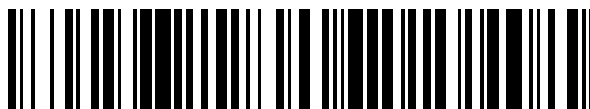


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 599**

51 Int. Cl.:

A61K 39/12 (2006.01)

C12N 7/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 14/01 (2006.01)

C12N 15/866 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.01.2008 E 15194521 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3017829**

54 Título: **Tratamiento de PRDC en cerdos**

30 Prioridad:

03.01.2007 EP 07100054

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

13.07.2020

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM ANIMAL HEALTH USA
INC. (100.0%)
3239 Satellite Blvd
Duluth, GA 30096, US**

72 Inventor/es:

**FACHINGER, VICKY;
ELBERS, KNUT;
KIXMOELLER, MARION;
ORVEILLON, FRANCOIS-XAVIER;
FREIIN VON RICHTHOFEN, ISABELLE y
LISCHEWSKI, AXEL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 773 599 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de PRDC en cerdos

Listado de secuencias

Esta solicitud contiene un listado de secuencias en formato papel y en formato legible por ordenador. El listado de secuencias es idéntico al incorporado en el documento WO06/072065.

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso de una composición inmunogénica que comprende un antígeno de circovirus porcino de tipo 2 (PCV2) para la prevención y el tratamiento del complejo respiratorio porcino ("porcine respiratory disease complex", PRDC) en animales, preferiblemente en cerdos.

Descripción de la técnica anterior

El circovirus porcino de tipo 2 (PCV2) es un virus de ADN, sin envuelta, icosaédrico, pequeño (17 - 22 nm de diámetro) que contiene un genoma circular monocatenario. El PCV2 comparte una identidad de secuencia de aproximadamente 80% con el circovirus porcino de tipo 1 (PCV1). Sin embargo, a diferencia del PCV1, que, en general, es no virulento, la infección de cerdos con PCV2 se ha asociado, en fechas recientes, con una serie de síndromes asociados a enfermedad que se han denominado, de forma colectiva, enfermedades por circovirus porcino (PCVD) (también conocidas como enfermedades asociadas al circovirus porcino (PCVAD)) (Allan et al., 2006, Congreso IPVS). El síndrome multisistémico de adelgazamiento postdestete (PMWS) se considera, en general, la principal manifestación clínica del PCVD (Harding et al., 1997, Swine Health Prod, 5: 201-203; Kennedy et al., 2000, J. Comp. Pathol., 122: 9-24). El PMWS afecta a cerdos entre 5-18 semanas de edad. Clínicamente, el PMWS se caracteriza por adelgazamiento, palidez de la piel, desarrollo poco vigoroso, dificultad respiratoria, diarrea, icterus e ictericia. En algunos cerdos afectados, resultará evidente una combinación de todos los síntomas, mientras que otros cerdos afectados solamente tendrán uno o dos de estos síntomas. (Muirhead, 2002, Vet. Rec., 150: 456). Durante la necropsia, también aparecen lesiones microscópicas y macroscópicas en múltiples tejidos y órganos, siendo los órganos linfoides el sitio más común para las lesiones (Allan y Ellis, 2000, J. Vet. Diagn. Invest., 12: 3-14). Se ha observado una correlación fuerte entre la cantidad de ácidos nucleicos o antígenos de PCV2 y la gravedad de las lesiones linfoides microscópicas. Las tasas de mortalidad para cerdos infectados por PCV2 pueden aproximarse al 80%.

El grado de implicación del PCV2 en enfermedades porcinas distintas de PMWS no se comprende bien en la actualidad (Chae, Veterinary J., 2005, 169: 326-336). Existen varios trastornos potencialmente relacionados en la bibliografía, que incluyen el complejo respiratorio porcino (PRDC), el síndrome de dermatopatía y nefropatía porcino (PDNS), la insuficiencia reproductora, la enteritis granulomatosa y, potencialmente, los temblores congénitos (CT-AII) y la miocarditis perinatal (Chae, Veterinary J., 2005, 169: 326-336). Entre estos, se considera que el PRDC es el que tiene mayor impacto económico en Europa debido a su alta prevalencia general, su alta tasa de morbilidad (30-70% en granjas afectadas) y tasa de mortalidad (4-6% en granjas afectadas) (Kim et al., Veterinary J., 2003, 166: 251-256).

La neumonía en cerdos que padecen PRDC es debida a una combinación de agentes víricos y bacterianos, tales como PRRSV, virus de la gripe porcina (SIV), *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida*. La co-infección de PCV2 con patógenos bacterianos o micoplásmicos adicionales es frecuentemente diagnosticada en PRDC (Chae, Veterinary J., 2005; 169: 326-336). En un estudio retrospectivo para determinar la asociación y prevalencia de PRDC con PCV2 y otros patógenos coexistentes en Corea entre 105 cerdos de Corea con PRDC, 85 dieron positivo en PCV2, 66 dieron positivo en PRRSV, 60 dieron positivo en parvovirus porcino, y 14 dieron positivo en SIV (Kim et al., Veterinary J., 2003; 166: 251-256). Aunque la etiología implica a múltiples patógenos y varía de una granja a otra, el PRRSV y *Mycoplasma hyopneumoniae* son los dos patógenos más comunes aislados a partir de cerdos positivos en PCV2 que presentan PRDC (Kim et al., Veterinary J., 2003, 166: 251-256). Todavía se desconoce si PCV2 desempeña algún papel en la causa del PRDC o en la manifestación, gravedad o prolongación de los signos clínicos de PRDC.

Comparado con otros patógenos víricos, el PCV2 fue diagnosticado sistemáticamente en lesiones pulmonares de cerdos que padecen PRDC. Estudios prospectivos han documentado que la neumonía, y a menudo enfermedades sistémicas, que son el resultado de la coinfección por PCV2 y PRRSV, son más graves que las asociadas con la infección de cualquiera de los dos agentes por separado. Por tanto, puede suponerse que existe un sinergismo aparente entre PCV2 y otros patógenos, que se ha observado en casos de enfermedad respiratoria en el campo (Ellis et al., Veterinary Microbiol., 2004, 98: 159-163). Sin embargo, aún no se sabe si PCV2, si se encuentra presente en cerdos que padecen PRDC, tiene alguna influencia sobre los signos clínicos de PRDC en cerdos. Debido a la ubicuidad de PCV2, con hasta 100% de animales seropositivos al final del engorde, puede ser posible, de forma similar, que el PCV2 no tenga ninguna influencia sobre la expresión de la enfermedad del PRDC, sino que sólo sea un agente coinfectante no relacionado.

Mientras que el PMWS afecta principalmente a cerdos jóvenes, de forma típica entre 5 y 12 semanas de edad, el PRDC se observa predominantemente en cerdos desde la fase de engorde a la de acabado, de forma típica en torno a las 16 a 22 semanas de edad. La morbilidad varía de 30-70%, con una mortalidad media de 4-6% (Kim et al., Veterinary J., 2003, 166: 251-256). Los signos clínicos del PRDC son tos prolongada y disnea inusualmente graves y que no responden a terapia con antibióticos, crecimiento lento, disminución de la eficacia de la alimentación, letargia, anorexia, y un marcado aumento de la mortalidad en la fase media a tardía del engorde.

Una característica clave de las lesiones microscópicas del PRDC es la neumonía broncointersticial con fibrosis peribronquial y peribronquiolar. Los septos alveolares están marcadamente engrosados por infiltraciones de macrófagos (Chae, Veterinary J., 2005, 169: 326-336).

Las estrategias para tratar las infecciones por PCV2 basadas en una vacuna de ADN se describen en la patente de EEUU nº 6.703.023. En el documento WO 03/049703 se describe la producción de una vacuna quimérica viva, que comprende una cadena principal de PCV-1, en la que un gen inmunogénico de una cepa patógena de PCV2 sustituye a un gen de la cadena principal de PCV-1. El documento WO99/18214 ha proporcionado varias cepas de PCV2 y procedimientos para la preparación de una vacuna de PCV2 muerta. Sin embargo no se han dado a conocer datos de eficacia. Se ha dado a conocer una vacuna de subunidades basada en ORF-2 eficaz en el documento WO06/072065. Cualquiera de estas vacunas se destina al uso para la vacunación/tratamiento de cerdos de más de 3 semanas de vida. Ninguna de estas vacunas se ha descrito para la profilaxis o tratamiento de cerdos que padecen PRDC, en particular en cerdos PCV2 positivos, que padecen PRDC.

Además, no se ha descrito que estas vacunas confieran inmunidad protectora contra la infección por PCV2, ni que reduzcan, disminuyan la gravedad, o curen ninguno de los síntomas clínicos asociados con ésta, en cerdos que ya tienen anticuerpos anti-PCV2, preferiblemente que tienen anticuerpos anti-PC2 maternos.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Diferencia en la ganancia de peso corporal por grupo semanal.

Figura 2: Desarrollo de la diferencia en el peso corporal (IVP-CP) y carga vírica media (log10) a lo largo del estudio.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona:

[1] Uso de una composición inmunogénica que consiste en el ORF-2 de PCV2 expresado en baculovirus recombinante y uno o más vehículos veterinariamente aceptables para la preparación de una medicina para la profilaxis de PRDC causada por PCV2 y de una infección con *Mycoplasma hyorhinis* en un animal.

[2] Uso según [1], en donde el uno o más vehículos veterinariamente aceptables se seleccionan del grupo que consiste en disolventes, medios de dispersión, revestimientos, coadyuvantes, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, y agentes que retrasan la adsorción.

[3] Uso de acuerdo con [1] o [2], en donde el PTDC además está asociado con, y/o causado por, una infección con PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.

[4] Uso según una cualquiera de [1] a [3], en donde el animal pertenece a una piara que es positiva en PCV2 y en uno o más patógenos adicionales seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.

[5] Uso según cualquiera de [1] a [4], en donde el animal pertenece a una granja que es positiva en PCV2 y en uno o más patógenos adicionales seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.

[6] Uso según una cualquiera de [1] a [5], en donde el animal es porcino.

[7] Una composición inmunogénica que consiste en ORF-2 de PCV-2 expresado en baculovirus recombinante y uno o más vehículos veterinariamente aceptables para uso en un método para la profilaxis de PRDC causado por PCV2 y una infección con *Mycoplasma hyorhinis* en un animal.

El PRDC se caracteriza por múltiples signos clínicos, incluyendo disnea y tos prolongada inusualmente graves, que no responden a una terapia con antibióticos, crecimiento lento, menor eficacia de alimentación, letargia, anorexia, y marcado aumento de la mortalidad en la fase media a tardía del engorde. Estos signos clínicos están asociados con un gran número de diversos patógenos. La implicación y, si existe, el grado de implicación del PCV2 en el PRDC no se conocía hasta la fecha. De forma sorprendente, se ha descubierto que, entre diversos patógenos, el PCV2 también desempeña un papel importante en la manifestación, gravedad y prolongación de los signos clínicos del PRDC. Así, entre otros, el PCV2 es uno de los agentes causales del PRDC en cerdos.

En general, el impacto de un agente causal sobre una enfermedad de múltiples causas (= enfermedad multifactorial), como PRDC, no puede predecirse. Un agente causal puede no tener efecto, pero también puede desplazar, reprimir, reemplazar, superponer o reforzar el efecto de los otros en la manifestación, gravedad y prolongación de los signos clínicos de una enfermedad multifactorial, como PRDC. Por ejemplo, la reducción o eliminación de un agente causal de una enfermedad multifactorial, como PRDC, puede no tener efecto sobre el aspecto clínico de esta enfermedad si al menos otro agente causal está presente, pero también puede reducir significativamente los síntomas clínicos de esta enfermedad, incluso en presencia de cualquier otro agente causal. Cuanto mayor sea el número de agentes causales implicados, menor es la probabilidad de que la reducción o eliminación de sólo un agente causal tenga una influencia positiva en la duración de la manifestación, gravedad o prolongación de la enfermedad. Ahora se ha descubierto, de forma sorprendente, que la manifestación, gravedad o prolongación de los signos clínicos de PRDC en cerdos puede disminuirse o reducirse mediante la profilaxis o tratamiento con un antígeno de PCV2 de animales amenazados o afectados. En particular, la gravedad y prolongación de los signos clínicos del PRDC, o asociados con éste, pueden disminuirse y reducirse en gran medida en cerdos infectados por PCV2 en combinación con patógenos conocidos por causar o estar asociados con PRDC en cerdos, tales como PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Pasteurella multocida*. En otras palabras, la profilaxis y tratamiento de cerdos que padecen PRDC con un antígeno de PCV2 tiene un impacto positivo sobre la salud global de los cerdos, la ganancia de peso durante el engorde, y la mortalidad en la fase media a tardía del engorde de cerdos, en particular puesto que se sabe que estos factores (salud global, ganancia de peso, mortalidad) se ven negativamente afectados por PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Pasteurella multocida*.

Por tanto, según un aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento.

Los signos clínicos asociados con el PRDC se seleccionan del grupo que consiste en tos y disnea, crecimiento lento, menor eficacia de alimentación, letargia, anorexia, y/o un marcado aumento de la mortalidad en la fase media a tardía del engorde. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para la profilaxis y tratamiento de tos y disnea, crecimiento lento, menor eficacia de alimentación, letargia, anorexia, y/o un marcado aumento de la mortalidad asociados con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento. Preferiblemente, la tos y la disnea no responden a un terapia con antibióticos.

El término "antígeno", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una secuencia de aminoácidos que incita una respuesta inmunológica en un hospedante. Un antígeno, tal como se utiliza en la presente, incluye la secuencia de longitud completa de cualquier proteína de PCV2, sus análogos o sus fragmentos inmunogénicos. La expresión "fragmento inmunogénico" se refiere a un fragmento de una proteína que incluye uno o más epítomos y, así, incita la respuesta inmunológica en un hospedante. Los fragmentos de este tipo se pueden identificar utilizando cualquier técnica de cartografiado de epítomos, bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996), Humana Press, Totowa, Nueva Jersey. Por ejemplo, los epítomos lineales se pueden determinar, por ejemplo, sintetizando al mismo tiempo grandes cantidades de péptidos sobre soportes sólidos, correspondiendo los péptidos a partes de la molécula de proteína, y haciendo reaccionar los péptidos con anticuerpos, mientras los péptidos siguen estando fijados a los soportes. Estas técnicas son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. nº 4.708.871; Geysen et al. (1984), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:3998-4002; Geysen et al. (1986), Molec. Immunol., 23:709-715. De manera similar, los epítomos conformacionales se identifican fácilmente determinando la conformación espacial de aminoácidos mediante, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear bidimensional. Véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols, *supra*.

También se incluyen dentro de la definición antígenos sintéticos, por ejemplo poliepítomos, epítomos flanqueantes y otros antígenos recombinantes o derivados de forma sintética. Véase, por ejemplo, Bergmann et al. (1993), Eur. J. Immunol., 23:2777-2781; Bergmann et al. (1996), J. Immunol., 157:3242-3249; Suhrbier, A. (1997), Immunol. and Cell Biol., 75:402-408; Gardner et al. (1998), 12ª Conferencia Mundial del SIDA, Ginebra, Suiza, 28 de junio - 3 de julio de 1998.

Una "respuesta inmunológica" significa, pero no se limita al desarrollo en un hospedante de una respuesta inmunológica celular y/o mediada por anticuerpos a un antígeno, composición inmunológica o vacuna de interés. Habitualmente, una "respuesta inmunológica" incluye, pero no se limita a uno o más de los siguientes efectos: la producción o activación de anticuerpos, células B, células T auxiliares, células T supresoras y/o células T citotóxicas, dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos incluidos en la composición o vacuna de interés. Preferiblemente, el hospedante exhibirá una respuesta inmunológica terapéutica o protectora (memoria), de modo que la resistencia a una nueva infección resultará reforzada y/o la gravedad clínica de la enfermedad quedará reducida. Esta protección se verá demostrada por una reducción en el número o gravedad de los síntomas, o la ausencia de uno o más de los síntomas asociados con las infecciones por PCV2, por un retraso en la aparición de viremia, por una reducida persistencia vírica, por una reducción en la carga vírica global y/o por una reducción en la

excreción vírica.

La expresión "composición inmunogénica" o el término "vacuna" (ambos términos se utilizan como sinónimos), tal como se utilizan en la presente, se refieren a cualquier composición farmacéutica que contiene un antígeno de PCV2, pudiéndose utilizar dicha composición para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno asociado con una infección por PCV2 en un sujeto. Una composición inmunogénica preferida puede inducir, estimular o potenciar la respuesta inmunológica contra PCV2. La expresión abarca composiciones inmunogénicas de subunidades, tales como las que se describen a continuación, así como composiciones que contienen PCV2 completos muertos o atenuados y/o inactivados.

Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a ese animal que necesita dicho tratamiento, en el que la composición inmunogénica es una composición inmunogénica de subunidades, una composición que contiene PCV2 completos muertos, o atenuados y/o inactivados.

La expresión "composición inmunogénica de subunidades", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una composición que contiene al menos un polipéptido o antígeno inmunogénico, pero no todos los antígenos, derivados u homólogos de un antígeno procedente de PCV2. Una composición de este tipo está sustancialmente exenta de PCV2 intacto. Así, una "composición inmunogénica de subunidades" se prepara a partir de polipéptidos inmunogénicos procedentes de PCV2 al menos parcialmente purificados o fraccionados (preferiblemente sustancialmente purificados), o sus análogos recombinantes. Una composición inmunogénica de subunidades puede comprender las subunidades del antígeno o antígenos de interés sustancialmente exentas de otros antígenos o polipéptidos procedentes de PCV2, o en forma fraccionada. Una composición inmunogénica de subunidades preferida comprende la proteína de ORF-2 de PCV2 según se describe a continuación. Las composiciones más preferidas son las composiciones inmunogénicas de subunidades que comprenden cualquiera de los antígenos de PCV2 proporcionados en el documento WO06/072065.

Según otro aspecto, la composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, comprende, de forma más preferible, el polipéptido, o su fragmento, expresado por ORF-2 de PCV2. El ADN y la proteína de ORF-2 de PCV2, utilizados en la presente para la preparación de las composiciones y dentro de los procesos proporcionados en la presente, es un dominio altamente conservado dentro de aislados de PCV2 y, por ello, cualquier ORF-2 de PCV2 sería eficaz como fuente del ADN y/o polipéptido de ORF-2 de PCV tal como se utiliza en la presente. Una proteína de ORF-2 de PCV2 preferida es la de SEQ ID NO:11 del documento WO06/072065. Otro polipéptido de ORF-2 de PCV preferido se proporciona en la SEQ ID NO:5 del documento WO06/072065. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que esta secuencia podría variar tanto como 6-10% en homología de secuencia, y aún conservar las características antigénicas que la hacen útil en composiciones inmunogénicas. Las características antigénicas de una composición inmunológica se pueden estimar, por ejemplo, mediante el experimento de exposición según se proporciona en el ejemplo 4 del documento WO06/072065. Además, se sigue conservando la característica antigénica de un antígeno modificado cuando el antígeno modificado confiere al menos 70%, preferiblemente 80%, más preferiblemente 90% de la inmunidad protectora, en comparación con la proteína de ORF-2 de PCV2, codificada por la secuencia polinucleotídica de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4, según se proporciona en el documento WO06/072065.

Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 al animal que necesita dicho tratamiento, en el que el antígeno de PCV2 es una proteína de ORF-2 de PCV2 antigénica que tiene al menos 70%, preferiblemente 80%, aún más preferiblemente 90% de inmunidad protectora, comparada con la proteína de ORF-2 de PCV2, codificada por la secuencia polinucleotídica de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4 según se proporciona en el documento WO06/072065. Preferiblemente, dicha ORF-2 de PCV2 tiene la secuencia de SEQ ID NO:11 o SEQ ID NO:5 del documento WO06/072065.

En algunas formas, las porciones inmunogénicas de la proteína de ORF-2 de PCV2 se emplean como componente antigénico en la composición inmunogénica que comprende el antígeno de PCV2. La expresión "porción inmunogénica", tal como se utiliza en la presente, se refiere a formas truncadas y/o sustituidas, o a fragmentos de proteína y/o polinucleótido de ORF-2 de PCV2, respectivamente. Preferiblemente, tales formas truncadas y/o sustituidas, o los fragmentos, comprenderán al menos 6 aminoácidos contiguos procedentes del polipéptido de ORF-2 de longitud completa. Más preferiblemente, las formas truncadas o sustituidas, o los fragmentos, tendrán al menos 10, más preferiblemente al menos 15, y aún más preferiblemente al menos 19 aminoácidos contiguos procedentes del polipéptido de ORF-2 de PCV de longitud completa. Dos secuencias preferidas a este respecto se proporcionan como SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:10 del documento WO06/072065. Se entiende, además, que este tipo de secuencias pueden ser parte de fragmentos mayores o formas truncadas.

Tal como se mencionó anteriormente, otro polipéptido de ORF-2 de PCV2 preferido es cualquiera de los codificados

por las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO: 4. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que esta secuencia podría variar tanto como 6-20% en homología de secuencia, y aún conservar las características antigénicas que la hacen útil en composiciones inmunogénicas. En algunas formas, se utiliza una forma truncada o sustituida, o un fragmento de este polipéptido de ORF-2 de PCV2, como componente antigénico en la composición. Preferiblemente, estas formas truncadas o sustituidas, o los fragmentos, comprenderán al menos 18 nucleótidos contiguos procedentes de la secuencia de nucleótidos de ORF-2 de PCV2 de longitud completa, por ejemplo, de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4. Más preferiblemente, las formas truncadas o sustituidas, o los fragmentos, tendrán al menos 30, más preferiblemente al menos 45, y aún más preferiblemente al menos 57 nucleótidos contiguos de la secuencia de nucleótidos de ORF-2 de PCV2 de longitud completa, por ejemplo, SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4.

“Identidad de secuencia”, tal como se conoce en la técnica, se refiere a una relación entre dos o más secuencias polipeptídicas, o dos o más secuencias polinucleotídicas, es decir, una secuencia de referencia y una secuencia dada que se va a comparar con la secuencia de referencia. La identidad de secuencia se determina comparando la secuencia dada con la secuencia de referencia después de haber alineado óptimamente las secuencias para producir el grado más alto de similitud de secuencia, según se determina por el apareamiento entre las hebras de estas secuencias. Tras el alineamiento, la identidad de secuencia se constata sobre una base de posición a posición, por ejemplo, las secuencias son “idénticas” en una posición particular si en esa posición, los restos nucleotídicos o aminoácidos son idénticos. El número total de identidades de posición de este tipo se divide luego entre el número total de nucleótidos o restos en la secuencia de referencia para dar el porcentaje de identidad de secuencia. La identidad de secuencia se puede calcular fácilmente por métodos conocidos, que incluyen, pero no se limitan a los descritos en Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., comp., Oxford University Press, Nueva York (1988), Biocomputing: *Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., comp., Academic Press, Nueva York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M. y Griffin, H. G., comps., Humana Press, Nueva Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., comps., M. Stockton Press, Nueva York (1991); y Carillo, H., y Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988). Los métodos preferidos para determinar la identidad de secuencia se diseñan para obtener el apareamiento mayor entre las secuencias sometidas a ensayo. Los métodos para determinar la identidad de secuencia están codificados en programas informáticos disponibles para el público que determinan la identidad de secuencia entre secuencias dadas. Los ejemplos de este tipo de programas incluyen, pero no se limitan al paquete de programas GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)). El programa BLASTX está disponible para el público en NCBI y en otras fuentes (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990). Estos programas alinean secuencias de forma óptima, utilizando pesos de huecos por defecto con el fin de producir el mayor nivel de identidad de secuencia entre las secuencias dada y de referencia. Como ilustración, por un polinucleótido con una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, por ejemplo, 85%, preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% de “identidad de secuencia” con una secuencia de nucleótidos de referencia, se pretende dar a entender que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido dado es idéntica a la secuencia de referencia, excepto que la secuencia de polinucleótidos dada puede incluir hasta 15, preferiblemente hasta 10, incluso más preferiblemente hasta 5 mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, en un polinucleótido que tenga una secuencia de nucleótidos que tenga al menos 85%, preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% de identidad con relación a la secuencia de nucleótidos de referencia, hasta 15%, preferiblemente 10%, incluso más preferiblemente 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia pueden estar delecionados o sustituidos por otro nucleótido, o un cierto número de nucleótidos de hasta 15%, preferiblemente 10%, incluso más preferiblemente 5% de los nucleótidos totales en la secuencia de referencia puede estar insertado en la secuencia de referencia. Estas mutaciones de la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones terminales 5' ó 3' de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, entremezcladas individualmente entre nucleótidos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. De forma análoga, por un polipéptido con una secuencia de aminoácidos dada que tenga al menos, por ejemplo, 85%, preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia, se pretende que la secuencia de aminoácidos dada del polipéptido sea idéntica a la secuencia de referencia, excepto que la secuencia dada del polipéptido puede incluir hasta 15, preferiblemente hasta 10, incluso más preferiblemente hasta 5 alteraciones de aminoácidos por cada 100 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de referencia. En otras palabras, para obtener una secuencia dada del polipéptido que tenga al menos 85%, preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia, hasta 15%, preferiblemente hasta 10%, incluso más preferiblemente hasta 5% de los restos aminoácidos en la secuencia de referencia puede estar delecionado o sustituido por otro aminoácido, o un cierto número de aminoácidos de hasta 15%, preferiblemente hasta 10%, incluso más preferiblemente hasta 5% del número total de restos aminoácidos en la secuencia de referencia puede estar insertado en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones amino o carboxi terminales de la secuencia de aminoácidos de referencia o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, entremezcladas individualmente entre restos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Preferiblemente, las posiciones de los restos que no son idénticas difieren por la sustituciones conservativas de aminoácidos. Sin embargo, las sustituciones conservativas no se incluyen como apareamiento cuando se está determinando la identidad de secuencia.

“Homología de secuencia”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a un método para determinar el grado de relación de dos secuencias. Para determinar la homología de secuencia, dos o más secuencias se alinean óptimamente y, si es necesario, se introducen huecos. Sin embargo, por contraste con la “identidad de secuencia”, las sustituciones conservativas de aminoácidos se cuentan como apareamiento cuando se está determinando la homología de secuencia. En otras palabras, para obtener un polipéptido o polinucleótido con 95% de homología de secuencia con una secuencia de referencia, 85%, preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% de los restos aminoácidos o nucleótidos en la secuencia de referencia debe aparearse o comprender una sustitución conservativa con otro aminoácido o nucleótido, o un cierto número de aminoácidos o nucleótidos de hasta 15%, preferiblemente hasta 10%, incluso más preferiblemente hasta 5% del total de restos aminoácidos o nucleótidos, que no incluyen sustituciones conservativas, en la secuencia de referencia puede insertarse en la secuencia de referencia. Preferiblemente, la secuencia homóloga comprende al menos un tramo de 50, incluso más preferiblemente de al menos 100, incluso más preferiblemente de al menos 250, e incluso más preferiblemente de al menos 500 nucleótidos.

Una “sustitución conservativa” se refiere a la sustitución de un resto aminoácido o nucleótido con otro resto aminoácido o nucleótido con características o propiedades similares, incluido el tamaño, la hidrofobicidad, etc., de modo que la funcionalidad global no cambia significativamente.

“Aislado” significa alterado “por la mano del hombre” a partir de su estado natural, es decir, si aparece en la naturaleza, ha sido cambiado o separado de su entorno original, o ambos. Por ejemplo, un polinucleótido o polipéptido que está presente de forma natural en un organismo vivo no está “aislado”, pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de los materiales coexistentes de su estado natural está “aislado”, según se emplea el término en la presente.

Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que dicha proteína de ORF-2 de PCV2 es cualquiera de las descritas anteriormente. Preferiblemente, dicha proteína de ORF-2 de PCV2 es

i) un polipéptido que comprende la secuencia de SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 o SEQ ID NO:11 del documento WO06/07065:

ii) cualquier polipéptido que es al menos 80% homólogo con el polipéptido de i),

iii) cualquier porción inmunogénica de los polipéptidos de i) y/o ii)

iv) la porción inmunogénica de iii), que comprende al menos 10 aminoácidos contiguos incluidos en las secuencias de SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 o SEQ ID NO:11 del documento WO06/072065,

v) un polipéptido codificado por un ADN que comprende la secuencia de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4 del documento WO06/072065,

vi) cualquier polipéptido codificado por un polinucleótido que es al menos 80% homólogo con el polinucleótido de v),

vii) cualquier porción inmunogénica de los polipéptidos codificados por el polinucleótido de v) y/o vi),

viii) la porción inmunogénica de vii), en la que el polinucleótido que codifica dicha porción inmunogénica comprende al menos 30 nucleótidos contiguos incluidos en las secuencias de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4 del documento WO06/072065.

Preferiblemente, cualquiera de esas porciones inmunogénicas tiene las características inmunogénicas de la proteína de ORF-2 de PCV2 que está codificada por la secuencia de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4 del documento WO06/07065.

Según otro aspecto, la proteína de ORF-2 de PCV2 se proporciona en la composición inmunológica a un nivel de inclusión de antígeno eficaz para inducir la respuesta inmunológica deseada, es decir, para reducir la incidencia, disminuir la gravedad, o prevenir o reducir el PRDC y/o cualquiera de los síntomas clínicos asociados con el PRDC. Preferiblemente, el nivel de inclusión de la proteína de ORF-2 de PCV2 es al menos 0,2 µg de antígeno/ml de la composición inmunogénica final (µg/ml), más preferiblemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 400 µg/ml, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 200 µg/ml, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,35 a aproximadamente 100 µg/ml, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 50 µg/ml, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,45 a aproximadamente 30 µg/ml, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 15 µg/ml, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 8 µg/ml, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 6 µg/ml, aún más preferiblemente de aproximadamente 1,3 a

aproximadamente 3,0 µg/ml, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 2,5 µg/ml, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,0 µg/ml, y lo más preferible aproximadamente 1,6 µg/ml.

Según otro aspecto, el nivel de inclusión del antígeno de ORF-2 de PCV es al menos 0,2 µg/proteína de ORF-2 de PCV2, según se describe anteriormente, por dosis de la composición antigénica final (µg/dosis), más preferiblemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 400 µg/dosis, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 200 µg/dosis, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,35 a aproximadamente 100 µg/dosis, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 50 µg/dosis, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,45 a aproximadamente 30 µg/dosis, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 15 µg/dosis, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 8 µg/dosis, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 6 µg/dosis, aún más preferiblemente de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 3,0 µg/dosis, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 2,5 µg/dosis, incluso más preferiblemente de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,0 µg/dosis, y lo más preferible aproximadamente 1,6 µg/dosis.

El polipéptido de ORF-2 de PCV2 utilizado en la composición inmunogénica según la presente descripción se puede derivar de cualquier manera, incluyendo el aislamiento y la purificación de ORF-2 de PCV2, la síntesis convencional de proteínas, y la metodología recombinante. Los métodos preferidos para obtener el polipéptido de ORF-2 de PCV2 se proporcionan en el documento WO06/072065. Brevemente, se infectan células susceptibles con un vector vírico recombinante que contiene secuencias codificadoras de ADN de ORF-2 de PCV2, el polipéptido de ORF-2 de PCV2 es expresado por el virus recombinante, y el polipéptido de ORF-2 de PCV2 expresado se recupera del sobrenadante mediante filtración, y se inactiva mediante cualquier método convencional, preferiblemente utilizando etilenimina binaria, que luego se neutraliza para detener el proceso de inactivación.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, también se refiere a una composición que comprende i) cualquier proteína de ORF-2 de PCV2 descrita anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, y ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, preferiblemente de un baculovirus recombinante. Además, la composición inmunogénica puede comprender i) cualquiera de las proteínas de ORF-2 de PCV2 descritas anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, preferiblemente de un baculovirus recombinante, y iii) una porción del sobrenadante del cultivo celular.

Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que el antígeno de PCV es ORF-2 de PCV2 recombinante, preferiblemente ORF-2 de PCV2 expresado en baculovirus. Preferiblemente, estos ORF-2 de PCV2 recombinantes o expresados en baculovirus tienen la secuencia según se describió anteriormente.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, también se refiere a una composición que comprende i) cualquiera de las proteínas de ORF-2 de PCV2 descritas anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, preferiblemente de un baculovirus recombinante, y iii) una porción del cultivo celular; en la que aproximadamente 90% de los componentes tienen un tamaño menor que 1 µm.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, también se refiere a una composición que comprende i) cualquier proteína de ORF-2 de PCV2 descrita anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, iii) una porción del cultivo celular, iv) y un agente inactivante para inactivar el vector vírico recombinante, preferiblemente BEI, en la que aproximadamente 90% de los componentes i) a iii) tienen un tamaño menor que 1 µm. Preferiblemente, BEI está presente en concentraciones eficaces para inactivar el baculovirus, preferiblemente en una cantidad de 2 a aproximadamente 8 mM BEI, preferiblemente de aproximadamente 5 mM BEI.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, también se refiere a una composición que comprende i) cualquier proteína de ORF-2 de PCV2 descrita anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, iii) una porción del cultivo celular, iv) un agente inactivante para inactivar el vector vírico recombinante, preferiblemente BEI, y v) un agente de neutralización para detener la inactivación mediada por el agente inactivante, en la que aproximadamente 90% de los componentes i) a iii) tienen un tamaño menor que 1 µm. Preferiblemente, si el agente inactivante es BEI, dicha composición comprende tiosulfato de sodio en cantidades equivalentes a BEI.

El polipéptido se incorpora en una composición que puede ser administrada a un animal susceptible a una infección por PCV2. En formas preferidas, la composición puede incluir también otros componentes conocidos por los expertos en la técnica (véase también Remington's Pharmaceutical Sciences, (1990), 18ª ed., Mack Publ., Easton). Además, la composición puede incluir uno o más vehículos aceptables en veterinaria. Tal como se usa en la presente, "un vehículo veterinariamente aceptable" incluye cualesquiera disolventes, medios dispersantes,

revestimientos, adyuvantes, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes que retrasan la adsorción y similares. En una realización preferida, la composición inmunogénica comprende la proteína de ORF-2 de PCV2 según se proporciona en la presente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, la cual se mezcla con un adyuvante, preferiblemente Carbopol, y disolución salina fisiológica.

Los expertos en la técnica comprenderán que la composición utilizada en la presente puede incorporar disoluciones estériles inyectables, fisiológicamente aceptables conocidas. Para preparar una disolución lista para usar para una infusión o inyección parenteral, pueden adquirirse con facilidad disoluciones isotónicas acuosas, tales como, por ejemplo, disolución salina o las correspondientes disoluciones de proteínas plasmáticas. Además, las composiciones de vacunas e inmunogénicas de la presente invención pueden incluir diluyentes, agentes isotónicos, estabilizantes o adyuvantes. Los diluyentes pueden incluir agua, disolución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos pueden incluir cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa, entre otros. Los estabilizantes incluyen albúmina y sales alcalinas de ácido etilendiaminotetracético, entre otros.

"Coadyuvantes", tal como se utilizan en la presente, pueden incluir hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio, saponinas, por ejemplo, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), emulsión de agua en aceite, emulsión de aceite en agua, emulsión de agua en aceite en agua. La emulsión puede tener una base, en particular, de aceite de parafina líquido ligero (tipo de la Farmacopea Europea); un aceite isoprenoide, tal como escualano o aceite de escualeno que resulta de la teoligomerización de alquenos, en particular de isobuteno o deceno; ésteres de ácidos o de alcoholes que contienen un grupo alquilo lineal, más en particular aceites vegetales, oleato de etilo, di-(caprilato/caprato) de propilenglicol, tri-(caprilato/caprato) de glicerilo o dioleato de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos o alcoholes ramificados, en particular ésteres de ácido isoesteárico. El aceite se utiliza en combinación con emulgentes para formar la emulsión. Los emulgentes son preferiblemente tensioactivos no iónicos, en particular ésteres de sorbitan, de manida (por ejemplo, oleato de anhidromanitol), de glicol, de poliglicerol, de propilenglicol y de ácido oleico, isoesteárico, ricinoleico o hidroxisteárico, que están opcionalmente etoxilados, y copolímeros en bloque de polioxipropileno-polioxietileno, en particular los productos Pluronic, en especial L121. Véase Hunter et al., *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp. 51-94 (1995), y Todd et al., *Vaccine*, 15:564-570 (1997).

Por ejemplo, es posible utilizar la emulsión SPT descrita en la página 147 de "Vaccine Design, The Subunit y Adjuvant Approach" editada por M. Powell y M. Newman, Plenum Press, 1995, y la emulsión MF59 descrita en la página 183 de este mismo libro.

Otro ejemplo de coadyuvante es un compuesto elegido entre los polímeros del ácido acrílico o metacrílico y los copolímeros del anhídrido maleico y un derivado de alqueno. Los compuestos adyuvantes ventajosos son los polímeros del ácido acrílico o metacrílico que están reticulados, especialmente con poli(alquenoil éteres) de azúcares o polialcoholes. Estos compuestos se conocen con el término carbómero (Phameuropa, vol. 8, nº 2, junio 1996). Los expertos en la técnica también pueden aludir a la patente de EEUU nº 2.909.462 que describe polímeros acrílicos de este tipo reticulados con un compuesto polihidroxilado que tiene al menos 3 grupos hidroxilo, preferiblemente no más de 8, estando los átomos de hidrógeno de al menos tres hidroxilos reemplazados por radicales alifáticos insaturados que tienen al menos 2 átomos de carbono. Los radicales preferidos son los que contienen de 2 a 4 átomos de carbono, por ejemplo vinilos, alilos y otros grupos etilénicamente insaturados. Los radicales insaturados también pueden contener otros sustituyentes, tales como metilo. Los productos comercializados con el nombre de Carbopol (BF Goodrich, Ohio, EEUU) son particularmente apropiados. Están reticulados con una alilsacarosa o con alilpentaeritritol. Entre ellos se pueden mencionar Carbopol 974P, 934P y 971P. Lo más preferido es el uso de Carbopol, en particular el uso de Carbopol 971P, preferiblemente en cantidades de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 5 mg por dosis, incluso más preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 750 µg hasta aproximadamente 2,5 mg por dosis y, lo más preferido, en una cantidad de aproximadamente 1 mg por dosis.

Otros adyuvantes adecuados incluyen, pero no se limitan al sistema coadyuvante RIBI (Ribi Inc.), copolímero en bloque (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), monofosforil-lípido A, coadyuvante de lípido-amina Avridina, enterotoxina térmicamente lábil procedente de E. coli (recombinante o de otra forma), toxina del cólera, IMS 1314, o dipéptido muramilo, entre muchos otros.

Preferiblemente, el coadyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 10 mg por dosis. Incluso más preferiblemente, el coadyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 10 mg por dosis. Incluso más preferiblemente, el coadyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 500 µg hasta aproximadamente 5 mg por dosis. Incluso más preferiblemente, el coadyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 750 µg hasta aproximadamente 2,5 mg por dosis. Lo más preferible, el coadyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 1 mg por dosis.

Además, la composición puede incluir uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Tal como se emplea en la presente, un "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualesquiera disolventes, medios dispersantes, revestimientos, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes

isotónicos, agentes que retrasan la adsorción y similares. Lo más preferible, la composición proporcionada en la presente contiene proteína de ORF-2 de PCV2 recuperada del sobrenadante de células cultivadas in vitro, en la que dichas células fueron infectadas con un vector vírico recombinante que contiene ADN de ORF-2 de PCV2 y que expresa una proteína de ORF-2 de PCV2, y en la que dicho cultivo celular fue tratado con BEI de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 mM, preferiblemente con BEI de aproximadamente 5 mM, para inactivar el vector vírico, y una concentración equivalente de un agente de neutralización, preferiblemente disolución de tiosulfato de sodio hasta una concentración final de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 8 mM, preferiblemente de aproximadamente 5 mM.

La presente descripción también se refiere al uso de una composición inmunogénica para la profilaxis o tratamiento del PRDC, o la reducción de cualquier signo clínico asociado con el PRDC, que comprende i) cualquiera de las proteínas de ORF-2 de PCV2 descritas anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, iii) una porción del cultivo celular, iv) un agente inactivante para inactivar el vector vírico recombinante, preferiblemente BEI, y v) un agente de neutralización para detener la inactivación mediada por el agente inactivante, preferiblemente tiosulfato de sodio en cantidades equivalentes a BEI; y vi) un coadyuvante adecuado, preferiblemente Carbopol 971, en las cantidades descritas anteriormente; en el que aproximadamente 90% de los componentes i) a iii) tienen un tamaño menor que 1 µm. Según otro aspecto, esta composición inmunogénica comprende, además, una sal farmacéuticamente aceptable, preferiblemente una sal fosfato en concentraciones fisiológicamente aceptables. Preferiblemente, el pH de dicha composición inmunogénica se ajusta a un pH fisiológico, lo que significa entre aproximadamente 6,5 y 7,5.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, se refiere también a una composición que comprende, por 1 ml i) al menos 1,6 µg de proteína de ORF-2 de PCV2 descrita anteriormente, ii) al menos una porción de baculovirus que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, iii) una porción del cultivo celular, iv) BEI de aproximadamente 2 a 8 mM, v) tiosulfato de sodio en cantidades equivalentes a BEI; y vi) aproximadamente 1 mg de Carbopol 971, y vii) sal fosfato en una concentración fisiológicamente aceptable; en la que aproximadamente 90% de los componentes i) a iii) tienen un tamaño menor que 1 µm, y el pH de dicha composición inmunogénica se ajusta de aproximadamente 6,5 a 7,5.

Las composiciones inmunogénicas pueden además incluir uno o más de otros agentes inmunomoduladores, tales como, por ejemplo, interleuquinas, interferones u otras citoquinas. Las composiciones inmunogénicas pueden también incluir gentamicina y mertiolato. Si bien las cantidades y concentraciones de los adyuvantes y aditivos útiles en el contexto de la presente invención pueden ser determinadas con facilidad por los expertos en la técnica, la presente invención contempla composiciones que comprenden entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 2000 µg de coadyuvante y preferiblemente aproximadamente 250 µg/ml de dosis de la composición de vacuna. Así, la composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, se refiere también a una composición que comprende de aproximadamente 1 µg/ml hasta aproximadamente 60 µg/ml de antibióticos, y más preferiblemente menos de aproximadamente 30 µg/ml de antibióticos.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, también se refiere a una composición que comprende i) cualquier proteína de ORF-2 de PCV2 descrita anteriormente, preferiblemente en las concentraciones descritas anteriormente, ii) al menos una porción del vector vírico que expresa dicha proteína de ORF-2 de PCV2, iii) una porción del cultivo celular, iv) un agente inactivante para inactivar el vector vírico recombinante, preferiblemente BEI, y v) un agente de neutralización para detener la inactivación mediada por el agente inactivante, preferiblemente tiosulfato de sodio en cantidades equivalentes a BEI; vi) un coadyuvante adecuado, preferiblemente Carbopol 971, en las cantidades descritas anteriormente; vii) una concentración farmacéutica aceptable de un tampón salino, preferiblemente de una sal fosfato, y viii) un agente antimicrobiológico activo; en la que aproximadamente 90% de los componentes i) a iii) tienen un tamaño menor que 1 µm.

La composición inmunogénica, tal como se utiliza en la presente, se refiere también a Ingelvac® CircoFLEX®, (Boehringer Ingelheim Vetmedica Inc, St Joseph, MO, EEUU), CircoVac® (Merial SAS, Lyon, Francia), CircoVent (Intervet Inc., Millsboro, DE, EEUU) o Suvaxyn PCV-2 One Dose® (Fort Dodge Animal Health, Kansas City, KA, EEUU). Por tanto, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesita dicho tratamiento, en el que dicha composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 es Ingelvac® CircoFLEX™, CircoVac®, Porcilis PCV y/o Suvaxyn PCV-2 One Dose®, preferiblemente es Ingelvac® CircoFLEX™.

Tal como se describió anteriormente, el PCV2 se ha identificado como un importante agente causal del PRDC. La mayoría de los cerdos que padece PRDC son positivos para PCV2 (por ejemplo, Kim et al., Veterinary Journal (2003), 166: 251-256). El tratamiento de cerdos con antígeno de PCV2 da como resultado la reducción de los síntomas respiratorios del PRDC (véase el ejemplo 3). Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal

que necesita dicho tratamiento, en el que el PRDC o los signos clínicos asociados con el PRDC es(están) asociado(s) con PCV2 o provocado(s) por PCV2. Además, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesita dicho tratamiento, en el que el PRDC o los signos clínicos asociados con el PRDC es(están) asociado(s) con PCV2 y PRRSV, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.

Puesto que PCV2 es uno de los agentes causales del PRDC, las piaras que son positivas para PCV2 tienen un riesgo mayor de desarrollar PRDC o de desarrollar una duración más grave del PRDC con graves síntomas clínicos, que las piaras exentas de PCV2. La expresión "piara que es positiva para PCV2", tal como se utiliza en la presente, significa que al menos 1%, preferiblemente 10%, más preferiblemente 30%, aún más preferiblemente 50%, y lo más preferible 70% de los animales de una piara están infectados o estarán infectados en cualquier momento por PCV2. Esto no significa necesariamente que cualquier animal de la piara desarrolle síntomas clínicos que se sabe que son provocados por PCV2, tales como PMWS o PRDC. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que el animal pertenece a una piara que es positiva para PCV2. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados por PCV2.

Puesto que el PRDC y los síntomas clínicos del PRDC también pueden disminuirse o reducirse en animales que están coinfectados con otros patógenos causales del PRDC, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que el animal pertenece a una piara que es positiva para PCV2 y uno o más de otros patógenos seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados por PCV2 y al menos otro patógeno causante del PRDC. La expresión "una piara que es positiva para PCV2 y uno o más de otros patógenos seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*", tal como se utiliza en la presente, significa que al menos 10%, preferiblemente 30%, más preferiblemente 50%, aún más preferiblemente 70% de los animales de una piara están infectados o estarán infectados en cualquier momento por PCV2 y al menos uno de los otros patógenos listados a continuación. Esto no significa necesariamente que cualquier animal de la piara desarrolle síntomas clínicos que se sabe que son provocados por PCV2 y al menos uno de los patógenos listados anteriormente, por ejemplo PRDC. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados al menos por PCV2.

El PRDC no sólo afecta a un número definido de animales, normalmente afecta a todos los animales de la piara (la piara completa). En otras palabras, si al menos un animal de una granja desarrolla PRDC, los agentes causales del PRDC están persistentemente presentes en el ganado de esa granja. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que el animal pertenece a una piara que es positiva para PCV2. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados por PCV2. La expresión "una piara que es positiva para PCV2", tal como se utiliza en la presente, significa que al menos 1%, preferiblemente 10%, más preferiblemente 30%, aún más preferiblemente 50%, y lo más preferible 70% de los animales de una piara están infectados o estarán infectados en cualquier momento por PCV2. Esto no significa necesariamente que cualquier animal de la granja desarrolle síntomas clínicos que se sabe que son provocados por PCV2, tales como PMWS o PRDC. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados por PCV2.

Puesto que el PRDC y los síntomas clínicos del PRDC también pueden disminuirse o reducirse en animales que están coinfectados con otros patógenos causales del PRDC, la presente descripción también proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento, en el que el animal pertenece a una granja que es positiva para PCV2 y uno o más de otros patógenos seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe de simio, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*. Preferiblemente, el PRDC y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC están provocados por PCV2 y al menos otro patógeno causante del PRDC. La expresión "una piara que es positiva para PCV2 y uno o más de otros patógenos seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus*

pleuropneumoniae, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*", tal como se utiliza en la presente, significa que al menos 10%, preferiblemente 30%, más preferiblemente 50%, aún más preferiblemente 70% de los animales de una piara están infectados o estarán infectados en cualquier momento por PCV2 y al menos uno de los otros patógenos listados a continuación. Esto no significa necesariamente que cualquier animal de la piara desarrolle síntomas clínicos que se sabe que son provocados por PCV2 y al menos uno de los patógenos listados anteriormente, por ejemplo PRDC.

Se ha indicado que la inmunidad derivada de la madre confiere cierto grado de protección contra una infección por PCV2 y las enfermedades clínicas asociadas con infecciones por PCV2. Se ha indicado que esta protección depende del título: los títulos elevados son, en general, protectores, mientras que los títulos bajos no lo son (McKeown et al., 2005, Clin. Diagn. Lab. Immunol., 12: 1347-1351). La semivida media de los anticuerpos en los lechones se ha estimado que es de 19,0 días, y la ventana para la degradación de anticuerpos pasivos contra PCV2 en una población es relativamente ancha (Opriessnig et al., 2004, J. Swine Health Prod., 12:186-191). La presencia de anticuerpos derivados de la madre puede no sólo conferir un cierto grado de protección frente a infecciones víricas, aunque no sea predecible, sino que también puede que se sepa que dificulte la eficacia de la inmunización. Se ha descubierto, de forma sorprendente, que la presencia de anticuerpos anti-PCV2, en particular de valoraciones de anticuerpos anti-PCV2 de hasta 1:20480, no afecta a la eficacia del tratamiento con PCV2. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un animal, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de antígeno de PCV2 o de una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un animal que necesite dicho tratamiento que tenga anticuerpos anti-PCV2, preferiblemente en donde dicho animal tiene un título detectable de anticuerpos anti-PCV2 de hasta 1:100, preferiblemente de más de 1:100, incluso más preferiblemente de más de 1:250, incluso más preferiblemente de más de 1:500, incluso más preferiblemente de 1:640, incluso más preferiblemente de más de 1:750, y lo más preferible de más de 1:1000. Preferiblemente, este título de anticuerpos anti-PCV2 es detectable y cuantificable en un inmunoensayo específico de anti-PCV2, preferiblemente en el ensayo descrito en el ejemplo 2.

Los métodos para la detección y cuantificación de anticuerpos anti-PCV2 son muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, la detección y cuantificación de anticuerpos contra PCV2 puede realizarse mediante inmunofluorescencia indirecta, como se describe en Magar et al., 2000, Can. J. Vet Res., 64: 184-186, o Magar et al., 2000, J. Comp. Pathol., 123:258-269. Otros ensayos para la cuantificación de anticuerpos anti-PCV2 se describen en Opriessnig et al., 2006, 37th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians. Además, el ejemplo 2 también describe un ensayo de inmunofluorescencia indirecta, que pueden emplear los expertos en la técnica. En casos de resultados controvertidos y siempre que se presente una duda, las valoraciones de anti-PCV2, tal como se mencionan en la presente, hacen referencia a aquellas que son/pueden ser estimadas mediante el ensayo descrito en el ejemplo 2.

Según otro aspecto, más general, la presente invención proporciona un método para la profilaxis de PRDC, preferiblemente asociado o provocado por PCV2, o para la reducción de los síntomas clínicos provocados o asociados con PRDC en animales jóvenes, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a dicho animal joven que necesite dicho tratamiento.

La expresión "animal joven", tal como se emplea en la presente, se refiere a un animal de 1 a 22 días de edad. Preferiblemente, la expresión animal joven indica un animal de 1 a 20 días de edad. Más preferiblemente, la expresión animal joven se refiere a un animal de 1 a 15 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 día de edad a 14 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 12 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 10 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 8 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 7 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 6 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 5 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 4 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 3 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 ó 2 días de edad, y lo más preferible a un animal de 1 día de edad. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis de PRDC, preferiblemente asociado o provocado por PCV2, o para la reducción de los síntomas clínicos provocados o asociados con PRDC en animales jóvenes, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a un animal de 1 a 22 días de edad, preferiblemente de 1 a 20 días de edad, más preferiblemente de 1 a 15 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 14 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 12 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 10 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 8 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 7 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 6 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 5 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 4 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 3 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 ó 2 días de edad, y lo más preferible de 1 día de edad, que necesite dicho tratamiento. Por ejemplo, hay pruebas de que una vacunación/tratamiento en los días 19 a 22 de edad ha demostrado una alta eficacia de vacunación. Además, una vacunación/tratamiento en los días 12 a 18 de edad también ha demostrado ser muy eficaz para reducir los síntomas clínicos asociados o provocados por PRDC, una reducción en la carga vírica global, una reducción en la duración de la viremia, un retraso en la aparición de viremia, y una ganancia de peso.

Debido a la ubicuidad del PCV2 en el campo, la mayoría de los lechones jóvenes son seropositivos con respecto al PCV2. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis de PRDC,

preferiblemente asociado o provocado por PCV2, o para la reducción de los síntomas clínicos provocados o asociados con PRDC en animales jóvenes que tienen anticuerpos anti-PCV2, preferiblemente en el día de la vacunación, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a un animal de 1 a 22 días de edad, preferiblemente de 1 a 20 días de edad, más preferiblemente de 1 a 15 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 14 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 12 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 10 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 8 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 7 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 6 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 5 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 4 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 a 3 días de edad, incluso más preferiblemente de 1 ó 2 días de edad, y lo más preferible de 1 día de edad, que necesite dicho tratamiento. Preferiblemente, dichos animales jóvenes, en el día de la vacunación/tratamiento, tienen un título detectable de anticuerpos anti-PCV2 de hasta 1:100, preferiblemente de más de 1:100, incluso más preferiblemente de más de 1:250, incluso más preferiblemente de más de 1:500, incluso más preferiblemente de 1:640, incluso más preferiblemente de más de 1:750, y lo más preferible de más de 1:1000 en el día de la vacunación/tratamiento.

Tal como se describió anteriormente, la vacunación/tratamiento de animales que padecen PRDC con un antígeno de PCV2 da como resultado un acortamiento de la fase virémica, comparado con animales control no vacunados. El tiempo medio de acortamiento de 15,4 días, comparado con animales control no vacunados de la misma especie. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción también proporciona un método para el tratamiento o profilaxis de PRDC, preferiblemente asociado o provocado por PCV2, o para la reducción de los síntomas clínicos provocados o asociados con PRDC en animales, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a dicho animal que necesite dicho tratamiento, en el que el tratamiento o profilaxis da como resultado un acortamiento de la fase de viremia de 5 o más días, preferiblemente de 6 o más días, incluso más preferiblemente de 7 o más días, incluso más preferiblemente de 8 o más días, incluso más preferiblemente de 9, incluso más preferiblemente de 10, incluso más preferiblemente de 12, incluso más preferiblemente de 14, y lo más preferible de más de 15 días, comparado con animales de un grupo control no tratado de la misma especie.

En general, la vacunación de cerdos que padecen PRDC da como resultado una reducción en la pérdida de ganancia de peso, una reducción de los signos clínicos respiratorios, tales como tos y dispnea, una duración más corta de la viremia, un final más temprano de la viremia, y una menor carga vírica. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción también proporciona un método para el tratamiento o profilaxis de PRDC, preferiblemente asociado o provocado por PCV2, o para la reducción de los síntomas clínicos asociados o provocados por PRDC en animales, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a dicho animal que necesite dicho tratamiento, en el que dicho tratamiento o profilaxis da como resultado una mejora, en comparación con animales de un grupo control no tratado de la misma especie, en un parámetro de eficacia de vacuna seleccionado del grupo que consiste en una reducción en la pérdida de la ganancia de peso, una reducción de los signos clínicos respiratorios, tales como tos y dispnea, una duración más corta de la viremia, un final más temprano de la viremia, una menor carga vírica, o sus combinaciones.

La expresión “una cantidad eficaz”, tal como se utiliza en la presente, significa, pero no se limita a una cantidad de antígeno, que provoca o es capaz de provocar una respuesta inmunológica en un animal, al cual se administra dicha dosis eficaz de antígeno de PCV2.

La cantidad que es eficaz depende de los ingredientes de la vacuna y del programa de administración. De forma típica, cuando se utiliza una preparación con un virus inactivado o un virus vivo modificado en una vacuna de combinación, se utilizará una cantidad de la vacuna que contenga de aproximadamente $10^{2,0}$ a aproximadamente $10^{9,0}$ DICT₅₀ por dosis, preferiblemente de aproximadamente $10^{3,0}$ a aproximadamente $10^{8,0}$ DICT₅₀ por dosis, más preferiblemente de aproximadamente $10^{4,0}$ a aproximadamente $10^{8,0}$ DICT₅₀ por dosis. En particular, cuando se utiliza PCV2 vivo modificado en las vacunas, la dosis recomendada para ser administrada al animal susceptible es preferiblemente de aproximadamente $10^{3,0}$ DICT₅₀ (50% del punto final de la dosis infecciosa en cultivo de tejido)/dosis a aproximadamente $10^{6,0}$ DICT₅₀/dosis, y más preferiblemente de aproximadamente $10^{4,0}$ DICT₅₀/dosis a aproximadamente $10^{5,0}$ DICT₅₀/dosis. En general, la cantidad de antígeno se encontrará entre 0,2 and 5000 microgramos, y entre $10^{2,0}$ y $10^{9,0}$ DICT₅₀, preferiblemente entre $10^{3,0}$ y $10^{6,0}$ DICT₅₀, más preferiblemente entre $10^{4,0}$ y $10^{5,0}$ DICT₅₀, cuando se emplea el antígeno purificado.

Las vacunas de subunidades se administran normalmente con un nivel de inclusión del antígeno de al menos 0,2 µg de antígeno por dosis, preferiblemente con aproximadamente 0,2 hasta aproximadamente 400 µg/dosis, todavía más preferiblemente con aproximadamente 0,3 hasta aproximadamente 200 µg/dosis, incluso más preferiblemente con aproximadamente 0,35 hasta aproximadamente 100 µg/dosis, aún más preferiblemente con aproximadamente 0,4 hasta aproximadamente 50 µg/dosis, aún más preferiblemente con aproximadamente 0,45 hasta aproximadamente 30 µg/dosis, aún más preferiblemente con aproximadamente 0,6 hasta aproximadamente 16 µg/dosis, incluso más preferiblemente con aproximadamente 0,75 hasta aproximadamente 8 µg/dosis, incluso más preferiblemente con aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 6 µg/dosis, y aún más preferiblemente con aproximadamente 1,3 hasta aproximadamente 3,0 µg/dosis.

De manera inesperada, se descubrió que el uso profiláctico de las composiciones inmunogénicas descritas anteriormente es eficaz para la reducción de los síntomas clínicos provocados o asociados con PRDC,

preferiblemente provocados al menos por PCV2 en animales. Además, la composición antigénica descrita en la presente reduce la carga de circovirus global, incluyendo una aparición más tardía, una duración más corta, una final más temprano de la viremia, y una reducida carga vírica y su impacto inmunosupresor en animales que padecen PRDC, y, por tanto, da como resultado un mayor nivel de resistencia general a la enfermedad y una reducida incidencia del PRDC.

La composición según la invención se puede aplicar por vía intradérmica, intratraqueal o intravaginal. Preferiblemente, la composición se puede aplicar por vía intramuscular o intranasal, lo más preferiblemente por vía intramuscular. En el cuerpo de un animal, puede resultar ventajoso aplicar las composiciones farmacéuticas, según se describieron anteriormente, a tejidos diana mediante una inyección intravenosa o mediante inyección directa. Para la aplicación sistémica, se prefieren las vías intravenosa, intravascular, intramuscular, intranasal, intraarterial, intraperitoneal, oral o intratecal. Se puede efectuar una aplicación más local por vía subcutánea, intradérmica, intracutánea, intracardial, intralobal, intramedular, intrapulmonar, o directamente en el tejido a tratar o cerca de éste (tejido conjuntivo, óseo, muscular, nervioso, epitelial). Dependiendo de la duración y eficacia de tratamiento deseados, las composiciones según la invención se pueden administrar una o varias veces, también de forma intermitente, por ejemplo en una base diaria durante varios días, semanas o meses, y en diferentes dosificaciones.

Preferiblemente, al menos una dosis de la composición inmunogénica, tal como se describió anteriormente, se administra por vía intramuscular al sujeto que lo necesite. Según otro aspecto, el antígeno de PCV2 o la composición inmunogénica que comprende cualquier antígeno de PCV2 de este tipo, tal como se describió en la presente, se envasa en una botella y se administra a un (1) ml por dosis. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción también proporciona una composición inmunogénica de 1 ml, que comprende un antígeno de PCV2 según se describió en la presente, para el tratamiento o profilaxis del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC, preferiblemente provocado por PCV2, en animales, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antígeno de PCV2 a dicho animal que necesite dicho tratamiento.

Según otro aspecto, al menos otra administración de al menos una dosis de la composición inmunogénica tal como se describió anteriormente se da a un sujeto que lo necesite, en el que la segunda o cualquier administración posterior se da al menos 14 días más tarde de la administración inicial o de cualquiera administración anterior. Preferiblemente, la composición inmunogénica se administra con un estimulante inmunológico. Preferiblemente, dicho estimulante inmunológico se administra al menos dos veces. Preferiblemente, hay un espacio de tiempo de al menos 3 días, más preferiblemente al menos 5 días, incluso más preferiblemente al menos 7 días entre las primera y segunda administración o cualquier administración posterior del estimulante inmunológico. Preferiblemente, el estimulante inmunológico se administra al menos 10 días, preferiblemente 15 días, incluso más preferiblemente 20, incluso más preferiblemente 22 días más tarde de la administración inicial de la composición inmunogénica proporcionada en la presente. Un estimulante inmunológico preferido es, por ejemplo, hemocianina de lapa de agujero (KLH, "keyhole limpet hemocyanin"), preferiblemente emulsionada con coadyuvante de Freund incompleto (KLH/ICFA). Sin embargo, se entiende con la presente que también se puede usar cualquier otro estimulante inmunológico conocido por los expertos en la técnica. La expresión "estimulante inmunológico", tal como se utiliza en la presente, significa cualquier agente o composición que puede disparar la respuesta inmunológica, preferiblemente sin iniciar ni aumentar una respuesta inmunológica específica, por ejemplo la respuesta inmunológica contra un agente patógeno específico. Se instruye, además, administrar el estimulante inmunológico en una dosis adecuada.

La presente descripción también se refiere al uso de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 para la preparación de una medicina para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con PRDC en un animal. Preferiblemente, el PRDC o los signos clínicos asociados con PRDC están provocados al menos por PCV2, más preferiblemente en combinación con uno o más de otros patógenos seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe de simio, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*. Más preferiblemente, el antígeno de PCV2 es un antígeno recombinante, preferiblemente ORF-2 de PCV2, e incluso más preferiblemente Ingelvac® CircoFLEX™.

El "animal", tal como se utiliza en la presente, significa ganado porcino, cerdos o lechones. Por tanto, según otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para la profilaxis y tratamiento del complejo respiratorio porcino (PRDC) y/o cualquier signo clínico asociado con el PRDC en un cerdo, que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antígeno de PCV2 o una composición inmunogénica que comprende un antígeno de PCV2 a un cerdo que necesite dicho tratamiento. Preferiblemente, el PRDC está provocado al menos por PCV2, preferiblemente en combinación con al menos otro agente etiológico conocido por causar PRDC, por ejemplo, PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*. Preferiblemente, el antígeno de PCV2 o la composición inmunogénica que comprende el antígeno de PCV2 es cualquiera de los descritos anteriormente, más preferiblemente el antígeno de PCV2 es Ingelvac® CircoFLEX™.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Los siguientes ejemplos exponen materiales y procedimientos preferidos según la presente invención. Aunque

cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente puede usarse en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen los métodos, dispositivos y materiales preferidos. Ha de entenderse, sin embargo, que estos ejemplos se proporcionan a modo de ilustración solamente, y nada en ellos debe considerarse una limitación al alcance global de la invención.

5 Ejemplo 1

Preparación del antígeno ORF-2 de PCV2

Cultivos de células SF+ iniciales que estaban conservados en nitrógeno líquido se hicieron crecer en medio Excell 420 (JRH Biosciences, Inc., Lenexa, KS) en suspensión en matraces de centrifugación estériles con agitación constante. Los cultivos se hicieron crecer en matraces de centrifugación de 100 ml a 250 ml con 25 a 150 ml de medio exento de suero Excell 420. Cuando las células se habían multiplicado hasta una densidad de células de $1,0 - 8,0 \times 10^6$ células/ml, éstas se dividieron en nuevos recipientes con una densidad de siembra de $0,5 - 1,5 \times 10^6$ células/ml. Los cultivos por expansión posteriores se hicieron crecer en matraces de centrifugación de hasta 36 litros de capacidad o en biorreactores de acero inoxidable de hasta 300 litros durante un periodo de 2-7 días a 25 - 29°C.

Después de la siembra, los matraces se incubaron a 27°C durante cuatro horas. Después, cada uno de los matraces se sembró con un baculovirus recombinante que contenía el gen ORF2 de PCV2 (SEQ ID NO:4). Se generaron baculovirus recombinantes que contenían el gen ORF-2 de PCV2 como se describe en el documento WO06/072065. Después de ser sembrados con el baculovirus, los matraces se incubaron luego a $27 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 7 días y se agitaron también a 100 rpm durante ese tiempo. Los matraces utilizaban tapones ventilados para permitir el flujo de aire.

Después de la incubación, se recogió el sobrenadante resultante, se filtró para eliminar los residuos celulares y se inactivó. El sobrenadante se inactivó llevando su temperatura hasta $37 \pm 2^\circ\text{C}$, y se añadió etilenimina binaria (BEI) al sobrenadante hasta una concentración final de 5 mM. Las muestras se agitaron luego continuamente durante 72 a 96 h. Se añadió una disolución de tiosulfato de sodio 1,0 M para dar una concentración mínima final de 5 mM para neutralizar toda BEI residual. Después de la inactivación, se añadió ORF-2 de PCV2 tamponado con tampón fosfato y Carpopol hasta aproximadamente 0,5 a 2,5 mg/dosis. La dosis final comprende aproximadamente 16 µg de antígeno ORF-2 de PCV2.

Ejemplo 2

Inmunoensayo anti-PCV-2

Se sembraron células PK15 (por ejemplo, ATCC CCL-33) o VIDO R1 descritas en el documento WO 02/07721, en una placa de 96 pocillos (aproximadamente 20.000 a 60.000 células por pocillo). Las células se infectaron con un aislado de PCV2 isolate, cuando las monocapas tenían una confluencia de aproximadamente 65% a 85%. Las células infectadas se incubaron durante 48 horas. El medio se retira y los pocillos se lavan dos veces con PBS. El tampón de lavado se elimina y las células se tratan con fijador de metanol/acetona 50/50 frío (aproximadamente 100 µl/pocillo) durante aproximadamente 15 min a aproximadamente -20°C. El fijador se elimina y las placas se secan al aire. Se preparan diluciones en serie de muestras de suero en PBS, se añaden a las placas y se incuban para permitir que los anticuerpos, si están presentes, se unan en las muestras de suero durante aproximadamente 1 hr a $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Además, se ensayan en paralelo diluciones en serie de una muestra control anti-PCV2 positiva y negativa (muestras de control positivo y muestras de control negativo). Las placas entonces se lavan tres veces con PBS. El PBS se elimina. Las placas entonces se tiñen con un conjugado de FITC anticuerpo de cabra comercial diluido 1:100 en PBS y se incuban durante aproximadamente 1 hr a $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$, lo cual permite la detección de los anticuerpos unidos a las células infectadas. Después de completar la incubación, las microplacas se retiran del incubador, el conjugado se elimina y las placas se lavan dos veces con PBS. Las placas se leyeron utilizando microcopía de UV y los pocillos individuales se indicaron como positivos o negativos. Las muestras de control positivo y de control negativo se emplearon para controlar el sistema de ensayo. Si los controles se encontraban dentro de los intervalos esperados, los resultados del ensayo se consideran aceptables con respecto a los parámetros del método de ensayo. Se calcularon las valoraciones de anticuerpos en suero utilizando la mayor dilución que muestra reactividad de IFA específica y el número de pocillos positivos por dilución, o se calcula 50% del punto final utilizando la fórmula de Reed-Muench apropiada.

Ejemplo 3

Eficacia de ORF-2 de PCV2 (Ingelvac® CircoFLEX™) en el tratamiento del PRDC

Objetivo

El objetivo de este estudio es demostrar la eficacia de Ingelvac® CircoFLEX en el control de PRDC asociado a PCV2.

Realización del estudio

Se incluyeron en el estudio 1542 cerdos convencionales que pertenecen a tres grupos de semanas consecutivas, comprendiendo cada uno aproximadamente 500 animales. Los animales del estudio se bloquearon según el peso y la asignación de la camada, y se asignaron aleatoriamente a un grupo de vacunados (n=769) y a un grupo control (n=773).

- **Grupo 1:** En el día 0 del estudio, los cerdos se vacunaron por vía intramuscular a la edad de aproximadamente 20 días mediante una única dosis de Ingelvac® CircoFLEX que contiene proteína de ORF-2 de PCV2 como sustancia activa con un RP de 1 (por dosis de 1 ml) y Carbopol® como coadyuvante.

- **Grupo 2:** El grupo control recibió 1 ml del artículo de control, que contenía proteína de ORF-2 de PCV2 exenta de subrenadante del cultivo celular y Carbopol® como coadyuvante.

- **Grupo 3:** Cerdos sin tratar.

El estudio se terminó al final del engorde (semana de estudio 22).

Parámetros registrados

Los parámetros registrados fueron los siguientes:

- Peso corporal individual (todos los animales)
- Frecuencia de 'cerdos retrasados' (todos los animales)
- Signos clínicos (todos los animales)
- Mortalidad (todos los animales)
- Viremia de PCV2 en suero: aparición, final, duración de la viremia, carga vírica
- (17% de los animales del estudio)
- Necropsia (todos los animales muertos o sometidos a eutanasia, si es posible)

Situación de la enfermedad en la granja

Según la historia de enfermedad de la granja de cría y engorde, los animales muestran síntomas respiratorios relacionados con el complejo respiratorio porcino (PRDC) desde la mitad del engorde en adelante. Estos síntomas vienen acompañados por una reducida ganancia de peso (ganancia media de peso diaria 750-780 g) y una mayor tasa de mortalidad (5,5-6,6%) durante el periodo de engorde. Los patógenos que se consideraron implicados en el PRDC en ese momento eran PCV2, PRRSV, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica* y a veces SIV. Durante el desarrollo de este estudio se descubrió que también estaban implicados en este complejo *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Mycoplasma hyorhinis*. De forma interesante, los resultados de este estudio mostraron pruebas del hecho de ambas infecciones por PRRSV y *Mycoplasma hyopneumoniae* se produjeron aproximadamente 4-6 semanas antes de la aparición de viremia de PCV2. Sin embargo, como revela el número de animales muertos durante el desarrollo del estudio y la frecuencia de síntomas respiratorios antes y después de la aparición de viremia de PCV2, los animales se mantuvieron bastante poco afectados por estos dos patógenos infecciosos.

Resultados

Peso corporal, ganancia de peso, ganancia media de peso diaria

El peso corporal de los dos grupos de tratamiento era comparable en el momento del inicio del estudio. En las semanas 17 y 22 del estudio, el peso corporal del grupo vacunado era significativamente mayor que el peso corporal del grupo tratado con placebo ($p = 0,0007$ y $p < 0,0001$, respectivamente).

Desde el inicio del estudio hasta la semana 22 del estudio, los animales vacunados habían ganado 2,8 kg más de peso que los animales tratados con placebo. Esto se corresponde con 13 g/d de mayor ganancia media de peso diaria en animales vacunados desde el inicio del estudio hasta la semana 17 del estudio, y 18 g/d de mayor ganancia media de peso diaria en animales vacunados hasta la semana 22 del estudio. Para el periodo entero de engorde (semanas 7-22 del estudio), la ganancia media de peso diaria puede aumentar, por tanto, de 777 g/d en animales tratados con placebo (comparable a la ganancia media de peso diaria histórica de 750-780 g/d) a 803 g/d en animales vacunados (Tabla 1 y Figura 1).

Tabla 1: Comparación del peso corporal, ganancia de peso, y ganancia media de peso diaria (datos reunidos de los tres grupos de semana)

	Semana del estudio	Grupo tratado con placebo (LSMedia)	Grupo vacunado (LSMedia)	Diferencia (IVP-CP)	Valor de p ¹⁾
Peso corporal vivo	0	6,45 kg	6,59 kg	0,14 kg	0,1289 ns
	7	25,79 kg	26,18 kg	0,39 kg	0,3955 ns
	12	50,63 kg	51,01 kg	0,38 kg	0,9564 ns
	17	78,29 kg	80,22 kg	1,93 kg	0,0007 ***
	22	106,55 kg	109,77 kg	3,22 kg	<0,0001 ***
Ganancia de peso	0-17	71,97 kg	73,51 kg	1,54 kg	0,0007 ***
	0-22	100,22 kg	103,02 kg	2,80 kg	<0,0001 ***
Ganancia media de peso diaria	0-17	603 g/d	616 g/d	13 g/d	0,0007 ***
	0-22	649 g/d	667 g/d	18 g/d	<0,0001 ***
	7-22	777 g/d	803 g/d	26 g/d	<0,0001 ***

1) Valor de p del ensayo de la t para la comparación entre grupos, ns: no significativo, ***significativo, $p \leq 0,001$

Viremia en sangre

- 5 Los animales vacunados mostraron una aparición ligeramente tardía de la viremia (1,5 días después), un final significativamente más temprano de la viremia ($p < 0,0001$), una duración significativamente más corta de la viremia ($p < 0,0001$), un número significativamente inferior de días de muestras positivas por animal ($p < 0,0001$), y una reducción general significativa de la carga vírica ($p < 0,0001$). La mayor proporción de animales virémicos se observó en la semana 17 del estudio, con 75% de animales virémicos en el grupo de placebo y 28% animales virémicos en el grupo vacunado.

Tabla 2: Comparación de la viremia en sangre (datos reunidos de los tres grupos de semana)

Semana del estudio	Grupo tratado con placebo (media)	Grupo vacunado (media)	Diferencia (CP-IVP)	Valor de p ²⁾
Aparición de la viremia	104,4 días	105,9 días	-1,5 días	0,3244 ns
Final de la viremia	138,7 días	123,3 días	15,4 días	<0,0001 ***
Duración de la viremia	34,3 días	17,4 días	16,9 días	<0,0001 ***
Número de días de muestras positivas	4,3 días	1,4 días	2,9 días	<0,0001 ***
Media de la suma gE ¹⁾ (log 10)	22,7	7,1	15,6	<0,0001 ***

¹⁾ gE: equivalentes genómicos por ml

²⁾ Valor de p (del ensayo de Wilcoxon Mann-Whitney para la comparación entre grupos), ns: no significativo, ***significativo, $p \leq 0,001$

Correlación de la viremia en sangre con el peso corporal

- 15 La figura 2 ilustra la carga vírica en muestras de animales en ambos grupos de tratamiento a lo largo del desarrollo del estudio, comparado con la diferencia en el peso corporal vivo (CP-IVP) de todos los animales de ambos grupos de tratamiento en los respectivos momentos de peso. Cuando se comparan las curvas para la diferencia en el peso corporal con las barras que representan la carga vírica, resulta obvio que las diferencias observadas en el peso corporal entre ambos grupos de tratamiento (semanas 17 y 22 del estudio) se producen después de la aparición de viremia (semanas 14-16 del estudio). Aunque la carga vírica disminuye después de un pico en la semana 17 del estudio, la diferencia en el peso corporal entre grupos sigue aumentando hasta el final del engorde. Juntos, estos datos proporcionan pruebas de una correlación entre la mayor ganancia de peso corporal observada en las semanas 17 y 22 del estudio en el grupo vacunado, y la aparición, duración y nivel de la viremia.

- 25 El cálculo del coeficiente de rango de Spearman confirma la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre la viremia y la diferencia en el desarrollo de la ganancia de peso en animales tratados con placebo en las semanas 17 y 22 del estudio. Un bajo peso corporal en animales tratados con placebo se correlaciona con una aparición temprana, una larga duración de la viremia y una alta carga vírica. Para los animales vacunados no se

descubrió esta correlación, indicando que el mayor peso corporal en los animales vacunados es el resultado de un retraso en la aparición y una duración más corta de la viremia, así como de una menor carga vírica en sangre.

Frecuencia de cerdos retrasados

- 5 No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de 'cerdos retrasados' entre el grupo vacunado y el grupo tratado con placebo en ninguno de los respectivos momentos de peso. Después de la aparición de viremia de PCV2 (semanas 14-16 del estudio), la frecuencia de 'cerdos retrasados' es baja, en general, en ambos grupos de tratamiento (2,2-3,9%).

Tabla 3: Comparación de la frecuencia de 'cerdos retrasados' (datos reunidos de los tres grupos de semana)

	Antes de la aparición de viremia			Después de la aparición de viremia	
Semana del estudio	0	7	12	17	22
CP	17,08 %	11,16 %	5,02 %	3,57 %	2,97 %
IVP	17,17 %	11,03 %	5,32 %	3,99 %	2,23 %
P	1,0000	0,6845	0,8147	0,6830	0,4082

P: valor de p del ensayo de la t para la comparación entre grupos: $p > 0,05$ no significativo

10 Signos clínicos

Antes de la aparición de viremia, los signos clínicos predominantes eran cojera, tos y diarrea (en 8-12% de los animales). Aparecían con igual frecuencia en ambos grupos de tratamiento. Tras la necropsia de los animales muertos y el posterior examen microbiológico, se identificó a *Streptococcus suis* como el posible patógeno infeccioso para la cojera, se identificaron a *Haemophilus parasuis* y *Bordetella bronchiseptica* como posibles patógenos para la tos, y se identificó a *E. coli* hemolítico como posible razón para la diarrea.

- 15 Después de la aparición de la viremia, los síntomas clínicos predominantes observados en los animales de ambos grupos de tratamiento eran tos y cojera. Los análisis serológicos periódicos para otros patógenos infecciosos y los descubrimientos microbiológicos tras la necropsia revelaron que la viremia de PCV2 estaba acompañada por una infección (anterior) por PRRSV y *Mycoplasma hyopneumoniae*. Junto con PCV2, estos patógenos infecciosos forman parte del PRDC, que se considera la causa de la mayor frecuencia de animales con tos después de la aparición de viremia. Comparado con los animales tratados con placebo, la frecuencia de tos y disnea en animales vacunados se redujo en 12,2% y 17,5%, respectivamente. Sin embargo, estos hallazgos no tienen significancia estadística. La mayor frecuencia de cojera después de la aparición de viremia, comparado con el tiempo antes de la aparición de viremia, está provocada, de forma más probable, por formas crónicas de artritis por *Streptococcus suis* o por una debilidad en el aparato articular, y afecta a ambos grupos de tratamiento de la misma manera ($p = 0,8321$). De forma similar, la frecuencia de otros descubrimientos clínicos (diarrea, anomalías dérmicas, comportamiento) después de la aparición de viremia era casi igual entre los dos grupos de tratamiento.

Mortalidad

- 30 Antes de la aparición de la viremia, la tasa de mortalidad era comparable en ambos grupos de tratamiento (animales vacunados: 5,20%, animales tratados con placebo: 5,17%). Después de la aparición de viremia, los animales tratados con placebo presentaban una tasa de mortalidad significativamente mayor que los animales vacunados (animales vacunados: 1,51%, animales tratados con placebo: 3,68%, $p = 0,0127$). Comparada con los animales tratados con placebo, la tasa de mortalidad en los animales vacunados se redujo en 59%.

Conclusión

- 35 El estudio se ha llevado a cabo en una granja que mostraba los síntomas típicos de PRDC en la fase tardía del engorde. A la edad de 17 a 19 semanas, los cerdos desarrollaban síntomas respiratorios, una mayor tasa de mortalidad, y una pérdida de ganancia de peso. Después de una selección serológica y microbiológica se identificó a PCV2, PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* y *Pasteurella multocida* como posibles patógenos implicados en el complejo.
- 40 Comparado con el grupo control tratado con placebo, se advirtieron los siguientes descubrimientos estadísticamente significativos para el grupo vacunado:
- reducción de la pérdida de ganancia de peso
 - reducción de la mortalidad
 - reducción de la duración de la viremia y un final más temprano de la viremia

- reducción de la carga vírica
- reducción de la tos y la disnea

Como se esperaba, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la frecuencia de 'cerdos retrasados', puesto que la aparición de 'cerdos retrasados' no es un descubrimiento típico para el PRDC.

5 En conjunto, estos descubrimientos permiten las siguientes conclusiones:

1. El estudio se ha realizado en una piara que se vio afectada por PRDC en la fase media a tardía del engorde. El PCV2 estaba evidentemente implicado en este complejo, puesto que los síntomas respiratorios, la pérdida de ganancia de peso, y el aumento en la mortalidad sólo se observaron después de la aparición de viremia.

10 2. La vacunación de animales con Ingelvac® CircoFLEX™ puede reducir e, incluso, prevenir, los parámetros clínicamente pertinentes que están relacionados con PRDC asociado a PCV2.

Listado de secuencias

<110> BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH

15

<120> PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DEL PRDC

<130> P01-2174

20

<160> 11

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

25

<211> 8

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

30

<223> Esta es una secuencia de Kozak modificada.

<400> 1

ccgccatg

8

35

<210> 2

<211> 6

<212> ADN

<213> Artificial

40

<220>

<223> Esta es una secuencia Eco R1 recombinante.

<400> 2

45

gaattc

6

<210> 3

<211> 713

50

<212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 3

cagctatgac	gtatccaagg	aggcggttacc	gcagaagaag	acaccgcccc	cgcagccatc	60
ttggccagat	cctccgccgc	cgcccctggc	tcgtccaccc	ccgccaccgc	taccgttgga	120
gaaggaaaaa	tggcatcttc	aacacccgcc	tctcccgcac	cttcggatat	actgtggaga	180
aggaaaaatg	gcatcttcaa	cacccgcctc	tcccgcacct	tcggatatac	tgtgacgact	240
ttgttcccc	gggagggggg	accaacaaaa	tctctatacc	ctttgaatac	tacagaataa	300
gaaagggttaa	ggttgaattc	tggccctgct	cccccatcac	ccagggtgat	aggggagtgg	360
gctccactgc	tgttattcta	gatgataact	ttgtaacaaa	ggccacagcc	ctaacctatg	420
acccatatgt	aaactactcc	tcccgccata	caatccccca	acccttctcc	taccactccc	480
gttacttcac	acccaaacct	gttcttgact	ccactattga	ttacttccaa	ccaaataaca	540
aaaggaatca	gctttggctg	aggctacaaa	cctctagaaa	tgtggaccac	gtaggcctcg	600
gcactgcggt	cgaaaacagt	aaatacgacc	aggactacaa	tatccgtgta	accatgtatg	660
tacaattcag	agaatttaat	cttaaagacc	cccacttaa	accctaaatg	aat	713

<210> 4
 <211> 713
 <212> ADN
 <213> Circovirus porcino

<400> 4

ccgccatgac	gtatccaagg	aggcggttacc	gcagaagaag	acaccgcccc	cgcagccatc	60
ttggccagat	cctccgccgc	cgcccctggc	tcgtccaccc	ccgccaccgc	taccgttgga	120
gaaggaaaaa	tggcatcttc	aacacccgcc	tctcccgcac	cttcggatat	actgtcaagg	180
ctaccacagt	cacaacgccc	tcctgggcgg	tggacatgat	gagatttaat	attgacgact	240
ttgttcccc	gggagggggg	accaacaaaa	tctctatacc	ctttgaatac	tacagaataa	300
gaaagggttaa	ggttgaattc	tggccctgct	cccccatcac	ccagggtgat	aggggagtgg	360
gctccactgc	tgttattcta	gatgataact	ttgtaacaaa	ggccacagcc	ctaacctatg	420
acccatatgt	aaactactcc	tcccgccata	caatccccca	acccttctcc	taccactccc	480
gttacttcac	acccaaacct	gttcttgact	ccactattga	ttacttccaa	ccaaataaca	540
aaaggaatca	gctttggctg	aggctacaaa	cctctagaaa	tgtggaccac	gtaggcctcg	600
gcactgcggt	cgaaaacagt	aaatacgacc	aggactacaa	tatccgtgta	accatgtatg	660
tacaattcag	agaatttaat	cttaaagacc	cccacttga	accctaagaa	ttc	713

<210> 5
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Circovirus porcino

<400> 5

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15
 Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30
 Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45
 Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Thr Thr
 50 55 60
 Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Phe Val
 65 70 75 80
 Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95
 Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110
 Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125
 Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140
 Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160
 Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175
 Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn
 180 185 190
 Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp
 195 200 205
 Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220
 Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro
 225 230

<210> 6
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Circovirus porcino

<400> 6

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
35 40 45

Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Thr Thr
50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Phe Val
65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
100 105 110

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

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn
180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp
195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Glu Pro
225 230

<210> 7
<211> 756
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Esta secuencia es del marco de lectura abierto 2 del circovirus porcino de tipo 2, junto con una porción del vector pGEM T-easy.

<400> 7

```
gcggccgcgg gaattcgatc cgccatgacg tatccaagga ggcgttaccg cagaagaaga 60
caccgcccc gcagccatct tggccagatc ctccgcccgc gccctggct cgtccacccc 120
cgccaccgct accgttggag aaggaaaaat ggcattctca acaccgcct ctccgcacc 180
ttcggatata ctgtcaaggc taccacagtc acaacgccct cctgggcggt ggacatgatg 240
agatttaata ttgacgactt tgttcccccg ggagggggga ccaacaaaat ctctataccc 300
tttgaatact acagaataag aaagggttaag gttgaattct ggcctgctc ccccatcacc 360
cagggtgata ggggagtggt ctccactgct gttattctag atgataactt tgtaacaaag 420
gccacagccc taacctatga cccatagtga aactactcct cccgccatac aatcccccaa 480
cccttctcct accactcccg ttacttcaca cccaaacctg ttcttgactc cactattgat 540
tacttccaac caaataacaa aaggaatcag ctttggtcga ggctacaaac ctctagaaat 600
gtggaccacg taggcctcgg cactgcgttc gaaaacagta aatacgacca ggactacaat 660
atccgtgtaa ccatgtatgt acaattcaga gaatttaatc ttaaagaccc cccacttgaa 720
ccctaagaat tctatcacta gtgaattcgc ggccgc 756
```

<210> 8

<211> 10387

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Este es un constructo de ORF-2 del circovirus porcino de tipo 2, que incluye secuencias de baculovirus y pGEM T-easy.

<400> 8

```
aagctttact cgtaaagcga gttgaaggat catattttagt tgcgttttatg agataagatt 60
gaaagcacgt gtaaaatggt tcccgcgcgt tggcacaact atttacaatg cggccaagtt 120
ataaaagatt ctaatctgat atgttttaaa acacctttgc ggcccgagtt gtttgcgtag 180
gtgactagcg aagaagatgt gtggaccgca gaacagatag taaaacaaaa ccctagtatt 240
ggagcaataa tcgatttaac caacacgtct aaatattatg atggtgtgca ttttttgcg 300
gcgggcctgt tatacaaaaa aattcaagta cctggccaga ctttgccgcc tgaaagcata 360
gttcaagaat ttattgacac ggtaaaagaa tttacagaaa agtgtcccgc catgttggtg 420
ggcgtgcact gcacacacgg tattaatcgc accggttaca tgggtgtgcag atatttaatg 480
cacaccctgg gtattgcgcc gcaggaagcc atagatagat tcgaaaaagc cagaggtcac 540
aaaattgaaa gacaaaatta cgttcaagat ttattaattt aattaatatt atttgcattc 600
tttaacaaat actttatcct attttcaaat tgttgcgctt cttccagcga accaaaacta 660
tgcttcgctt gtcctgttta gcttgtagcc gatcagtggt gttgttccaa tcgacggtag 720
gattaggccg gatattctcc accacaatgt tggcaacggt gatgttacgt ttatgctttt 780
ggttttccac gtacgtcttt tggccggtaa tagccgtaaa cgtagtgccg tcgcgcgtca 840
cgcacaacac cggatgtttg cgcttgctcg cggggtattg aaccgcgcga tccgacaaat 900
ccaccacttt ggcaactaaa tcggtgacct gcgcgtcttt tttctgcatt atttctctt 960
tcttttgcat ggtttcctgg aagccggtgt acatgcggtt tagatcagtc atgacgcgcg 1020
tgacctgcaa atctttggcc tcgatctgct tgtccttgat ggcaacgatg cgttcaataa 1080
actcttggtt tttaacaagt tcctcgggtt tttgcgccac caccgcttgc agcgcgtttg 1140
tgtgctcggt gaatgtcgca atcagcttag tcaccaactg tttgctctcc tcctcccgtt 1200
gtttgatcgc gggatcgtac ttgccggtgc agagcacttg aggaattact tcttctaaaa 1260
gccattcttg taattctatg gcgtaaggca atttggaact cataatcagc tgaatcacgc 1320
cggatttagt aatgagcact gtatgcggct gcaaatacag cgggtcgccc cttttcacga 1380
cgctgttaga ggtaggggccc ccatttttga tggctctgctc aaataacgat ttgtatttat 1440
tgtctacatg aacacgtata gctttatcac aaactgtata ttttaaaact ttagcgacgt 1500
ccttgccac gaaccggacc tgttggtcgc gctctagcac gtaccgcagg ttgaacgtat 1560
cttctccaaa tttaaattct ccaattttta cgcgagccat tttgatacac gtgtgtcgat 1620
tttgcaacaa ctattgtttt ttaacgcaaa ctaaacttat tgtggttaagc aataattaaa 1680
tatgggggaa catgcgcgcg tacaacactc gtcgttatga acgcagacgc cgccggtctc 1740
ggcgcaagcg gctaaaacgt gttgcgcgtt caacgcggca aacatcgcaa aagccaatag 1800
tacagttttg atttgcataat taacggcgat tttttaaatt atcttattta ataaatagtt 1860
atgacgccta caactccccg cccgcgttga ctgcgtgcac ctgcagcagt tcgttgacgc 1920
cttctccgt gtggccgaac acgtcgagcg ggtggtcgat gaccagcggc gtgcgcgcac 1980
cgacgcacaa gtatctgtac accgaatgat cgtcgggcga aggcacgtcg gcctccaagt 2040
ggcaatattg gcaaatcga aaatatatac agttgggttg tttgcgcata tctatcgtgg 2100
```

cggttgggcat	gtacgtccga	acgttgattt	gcatgcaagc	cgaaattaaa	tcattgcgat	2160
tagtgcgatt	aaaacgttgt	acatcctcgc	ttttaatcat	gccgtcgatt	aaatcgcgca	2220
atcgagtcaa	gtgatcaaag	tgtggaataa	tgttttcttt	gtattcccga	gtcaagcgca	2280
gcgcgtat	taacaaacta	gccatcttgt	aagttagttt	catttaatgc	aactttatcc	2340
aataatatat	tatgtatcgc	acgtcaagaa	ttaacaatgc	gcccgttgtc	gcatctcaac	2400
acgactatga	tagagatcaa	ataaagcgcg	aattaaatag	cttgcgacgc	aacgtgcacg	2460
atctgtgcac	gcgttccggc	acgagctttg	attgtaataa	gtttttacga	agcgatgaca	2520
tgacccccgt	agtgacaacg	atcacgccc	aaagaactgc	cgactacaaa	attaccgagt	2580
atgtcgggtga	cgttaaaact	attaagccat	ccaatcgacc	gtagtcgaa	tcaggaccgc	2640
tggtgcgaga	agccgcgaag	tatggcgaa	gcatcgtata	acgtgtggag	tccgtcatt	2700
agagcgtcat	gtttagacaa	gaaagctaca	tatttaattg	atcccgatga	ttttattgat	2760
aaattgaccc	taactccata	cacgggtattc	tacaatggcg	gggttttggt	caaaaatttcc	2820
ggactgcgat	tgtacatgct	gttaacggct	ccgccacta	ttaatgaaat	taaaaatttcc	2880
aattttaaaa	aacgcagcaa	gagaaacatt	tgtatgaaag	aatgcgtaga	aggaaagaaa	2940
aatgtcgtcg	acatgctgaa	caacaagatt	aatatgcctc	cgtgtataaa	aaaaatattg	3000
aacgatttga	aagaaaacaa	tgtaccgcgc	ggcggtatgt	acaggaagag	gtttatacta	3060
aactgttaca	ttgcaaacgt	ggtttcgtgt	gccaaagtgtg	aaaaccgatg	tttaatacaag	3120
gctctgacgc	atttctacaa	ccacgactcc	aagtgtgtgg	gtgaagtcac	gcatctttta	3180
atcaaattccc	aagatgtgta	taaaccacca	aactgccaaa	aatgaaaac	tgtcgacaag	3240
ctctgtccgt	ttgctggcaa	ctgcaagggt	ctcaatccta	tttgtaatta	ttgaataata	3300
aaacaattat	aaatgctaaa	tttgtttttt	attaacgata	caaaccaaa	gcaacaagaa	3360
catttgtagt	attatctata	attgaaaacg	cgtagttata	atcgctgagg	taatatattaa	3420
aatcattttc	aaatgattca	cagttaattt	gcgacaatat	aattttattt	tcacataaac	3480
tagacgcctt	gtcgtcttct	tcttcgtatt	ccttctcttt	ttcatttttc	tcctcataaa	3540
aattaacata	gttattatcg	tatccatata	tgtatctatc	gtatagagta	aattttttgt	3600
tgtcataaat	atataatgtc	tttttaattg	ggtgtatagt	accgctgcgc	atagtttttc	3660
tgtaatttac	aacagtgtca	ttttctggta	gttcttcgga	gtgtgttgct	ttaattatta	3720
aatttatata	atcaatgaat	ttgggatcgt	cggttttgta	caatatgttg	ccggcatagt	3780
acgcagcttc	ttctagttca	attacaccat	tttttagcag	caccggatta	acataacttt	3840
ccaaaatggt	gtacgaaccg	ttaaacaaaa	acagttcacc	tcccttttct	atactattgt	3900
ctgcgagcag	ttgtttgttg	ttaaaaataa	cagccattgt	aatgagacgc	acaaaataat	3960
atcacaaact	ggaaatgtct	atcaatatat	agttgctgat	atcatggaga	taattaaaa	4020
gataaccatc	tcgcaaataa	ataagtat	tactgttttc	gtaacagttt	tgtataaaaa	4080
aaacctataa	atattccgga	ttattcatac	cgtcccacca	tcgggcgcgcg	atcagatctg	4140
cagcggccgc	gggaattcga	tccgccatga	cgtatccaag	gaggcggtac	cgcagaagaa	4200
gacaccgccc	ccgcagccat	cttggccaga	tctccgccc	ccgcccctgg	ctcgtccacc	4260
cccgccaccg	ctaccgttgg	agaaggaaaa	atggcatctt	caacaccgcg	ctctcccgca	4320
ccttcgggata	tactgtcaag	gctaccacag	tcacaacgcc	ctcctgggcg	gtggacatga	4380
tgagatttaa	tattgacgac	tttgttcccc	cgggaggggg	gaccaacaaa	atctctatac	4440
cctttgaata	ctacagaata	agaaagggtta	aggttgaatt	ctggccctgc	tcccccatca	4500
cccagggtga	taggggagtg	ggctccactg	ctgttattct	agatgataac	tttgtaacaa	4560
aggccacagc	cctaaccatg	gaccatctac	taaactactc	ctcccgccat	acaaatcccc	4620
aacccttctc	ctaccactcc	cgttacttca	caccacaaacc	tgttcttgac	tccactattg	4680
attacttcca	accaaataac	aaaaggaatc	agctttggct	gaggctacaa	acctctagaa	4740
atgtggacca	cgtaggcctc	ggcactgcgt	tcgaaaacag	taaatacgac	caggactaca	4800
atatccgtgt	aaccatgtat	gtacaattca	gagaatttaa	tcttaaagac	ccccacttg	4860
aaccctaaga	attctatcac	tagtgaattc	gcggccgcgcg	gccgctccag	aattctagaa	4920
ggtacccggg	atcctttcct	gggacccggc	aagaacaaaa	aactcactct	cttcaaggaa	4980
atccgtaatg	ttaaaccgga	cacgatgaag	cttgtcgttg	gatggaaaag	aaaagagttc	5040
tacagggaaa	cttggacccg	cttcatggaa	gacagcttcc	ccattgttaa	cgaccaagaa	5100
gtgatggatg	ttttccttgt	tgtcaacatg	cgtcccacta	gaccaaacgc	ttgttacaaa	5160
ttcctggccc	aacacgctct	gcgttgcgac	ccgactatg	tacctcatga	cgtgattagg	5220
atcgtcgagc	cttcatgggt	gggcagcaac	aacgagtaac	gcatcagcct	ggctaagaa	5280
ggcggcggt	gcccataaat	gaaccttcac	tctgagtaca	ccaactcggt	cgaacagttc	5340
atcgatcgtg	tcatctggga	gaacttctac	aagcccatcg	tttacatcgg	taccgactct	5400
gctgaagagg	aggaaattct	ccttgaagtt	tccctggtgt	tcaaagtaaa	ggagtttgca	5460
ccagacgcac	ctctgttcac	tgggtccggcg	tattaaaaca	cgatacattg	ttatttagtac	5520
atttattaag	cgctagattc	tgtgcgttgt	tgatttacag	acaattgttg	tacgtatttt	5580
aataattcat	taaatttata	atcttttaggg	tggtagttta	gagcgaaaaat	caaatgattt	5640
tcagcgtctt	tatatctgaa	tttaaatatt	aaatcctcaa	tagattttgta	aaataggttt	5700
cgattagttt	caaacaaggg	ttgtttttcc	gaaccgatgg	ctggactatc	taatggattt	5760
tcgctcaacg	ccacaaaact	tgccaaatct	tgtagcagca	atctagcttt	gtcgatattc	5820
gtttgtgttt	tgttttgtaa	taaaggttcg	acgtcgttca	aaatattatg	cgtttttgta	5880

tttctttcat	cactgtcgtt	agtgtacaat	tgactcgacg	taaacacggt	aaataaagct	5940
tggacatatt	taacatcggg	cgtgttagct	ttattaggcc	gattatcgtc	gtcgtcccaa	6000
ccctcgtcgt	tagaagttgc	ttccgaagac	gattttgcca	tagccacacg	acgcctatta	6060
atttgtgcgg	ctaacacgtc	cgcgatcaaa	tttgtagttg	agcttttttg	aattattttct	6120
gattgcgggc	gtttttgggc	gggtttcaat	ctaactgtgc	ccgattttta	ttcagacaac	6180
acgttagaaa	gcgatgggtg	aggcgggtgg	aacatttcag	acggcaaatc	tactaatggc	6240
ggcgggtggg	gagctgatga	taaatctacc	atcgggtggg	gcgcaggcgg	ggctggcggc	6300
ggaggcggag	gcggaggtgg	tggcgggtgat	gcagacggcg	gttttaggctc	aaatgtctct	6360
ttaggcaaca	cagtccggc	ctcaactatt	gtactggttt	cgggcgccgt	ttttggtttg	6420
accggtctga	gacgagtgcg	atttttttcg	tttctaatag	cttccaacaa	ttgttgtctg	6480
tcgtctaaag	gtgcagcggg	ttgagggttcc	gtcggcattg	gtggagcggg	cggcaattca	6540
gacatcgatg	gtgggtgggtg	tgggtggaggc	gctggaatgt	taggcacggg	agaagggtgg	6600
ggcggcgggtg	ccgcgcgtat	aatttggtct	ggttttagttt	gttcgcgcac	gattgtgggc	6660
accggcgcag	gcgcgcgtgg	ctgcacaacg	gaaggctcgt	tgcttcgagg	cagcgcttgg	6720
ggtggtggca	attcaatatt	ataattggaa	tacaaatcgt	aaaaatctgc	tataagcatt	6780
gtaatttcgc	tatcgtttac	cgtgccgata	tttaacaacc	gctcaatgta	agcaattgta	6840
ttgtaaagag	attgtctcaa	gctcggccga	cgccgataac	aagccttttc	atttttacta	6900
cagcattgta	gtggcgagac	acttcgctgt	cgtcgacgta	catgtatgct	ttgttgtcaa	6960
aaacgtcgtt	ggcaagcttt	aaaatattta	aaagaacatc	tctgttcagc	accactgtgt	7020
tgtcgtaaat	gttgtttttg	ataatttgcg	cttcgcgagt	atcgacacgt	tcaaaaaatt	7080
gatgcgcac	aattttgttg	ttcctattat	tgaataaata	agattgtaca	gattcatatc	7140
tacgattcgt	catggccacc	acaaatgcta	cgctgcacaa	gctgggtacaa	ttttacgaaa	7200
actgcaaaaa	cgtcaaaact	cgggtataaaa	taatcaacgg	gcgctttggc	aaaatatcta	7260
ttttatcgca	caagcccact	agcaaattgt	atttgcagaa	aacaatttcg	gcgcacaatt	7320
ttaacgctga	cgaaataaaa	gttcaccagt	taatgagcga	ccaccctaat	tttataaaaa	7380
tctattttta	tcacggttcc	atcaacaacc	aagtgatcgt	gatggactac	attgactgtc	7440
ccgattttatt	tgaacacta	caaattaaag	gcgagctttc	gtaccaactt	gttagcaata	7500
ttattagaca	gctgtgtgaa	gcgctcaacg	atttgcacaa	gcacaatttc	atacacaacg	7560
acataaaact	cgaaaatgtc	ttatattttcg	aagcacttga	tcgcgtgtat	gtttgcgatt	7620
acggattgtg	caaacacgaa	aactcactta	gcgtgcacga	cggcacgttg	gagtatttta	7680
gtccggaaaa	aattcgacac	acaactatgc	acgtttcgtt	tgactggtag	gcggcgtgtt	7740
aacatacaag	ttgctaacgt	aatcatggtc	atagctgttt	cctgtgtgaa	attgttatcc	7800
gctcacaatt	ccacacaaca	tacgagccgg	aagcataaag	tgtaaagcct	ggggtgccta	7860
atgagtgagc	taactcacat	taattgcgtt	gcgctcactg	cccgcctttc	agtcgggaaa	7920
cctgtcgtgc	cagctgcatt	aatgaatcgg	ccaacgcgcg	gggagaggcg	gtttgcgtat	7980
tgggcgctct	tccgcttcct	cgctcactga	ctcgctgcgc	tcggtcgttc	ggctgcggcg	8040
agcggtatca	gctcactcaa	aggcggtaat	acggttatcc	acagaatcag	gggataacgc	8100
aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	aaaggccagg	aaccgtaaaa	aggccgcgtt	8160
gctggcgttt	ttccataggc	tccgcccccc	tgacgagcat	cacaaaaatc	gacgctcaag	8220
tcagaggtgg	cgaaaccoga	caggactata	aagataccag	gcgtttcccc	ctggaagctc	8280
cctcgtgagc	tctcctgttc	cgaccctgcc	gcttaccgga	tacctgtccg	cctttctccc	8340
ttcgggaagc	tggcgcttt	ctcatagctc	acgctgtagg	tatctcagtt	cgggtgaggt	8400
cgttcgctcc	aagctgggct	gtgtgcacga	acccccggtt	cagcccagacc	gctgcgcctt	8460
atccggtaac	tatcgtcttg	agtccaaccc	ggtaagacac	gacttatcgc	cactggcagc	8520
agccactggt	aacaggatta	gcagagcgag	gtatgtaggc	ggtgctacag	agttcttgaa	8580
gtggtggcct	aactacggct	acactagaag	gacagtattt	ggtatctgcg	ctctgctgaa	8640
gccagttacc	ttcggaaaaa	gagttggtag	ctcttgatcc	ggcaaacaaa	ccaccgctgg	8700
tagcggtggt	ttttttgttt	gcaagcagca	gattacgcgc	agaaaaaaaag	gatctcaaga	8760
agatcctttg	atcttttcta	cgggggtctga	cgctcagttg	aacgaaaaact	cacgttaagg	8820
gattttggtc	atgagattat	caaaaaggat	cttcacctag	atccttttta	attaaaaatg	8880
aagtttttaa	tcaatctaaa	gtatatatga	gtaaaccttg	tctgacagtt	accaatgctt	8940
aatcagtgag	gcacctatct	cagcgatctg	tctatttcgt	tcattccatag	ttgcctgact	9000
ccccgtcgtg	tagataacta	cgatacggga	gggctttacca	tctggccccca	gtgctgcaat	9060
gataccgcga	gacccacgct	caccggctcc	agattttatca	gcaataaaacc	agccagccgg	9120
aagggccgag	cgcagaagtg	gtcctgcaac	tttatccgcc	tccatccagt	ctattaattg	9180
ttgccgggaa	gctagagtaa	gtagtctgcc	agttaatagt	ttgcgcaacg	ttgttgccat	9240
tgctacaggc	atcgtgggtg	cacgctcgtc	gtttgggtatg	gcttcattca	gctccggttc	9300
ccaacgatca	aggcgagtta	catgatcccc	catgttgtgc	aaaaaagcgg	ttagctcctt	9360
cggtcctccg	atcgttgtca	gaagtaagtt	ggccgcagtg	ttatcactca	tggttatggc	9420
agcactgcat	aattctctta	ctgtcatgcc	atccgtaaga	tgcttttctg	tgactgggtga	9480
gtactcaacc	aagtcattct	gagaatagtg	tatgcggcga	ccgagttgct	cttgcccggc	9540
gtcaatacgg	gataataccg	cgccacatag	cagaacttta	aaagtgtctca	tcattggaaa	9600
acgttcttcg	gggcgaaaaa	tctcaaggat	cttaccgctg	ttgagatcca	gttcgatgta	9660

```

accactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg 9720
agcaaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaaggaata agggcgacac ggaaatgttg 9780
aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat 9840
gagcgggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt 9900
tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa 9960
aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct 10020
ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag 10080
acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc 10140
ggcatcagag cagattgtac tgagagtga ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg 10200
cgtaaggaga aaataaccga tcaggcgcca ttcgccattc aggctgcgca actgttggga 10260
agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc 10320
aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc 10380
cagtgcc

```

<210> 9
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Circovirus porcino

<400> 9
 Ser Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His His Pro Pro Ser
 1 5 10 15

His Leu Gly Gln
 20

<210> 10
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Circovirus porcino

<400> 10
 Pro Arg His His Tyr Arg Pro Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr
 1 5 10 15

Thr Leu Ser

<210> 11
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Esta es una secuencia de aminoácidos para el marco de lectura abierto 2 del circovirus porcino de tipo 2.

<400> 11

Leu	Ser	Arg	Thr	Phe	Gly	Tyr	Thr	Val	Lys	Ala	Thr	Thr	Val	Arg	Thr
50				55				60							
Pro	Ser	Trp	Ala	Val	Asp	Met	Met	Arg	Phe	Asn	Ile	Asp	Asp	Phe	Val
65			70				75			80					
Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Ile	Ser	Ile	Pro	Phe	Glu	Tyr	Tyr
		85				90				95					
Arg	Ile	Lys	Lys	Val	Lys	Val	Glu	Phe	Trp	Pro	Cys	Ser	Pro	Ile	Thr
		100				105				110					
Gln	Gly	Asp	Arg	Gly	Val	Gly	Ser	Thr	Ala	Val	Ile	Leu	Asp	Asp	Asn
	115				120				125						
Phe	Val	Thr	Lys	Ala	Thr	Ala	Leu	Thr	Tyr	Asp	Pro	Tyr	Val	Asn	Tyr
	130			135				140							
Ser	Ser	Arg	His	Thr	Ile	Pro	Gln	Pro	Phe	Ser	Tyr	His	Ser	Arg	Tyr
145			150				155				160				
Phe	Thr	Pro	Lys	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Thr	Ile	Asp	Tyr	Phe	Gln	Pro
		165				170				175					
Asn	Asn	Lys	Arg	Asn	Gln	Leu	Trp	Leu	Arg	Leu	Gln	Thr	Ser	Arg	Asn
		180				185				190					
Val	Asp	His	Val	Gly	Leu	Gly	Thr	Ala	Phe	Glu	Asn	Ser	Ile	Tyr	Asp
	195				200				205						
Gln	Asp	Tyr	Asn	Ile	Arg	Val	Thr	Met	Tyr	Val	Gln	Phe	Arg	Glu	Phe
	210			215				220							
Asn	Leu	Lys	Asp	Pro	Pro	Leu	Lys	Pro							
225				230											

REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición inmunogénica que consiste en el ORF-2 de PCV2 expresado en baculovirus recombinante y uno o más vehículos veterinariamente aceptables para la preparación de una medicina para la profilaxis de PRDC causada por PCV2 y de una infección con *Mycoplasma hyorhinis* en un animal.
- 5 2. El uso según la reivindicación 1, en donde el uno o más vehículos veterinariamente aceptables se seleccionan del grupo que consiste en disolventes, medios de dispersión, revestimientos, coadyuvantes, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, y agentes que retrasan la adsorción.
- 10 3. El uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el PRCD además está asociado con, y/o causado por, una infección con PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.
- 15 4. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el animal pertenece a una piara que es positiva en PCV2 y en uno o más patógenos adicionales seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.
5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el animal pertenece a una granja que es positiva en PCV2 y en uno o más patógenos adicionales seleccionados del grupo que consiste en PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, virus de la gripe porcina, *Streptococcus suis* y/o *Pasteurella multocida*.
6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el animal es porcino.
- 20 7. Una composición inmunogénica que consiste en ORF-2 de PCV-2 expresado en baculovirus recombinante y uno o más vehículos veterinariamente aceptables para uso en un método para la profilaxis de PRDC causado por PCV2 y una infección con *Mycoplasma hyorhinis* en un animal.

Figura 1

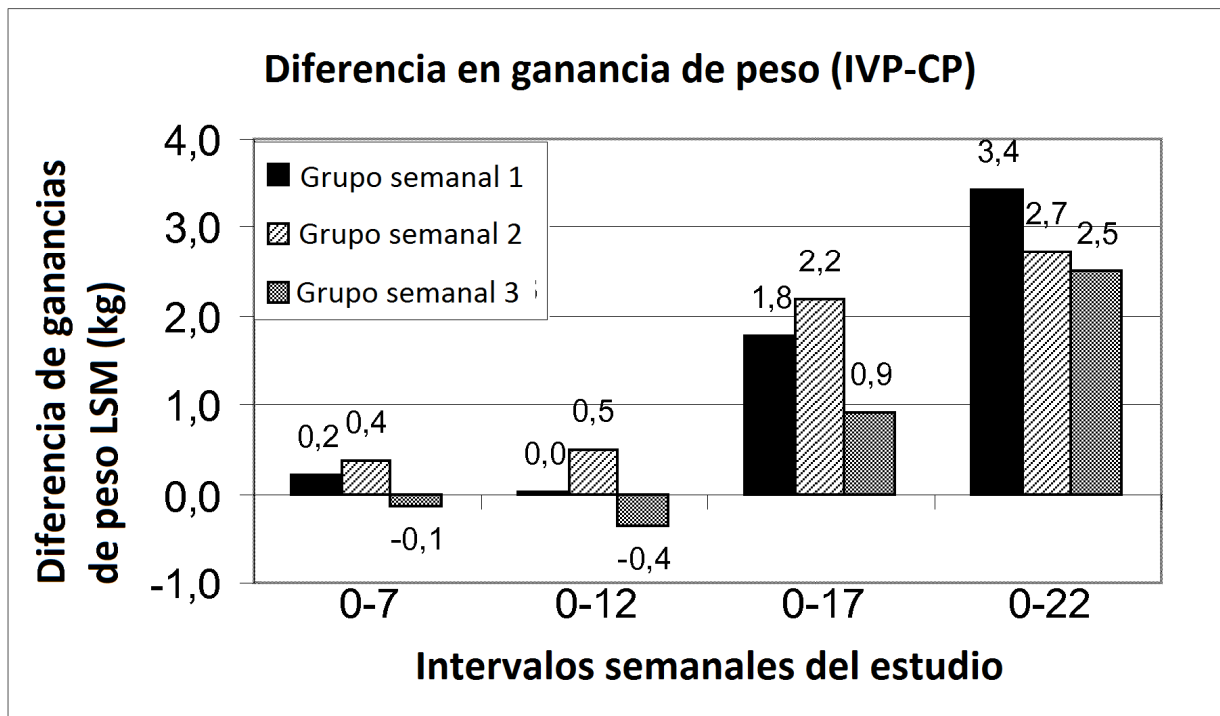


Figura 2

