatggccgg taacaaccgg 2820

agccagaaga aaaagaaaaa tccagctcca atggggaatg gccagccagt caatcaactg 2880

tgccagttgc tgggtgcaat gatgaagtcc cagcgccagc aacctagggg aggacaggca 2940

agaaaaagaa agcctgagaa gccacacttt cccctggctg ctgaagatga cgttcggcac 3000

catctcaccc agactgagcg ctccctctgc ttgcaatcga tccagacggc cttcaatcaa 3060

ggcgcaggag ttgcatcgct ttcatccagt gggaaggtca gttttcaggt tgagttcatg 3120

ttgccggtcg ctcatacagt gcgcctgatt cgcgtgactt ccacatccgc cggtcaggat 3180

gcaaattaa 3189

<210> 12

<211> 3171

<212> ADN

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 12

atgcaatggg ttcattgtgg agcaaaatca gccaattgtt cgtggatgcc ttcactgaat 60

ttcttgttag tgtggttgat attatcatct tccttgccat attgtttggg ttcacagtcg 120

caggatggtt actggtcttc cttctcagag tggtttgctc cgcgcttctc cgttcgcgct 180

ctgccattca ctcttccgaa ttatcgaagg tcctatgagg gcttactacc taattgcaga 240

ccggatgccc cacaatttgc attcaagcac cccttgggta tgttttggca cgtgcgggtt 300

tcccacttaa ttgatcaaat ggtctcccgc cgcatttacc agaccatgga acattcaggt 360

caagcggcct ggaagcacgt ggttagtgag gctaccctca caaagctgtc agagctcgat 420

atagttctcc atttccaaca cctggccgca gtggaagcgg actcttgcca cttccttagt 480

tcacgacttg tgatgctgaa aaatctagcc gttggcaacg tgagcatact ttataacaac 540

acattggacc gcgtcgagct cgtcttccct acgctaaaca cgaggcccaa gttgaccgat 600

ttcagacaat ggcttatcag tgtgcatgct tccatcttct cctctgtggc ctcgtcggtc 660

accttgtttg tggtactctg gctccgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720

tggcccacgg caacacgtcg ttcgagctga ccatcaatta caccatatgt gagccctgtc 780

ctactaggca agcggctcaa caaaggctcg aacccggtcg taacatgtgg tgtaggatag 840

ggagcactac atgtgaggag cgtgatcacg atgagttgtc catgacaatt ccgtccggat 900

acgacaacct caaacttgag ggttattatg cttggctggc ctttttgtcc ttttcctatg 960

cagctcaatt ccatccggag ttgttcggaa taggaaacgt gtcgcgcgtc tttgtggaca 1020

agcggcacca gtttatttgc gctgagcatg acgggcagaa ttcaaccgta cccatcaggc 1080

acaacatctc tgcattgtat gcagcctatt accaccacca aatagacggg ggcaattggt 1140

tccatctaga atggctgcga ccattctttt cttcctggct ggtgctcaac atttcatggt 1200

ttctgaggcg ttcgcctgca agccctgctt ctcgacgcac ctatcagata ttaagactaa 1260

cacgaccgcg gctgccggtt tcatggtcct tcaaaacatc aattgtcccc aaacaggggc 1320

tagcgcttca ttcagaaagt cgccccaatg tcgtgaggcc gttggcaccc ctcagtacat 1380

cacgataaca gccaacgtga ccgacgagtc atatttatac aacgctgatt tgctgatgct 1440

ctctgcgtgt cttttctacg cttcggaaat gagtgagaag ggcttcaaag tcatctttgg 1500

gaatgtctct ggtgttgttt ccgcatgcgt taatttcacg gattacgtgg ctcatgtaac 1560

tcaacataca cagcaacacc atctggtgat cgatcgcgtt cggttgctgc acttcctgac 1620

accgtctgtg atgaggtggg ctacaaccat cgcttgctta tttgccattc ttctggcgat 1680

atgagatgtt cttacaaatt ggggcgttcc ttgactcctc actcttactt ctggtggctt 1740

tttttgctgt gtacaggctt gtcttggtcc tttgccgatg gcaacggcaa cagctcgaca 1800

taccaataca tatataattt gacaatatgc gagctgaatg ggaccacctg gctgtccgac 1860

agatttggtt gggcagtcga ggcctttgtg ctttacccgg tggtgactca cattctctca 1920

ctgggatttc taacaacaag ccatttttt gacgcactcg gccttggagc tgtgtccgtt 1980

accggctact atgacgggcg gtatgtactc agtagcgtgt acggcacttg tgcgcttgca 2040

gcgctcgtgt gcttcgccat ccgtgccgct aaaaattgca tggcttgccg ctatgcccgt 2100

acccgattca caaattttat tgtggacgac cggggtggag tccatcggtg gaagtctcca 2160

atagtggtgg agaaattagg caaagccgaa gttggtgacg cccttgttac catcaagcat 2220

gtcgtcatcg aaggggttaa agctcaaccc ttgacaagga cctcagctga gcaatggcag 2280

gcctagatga tttttgccat gattccaccg ccgcagaaaa gcttgtgcta gcctttagca 2340

tcacatacac acccatcatg atatacgctc ttaaagtgtc tcgcggccga ctcttggggt 2400

tgctgcacat cttgatattc ctgaactgtt ctttcacatt cggatacatg acatatgtgc 2460

attttgaatc caccaaccgc gtcgcattta ccatgggagc tgttgtcgcc cttttgtggg 2520

gcatttatag tttcatagag tcctggaagt ttattacttc tagatgcaga ttgtgttgcc 2580

taggccggcg atacattttg gcccctgccc accacgtaga aagtgctgca ggtctccatc 2640

cgatcccagc gtctggtaac caagcatacg ctgtgaggaa gcccggacta acatcagtga 2700

acggcactct ggtaccagga cttcggggcc tcgtgttggg cggcaaacga gctgtaaaac 2760

gaggagtggt taacctcgtc aagtatggcc ggtaaaaacc agtgccagaa gagaaataaa 2820

aatccagctc caatggggaa tggccagtca gtcaatcaac tgtgccagtt gttgggttca 2880

atgatgaaat cccagcgcca gcgacccagg ggtggacagg ttaaaaagaa gaagcctgag 2940

aagccgcatt tccccttggc tgctgaagat gacgtccggc accatctcac ccaaaccgag 3000

cgctcccttt gcttgcaatc gatccagacg gcttttaatc aaggcgcagg aactgcgtcg 3060

ctttcatcca gcgggaaggt cggttttcag gttgagttca tgctgccggt tgctcataca 3120

gtgcgcctga ttcgcgtgac ttccacatcc gccggtcagg gtgcaaatta a 3171

<210> 13

<211> 3178

<212> ADN

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<220>

<221> característica diversa

<222> (1803)..(1803)

<223> n is a, c, g, o t

<400> 13

atgcgatggg atcactgtgg agtaaaatta cccagctgtt tgttgacgcc ttcactgaat 60

tccttgttag tgtggttgac attgtcatct ttcttgccat actgtttggg tttacagtcg 120

caggttggtt attggtcttt cttttcagag tggtttgctc cgcgtttctc cgttcgcgct 180

ctgccattca ctctcccgaa ttatcgaaga tcttatgaag gtttgttgcc caattgcaga 240

cctgatgtcc cacaattcgc agttaaacac ccattaggca tgttttggca catgcgggtc 300

tcccacctaa ttgatgaaat ggtctctcgt cgcatttacc agaccatgga acattcaggt 360

caagctgcct ggaaacaggt ggttagtgag gctactctca cgaaattgtc aaagctcgac 420

atagtcctcc acttccaaca tctagccgca gttgaggcgg attcttgtcg cttcctcagt 480

tcacggcttg tgatgttgaa aaatcttgcc gttggcaatg tgagcttgca gtacaacacc 540

actttggacc acgttgagct cattttcca acaccaggca caaggcctaa attaaccgat 600

tttagacaat ggctcgtcag tgtgcatgct tcaatttttt cttctgtagc ctcatcaatt 660

accttgttca tagtgctttg gcttcgagcc ccaattctac gctatgtttt tggtttccat 720

tggcccacgg caacacatca ttcgagctaa ccatcaatta cactatatgt gagccttgtc 780

ttaccagtca agcagctaaa caaaggctcg aacccggtcg taacatgtgg tgcaaaatag 840

gacataccac atgtgaagag catgaccatg atgagttatc aatgactatc ccacccgggt 900

acgacaatct caaacttgag ggttattatg cctggttggc tttcttgtcc ttctcttacg 960

cagcccaatt ccacccggag ttgttcggaa tagggaatgt gtcacgcgtt ttcgtggaca 1020

aacgacacca gttcatctgt gccgagcatg acggacaaaa ttcaaccgta tccacagaac 1080

acaacatttc tgcactgtat gcggtgtact accatcacca agtggacgga gacaattggt 1140

tccatctgga atggctgcgg ccattctttt cctcttggct ggtgctcaac atctcctggt 1200

ttctgaggcg ttcgcctgta agccctgttt ctcaacgcat ttatcagata ttaagaccaa 1260

cacgactgcg gctgccggtt tcatggtcct tcagaacatc aattgtctcc ggccctacag 1320

gaccaacaca acgcaaggga aagtaccatc tcaatgtcgt gaagccgtcg gtactcccca 1380

gtacattatg atgacggcta acgtgaccga caagtcatac ttgtataatg cggacctgtt 1440

gatgctttct gcatgccttt tctacgcctc ggaaatgagt gagaagggct tcaaagtcat 1500

ctttgggaat atctctggcg ttgtctccgc ttgtgtcaat ttcacggatt atgtggccca 1560

tgtgacccaa catacccagc agcatcatct ggtgattgat cacattcggt tactgcattt 1620

tctgtcaccg tctacaatga ggtgggctgc aaccatcgcc tgcttgtttg ccattctttt 1680

ggcgatatga gatgttctca caaattgggg cgttccttga ctccacactc ttatttctgg 1740

tggctttttt ctttgtgtat cggcttatcc tggtcctttg ccgatggcaa cggcaacagc 1800

tcnacatacc aatacatata taacttgacc atatgcgagc tgaatgggac cacctggttg 1860

tccggccatt ttgactgggc agtcgaaaca tttgtgcttt acccggttac cactcatatt 1920

ctttcactgg gttttctcac aacaagccat ttttttgacg cgctcggtct cggcgccgtg 1980

tccgctgcag gatttgttga cagtcggtac gtgctcagca gcgtctacgg cgcttgtgct 2040

ttcgcggcgt tcgtatgttt tgccatccgt gccaccaaaa attgcatggc ctgccgctat 2100

gcccgcaccc ggttcaccaa ctttattgtt gatgaccggg ggagaatcca tcgatggaaa 2160

tctccaatag tgatagaaaa attgggcaga gccgacgtgg gcggcgacct tgtcaccatc 2220

aaacacgttg tcctcgaagg agttaaagct caacctttgg caaggacttc ggctgagcaa 2280

tgggaagcct agatgatttc tgtcatgatc ctaccgccgc acaaaagctt gtgctggctt 2340

tcagcattac atatacaccc attatgatat acgcccttaa agtgtcacgc ggccgactct 2400

tgggactgtt acacatctta atattcctga actgttcctt cacgttcgga tatatgacat 2460

atgtgcattt tgaatccact aaccgcgttg cacttactat gggagccgtt gtcgctcttt 2520

tgtggggcgt ctatagcttc atagagtcat ggaagtttgt tacttccaga tgcagactgt 2580

gttgcctagg tcggcgatac attttggccc ctgcccacca cgtagaaagt gctgcaggcc 2640

ttcatcggat cccagcgtct ggtaaccaag catacgctgt gagaaagccc ggactaacat 2700

cagtaaacgg cactctagta ccagggcttc gaggcctcgt gttgggcggc aaacgagctg 2760

ttaaacgagg agtggttaac ctcgtcaagt atggccggta ggaaccggag ccagaagaaa 2820

aagaaaaatc cagctccaat ggggaatgac caaccagtca atcaactgtg ccagctgctg 2880

ggcgcaatga tgaagtcccg gcgccagcaa cctaggggag gacaggctaa aaagagaaag 2940

cctgagaagc cacattttcc cctagctgct gaagatgacg ttcggcacca tctcacccag 3000

actgagcgct ccctctgctt gcaatcgatc caaacggctt ttaatcaagg cgcaggagtt 3060

gcgtcgcttt catccagcgg gaaggtcagt tttcaggttg agttcatgct gccggtcgct 3120

catacagtgc gcctgattcg cgtgacttcc acatccgcca gtcaggatgc aaattaat 3178

REIVINDICACIONES

1. Una vacuna contra PRRSV, comprendiendo dicha vacuna una cepa completa del PRRSV de tipo 1 inactivada o atenuada, en la que el genoma de dicha cepa del PRRSV de tipo 1 comprende SEQ ID Nº1, SEQ ID Nº12, o SEQ ID Nº13, o una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID Nº 1; y en la que dicha vacuna es capaz de inducir una respuesta de anticuerpos contra dicha cepa del PRRSV.

2. La vacuna contra el PRRSV según la reivindicación 1, comprendiendo dicha vacuna una cepa de tipo 1 que comprende la SEQ ID Nº1.

3. La vacuna contra el PRRSV según la reivindicaciones 1 o 2, comprendiendo dicha vacuna una cepa 07V-063 según se deposita en la BCCM™ con el número de acceso LMBP 6660.

4. La vacuna contra el PRRSV según la reivindicación 1, comprendiendo dicha vacuna la cepa 08V-204 según se deposita en la BCCM™ con el número de acceso LMBP 6662.

5. La vacuna contra el PRRSV según la reivindicación 1, comprendiendo dicha vacuna la cepa 08V-194 según se deposita en la BCCM™ con el número de acceso LMBP 6661.

6. La vacuna contra el PRRSV según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la cepa del PRRSV se hizo crecer en células Marc o en células PK-15.

7. La vacuna contra el PRRSV según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la cepa del PRRSV se inactiva mediante tratamiento con formaldehído, tratamiento con glutaraldehído, tratamiento con AT-2, desnaturalización mediante pH y/o temperatura, irradiación gamma, irradiación UV, o tratamiento con etilenimina binaria (BEI).

8. La vacuna contra el PRRSV según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende además un vehículo o diluyente farmacológicamente aceptable.

9. La vacuna según la reivindicación 8, adecuada para la administración oral, intranasal, subcutánea o intramuscular.

10. Una cepa completa del PRRSV de tipo 1, en la que el genoma de dicha cepa del PRRSV de tipo 1 comprende SEQ ID Nº1, SEQ ID Nº12, SEQ ID Nº13, o una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID Nº 1; y en la que dicha cepa es capaz de inducir una respuesta de anticuerpos contra dicha cepa del PRRSV.

11. Una cepa completa del PRRSV de tipo 1 según la reivindicación 10, para uso como un medicamento.

12. Una cepa completa del PRRSV de tipo 1 según la reivindicación 10, para uso en la prevención o tratamiento de infección por PRRSV en cerdos.

Figura 1

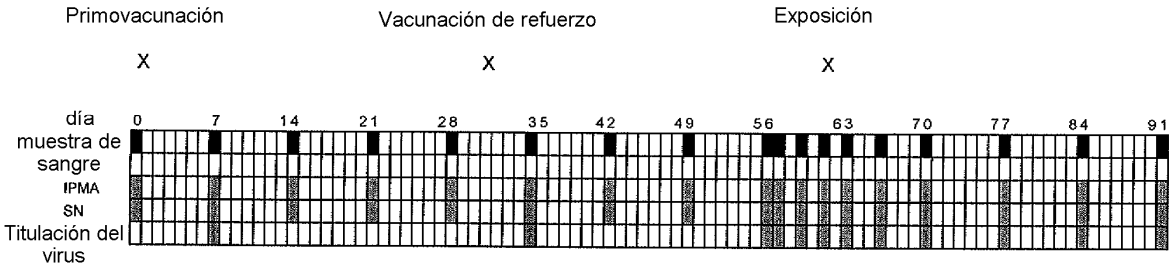
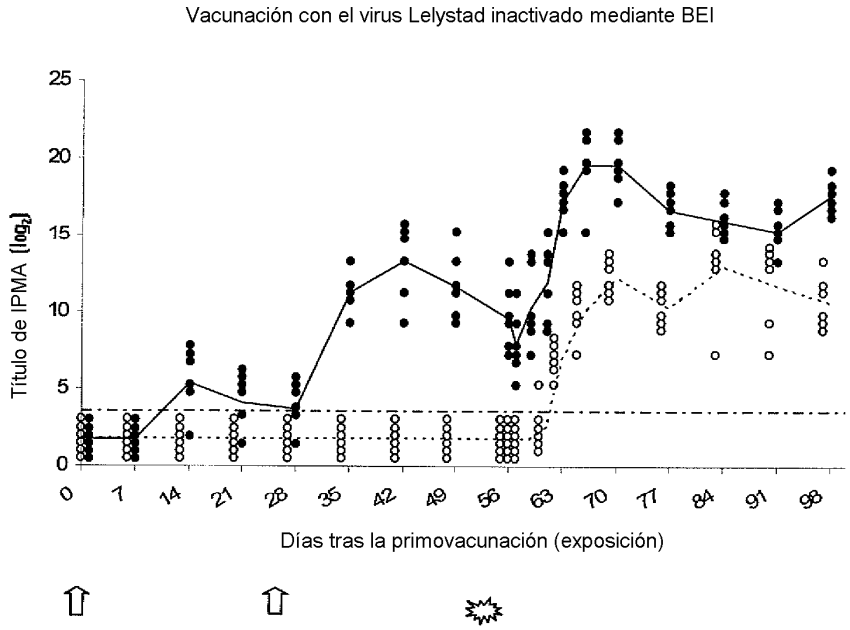
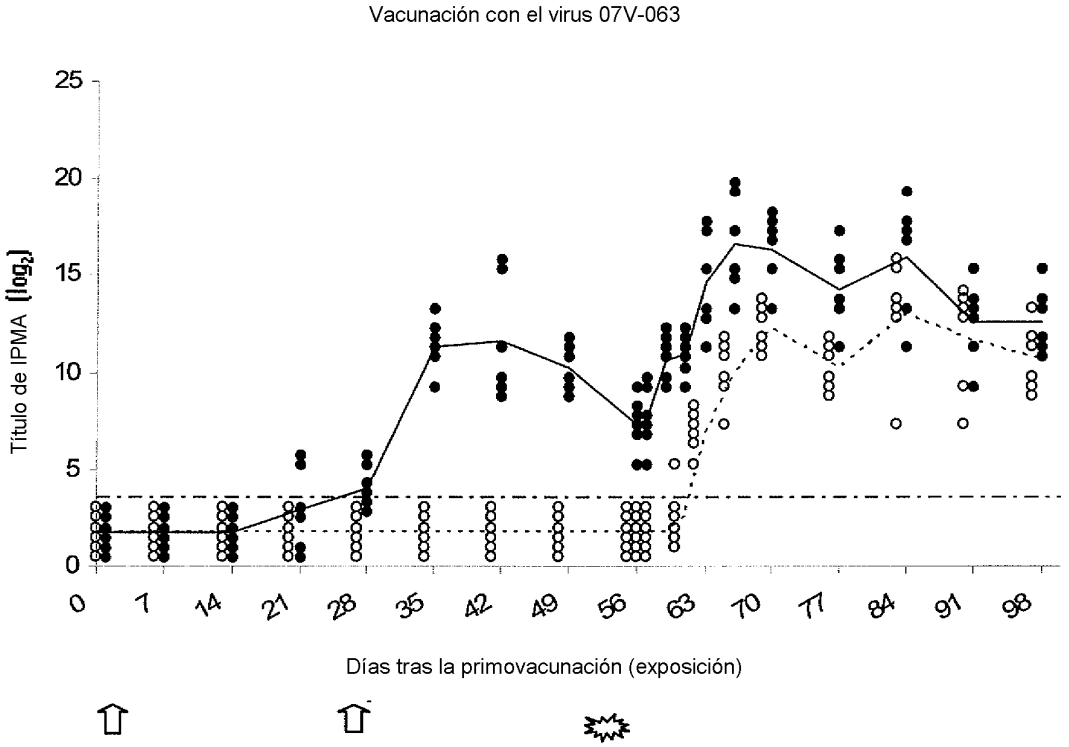


Figura 2

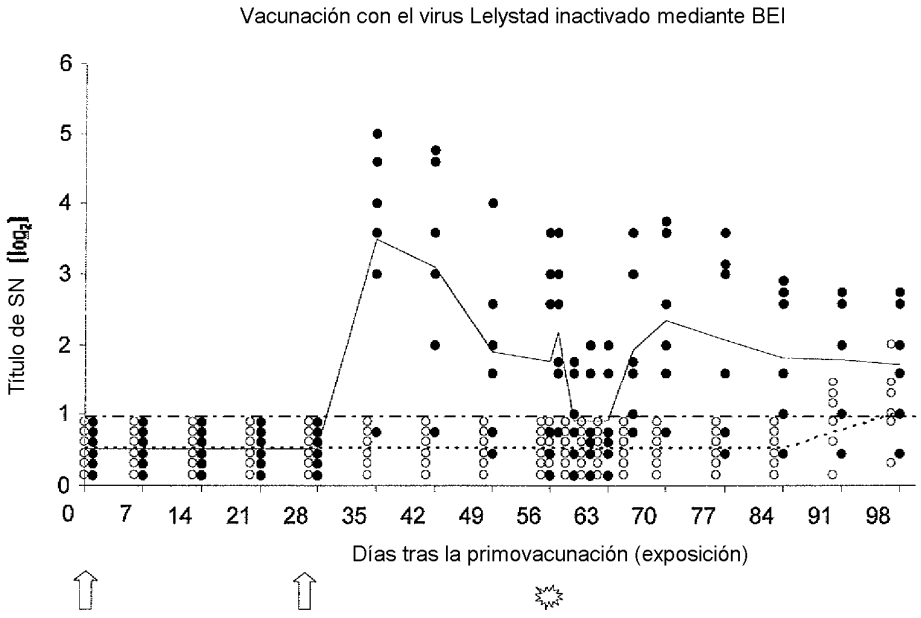
A



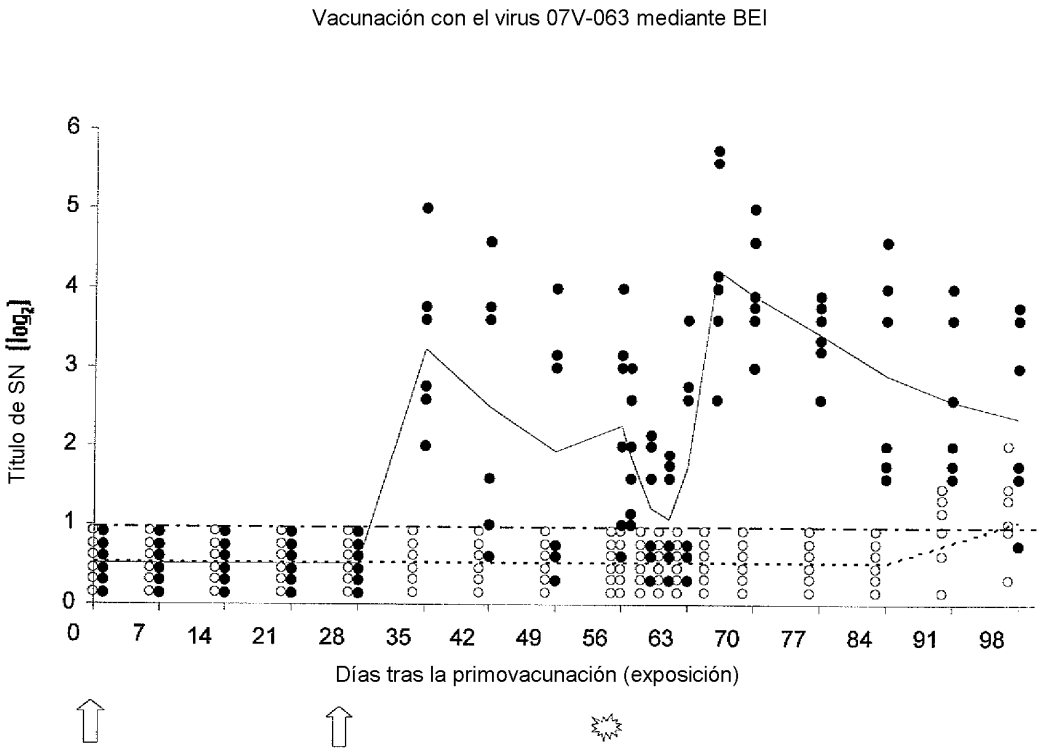
B


Vacunación con el virus 07V-063
Título de IPMA [log2]
25
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

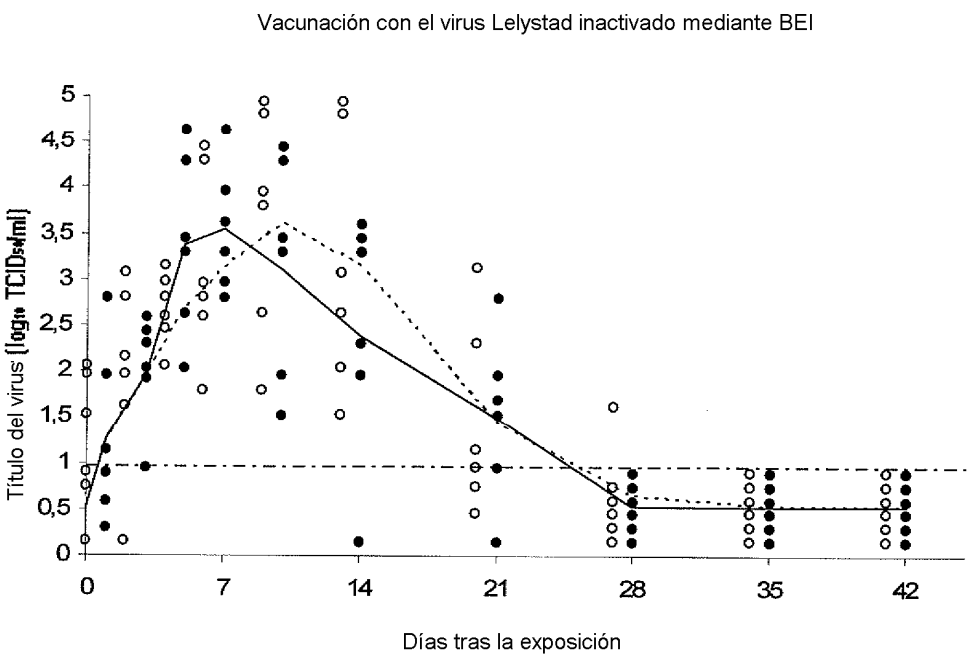
C


Vacunación con el virus Lelystad inactivado mediante BEI
Título de SN [log2]
6
5
4
3
2
1
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

D


Vacunación con el virus 07V-063 mediante BEI
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
6
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
91
98
Días tras la primovacunación (exposición)

E


Vacunación con el virus Lelystad inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
0
0,5
1
1,5
2
2,5
3
3,5
4
4,5
5
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

F

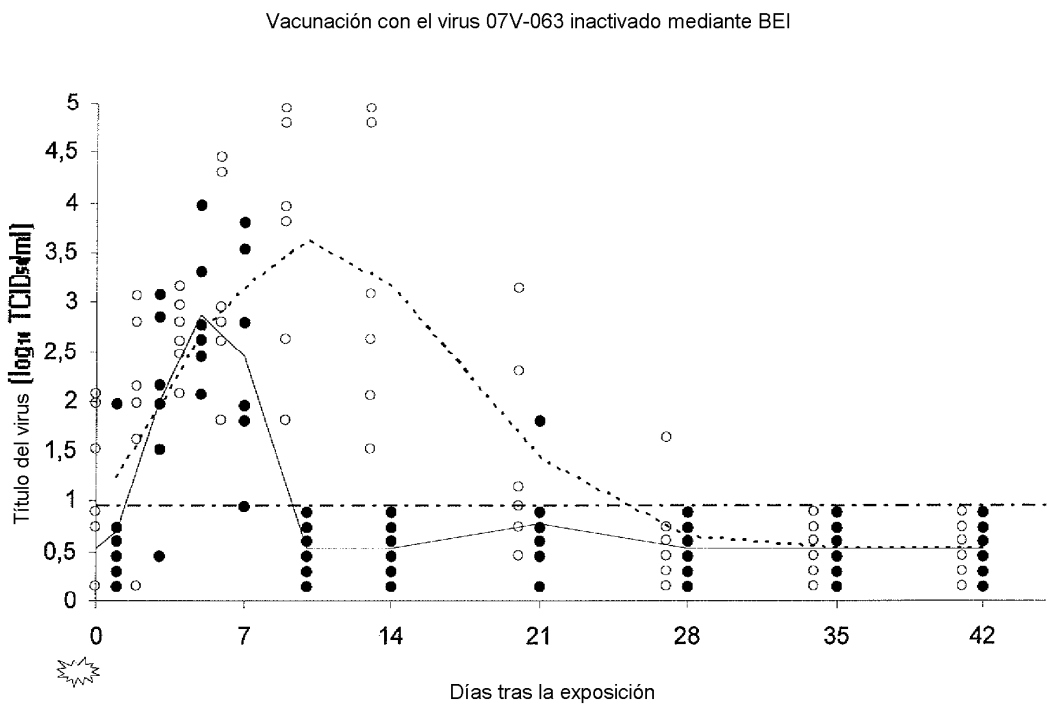

Vacunación con el virus 07V-063 inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

Figura 3

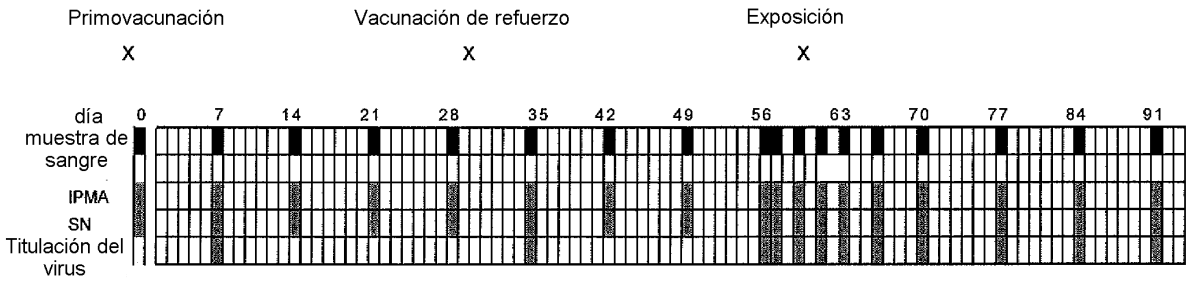
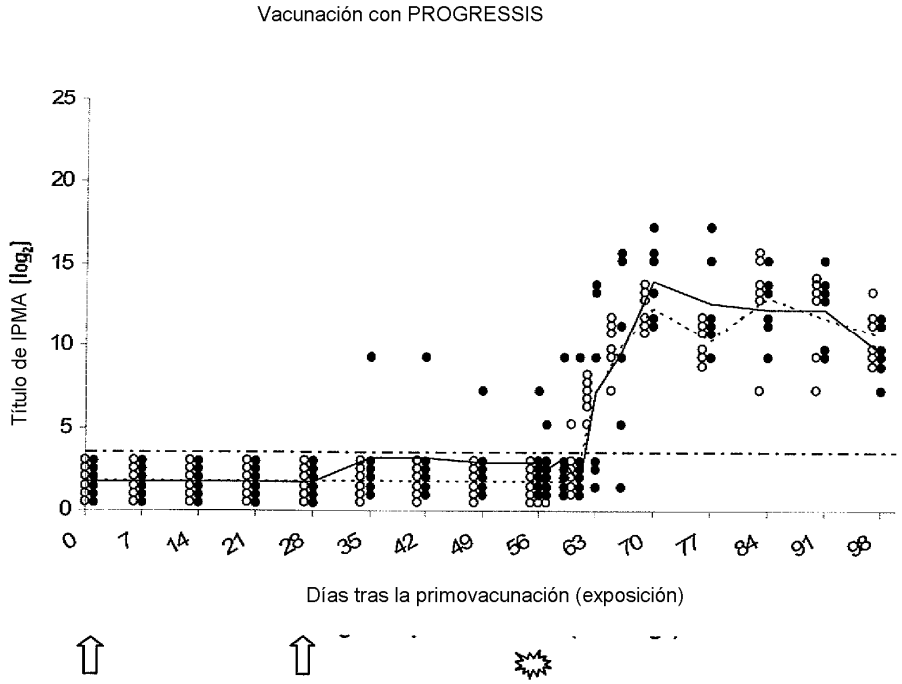
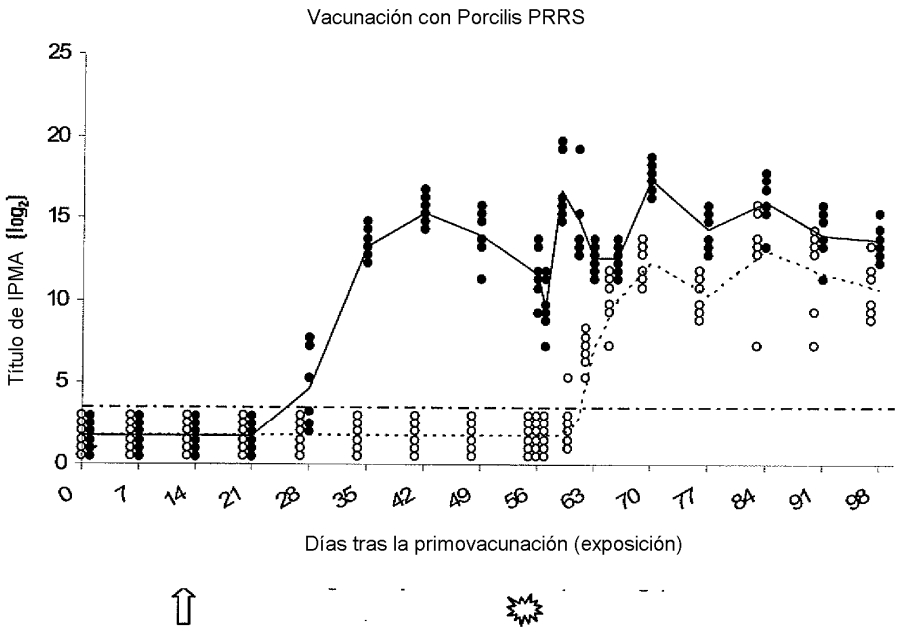

Primovacunación
Vacunación de refuerzo
Exposición
X
X
X
día
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
91
muestra de sangre
IPMA
SN
Titulación del virus

Figura 4

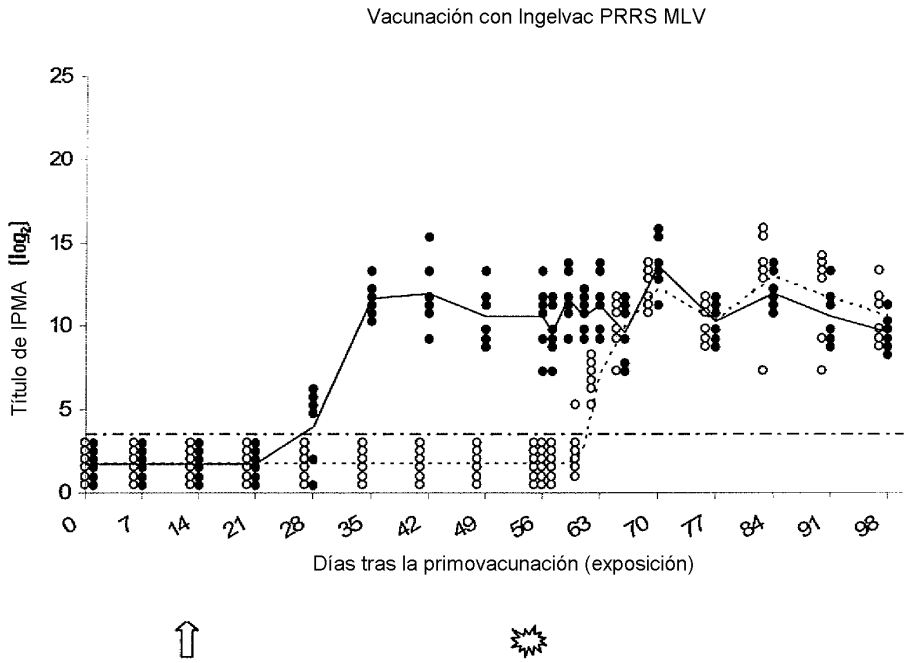
A


Vacunación con PROGRESSIS
Título de IPMA [log2]
25
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

B


Vacunación con Porcilis PRRS
Título de IPMA [log2]
25
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

C


Vacunación con Ingelvac PRRS MLV
Título de IPMA [log2]
25
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

D

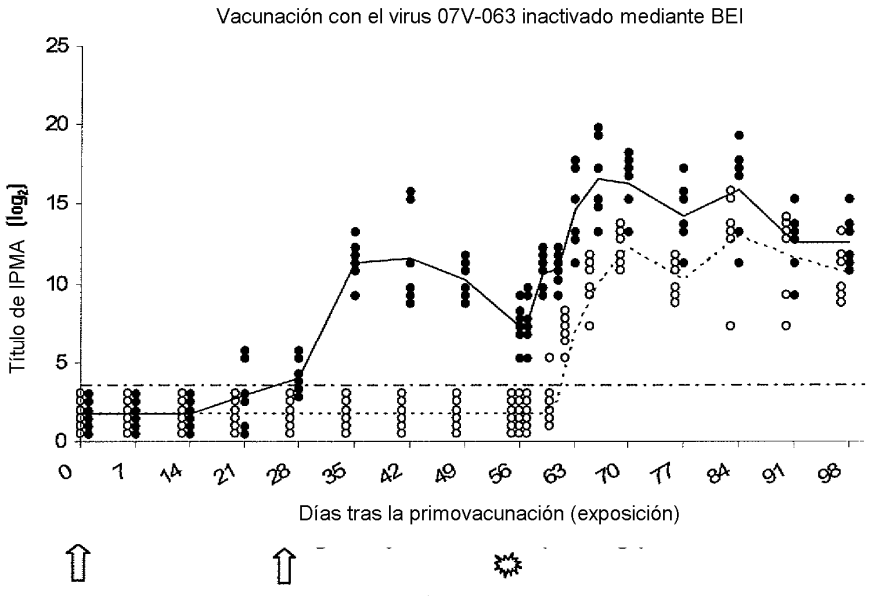
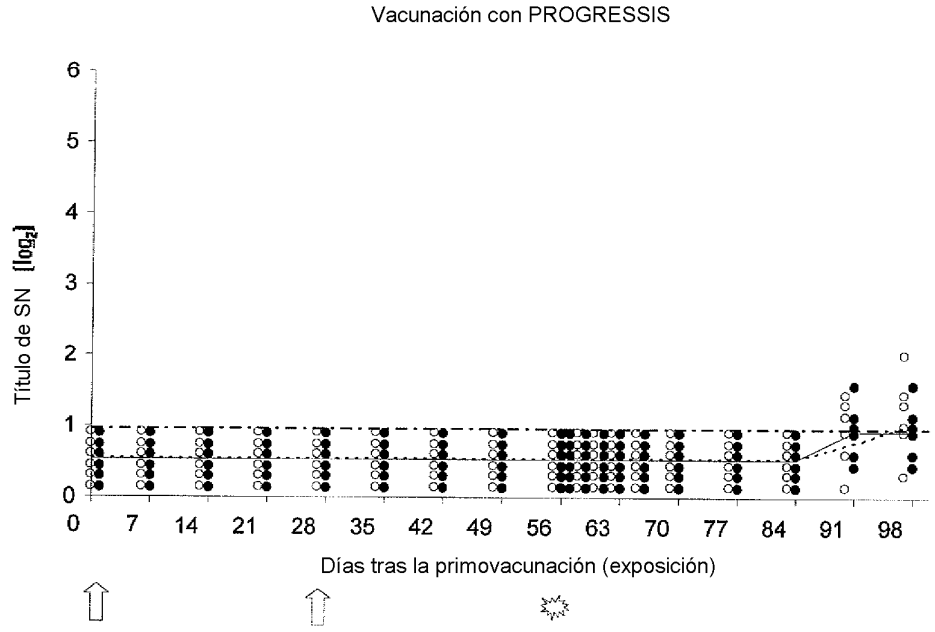
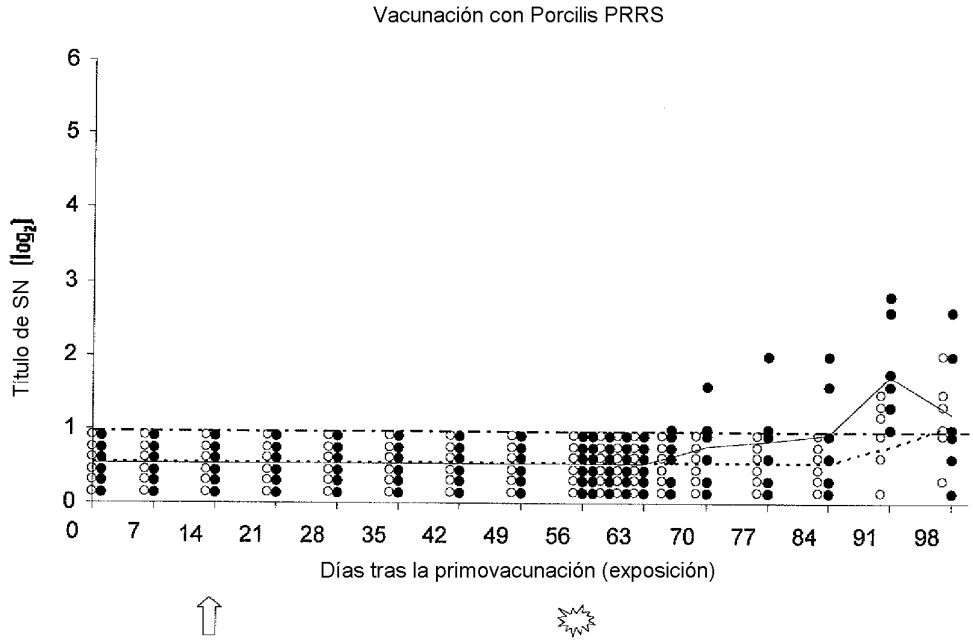

Vacunación con el virus 07V-063 inactivado mediante BEI
Título de IPMA [log2]
25
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

Figura 5

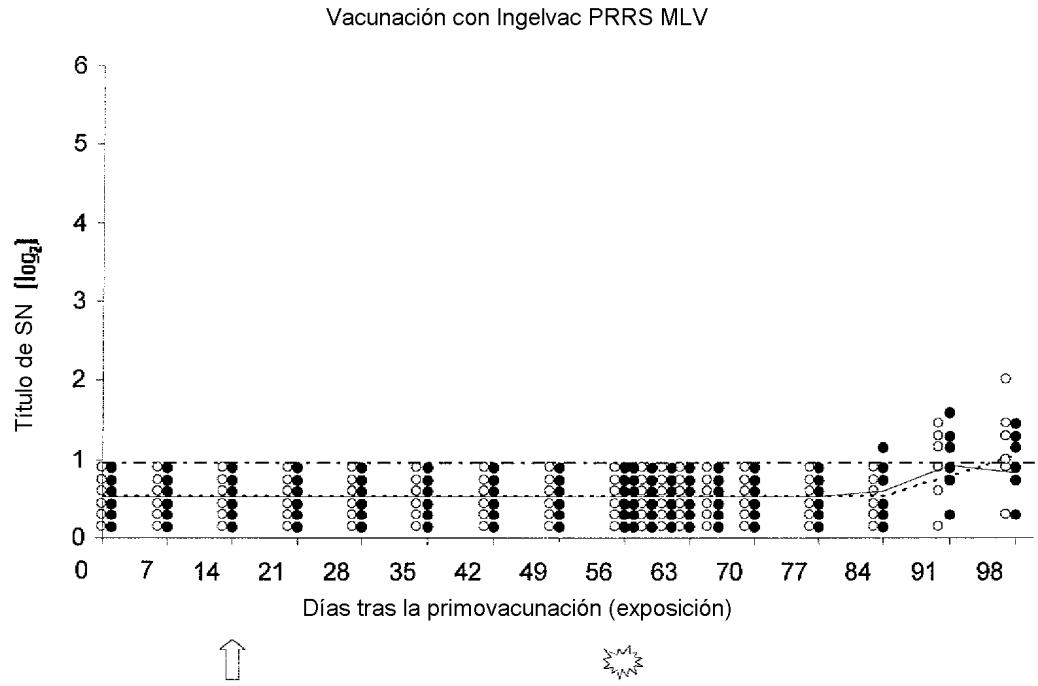
A


Vacunación con PROGRESSIS
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
6
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

B


Vacunación con Porcilis PRRS
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
6
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

C


Vacunación con Ingelvac PRRS MLV
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
6
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

D

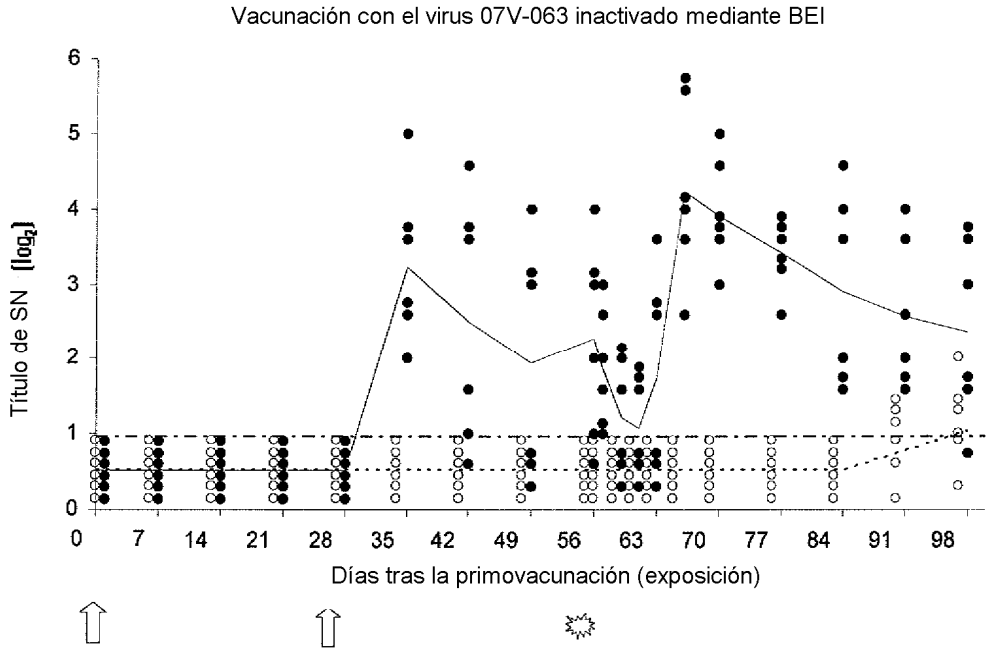
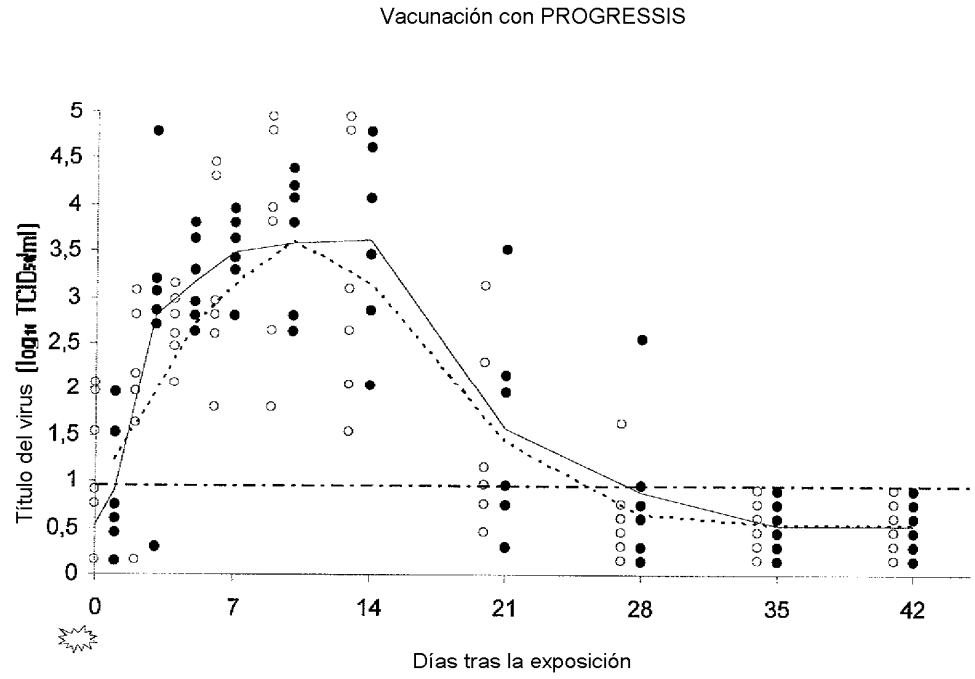
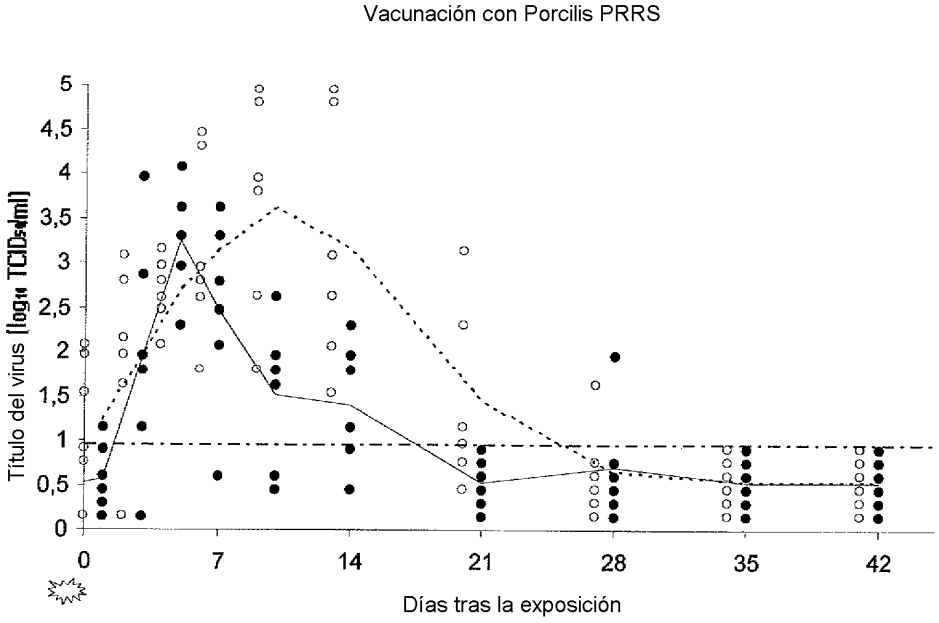

Vacunación con el virus 07V-063 inactivado mediante BEI
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
6
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

Figura 6

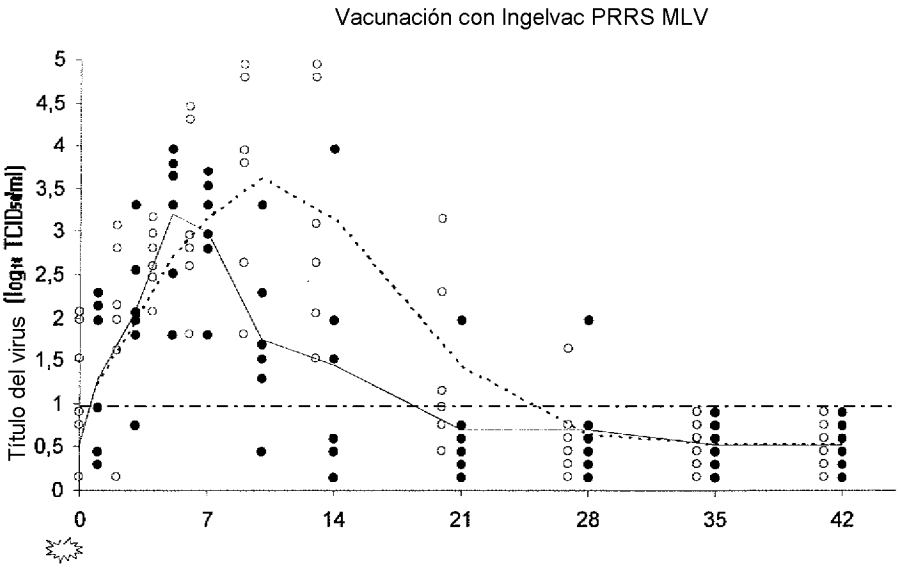
A


Vacunación con PROGRESSIS
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

B


Vacunación con Porcilis PRRS
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

C


Vacunación con Ingelvac PRRS MLV
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42

D

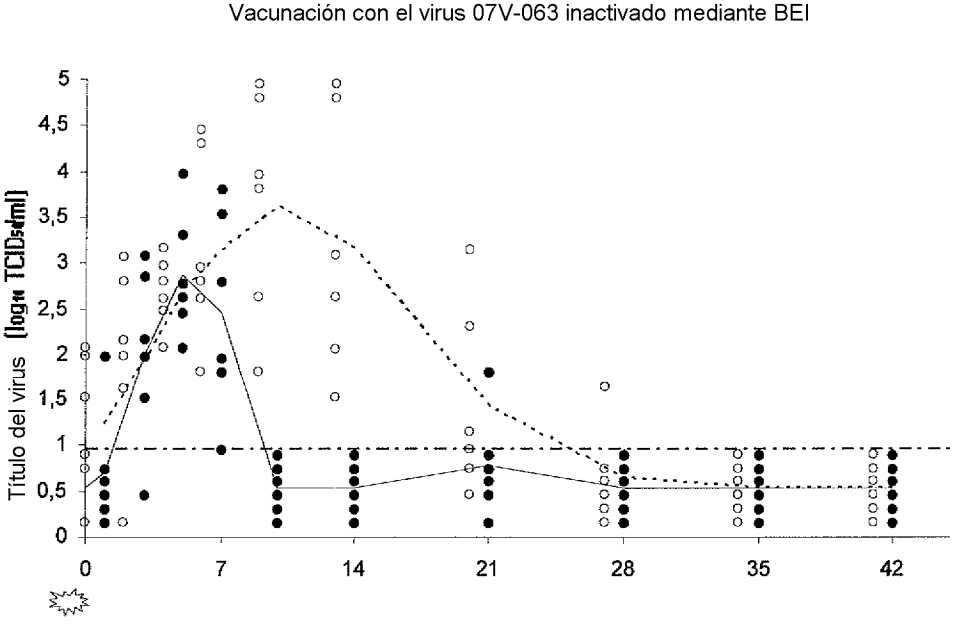

Vacunación con el virus 07V-063 inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42

Figura 7

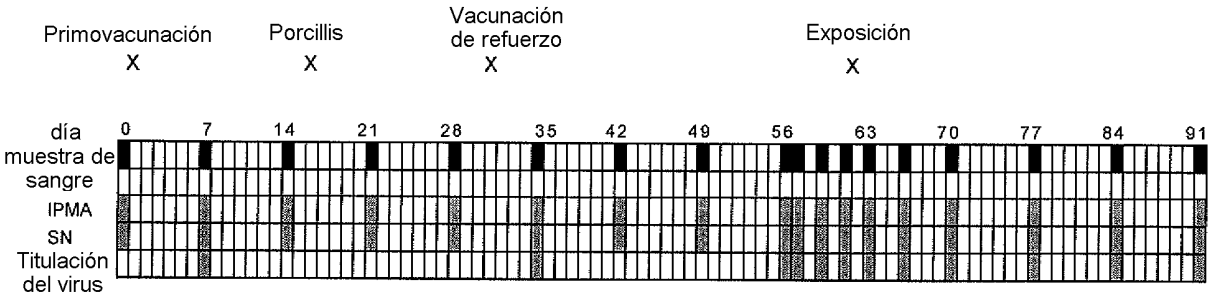
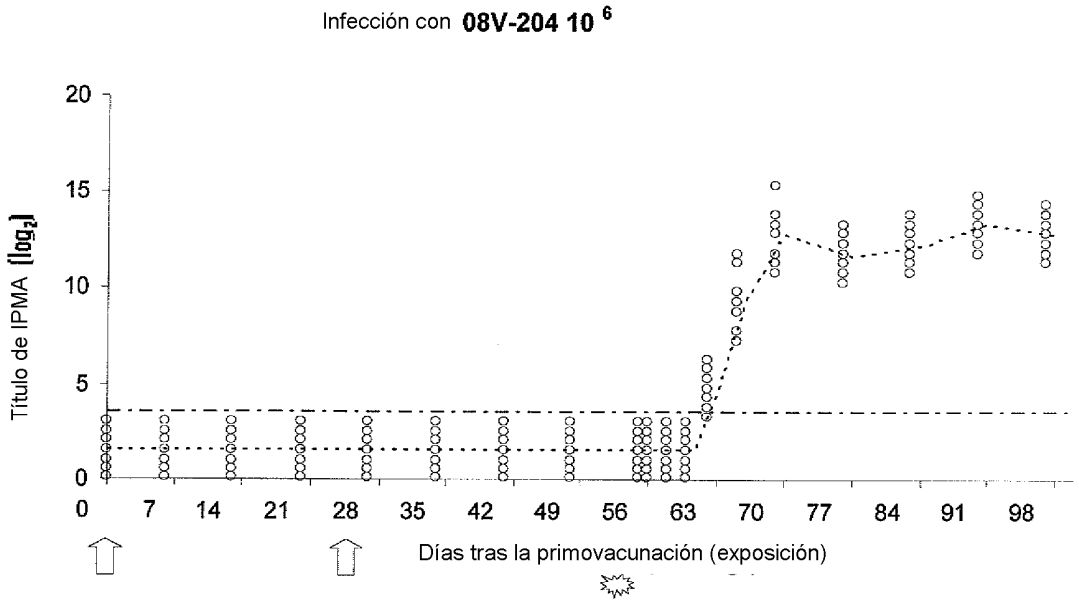
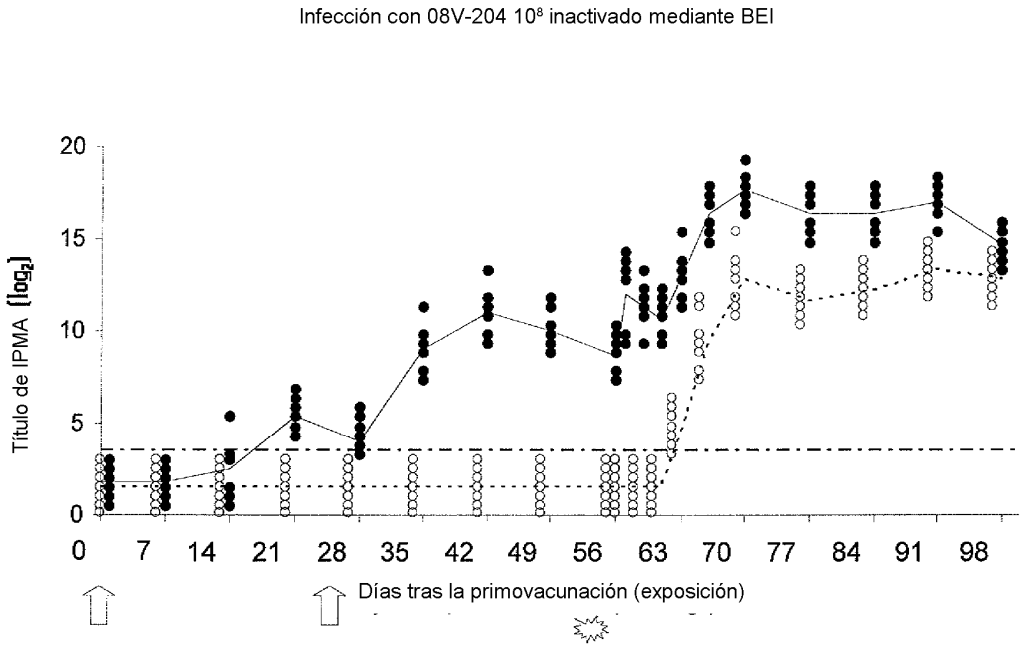


Figura 8

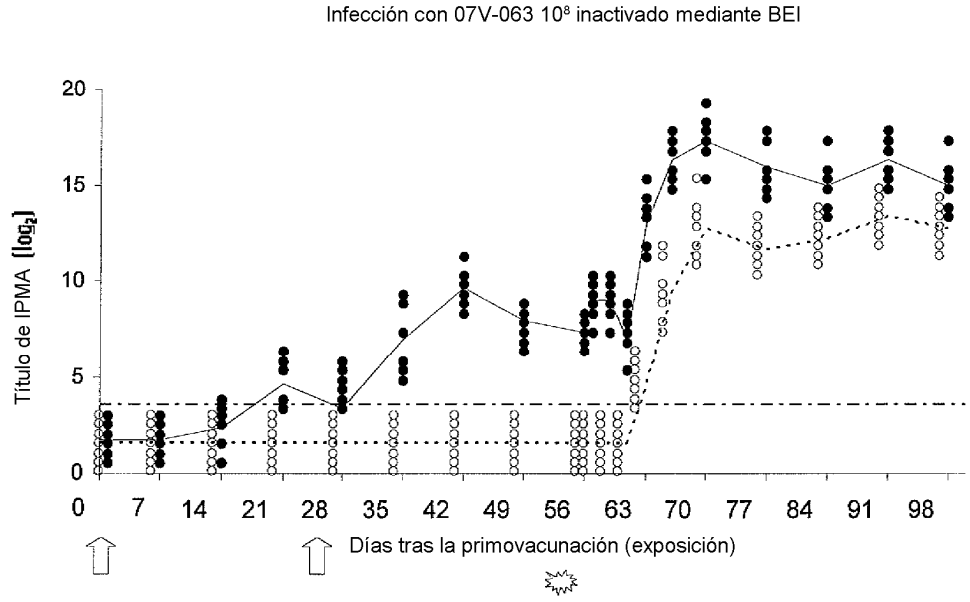
A



B

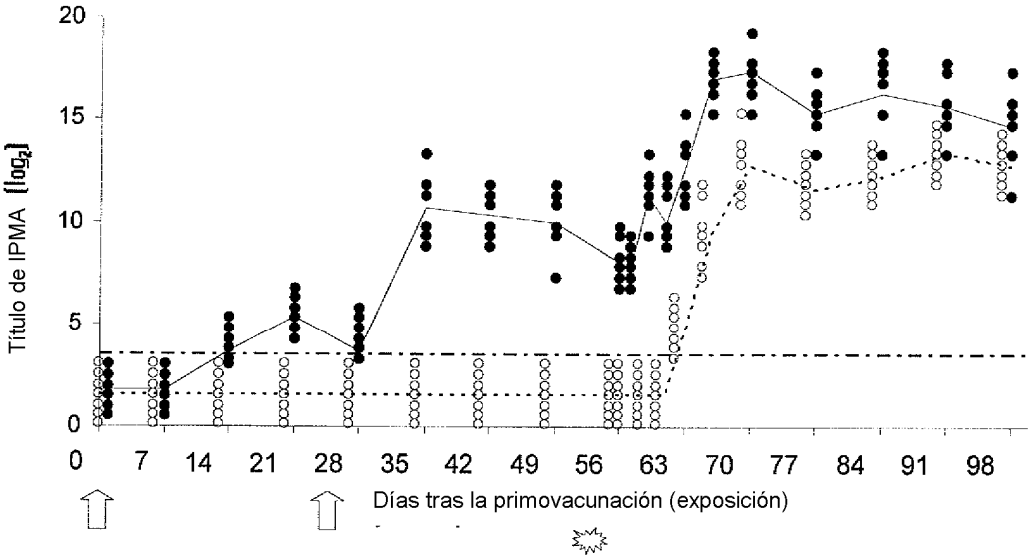

Infección con 08V-204 10⁸ inactivado mediante BEI
Título de IPMA [log2]
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

C


Infección con 07V-063 10⁸ inactivado mediante BEI
Título de IPMA [log2]
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

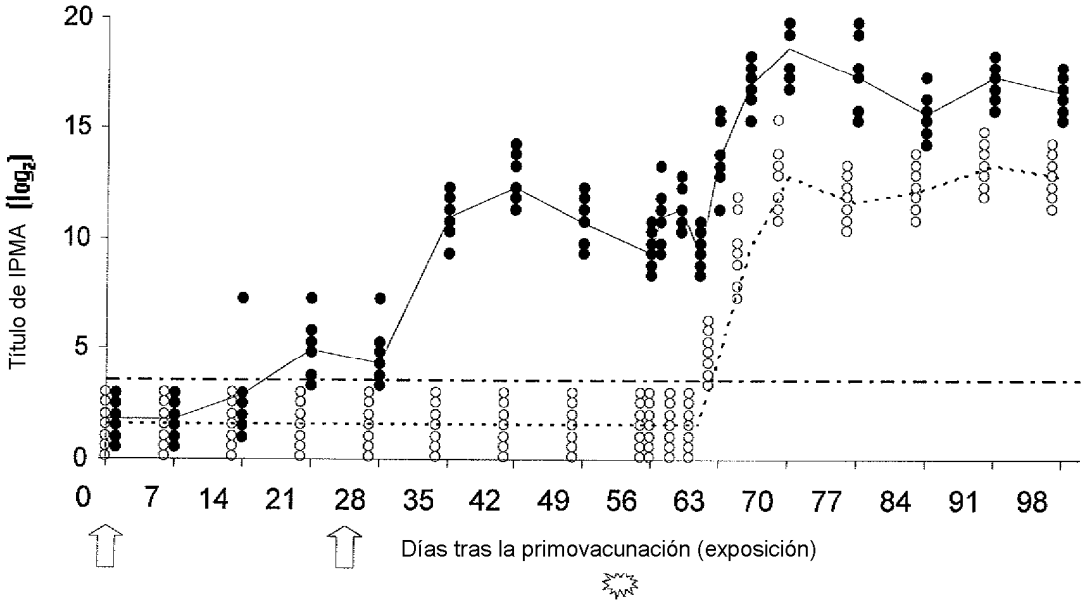
D

Infección con vacuna de combinación 10^8 inactivada mediante BEI



E

Infección con Lelystad 10^8 inactivado mediante BEI



F

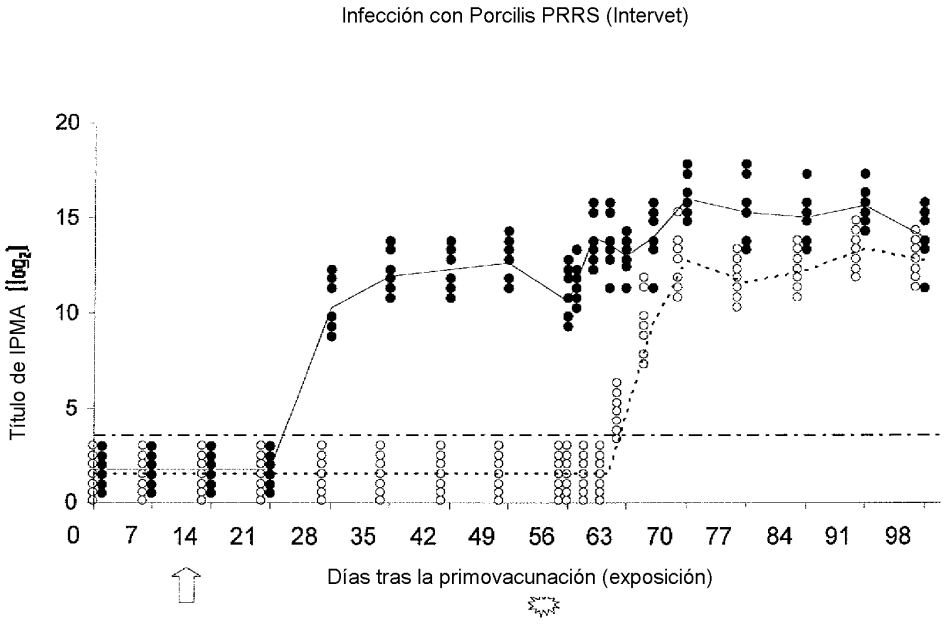
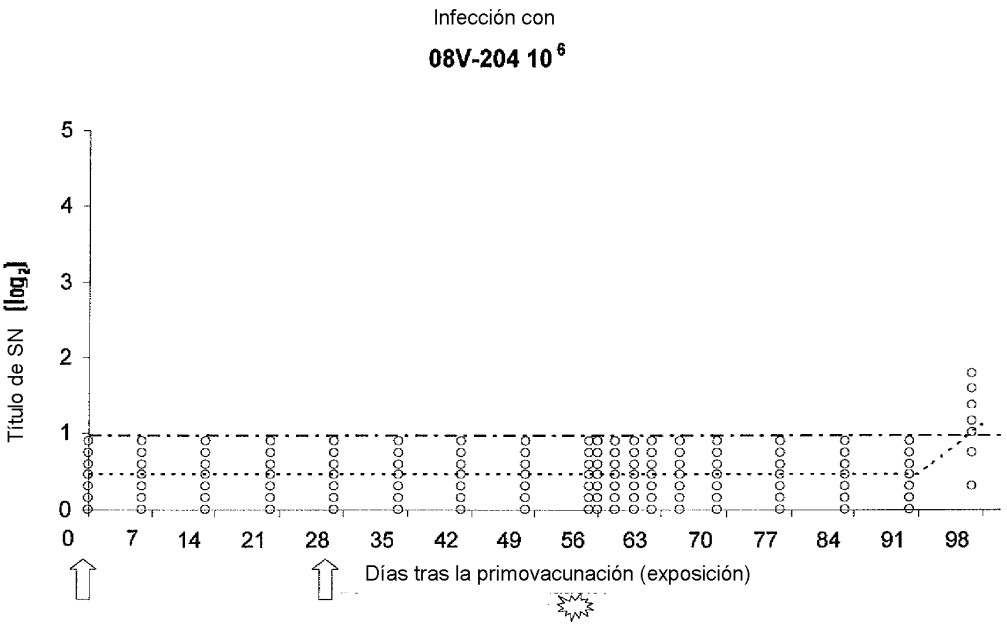
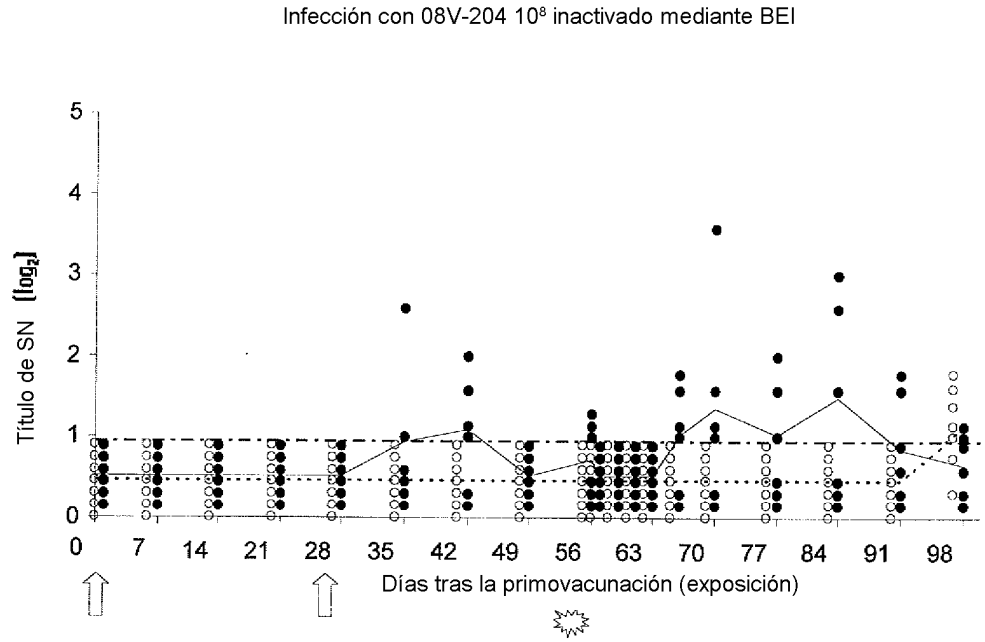

Infección con Porcilis PRRS (Intervet)
Título de IPMA [log2]
20
15
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

Figura 9

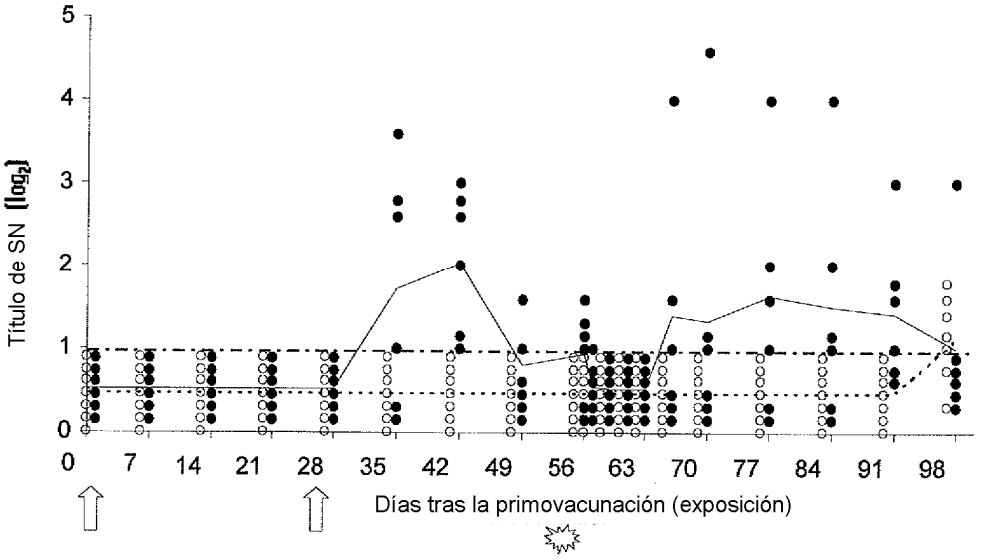
A


Infección con
08V-204 10 6
Título de SN [log2]
5
4
3
2
1
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

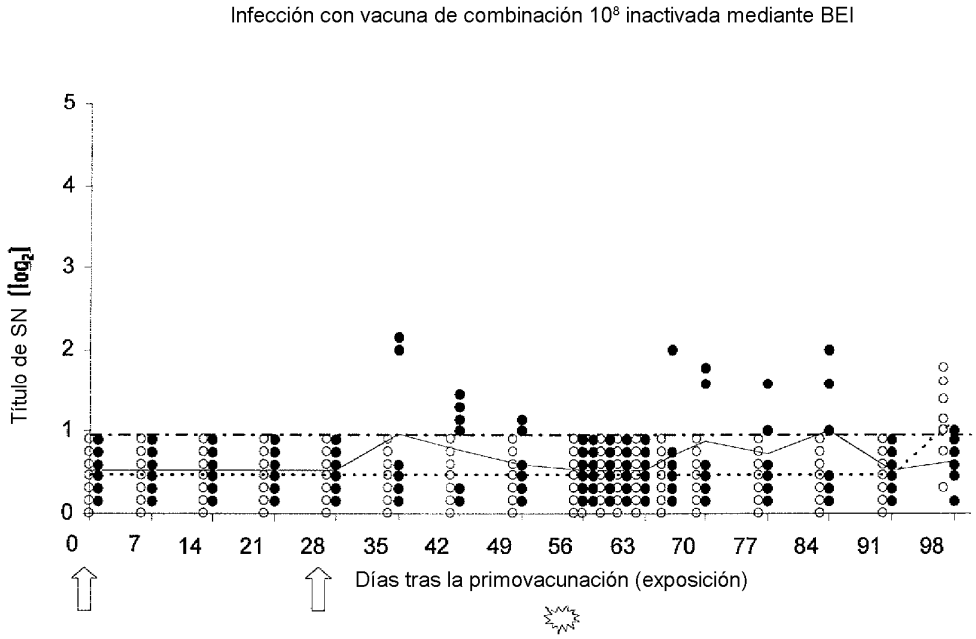
B


Infección con 08V-204 10⁸ inactivado mediante BEI
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

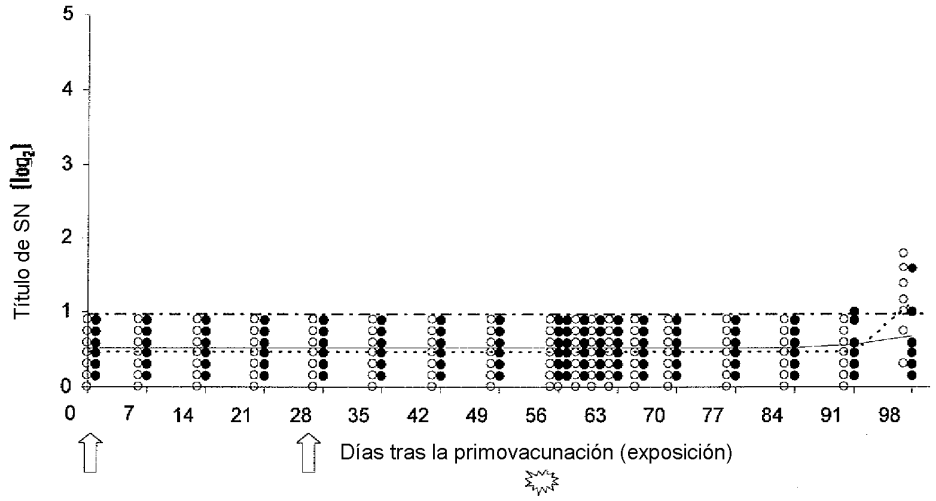
C


Infección con 07V-063 10⁸ inactivado mediante BEI
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

D


Infección con vacuna de combinación 10^8 inactivada mediante BEI
Título de SN [log_2]
0
1
2
3
4
5
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

E


Infección con Lelystad 10^8 inactivado mediante BEI
Título de SN [log_2]
0
1
2
3
4
5
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

F

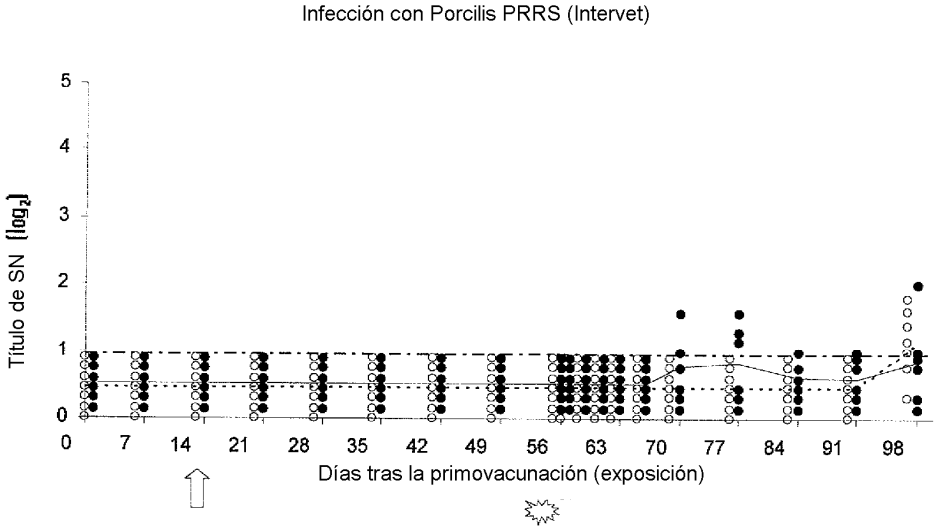
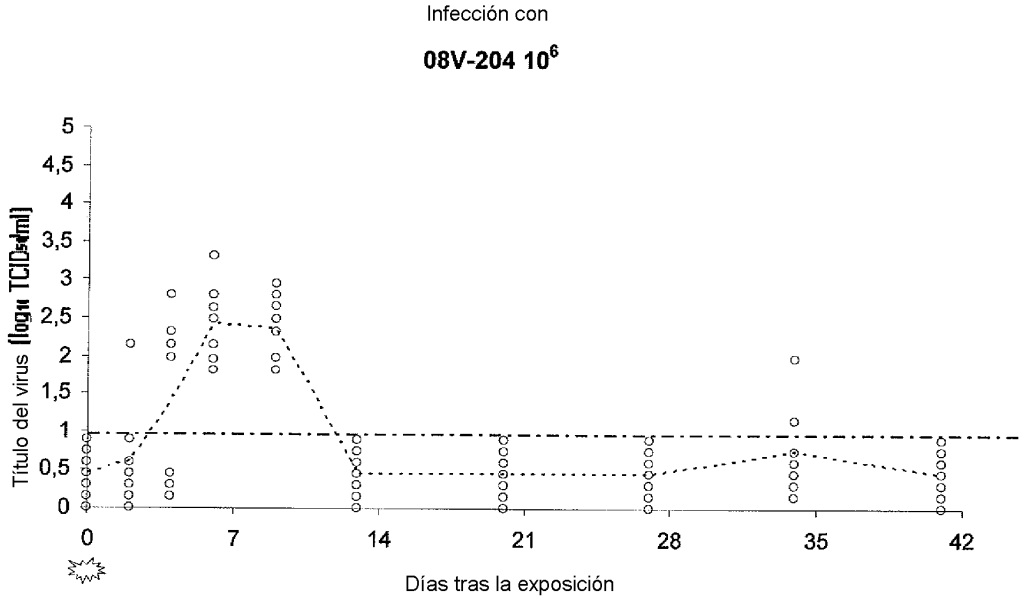
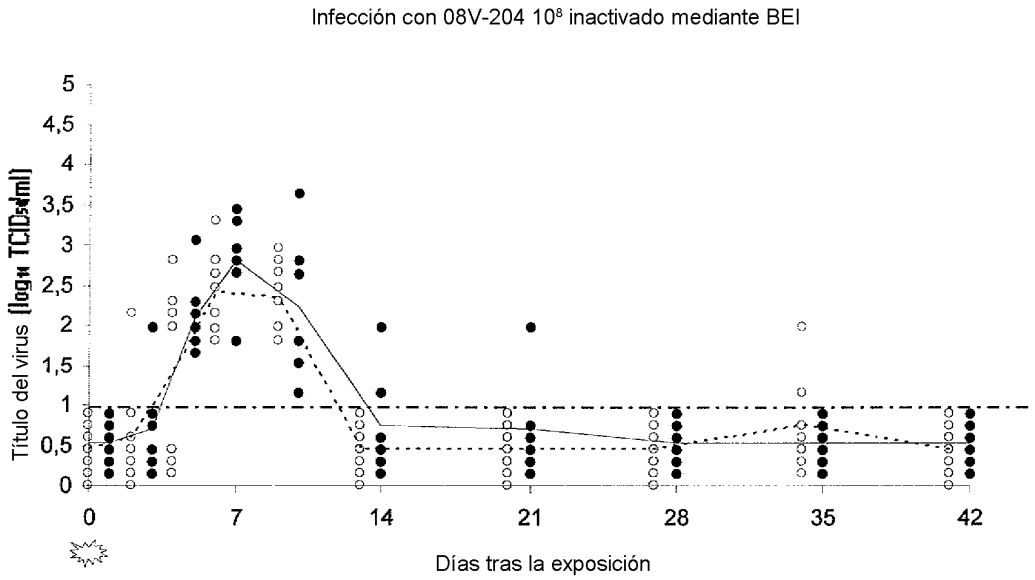

Infección con Porcilis PRRS (Intervet)
Título de SN [log2]
0
1
2
3
4
5
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 91 98
Días tras la primovacunación (exposición)

Figura 10

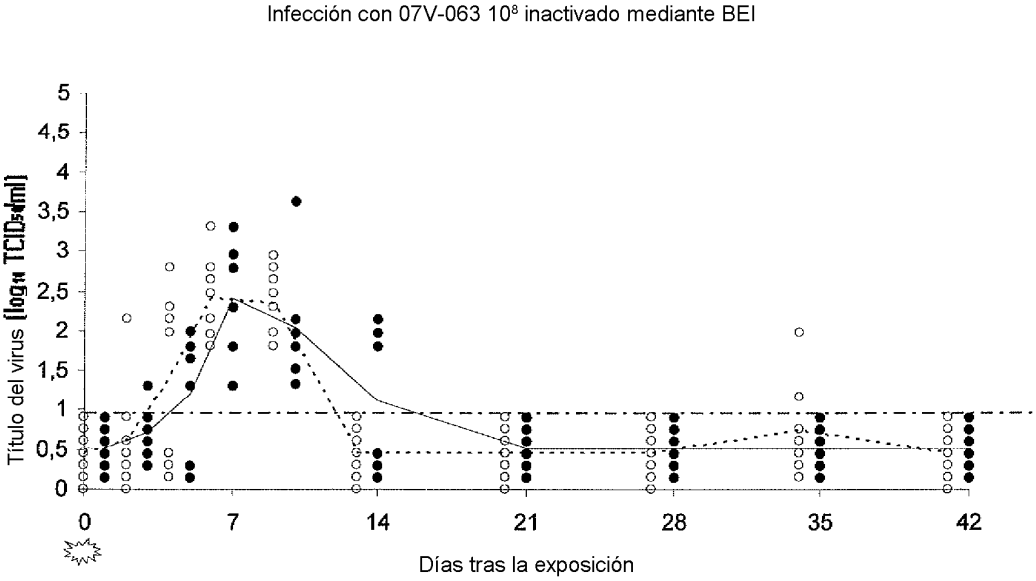
A


Infección con
08V-204 10^6
Título del virus [log10 TCID50/ml]
0
0,5
1
1,5
2
2,5
3
3,5
4
4,5
5
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

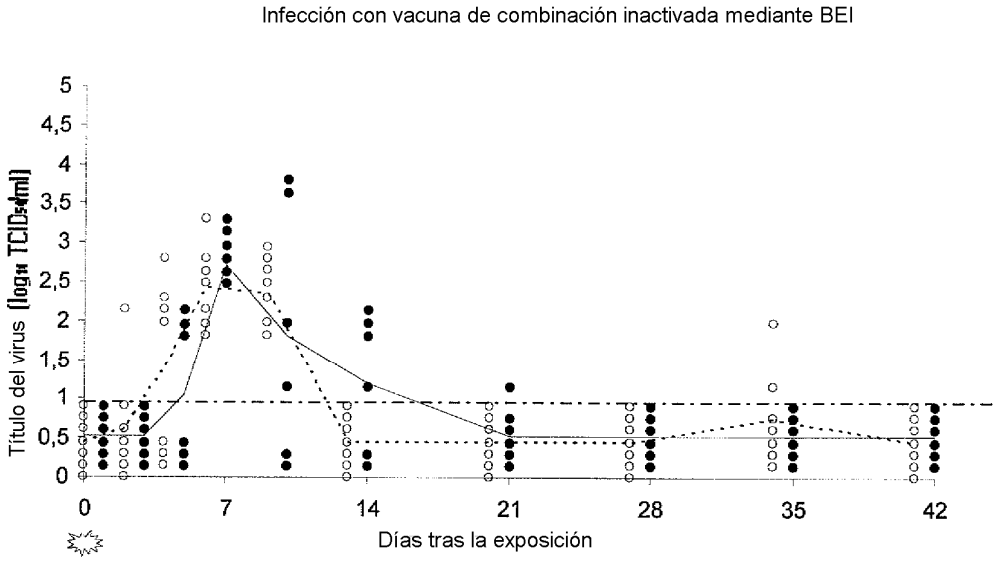
B


Infección con 08V-204 10⁸ inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

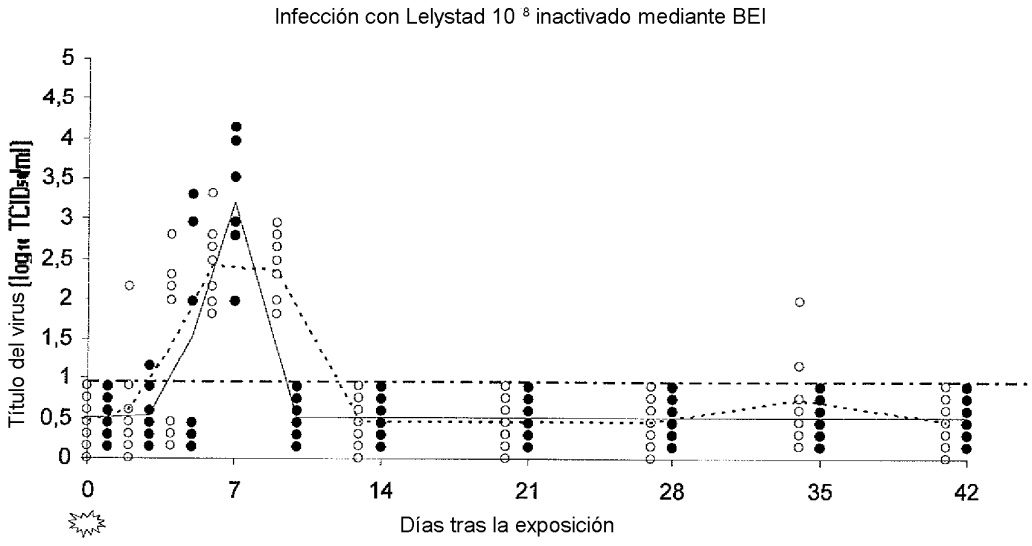
C


Infección con 07V-063 10⁸ inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

D


Infección con vacuna de combinación inactivada mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

E


Infección con Lelystad 10 8 inactivado mediante BEI
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

F

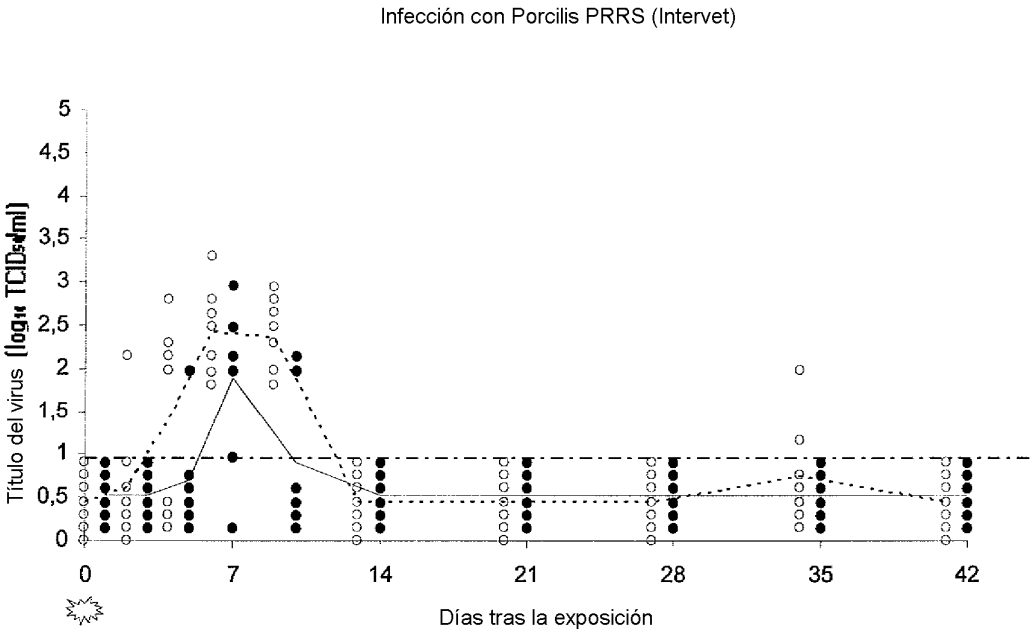

Infección con Porcilis PRRS (Intervet)
Título del virus [log10 TCID50/ml]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
7
14
21
28
35
42
Días tras la exposición

Figura 11

ATGCAATGGGGTCACTGTGGAGCAAAATCACCCAGTTATTTGTGGACGCCTTCACTGAGTTC
CTTGTTAGTGTGGTTGACATTGTCATCTTCCTTGCCATACTGTTTGGGTTCACCGTCGCAGGA
TGGTTACTGGTCTTTCTTCTCAGAGTGGTTTGCTCCGCGCTTCTCCGTTCGCGCTCTGCCATT
CACTCTTCCGAACTATCGAAGGTCTTATGAGGGCTTACTTCCCAATTGCAGACCGGATGTTCC
ACAATTTGCATTTAAGCACCCATTGGGTATGTTTTGGCACATGCGGGTTTCCCATCTGATTGA
TGAAATGGTCTCTCGCCGCATCTACCAGACCATGGAACATTCAGGTCAAGCGGCTTGGAAGC
AGGTGGTTAGTGAGGCCACTCTCACAAAACTGTCAAATCTCGACATAGTTCTTCACTTCCAAC
ACCTGGCCGCGGTGGAGGCGGATTCTTGCCGCTTCCTCAGCTCACGACTTGTGATGCTGAA
AAATCTTGCCGTTGGCAATGTGAGCCTGCACTACAACACCACGTTGGACAGCGTTGAGCTCA
TCTTCCCCACACCAGGTACGAGACCTAAGTTGACCGATTTCAGGCAATGGCTTGTCAGTGTA
CACGCTTCTATTTTTTCCTCTGTGGCCTCATCTGTTACCTTATTCATAGTGCTTTGGCTTCGAA
TTCCAGCTCTACGCTATGTTTTTGGTTTCCATTGGCCCACGGCAACACGTCATTCGAATTGAC
CATCAACTACACCATATGCAAGCCCTGCCTTACTAGTCAGGCGGCTTCCCAGAGGCTCGAAC
CCGGTCGCAACGTGTGGTGTAAAATAGGGCATGATAAATGTGAGGAGCGCGACCATGATGA
GTTATTAATGTCCATTCCGTCTGGGTACGACAACCTCAAACTCGAGGGTTATTATGCTTGGTT
GGCGTTTTTGTCCTTTTCCTACGCGGCCCAATTCCATCCAGAGTTGTTTGGGATAGGGAATGT
GTCGCGTGTCTTTGTGGACAAGCGACACCAGTTCATTTGTGCCGCACATGATGGACACAATT
CAACCGTGTCTACCAGCCACAACATCTCCGCATCATATGCAGTGTATTACCACCACCAAATAG
ACGGGGGCAATTGGTTTCATTTGGAATGGCTGCGGCCATTCTTTTCCTCATGGTTGGTGCTC
AACATATCATGGTTTCTGAGGCGTTCGCCTGCAAGCCCTGTTTCTCGACGCATTTATCAGATA
TTAAGACCAACACGACCGCGGCTGCCGGTTTCATGGGCCTTCAGAACATCGATTGCCTCCGA
CATCACAGGGTCACGGCAGCGCAGGGGCGAATTTACACCAGAGGGCCGTCCCAATGCCGT
GAAGTCGTCGGTACTCCGCAGTACATCACGGTAACGGCCAATGTGACCGACGAGTCATACTT
GTACAACGCGGACCTGCTGATGCTTTCTGCGTGCCTTTTCTATGCCTCGGAAATGAGCGAGA
AGGGCTTCAAAGTCATCTTTGGGAATGTCTCTGGCGTTGTTTCCGCTTGCGTCAATTTCACTG
ATTATGTGGCTCATGTGACTCAACACACCCAGCAGCATCATCTGGTGATCGATCATGTCCGG
TTGCTGCATTTCTTGACACCGTCTGCAATGAGGTGGGCCACAACCATTGCTTGTTTGTTCGCC
ATCCTCTTGGCGGTATGAGATGTTCTCACAAATTGGGGCGCTTCTTGACTCCACACTCTTGCT
TCTGGTGGCTTTTTTTGCTGTGTACCGGCTTGTCTTGGTCCTTTGCCGATGGCAACGGCAAC
AGCTCGACATACCAATACATATATAATTTGACGATATGCGAGCTGAATGGGACCACTTGGTTG
TCCGATCACTTTTATTGGGCAGTCGAGACTTTTGTGCTTTACCCAGTGGCAACTCACATTCTC
TCATTGGGTTTTCTTACAACAAGCCATCTCCTTGACGCGCTCGGTCTCGGAGCCGTGTCCGT
TGCCGGTTTTCATGGCGGACGGTACGTACTCAGCAGCGTGTACAGCGCTTGTGCATTAGCA
GCGCTTGTGTGTTTTGTTATCCGCGCTGCCAAAAATTGCATGGCTTGCCGCTATGCTCGTAC
CCGATTTACCAACTTCATTGTGGACGACCGGGGGAGAATCCATCGATGGAGGTCTCCAATAG
TGGTGGAGAGATTGGGCAAAGCTGACGTCAGCGGCGACCTTGTCACCATCAAACATGTTGTC
CTCGAGGGAGTTAAAGCTCAACCCTTGACAAGGACTTCGGCCGAGCAATGGGAAGCCTAGA
TGACTTTTGTGGCGATCCCACCGCCGCACAAAAGCTTGTGCTAGCCTTTAGCATCACATATAC
ACCTATTATGATATACGCCCTTAAGGTGTCACGCGGCCGGCTCCTGGGGCTGTTGCACATCT
TGATATTTCTGAACTGTTCCTTCACGTTCGGATACATGACATATGTACATTTTGAGTCCACCAA
CCGTGTCGCATTTACTATGGGGGCCGTCGTTGCCCTTTTGTGGGGCGTCTATAGCTTCATAG
AGTCATGGAAGTTTATCACTTCCAGATGCAGATTGTGTTGCCTAGGCCGGCGATACATTCTG
GCCCCTGCCCACCACGTAGAAAGTGCTGCAGGCCTCCATCCGATTCCAGCGTCTGGTAACC
ATGCATATGCTGTGAGAAAGCCCGGACTAACATCAGTGAACGGCACTCTAGTACCAGGACTT
CGGGGCCTCGTGTTGGGCGGCAAACGAGCTGTTAGACGAGGAGTGGTTAACCTCGTTAAGT
ATGGCCGGTAACAACCGGAGCCAGAAGAAAAAGAAAAATCCAGCTCCAATGGGGAATGGCC

AGCCAGTCAATCAACTGTGCCAGTTGCTGGGTGCAATGATGAAGTCCCAGCGCCAGCAACCT
AGGGGAGGACAGGCAAGAAAAAGAAAGCCTGAGAAGCCACACTTTCCCCTGGCTGCTGAAG
ATGACGTTCGGCACCATCTCACCCAGACTGAGCGCTCCCTCTGCTTGCAATCGATCCAGACG
GCCTTCAATCAAGGCGCAGGAGTTGCATCGCTTTCATCCAGTGGGAAGGTCAGTTTTCAGGT
TGAGTTCATGTTGCCGGTCGCTCATACAGTGCGCCTGATTCGCGTGACTTCCACATCCGCCG
GTCAGGATGCAAATTAA

Figura 12

ATGCAATGGGTTCATTGTGGAGCAAAATCAGCCAATTGTTCGTGGATGCCTTCACTGAATTTC
TTGTTAGTGTGGTTGATATTATCATCTTCCTTGCCATATTGTTTGGGTTCACAGTCGCAGGAT
GGTTACTGGTCTTCCTTCTCAGAGTGGTTTGCTCCGCGCTTCTCCGTTCGCGCTCTGCCATT
CACTCTTCCGAATTATCGAAGGTCCTATGAGGGCTTACTACCTAATTGCAGACCGGATGCCC
CACAATTTGCATTCAAGCACCCCTTGGGTATGTTTTGGCACGTGCGGGTTTCCCACTTAATTG
ATCAAATGGTCTCCCGCCGCATTTACCAGACCATGGAACATTCAGGTCAAGCGGCCTGGAA
GCACGTGGTTAGTGAGGCTACCCTCACAAAGCTGTCAGAGCTCGATATAGTTCTCCATTTCC
AACACCTGGCCGCAGTGGAAGCGGACTCTTGCCACTTCCTTAGTTCACGACTTGTGATGCTG
AAAAATCTAGCCGTTGGCAACGTGAGCATACTTTATAACAACACATTGGACCGCGTCGAGCT
CGTCTTCCCTACGCTAAACACGAGGCCCAAGTTGACCGATTTCAGACAATGGCTTATCAGTG
TGCATGCTTCCATCTTCTCCTCTGTGGCCTCGTCGGTCACCTTGTTTGTGGTACTCTGGCTC
CGAATTCCAGCTCTACGCTATGTTTTTGGTTTCCATTGGCCCACGGCAACACGTCGTTCGAG
CTGACCATCAATTACACCATATGTGAGCCCTGTCCTACTAGGCAAGCGGCTCAACAAAGGCT
CGAACCCGGTCGTAACATGTGGTGTAGGATAGGGAGCACTACATGTGAGGAGCGTGATCAC
GATGAGTTGTCCATGACAATTCCGTCCGGATACGACAACCTCAAACTTGAGGGTTATTATGC
TTGGCTGGCCTTTTTGTCCTTTTCCTATGCAGCTCAATTCCATCCGGAGTTGTTCGGAATAGG
AAACGTGTCGCGCGTCTTTGTGGACAAGCGGCACCAGTTTATTTGCGCTGAGCATGACGGG
CAGAATTCAACCGTACCCATCAGGCACAACATCTCTGCATTGTATGCAGCCTATTACCACCA
CCAAATAGACGGGGGCAATTGGTTCCATCTAGAATGGCTGCGACCATTCTTTTCTTCCTGGC
TGGTGCTCAACATTTCATGGTTTCTGAGGCGTTCGCCTGCAAGCCCTGCTTCTCGACGCACC
TATCAGATATTAAGACTAACACGACCGCGGCTGCCGGTTTCATGGTCCTTCAAAACATCAATT
GTCCCCAAACAGGGGCTAGCGCTTCATTCAGAAAGTCGCCCCAATGTCGTGAGGCCGTTGG
CACCCCTCAGTACATCACGATAACAGCCAACGTGACCGACGAGTCATATTTATACAACGCTG
ATTTGCTGATGCTCTCTGCGTGTCTTTTCTACGCTTCGGAAATGAGTGAGAAGGGCTTCAAA
GTCATCTTTGGGAATGTCTCTGGTGTTGTTTCCGCATGCGTTAATTTCACGGATTACGTGGCT
CATGTAACTCAACATACACAGCAACACCATCTGGTGATCGATCGCGTTCGGTTGCTGCACTT
CCTGACACCGTCTGTGATGAGGTGGGCTACAACCATCGCTTGCTTATTTGCCATTCTTCTGG
CGATATGAGATGTTCTTACAAATTGGGGCGTTCCTTGACTCCTCACTCTTACTTCTGGTGGCT
TTTTTTGCTGTGTACAGGCTTGTCTTGGTCCTTTGCCGATGGCAACGGCAACAGCTCGACAT
ACCAATACATATATAATTTGACAATATGCGAGCTGAATGGGACCACCTGGCTGTCCGACAGA
TTTGGTTGGGCAGTCGAGGCCTTTGTGCTTTACCCGGTGGTGACTCACATTCTCTCACTGGG
ATTTCTAACAACAAGCCATTTTTTTGACGCACTCGGCCTTGGAGCTGTGTCCGTTACCGGCTA
CTATGACGGGCGGTATGTACTCAGTAGCGTGTACGGCACTTGTGCGCTTGCAGCGCTCGTG
TGCTTCGCCATCCGTGCCGCTAAAAATTGCATGGCTTGCCGCTATGCCCGTACCCGATTCAC
AAATTTTATTGTGGACGACCGGGGTGGAGTCCATCGGTGGAAGTCTCCAATAGTGGTGGAG
AAATTAGGCAAAGCCGAAGTTGGTGACGCCCTTGTTACCATCAAGCATGTCGTCATCGAAGG
GGTTAAAGCTCAACCCTTGACAAGGACCTCAGCTGAGCAATGGCAGGCCTAGATGATTTTTG
CCATGATTCCACCGCCGCAGAAAAGCTTGTGCTAGCCTTTAGCATCACATACACACCCATCA

TGATATACGCTCTTAAAGTGTCTCGCGGCCGACTCTTGGGGTTGCTGCACATCTTGATATTC
CTGAACTGTTCTTTCACATTCGGATACATGACATATGTGCATTTTGAATCCACCAACCGCGTC
GCATTTACCATGGGAGCTGTTGTCGCCCTTTTGTGGGGCATTTATAGTTTCATAGAGTCCTG
GAAGTTTATTACTTCTAGATGCAGATTGTGTTGCCTAGGCCGGCGATACATTTTGGCCCCTG
CCCACCACGTAGAAAGTGCTGCAGGTCTCCATCCGATCCCAGCGTCTGGTAACCAAGCATA
CGCTGTGAGGAAGCCCGGACTAACATCAGTGAACGGCACTCTGGTACCAGGACTTCGGGGC
CTCGTGTTGGGCGGCAAACGAGCTGTAAAACGAGGAGTGGTTAACCTCGTCAAGTATGGCC
GGTAAAAACCAGTGCCAGAAGAGAAATAAAAATCCAGCTCCAATGGGGAATGGCCAGTCAGT
CAATCAACTGTGCCAGTTGTTGGGTTCAATGATGAAATCCCAGCGCCAGCGACCCAGGGGT
GGACAGGTTAAAAAGAAGAAGCCTGAGAAGCCGCATTTCCCCTTGGCTGCTGAAGATGACG
TCCGGCACCATCTCACCCAAACCGAGCGCTCCCTTTGCTTGCAATCGATCCAGACGGCTTTT
AATCAAGGCGCAGGAACTGCGTCGCTTTCATCCAGCGGGAAGGTCGGTTTTCAGGTTGAGT
TCATGCTGCCGGTTGCTCATACAGTGCGCCTGATTCGCGTGACTTCCACATCCGCCGGTCA
GGGTGCAAATTAA

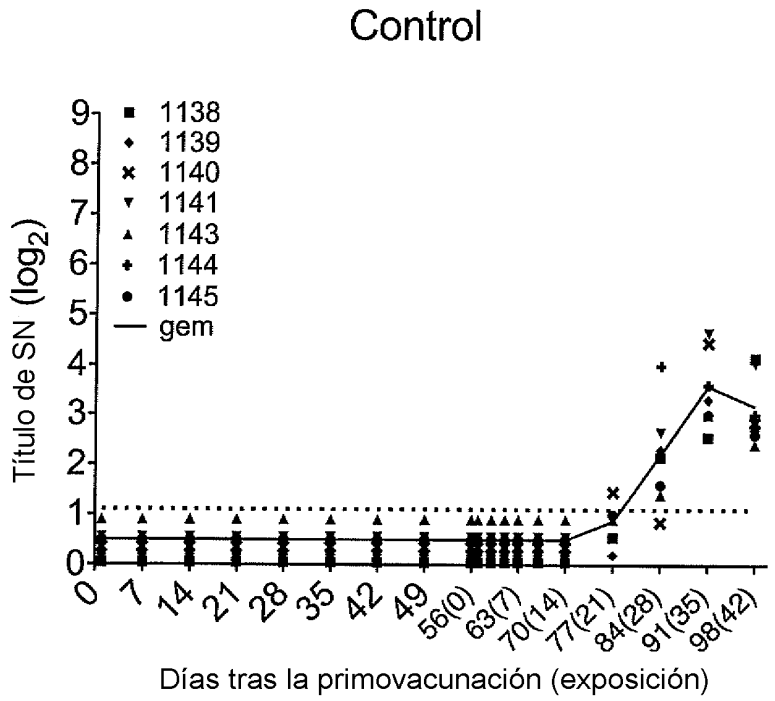
Figura 13

ATGCGATGGGATCACTGTGGAGTAAAATTACCCAGCTGTTTGTTGACGCCTTCACTGAATTC
CTTGTTAGTGTGGTTGACATTGTCATCTTTCTTGCCATACTGTTTGGGTTTACAGTCGCAGGT
TGGTTATTGGTCTTTCTTTTCAGAGTGGTTTGCTCCGCGTTTCTCCGTTCGCGCTCTGCCATT
CACTCTCCCGAATTATCGAAGATCTTATGAAGGTTTGTTGCCcAATTGCAGACCTGATGTCCC
ACAATTCGCAGTTAAACACCCATTAGGCATGtTTTGGCACATGCGGGTCTCCCACCTAATTGA
TGAAATGGTCTCTCGTCGCATTTACCAGACCATGGAACATTCAGGTCAAGCTGCCTGGAAAC
AGGTGGTTAGTGAGGCTACTCTCACGAAATTGTCAAAGCTCGACATAGTCCTCCACTTCCAA
CATCTAGCCGCAGTTGAGGCGGATTCTTGTCGCTTCCTCAGTTCACGGCTTGTGATGTTGAA
AAATCTTGCCGTTGGCAATGTGAGCTTGCAGTACAACACCACTTTGGACCACGTTGAGCTCA
TTTTTCCAACACCAGGCACAAGGCCTAAATTAACCGATTTTAGACAATGGCTCGTCAGTGTGC
ATGCTTCAATTTTTTCTTCTGTAGCCTCATCAATTACCTTGTTCATAGTGCTTTGGCTTCGAGC
CCCAATTCTACGCTATGTTTTTGGTTTCCATTGGCCCACGGCAACACATCATTCGAGCTAACC
ATCAATTACACTATATGTGAGCCTTGTCTTACCAGTCAAGCAGCTAAACAAAGGCTCGAACCC
GGTCGTAACATGTGGTGCAAAATAGGACATACCACATGTGAAGAGCATGACCaTGATGAGTT
ATCAATGACTATCCCACCCGGGTACGACAATCTCAAACTTGAGGGTTATTATGCCTGGTTGG
CTTTCTTGTCCTTCTCTTACGCAGCCCAATTCCACCCGGAGTTGTTCGGAATAGGGAATGTG
TCACGCGTTTTCGTGGACAAACGACACCAGTTCATCTGTGCCGAGCATGACGGACAAAATTC
AACCGTATCCACAGAACACAACATTTCTGCACTGTATGCGGTGTACTACCATCACCAAGTGG
ACGGAGACAATTGGTTCCATCTGGAATGGCTGCGGCCATTCTTTTCCTCTTGGCTGGTGCTC
AACATCTCCTGGTTTCTGAGGCGTTCGCCTGTAAGCCCTGTTTCTCAACGCATTTATCAGATA
TTAAGACCAACACGACTGCGGCTGCCGGTTTCATGGTCCTTCAGAACATCAATTGTCTCCGG
CCCTACAGGACCAACACAACGCAAGGGAAAGTACCATCTCAATGTCGTGAAGCCGTCGGTA
CTCCCCAGTACATTATGATGACGGCTAACGTGACCGACAAGTCATACTTGTATAATGCGGAC
CTGTTGATGCTTTCTGCATGCCTTTTCTACGCCTCGGAAATGAGTGAGAAGGGCTTCAAAGT
CATCTTTGGGAATATCTCTGGCGTTGTCTCCGCTTGTGTCAATTTCACGGATTATGTGGCCCA
TGTGACCCAACATACCCAGCAGCATCATCTGGTGATTGATCACATTCGGTTACTGCATTTTCT
GTCACCGTCTACAATGAGGTGGGCTGCAACCATCGCCTGCTTGTTTGCCATTCTTTTGGCGA
TATGAGATGTTCTCACAAATTGGGGCGTTCCTTGACTCCACACTCTTATTTCTGGTGGCTTTT
TTCTTTGTGTATCGGCTTATCCTGGTCCTTTGCCGATGGCAACGGCAACAGCTCNACATACC
AATACATATATAACTTGACCATATGCGAGCTGAATGGGACCACCTGGTTGTCCGGCCATTTT

GACTGGGCAGTCGAAACATTTGTGCTTTACCCGGTTACCACTCATATTCTTTCACTGGGTTTT
CTCACAACAAGCCATTTTTTTTGACGCGCTCGGTCTCGGCGCCGTGTCCGCTGCAGGATTTGT
TGACAGTCGGTACGTGCTCAGCAGCGTCTACGGCGCTTGTGCTTTCGCGGCGTTCGTATGT
TTTGCCATCCGTGCCACCAAAAATTGCATGGCCTGCCGCTATGCCCGCACCCGGTTCACCAA
CTTTATTGTTGATGACCGGGGGAGAATCCATCGATGGAAATCTCCAATAGTGATAGAAAAATT
GGGCAGAGCCGACGTGGGCGGCGACCTTGTCACCATCAAACACGTTGTCCTCGAAGGAGTT
AAAGCTCAACCTTTGGCAAGGACTTCGGCTGAGCAATGGGAAGCCTAGATGATTTCTGTCAT
GATCCTACCGCCGCACAAAAGCTTGTGCTGGCTTTCAGCATTACATATACACCCATTATGATA
TACGCCCTTAAAGTGTCACGCGGCCGACTCTTGGGACTGTTACACATCTTAATATTCCTGAA
CTGTTCCTTCACGTTCGGATATATGACATATGTGCATTTTGAATCCACTAACCGCGTTGCACT
TACTATGGGAGCCGTTGTCGCTCTTTTGTGGGGCGTCTATAGCTTCATAGAGTCATGGAAGT
TTGTTACTTCCAGATGCAGACTGTGTTGCCTAGGTCGGCGATACATTTTGGCCCCTGCCCAC
CACGTAGAAAGTGCTGCAGGCCTTCATCGGATCCCAGCGTCTGGTAACCAAGCATACGCTG
TGAGAAAGCCCGGACTAACATCAGTAAACGGCACTCTAGTACCAGGGCTTCGAGGCCTCGT
GTTGGGCGGCAAACGAGCTGTTAAACGAGGAGTGGTTAACCTCGTCAAGTAATGGCCGGTAG
GAACCGGAGCCAGAAGAAAAAGAAAAATCCAGCTCCAATGGGGAATGACCAACCAGTCAAT
CAACTGTGCCAGCTGCTGGGCGCAATGATGAAGTCCCGGCGCCAGCAACCTAGGGGAGGA
CAGGCTAAAAAGAGAAAGCCTGAGAAGCCACATTTTCCCCTAGCTGCTGAAGATGACGTTCG
GCACCATCTCACCCAGACTGAGCGCTCCCTCTGCTTGCAATCGATCCAAACGGCTTTTAATC
AAGGCGCAGGAGTTGCGTCGCTTTCATCCAGCGGGAAGGTCAGTTTTCAGGTTGAGTTCAT
GCTGCCGGTCGCTCATACAGTGCGCCTGATTCGCGTGACTTCCACATCCGCCAGTCAGGAT
GCAAATTAAT

Figura 14

A


Control
Título de SN (log_2)
1138
1139
1140
1141
1143
1144
1145
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

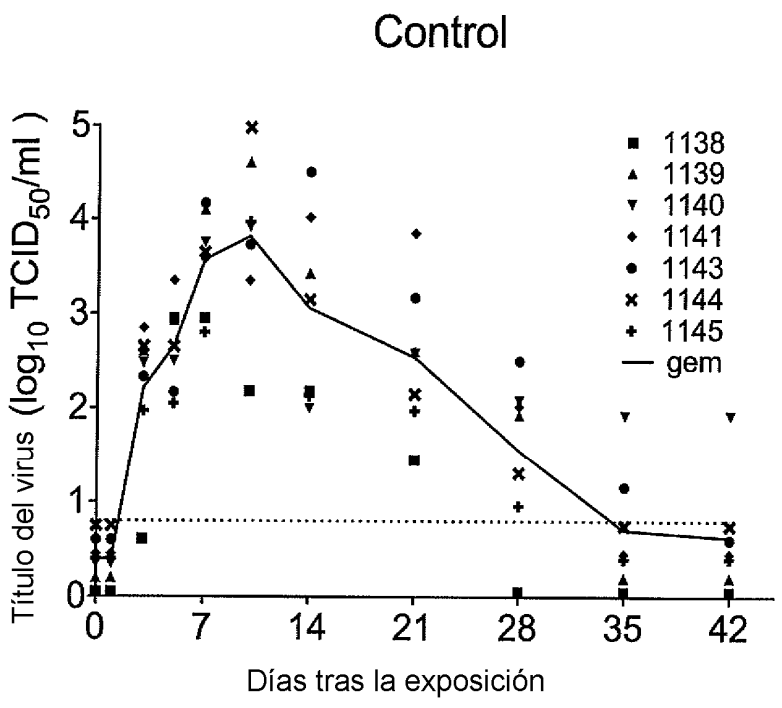
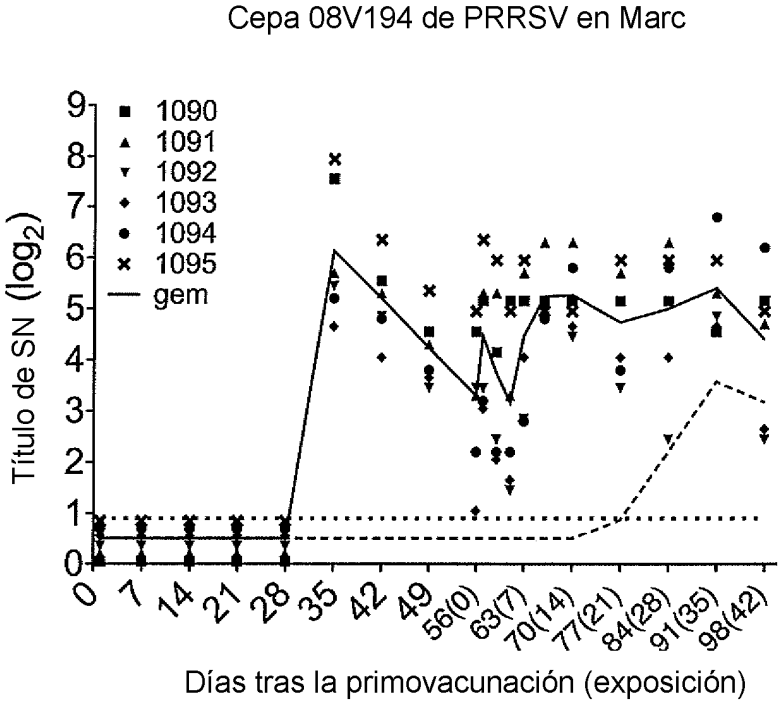

Control
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1138
1139
1140
1141
1143
1144
1145
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 15

A


Cepa 08V194 de PRRSV en Marc
Título de SN (log_2)
1090
1091
1092
1093
1094
1095
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

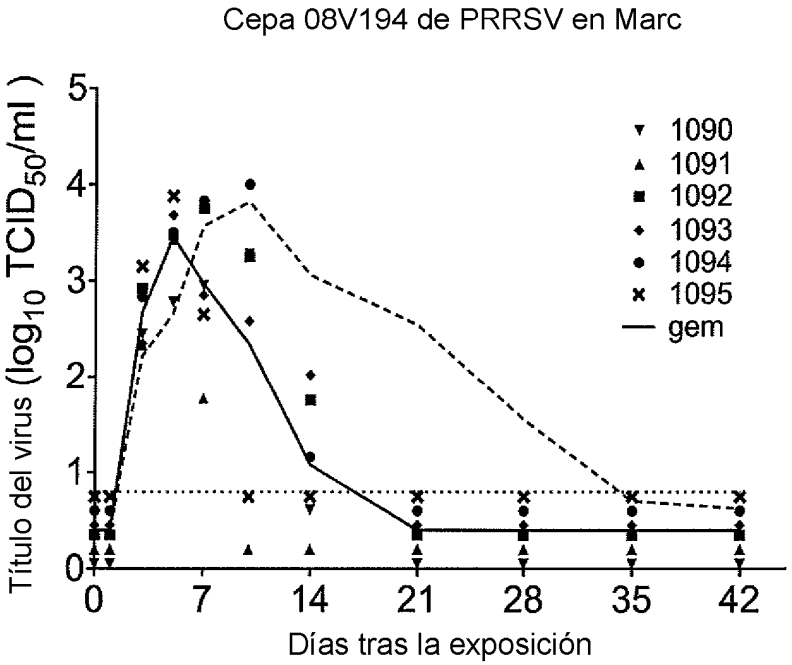
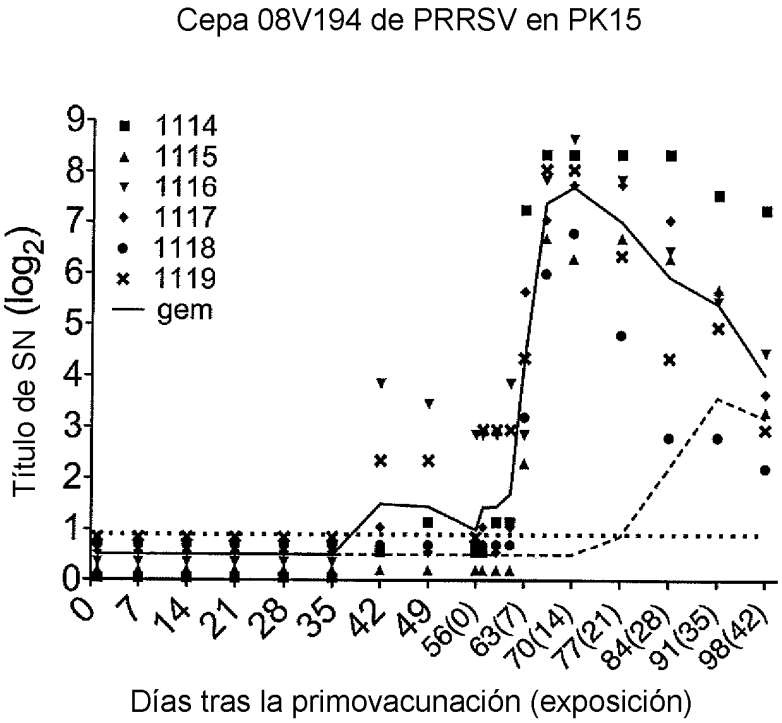

Cepa 08V194 de PRRSV en Marc
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1090
1091
1092
1093
1094
1095
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 16

A


Cepa 08V194 de PRRSV en PK15
Título de SN (log_2)
1114
1115
1116
1117
1118
1119
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

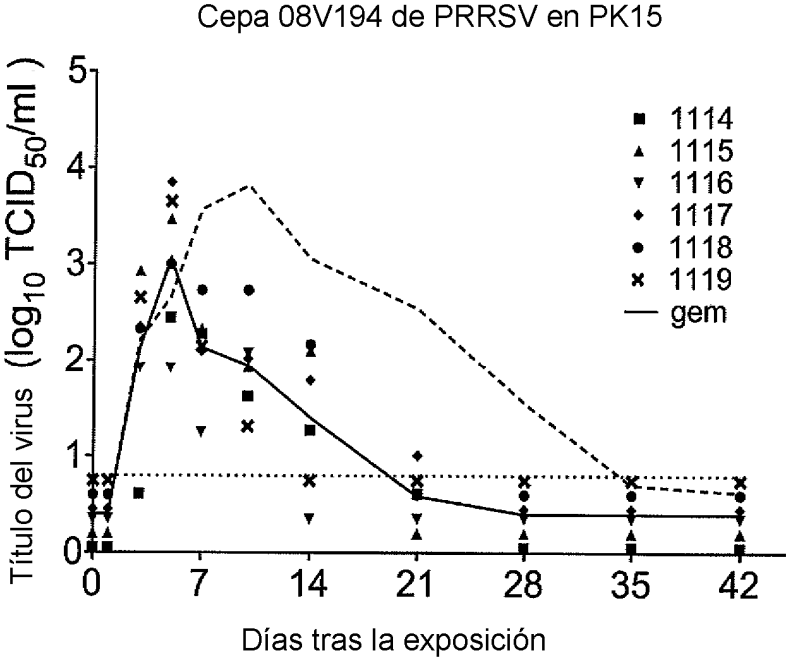
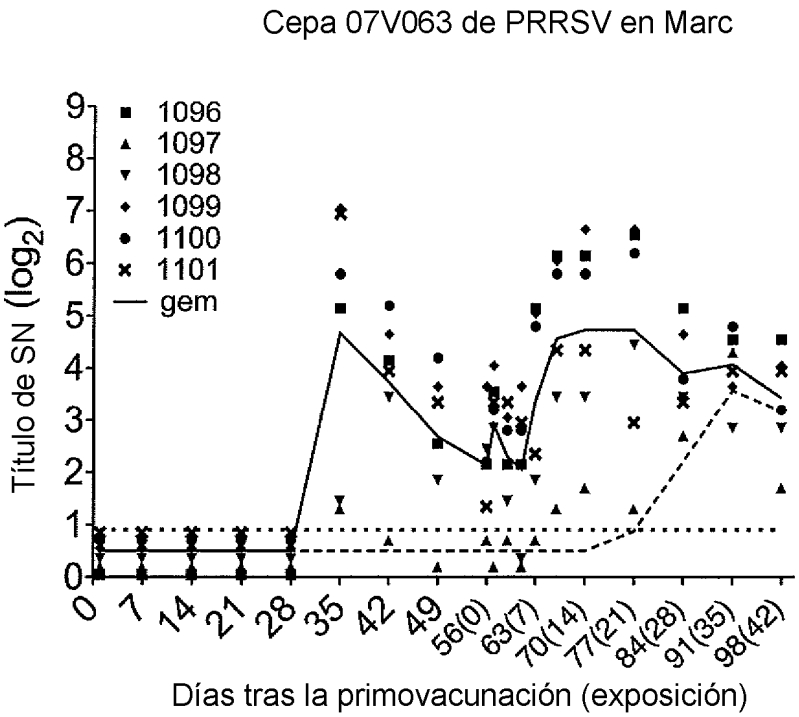

Cepa 08V194 de PRRSV en PK15
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1114
1115
1116
1117
1118
1119
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 17

A


Cepa 07V063 de PRRSV en Marc
Título de SN (log_2)
1096
1097
1098
1099
1100
1101
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

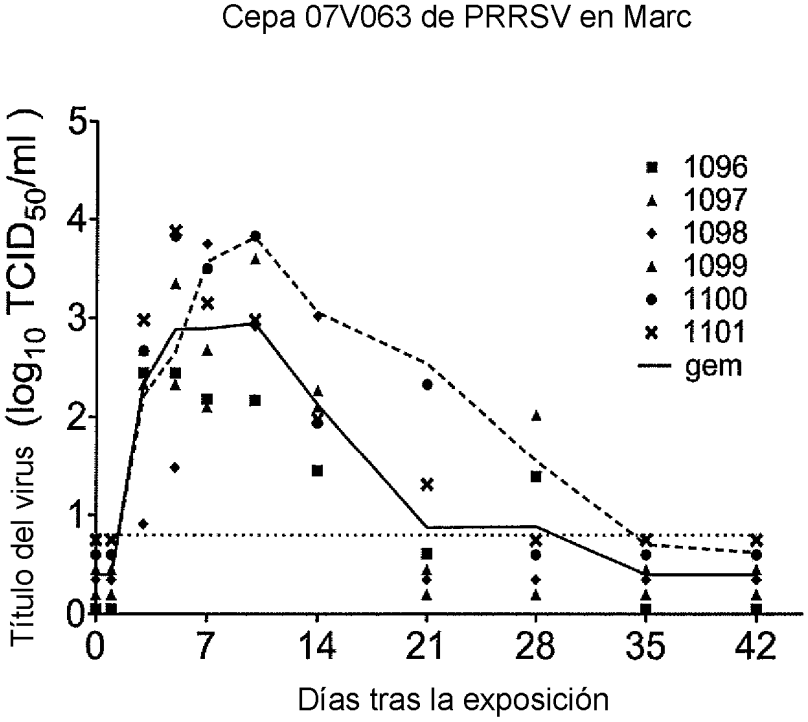
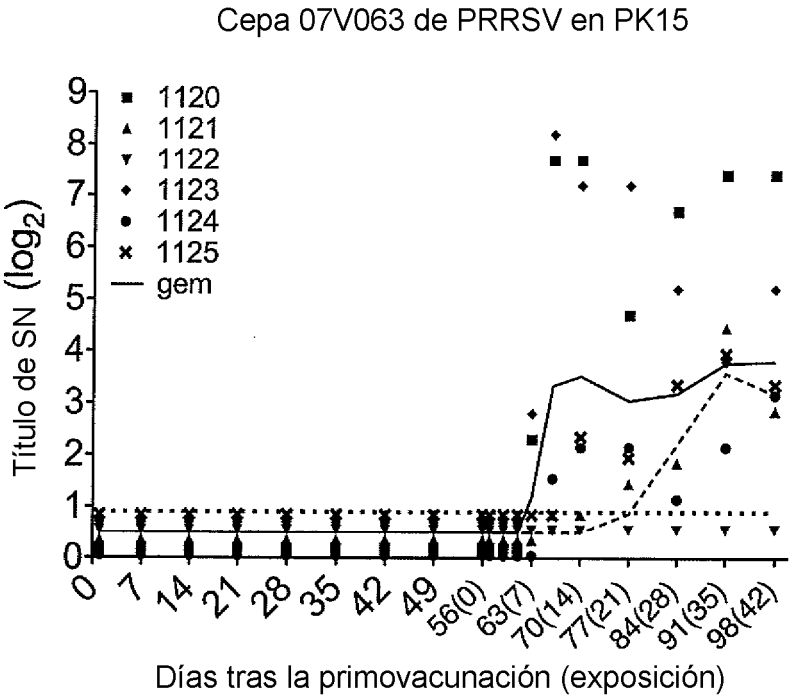

Cepa 07V063 de PRRSV en Marc
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1096
1097
1098
1099
1100
1101
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 18

A


Cepa 07V063 de PRRSV en PK15
Título de SN (log_2)
1120
1121
1122
1123
1124
1125
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

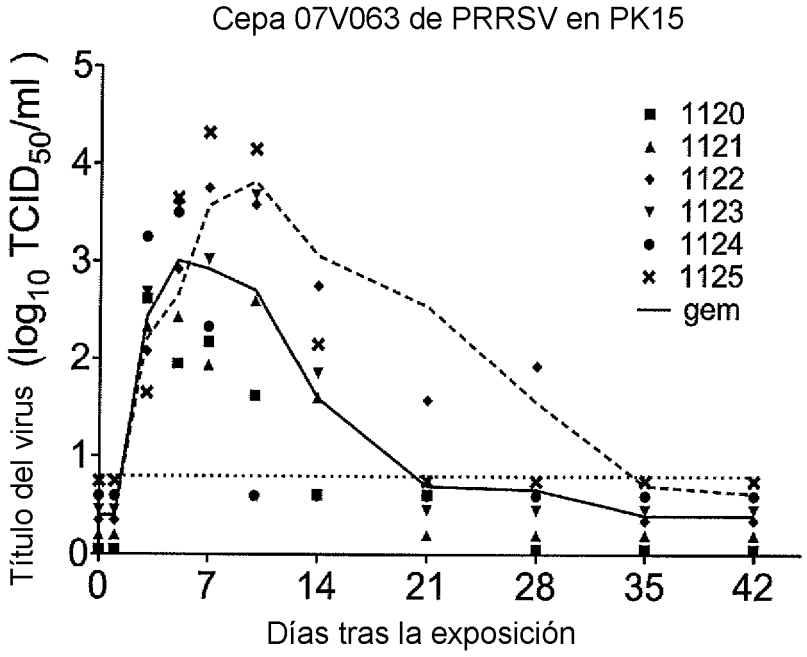
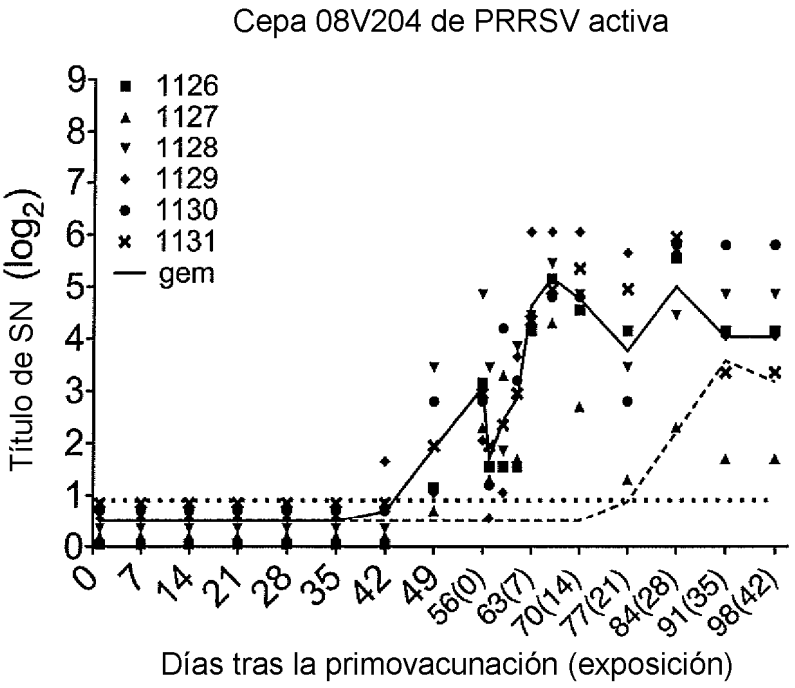

Cepa 07V063 de PRRSV en PK15
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1120
1121
1122
1123
1124
1125
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 19

A


Cepa 08V204 de PRRSV activa
Título de SN (log_2)
1126
1127
1128
1129
1130
1131
gem
0 7 14 21 28 35 42 49 56(0) 63(7) 70(14) 77(21) 84(28) 91(35) 98(42)
Días tras la primovacunación (exposición)

B

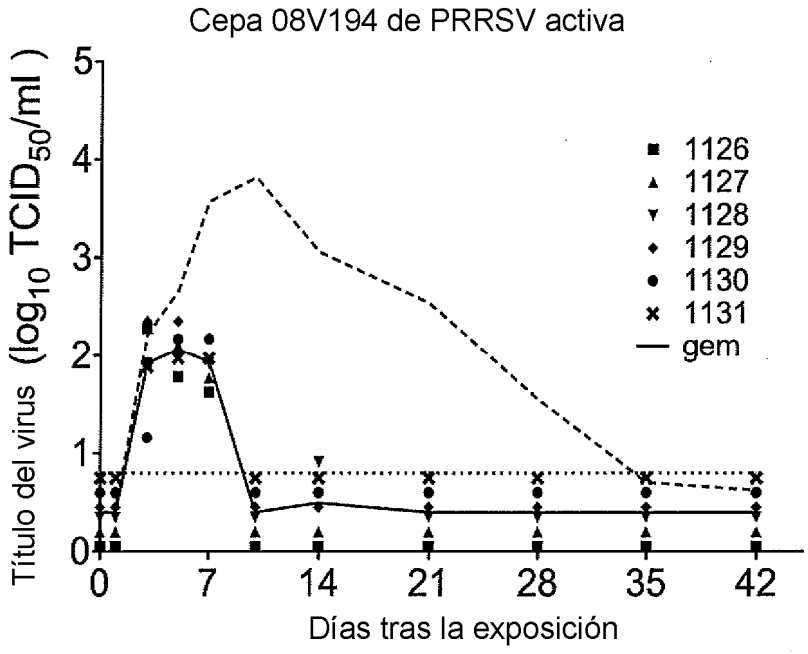

Cepa 08V194 de PRRSV activa
Título del virus (log_{10} $TCID_{50}$/ml)
1126
1127
1128
1129
1130
1131
gem
0 7 14 21 28 35 42
Días tras la exposición

Figura 20

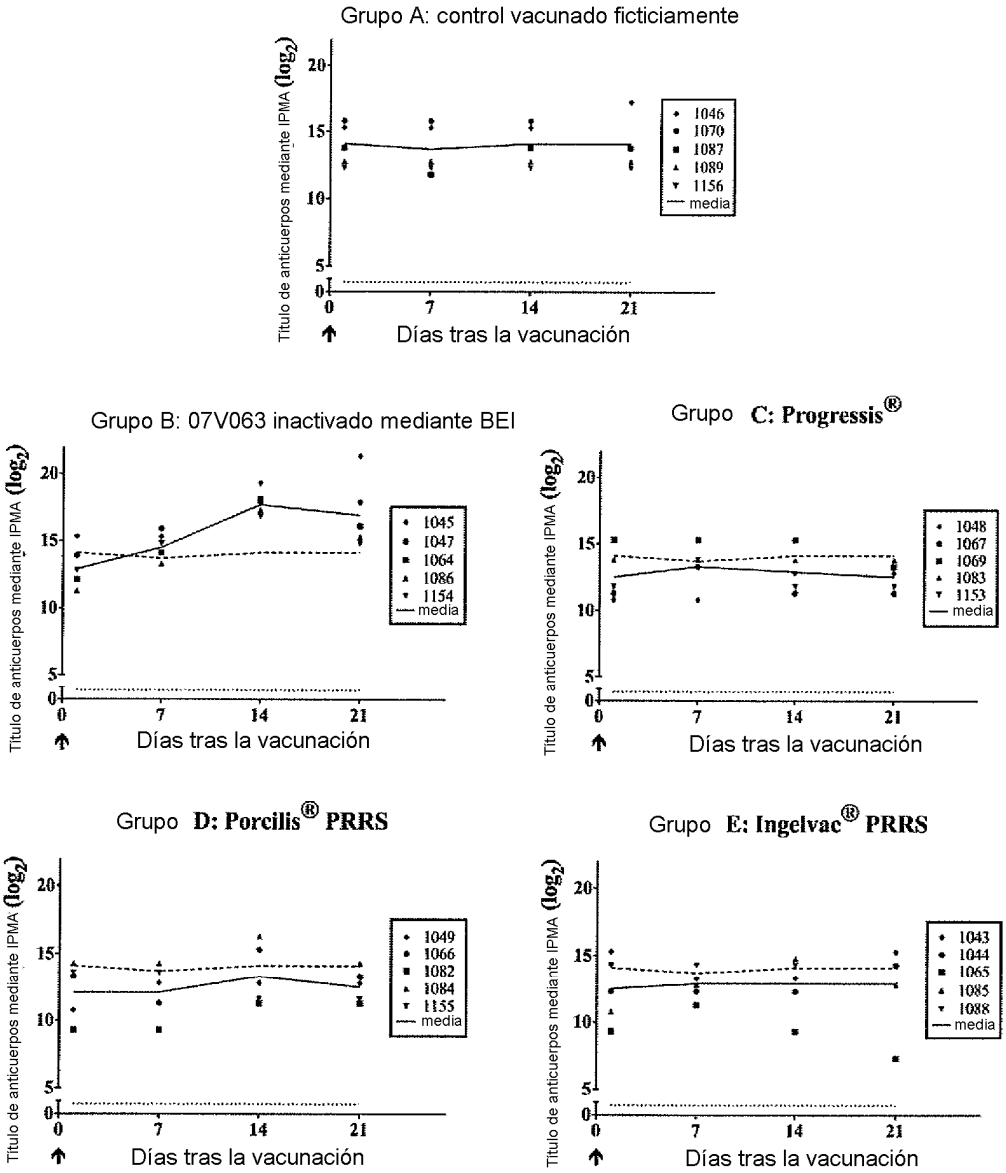

Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante IPMA (log2)
Días tras la vacunación
1046
1070
1087
1089
1156
media
Grupo B: 07V063 inactivado mediante BEI
1045
1047
1064
1086
1154
Grupo C: Progressis®
1048
1067
1069
1083
1153
Grupo D: Porcilis® PRRS
1049
1066
1082
1084
1155
Grupo E: Ingelvac® PRRS
1043
1044
1065
1085
1088

Figura 21

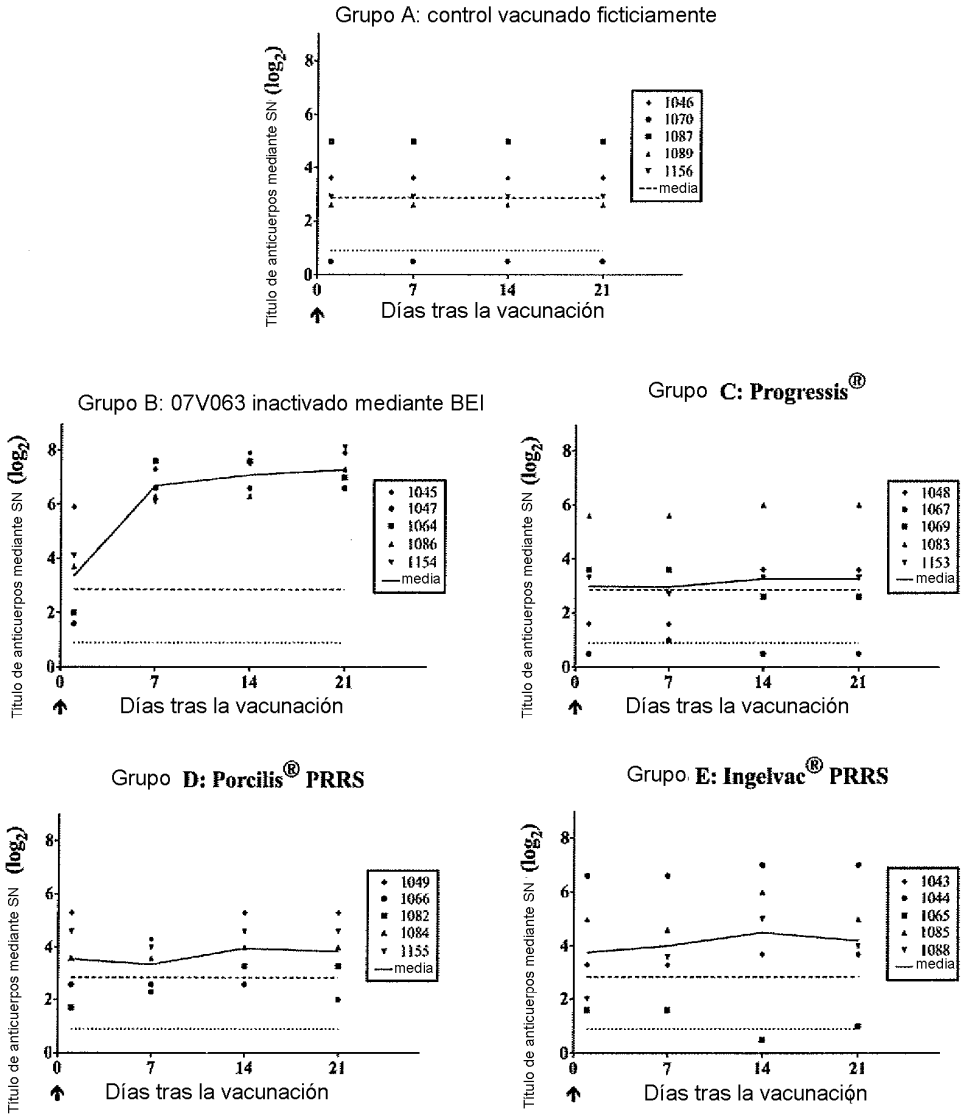

Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante SN (log2)
Días tras la vacunación
1046
1070
1087
1089
1156
media
Grupo B: 07V063 inactivado mediante BEI
1045
1047
1064
1086
1154
Grupo C: Progressis®
1048
1067
1069
1083
1153
Grupo D: Porcilis® PRRS
1049
1066
1082
1084
1155
Grupo E: Ingelvac® PRRS
1043
1044
1065
1085
1088

Figura 22

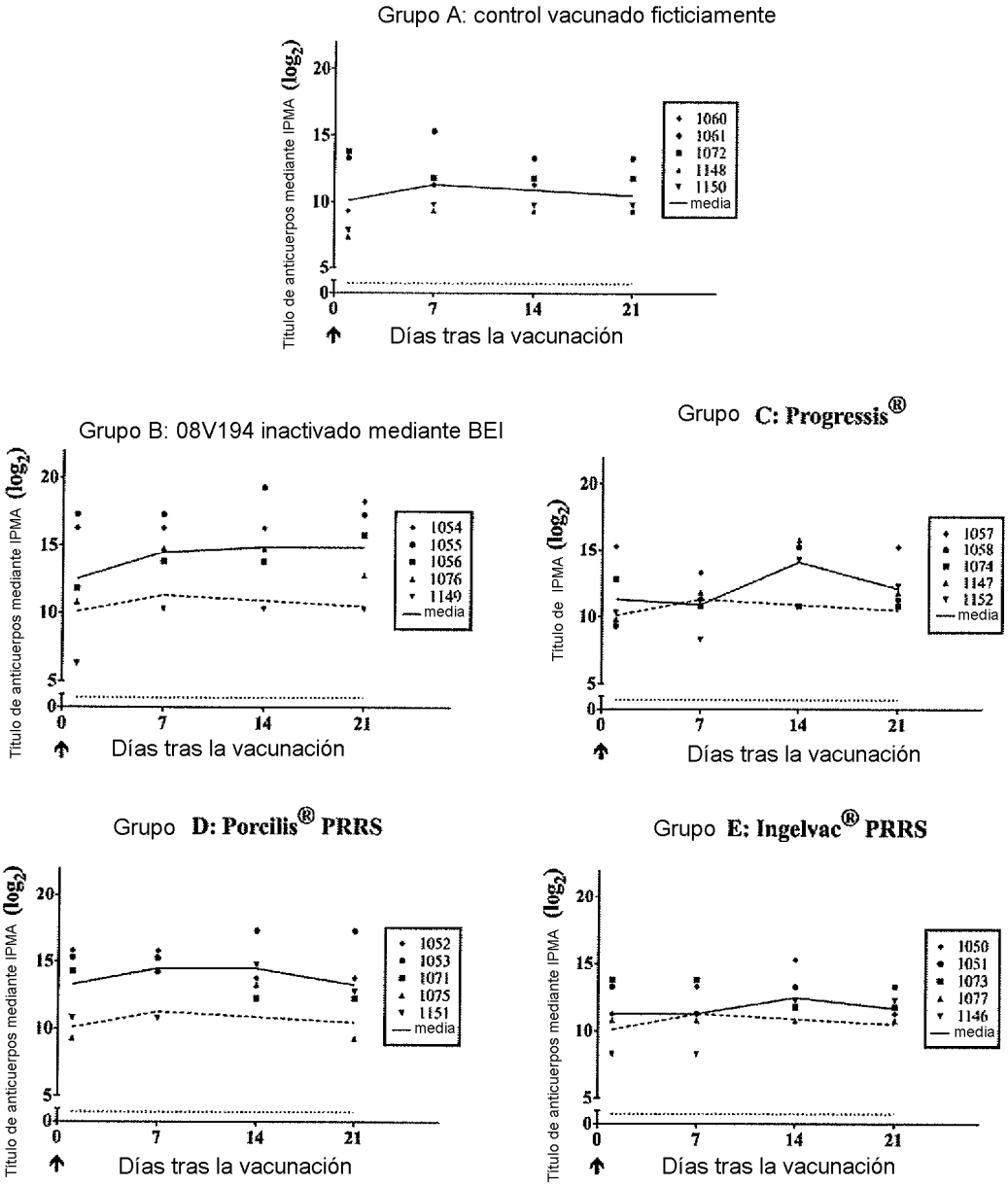

Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante IPMA (log2)
Días tras la vacunación
1060
1061
1072
1148
1150
media
Grupo B: 08V194 inactivado mediante BEI
1054
1055
1056
1076
1149
Grupo C: Progressis®
1057
1058
1074
1147
1152
Grupo D: Porcilis® PRRS
1052
1053
1071
1075
1151
Grupo E: Ingelvac® PRRS
1050
1051
1073
1077
1146

Figura 23

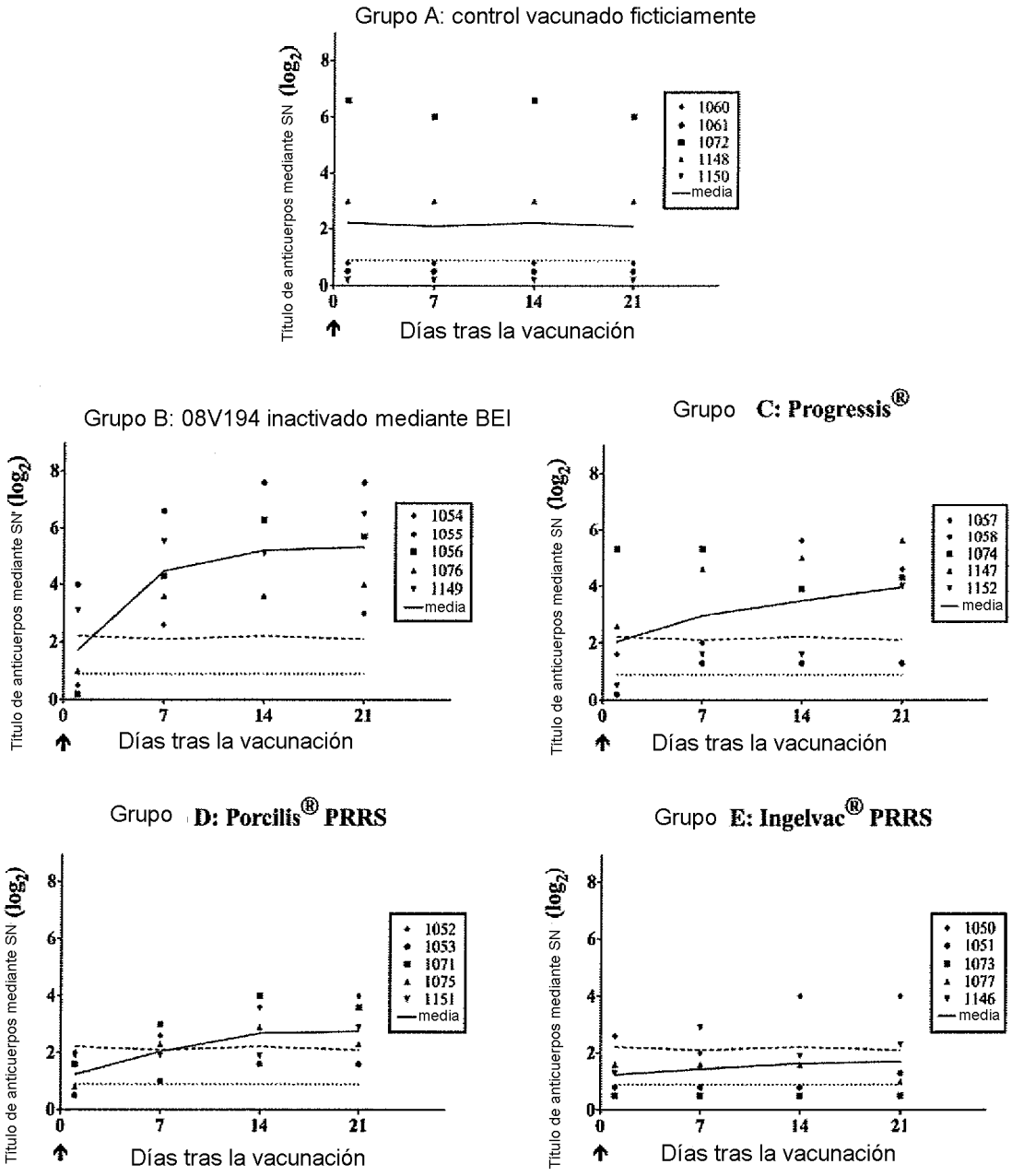

Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante SN (log2)
Días tras la vacunación
1060
1061
1072
1148
1150
media
Grupo B: 08V194 inactivado mediante BEI
1054
1055
1056
1076
1149
Grupo C: Progressis®
1057
1058
1074
1147
1152
Grupo D: Porcilis® PRRS
1052
1053
1071
1075
1151
Grupo E: Ingelvac® PRRS
1050
1051
1073
1077
1146

Figura 24

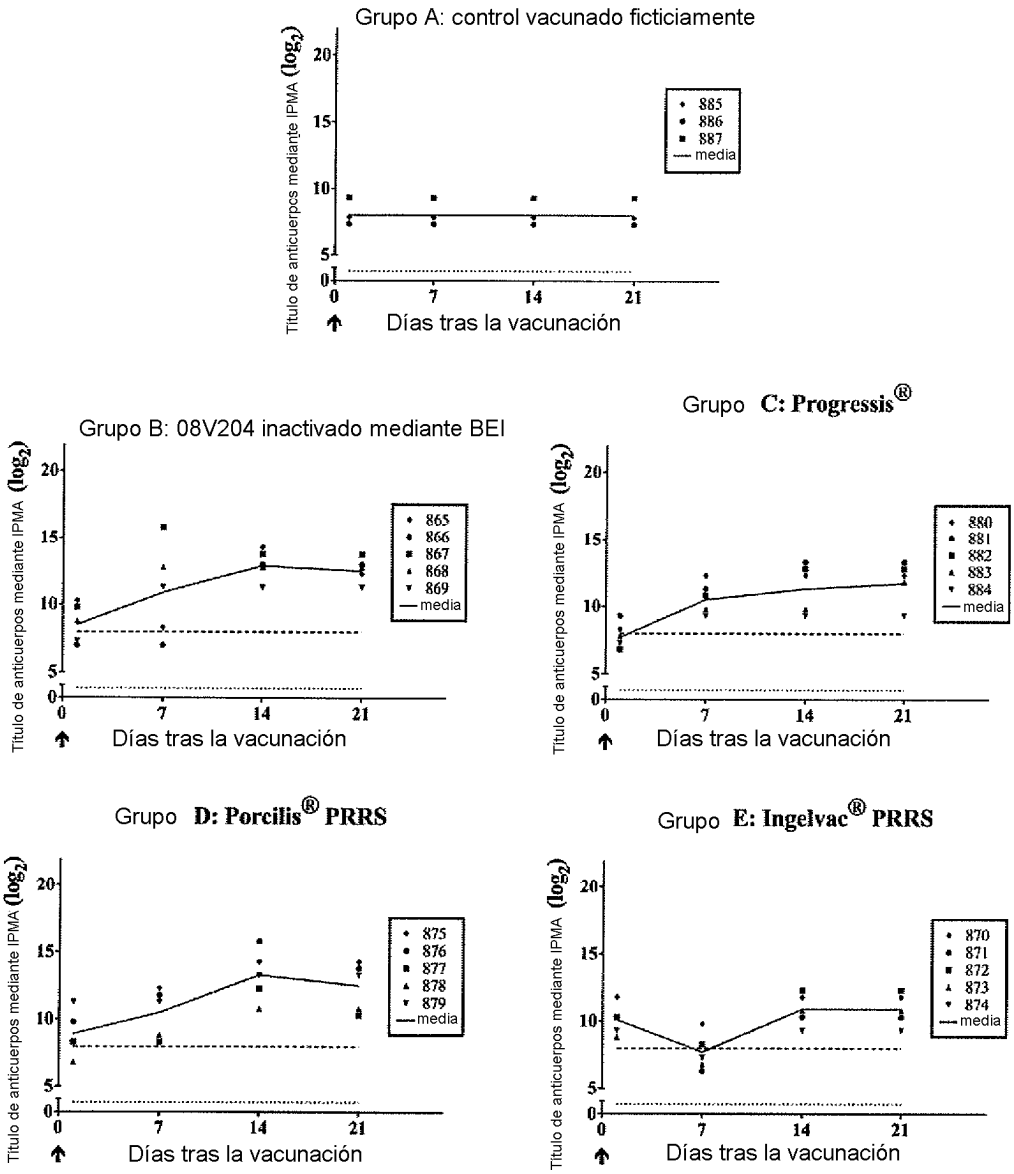
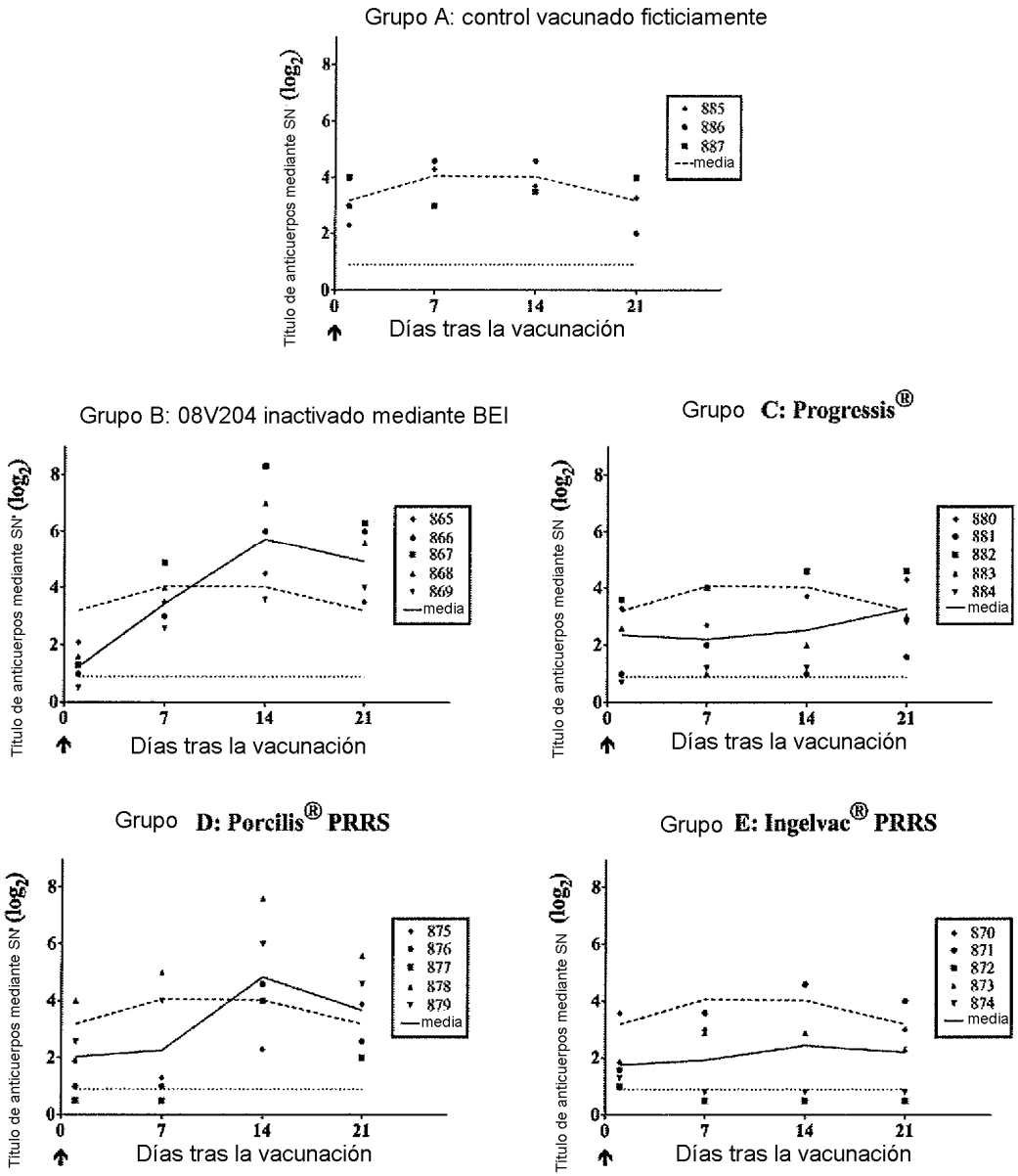

Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante IPMA (log2)
Días tras la vacunación
885
886
887
media
Grupo B: 08V204 inactivado mediante BEI
865
866
867
868
869
Grupo C: Progressis®
880
881
882
883
884
Grupo D: Porcilis® PRRS
875
876
877
878
879
Grupo E: Ingelvac® PRRS
870
871
872
873
874

Figura 25


Grupo A: control vacunado ficticiamente
Título de anticuerpos mediante SN (log2)
Días tras la vacunación
885
886
887
media
Grupo B: 08V204 inactivado mediante BEI
865
866
867
868
869
Grupo C: Progressis®
880
881
882
883
884
Grupo D: Porcilis® PRRS
875
876
877
878
879
Grupo E: Ingelvac® PRRS
870
871
872
873
874