



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 349 045**

51 Int. Cl.:
A61K 39/12 (2006.01)
C12N 7/04 (2006.01)
C07K 14/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05851416 .7**
96 Fecha de presentación : **09.11.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1833508**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.09.2007**

54 Título: **Composiciones y cepas del virus del síndrome reproductivo y respiratorio.**

30 Prioridad: **19.11.2004 US 629873 P**
21.04.2005 US 674002 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.12.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.12.2010

73 Titular/es: **Intervet International B.V.**
Wim de Korverstraat 35
5831 AN Boxmeer, NL

72 Inventor/es: **Hesse, Richard**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 349 045 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).

COMPOSICIONES Y CEPAS DEL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO

Descripción

5 Campo de la Invención

La presente invención se refiere a dos cepas atenuadas del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV) y las composiciones inmunógenas que comprenden una o más cepas del virus atenuado del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV).

10 Antecedentes de la Invención

El PRRS se reconoció por primera vez en los Estados Unidos en 1987. Se extendió rápidamente a través de todas las áreas principales de producción porcina de Norte América. Después apareció en Europa y hoy el PRRSV tiene una distribución casi mundial. Muchos productores porcinos, oficiales del
15 gobierno y veterinarios creen que el PRRS es actualmente una de las amenazas económicas más serias afrontadas por las industrias porcinas en todo el mundo.

Como su nombre implica, el PRRS se caracteriza clínicamente por su capacidad para provocar fallo reproductivo en hembras preñadas, especialmente cuando inicialmente se infecta tarde en la gestación y enfermedad del tracto respiratorio en cerdos de todas las edades, pero más
20 común y severo en cerdos jóvenes. La infección del PRRSV se piensa que también potencia los efectos de otros patógenos porcinos. En la base de estudios serológicos retrospectivos, también se ha hecho evidente que muchas
25 infecciones con el PRRSV de porcinos son subclínicas o producen signos clínicos menos obvios. Por lo tanto, el PRRSV a menudo logra el acceso a una piara y se extiende extensivamente antes de que su presencia se detecte por primera vez.

El virus puede persistir en un hospedador infectado durante al menos
30 varios meses. Dichos "vehículos" perpetúan la infección y hacen el control de la enfermedad sumamente difícil. Como una consecuencia, los medios más eficaces para reducir el impacto económico del PRRSV son vacunar (inmunizar) cerdos potencialmente susceptibles antes de que se expongan al virus de campo virulento.

35 Las vacunas atenuadas, (fabricadas por Boehringer Ingelheim)

preparadas por cepas únicas del PRRSV, están disponibles en el mercado. Una está autorizada para usarse en cerdos entre 3 y 18 semanas de edad para la prevención de enfermedades del tracto respiratorio (Gorcyca *et al.*, 1995). Una está autorizada para la pre-reproducción.

5 Se ha descrito otra vacuna atenuada para la prevención del fallo reproductivo (Hesse *et al.*, 1996). Se prepara a partir de una cepa única del PRRSV y sólo se ha ensayado contra una única cepa del PRRSV. La cepa de desafío se describe como heteróloga en la base de la respuesta anamnésica de hembras de primera cría vacunadas siguiendo el desafío; no obstante, no se
10 ha presentado otra evidencia para establecer que las dos cepas, es decir, la usada para la vacuna y la usada para el desafío de inmunidad, son genéticamente o antigénicamente distintas. El documento WO 00/65032 describe un método de atenuación, así como una cepa del PRRSV atenuada derivada de la cepa particularmente virulenta JA-142 (Ejemplo 1, p. 7, l. 5 - p.
15 10, l. 27).

Existen dos serotipos principales conocidos del PRRSV (Done *et al.*, 1996). Uno (prototipo Lelystad) es representativo de al menos la mayoría de las cepas que se han aislado en Europa del Este. El otro (prototipo de ATCC 2332) es representativo de al menos la mayoría de las cepas aisladas en América del
20 Norte y Asia. Existen también variantes antigénicas en los prototipos (Meng *et al.*, 1995) y las diferencias de base de secuencia entre cepas aisladas en América del Norte han permitido su diferenciación (Wesley *et al.*, 1996).

SUMARIO DE LA INVENCION

Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición
25 inmunógena que protege un cerdo contra la enfermedad clínica provocada por el PRRSV. Las composiciones inmunógenas derivaron de dos cepas del PRRSV que se aislaron de cerdos afectados con el PRRSV en los Estados Unidos.

Otro objeto de la invención es proporcionar dos cepas atenuadas del
30 PRRSV que serían útiles en una vacuna polivalente contra el PRRS. De esa manera, la invención proporciona:

1. Una composición inmunógena para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra una enfermedad provocada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, dicha composición
35 comprende una cantidad eficaz de un virus del PRRS atenuado

seleccionado de un grupo que consiste en el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6281, el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6282 y combinaciones de los mismos; y un vehículo o un disolvente farmacéuticamente aceptable.

- 5 2. La composición inmunógena como se menciona anteriormente, en la que dicho virus es el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6281.
3. La composición inmunógena de lo que se menciona anteriormente, en la que dicho virus es el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6282.
- 10 4. Una composición inmunógena polivalente para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra una enfermedad provocada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, dicha composición comprende una cantidad eficaz de dos o más virus atenuados, que comprenden al virus del PRRS de ATCC PTA-6281 y al virus del PRRS de ATCC PTA-6282.
- 15 5. La composición inmunógena de lo que se menciona anteriormente, comprende adicionalmente un adyuvante.
6. El inmunógeno polivalente como se menciona anteriormente, comprende adicionalmente un adyuvante.
- 20 7. Un virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino atenuado PP5 como se representa por el depósito de ATCC N° PTA-6282.
8. Un virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino atenuado LC13 como se representa por el depósito de ATCC N° PTA-6281.
- 25 9. El uso de una composición inmunógena de acuerdo con cualquiera anteriormente mencionada o una composición inmunógena polivalente de acuerdo con 6. en la fabricación de un medicamento para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra una enfermedad provocada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino.

DEPÓSITO DE MATERIAL BIOLÓGICO

- Las cepas atenuadas PP5 y LC13 se depositaron el 4 de noviembre del 2004 bajo los términos del Tratado de Budapest en la American Type Culture Collection en Manassas, Virginia y se han asignado los N° de Acceso de ATCC PTA-6282 y de ATCC PTA-6281, respectivamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- En el presente documento "composición inmunógena" se define en su amplio sentido para referirse a cualquier tipo de agente biológico en una forma

administrable capaz de estimular una respuesta inmune en un animal. Una composición inmunógena puede componerse por el agente viral o el virus mismo o un componente inmunógeno (antigénico) del virus.

La composición inmunógena de la invención se preparó de cualquiera o
5 más de las dos cepas atenuadas del PRRSV: PP5 y LC13. Cada cepa se ensayó individualmente por seguridad y por la capacidad de inducir una respuesta inmune y se contempla que una vacuna polivalente comprendida por las dos cepas sería al menos igual de segura y eficaz que cada composición monovalente y puede proporcionar incluso una inmunidad más amplia para
10 cepas de campo virulentas del PRRSV.

Se seleccionaron dos cepas del PRRSV (cepas PP5 y LC13) para el desarrollo como composiciones inmunógenas.

Cepa del PRRSV PP5

Un aislado virulento del virus del PRRS se obtuvo de muestras tisulares
15 de un cerdo enfermo. Se inoculó un homogeneizado tisular del cerdo enfermo en macrófagos alveolares primarios y se detectó la presencia del virus por efectos citopáticos en cultivos inoculados pero no controlados. Posteriormente se demostró el virus aislado por reactividad con anticuerpos monoclonales específicos para el virus del PRRS por inmunofluorescencia indirecta. Las
20 placas de 96 pocillos de células Marc145 confluentes se fijaron con acetona al 80% durante 10 minutos 2 días después de la infección con el virus. Después se incubaron las monocapas con anticuerpos monoclonales SDOW17 o VO17. Después del lavado, se detectó la reactividad del anticuerpo monoclonal con cada virus por incubación con IgG antiratón conjugada con isotiocianato de
25 fluoresceína seguido por un lavado y el examen para fluorescencia por microscopía. Se observó una fluorescencia positiva con ambos anticuerpos monoclonales para el virus PP5. El virus PP5 se atenuó por pases sucesivos en cultivo tisular. El virus se pasó inicialmente por inoculación de cultivos primarios de macrófagos alveolares porcinos (SAM) (para el primer pase) y
30 después por pases sucesivos en células Marc145 para un total de 81 pases. Durante este proceso, los clones del virus se aislaron por purificación en placa y se caracterizaron para propiedades fenotípicas. La composición inmunógena del clon PP5 se seleccionó por crecimiento defectuoso en macrófagos alveolares porcinos y la falta de la inducción de la enfermedad en cochinitos y
35 cerdas preñadas. El PP5 se expandió en células Marc145 y se congeló como

un virus de cepa madre.

El PP5 se puede diferenciar de otras cepas del PRRSV atenuadas aisladas por la región ORF5 de su secuencia.

Cepa del PRRSV LC13

5 Un aislado virulento del virus del PRRS se obtuvo de muestras tisulares de un cerdo enfermo. Se inoculó un homogeneizado tisular del cerdo enfermo en macrófagos alveolares primarios y se detectó la presencia del virus por efectos citopáticos en cultivos inoculados pero no controlados. Posteriormente el virus aislado se demostró ser reactivo con anticuerpos monoclonales
10 específicos para el virus del PRRS por inmunofluorescencia indirecta. Las placas de 96 pocillos de células Marc145 confluentes se fijaron con acetona al 80% durante 10 minutos 2 días después de la infección con el virus. Después se incubaron las monocapas con anticuerpos monoclonales SDOW17 o VO17. Después del lavado, se detectó la reactividad del anticuerpo monoclonal con
15 cada virus por incubación con IgG antiratón conjugado con isotiocianato de fluoresceína seguido por un lavado y el examen para fluorescencia por microscopía. Se observó una fluorescencia positiva con ambos anticuerpos monoclonales para el virus LC13. El virus LC13 se atenuó por pases sucesivos en cultivo tisular. El virus se aisló inicialmente en cultivos primarios de
20 macrófagos alveolares porcinos y después se hicieron pases sucesivamente en células Marc145 para un total de 67 pases. Durante este proceso, los clones del virus se aislaron por purificación en placa y se caracterizaron para propiedades fenotípicas. La composición inmunógena del clon (LC13) se seleccionó por crecimiento defectuoso en macrófagos alveolares porcinos y la
25 falta de la inducción de la enfermedad en cochinitos y cerdas preñadas. El LC13 se expandió en células Marc145 y se congeló como un virus de cepa madre.

El LC13 se puede diferenciar de otras cepas del PRRSV atenuadas aisladas por la región ORF5 de su secuencia.

30 El virus o los virus de la composición se prepararon para la administración por formulación en una dosificación de inmunización eficaz con un vehículo o disolvente farmacéuticamente aceptable, tal como una solución salina fisiológica o un medio de cultivo tisular. La expresión "cantidad eficaz" se define como siendo esa cantidad que inducirá la inmunidad en un cerdo contra
35 el desafío por una cepa virulenta del PRRSV. La determinación de las

cantidades de dosificación actuales estaría completamente dentro de la experiencia de una persona en la técnica. Basándose en los ejemplos proporcionados posteriormente, se contempla que una realización es una dosificación única de aproximadamente $10^{4,5}$ TCID₅₀/ml.

5 Las composiciones se pueden administrar por vía oral, por vía oro-nasal o por inyección. Se pueden incluir en la formulación de la composición adyuvantes apropiados como se conocen en la técnica. Como se menciona previamente, las composiciones inmunógenas del sujeto o las vacunas se pueden usar de manera individual o se pueden combinar juntas en cualquier
10 combinación en la formulación de una composición polivalente.

Los siguientes ejemplos se usan para ilustrar el logro exitoso de los objetivos de la invención.

Ejemplos

Se preparó una composición inmunógena usando MARC145 como el
15 sustrato (no obstante se pueden usar líneas celulares alternas que apoyen el crecimiento del virus del PRRS tales como células MA104). Las células MARC145 se crecieron a confluencia en recipientes de cultivo tisulares adecuados (es decir, botellas de rodillo de 850 cm²) usando un medio mínimo esencial de Eagle (EMEM) conteniendo suero fetal bovino del 5 al 10%, L-glutamina 2 mM y antibióticos (tales como gentamicina 30 µg/ml). Se pueden
20 también usar los medios de cultivo tisular alternos que pueden apoyar el crecimiento de las células MARC145 tales como medios esenciales modificados de Dulbecco [DEMEM], Medio 199 u otros. Se inocularon las monocapas confluentes de células MARC145 con PP5 y LC13 a una
25 multiplicidad de infección (MOI) de 1:10 (se puede usar MOI en el intervalo de 1:5 a 1:100). Seguido de la incubación durante cinco días a 37°C, los fluidos sobrenadantes del cultivo se recogieron por decantación.

Los fluidos de virus se titularon mediante la realización de diluciones seriadas en EMEM suplementado como precede y la inoculación de 0,2 ml por
30 pocillo en al menos cuatro pocillos replicados de células MARC145 o MA104 confluentes en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos. Los cultivos se incubaron durante cinco días a 37°C, 3-5% de CO₂ en una cámara humidificada y se observaron para los efectos citopáticos. Los títulos (criterios de valoración al 50%) se calcularon de acuerdo con los métodos de Spearman y Karber.

35 Para la preparación de una composición inmunógena inactivada o una

formulación de vacuna inactivada, los fluidos de virus se incubaron con un agente de inactivación química tales como formaldehído, glutaraldehído, etilenimina binaria o beta-propiolactona. Después los fluidos de virus se almacenaron a 4°C hasta que se formuló en la composición inmunógena. La

5 composición inmunógena se preparó mediante la mezcla de fluidos de virus (conteniendo de 10^5 a 10^9 TCID₅₀ del virus; basándose en títulos de preinactivación) con un disolvente fisiológicamente aceptable (tales como EMEM, Hank's Balance Salt Solution[®], solución salina tamponada con fosfato) y un adyuvante inmunoestimulante (tales como aceite mineral, aceite vegetal,

10 hidróxido de aluminio, saponina, detergentes no iónicos, escualeno u otros compuestos conocidos en la técnica, usados solos o en combinación). Una dosis de composición inmunógena fue típicamente entre 1 y 5 ml.

Para una composición inmunógena viva o una formulación de vacuna viva, los fluidos de virus (virus atenuados) se almacenan congelados a -50°C o

15 más frío hasta el uso. Los fluidos de virus (contienen típicamente $10^{6,0}$ TCID₅₀/dosis pero en el intervalo de $10^{3,0}$ y $10^{7,0}$ TCID₅₀/dosis) se diluyen con un disolvente fisiológicamente adecuado (tales como EMEM, Hank's Balanced Salt Solution[®], solución salina tamponada con fosfato) y una mezcla fisiológicamente adecuada de compuestos diseñados para estabilizar el virus.

20 Los compuestos conocidos en la técnica que pueden usarse solos o en combinación para estabilizar los virus incluyen sacarosa, lactosa, N-Z amina, glutatión, neopeptona, gelatina, dextrano y triptona. La vacuna se almacena congelada (-50°C o más frío) o liofilizada con almacenamiento a 4°C hasta el uso. La composición inmunógena o la vacuna tiene típicamente un tamaño de

25 dosis de 2 ml (intervalo de 1 a 5 ml).

Para la profilaxis contra la enfermedad inducida por PRRS, los porcinos se vacunan con compuestos inmunógenos inactivados o vivos por administración intradérmica, intramuscular, subcutánea, intranasal u oral de una dosis de la vacuna. Puede administrarse una vacunación de refuerzo de

30 dos a cuatro semanas después de la inmunización inicial. Para la prevención de la enfermedad asociada al PRRS, el régimen de vacunación se inicia típicamente hasta 6 semanas antes de la reproducción y puede suministrarse como tarde una semana después de la reproducción. Para la prevención de la enfermedad respiratoria en cochinitos, la vacunación puede suministrarse

35 como pronto a las 3 semanas de edad.

Los Ejemplos de la Atenuación de Cepas y su Capacidad para Inducir la Respuesta Inmune

Experimento de PP5

5 Las cerdas seronegativas del PRRS se inocularon a los 85 días de gestación por vía intranasal (3 ml/fosa nasal) con las cepas de vacunas de cepas madre PP5 ($10^{4,5}$ TCID₅₀/ml). Todas las cerdas parieron a su hora prevista.

10 La Tabla 1 proporciona los resultados para el experimento de cepas del virus del PRRS PP5. El primer grupo PP5-WT es el virus de tipo silvestre o el control de virulencia/enfermedad. El grupo PP5-MSV es el virus de cepa madre de la cepa atenuada PP5. PP5-BP representa el quinto último pase (pase de cerdo) desde PP5-MSV para ver si tiene lugar la reversión cualquiera a virus de tipo silvestre.

15 Los resultados del experimento de PP5 se resumen en la Tabla 2. El PP5-WT provoca una mortalidad en el parto del 69% comparado con PP5-MSV y PP5-BP habiendo provocado sólo del 16% de la mortalidad en el parto al 19% de la mortalidad en el parto, respectivamente.

Tabla 1: PP5

Grupo	Nº de Cerdas	Anticuerpo Elisa	% de Mortalidad en el Nacimiento
PP5-WT	40	NT	100%
PP5-WT	165	0,9	85%
PP5-WT	313	1,3	67%
PP5-WT	1138	1,2	25%
PP5-WT	1156	1,2	45%
Totales de PP5-WT			69%
PP5-MSV	1344	0,511	20%
PP5-MSV	1347	0,002	0%
PP5-MSV	1348	1,005	40%
PP5-MSV	1350	1,151	15%
PP5-MSV	1353	0,899	0%
PP5-MSV	1355	1,188	13%
Totales de PP5-MSV			16%

PP5-BP	1345	0,932	38%
PP5-BP	1346	0,56	13%
PP5-BP	1349	0,515	33%
PP5-BP	1351	0,569	0%
PP5-BP	1352	1,174	27%
PP5-BP	1354	0,624	0%
Totales de			
PP5-BP			19%

Tabla 2: Resumen de PP5

	% Mortalidad en el Nacimiento	
Virus de Tipo Silvestre	69%	PP5-WT
Virus de Cepa Madre	16%	PP5-MSV
Virus de Último Pase	19%	PP5-BP

Experimento de LC13

5 Las cerdas seronegativas de PRRS se inocularon a los 85 días de gestación por vía intranasal (3 ml/fosa nasal) con la cepa de vacunas de cepa madre LC13 ($10^{4,5}$ TCID₅₀/ml). Todas las cerdas parieron a su hora prevista.

La Tabla 3 proporciona los resultados para el experimento de cepas del virus del PRRS LC13. El primer grupo LC13-WT es el virus de tipo silvestre o el control de virulencia/enfermedad. El grupo LC13-MSV es el virus de cepa madre de la cepa atenuada LC13. LC13-BP representa el quinto último pase (pase de cerdo) desde LC13-MSV para ver si tiene lugar la reversión cualquiera a virus de tipo silvestre.

15 Los resultados del experimento de LC13 se resumen en la Tabla 4. El LC13-WT provoca una mortalidad en el parto del 86% de los cochinitos, mientras que LC13-MSV y LC13-BP sólo provocan del 12% de la mortalidad en el parto al 15% de la mortalidad en el parto, respectivamente.

Tabla 3: LC13

Grupo	Nº de Cerdas	Anticuerpo Elisa	% de Mortalidad en el Nacimiento
LC13-WT	187	1,3	75%
LC13-WT	309	NT	100%
LC13-WT	518	0,8	100%

LC13-WT	858	1,2	88%
LC13-WT	1041	1,2	56%
Totales de			
LC13-WT			86%
LC13-MSV	843	1,0	0%
LC13-MSV	845	0,7	8%
LC13-MSV	846	0,0	0%
LC13-MSV	848	1,1	25%
LC13-MSV	850	1,0	11%
Totales de			
LC13-MSV			12%
LC13-BP	844	<0,1	0%
LC13-BP	847	<0,1	31%
LC13-BP	849	<0,1	10%
LC13-BP	851	<0,1	11%
LC13-BP	853	<0,1	0%
Totales de			
LC13-BP			13%

Tabla 4: Resumen de LC13

	% Mortalidad en el Nacimiento	
Virus de Tipo Silvestre	86%	LC13-WT
Virus de Cepa Madre	12%	LC13-MSV
Virus de Último Pase	13%	LC13-BP

Los datos de anticuerpos del ensayo (Elisa) inmunosorbente de unión a
 5 enzimas hallados en las Tablas 1 y 3 representan los resultados de un ensayo
 de anticuerpos Elisa en las cerdas. ELISA es el ensayo más comúnmente
 utilizado para la detección de anticuerpos contra el PRRS. El HerdChek PRRS
 ELISA fabricado por IDEXX Laboratories Inc. es para la detección de
 anticuerpos anti-PRRS de proteínas de la nucleocápside (N) del suero o el
 10 plasma porcino. Los resultados del ensayo se determinaron basándose en los
 valores de la Muestra/Positivo (S/P): positivo = tasa de S/P > 0,4, negativo =

tasa de S/P < 0,4. Como los resultados muestran en la Tabla 1 y 3, ambos LC13-MSV y PP5-MSV aumentan los anticuerpos para el PRRS. Estos datos generados proporcionan evidencias de una composición inmunógena.

- 5 Los datos presentados en esta solicitud demuestran claramente que las cepas de virus atenuadas del PRRS PP5 y LC13 son ambas seguras e inducen una respuesta inmune.

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunógena para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra la enfermedad provocada por el virus del
5 síndrome reproductivo y respiratorio porcino, dicha composición comprendiendo una cantidad eficaz de un virus del PRRS atenuado seleccionado del grupo que consiste en el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6231, el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6282 y combinaciones de los mismos; y un vehículo o disolvente farmacéuticamente aceptable.
10
2. La composición inmunógena de la reivindicación 1, en la que dicho virus es el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6281.
3. La composición inmunógena de la reivindicación 1, en la que dicho virus
15 es el virus del PRRS atenuado de ATCC PTA-6282.
4. Una composición inmunógena polivalente para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra la enfermedad provocada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, dicha composición comprende
20 una cantidad eficaz de dos o más virus atenuados, que comprende el virus del PRRS de ATCC PTA-6281 y el virus del PRRS de ATCC PTA-6282.
5. La composición inmunógena de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, comprende adicionalmente un adyuvante.
25
6. La composición inmunógena polivalente de la reivindicación 5, comprende adicionalmente un adyuvante.
7. Un virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino atenuado PP5
30 como se representa por el depósito de ATCC N° PTA-6282.
8. Un virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino atenuado LC13 como se representa por el depósito de ATCC N° PTA-6281.
- 35 9. El uso de una composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de

las reivindicaciones 1-4 o de una composición inmunógena polivalente de acuerdo con la reivindicación 6 en la fabricación de un medicamento para usarse en la inducción de una respuesta inmune protectora contra una enfermedad provocada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino.

5