SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-058044- -00000-0000
Fecha: 2011-05-11 17:00:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 160

PCT

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

11-58044

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COM.
INVENTARI

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN

TITULO: USO DE ANTIGENO DE MYCOPLASMA BOVIS

SOLICITANTE: BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

DIRECCIÓN: Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 11 de Mayo de 2011

P2011/000050

31-05-2011

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOC

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

No. 11-058044- -00000-0000

Fecha: 2011-05-11 17:00:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 160

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2011/000050**

SOLICITUD DE:

(1)

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

(2) **SOLICITANTE (71)**

Nombre: **BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA.**
Dirección: 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002
Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos
Lugar de Constitución: Estados Unidos
Teléfono: **Fax:**
E-mail:

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual
Número

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE
Dirección: Diagonal 34 No. 5-28 Bogotá, Colombia
Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [X] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual
Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: 1) MICHAEL BECK, **2)** PHILLIP WAYNE HAYES, **3)** JEFFREY KNITTEL
Dirección: Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Higheay, St. Joseph, Missouri 64506-2002 E.U.A.
Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

(5) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/061610 Fecha Octubre 22, 2009

Publicación Internacional No. WO 2010/051210 Fecha Mayo 06, 2010

(6) **Título (54)** **USO DE ANTIGENO DE MYCOPLASMA BOVIS**

Clasificación Internacional (51) A61K 39/02, C12N 1/36; A61P 31/04

Prioridad SI [X] NO [ ]	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	US	Octubre 31, 2008	61/110.286

(9) **Comprobante de pago No.** 11- **Fecha** Mayo de 2011

(10) **ANEXOS**

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple. Ver expediente No. 11-009.242
- [x] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.G
- [ ] Declaraciones.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0044746

Bogotá D.C., Mayo 10 de 2011 - 16:19:06

RECIBIDO DE : OLARTERAISBECK NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157074481	10/05/2011	10.179.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr UNDITARIO	Vr CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	571.000.00	571.000.00
				$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
*****

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-058044- -00000-0000
Fecha: 2011-05-11 17:00:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 160

Este documento público es una traducción al español de un documento en idioma inglés presentado ante mí.
ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Ministerio de Justicia
Licencia 0041/1996

ROBERTO M. OLARTE GARCIA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minijusticia 1996

ESTADO DE MISSOURI
Oficina del Secretario de Estado

Solicitado para uso en COLOMBIA
No para ser usado en los Estados Unidos de América.
El propósito de la Apostilla es el de certificar la autenticidad de la rúbrica del funcionario quien firma el documento, el cargo del funcionario quien firma el documento, y, donde fuese adecuado, la certificación del sello.

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América

   Este documento público

2. ha sido firmado por JUANITA M. NOBLE
3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de Missouri
4. lleva el sello de JUANITA M. NOBLE - NOTARIO PÚBLICO - ESTADO DE MISSOURI

CERTIFICA

5. en Jefferson City, Missouri
6. este 24 de febrero de 2011
7. Por Robin Carnahan, Secretario de Estado, Estado de Missouri
8. No. 232026
9. (SELLO OFICIAL: SELLO DEL SECRETARIO DE ESTADO - MISSOURI)
10. Firma:

    (firma: ilegible)

Estado de Missouri
Condado de Buchanan

El 14 de febrero de 2011, anti mi Juanita M. Noble, Notario Público para este estado, compareció de manera personal **R. Michael Herrman**, Sub-Secretario y Director Jurídico para Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., quien doy fe de ser la persona cuyo nombre está suscrito en el presente documento quien actúa a nombre de dicha compañía y reconoció ante mí que firmó la misma para los fines expresados en el mismo.

En testimonio del cual me suscribo y coloco el sello oficial.

(firma ilegible)
Notario Público

Mi comisión vence: 3/4/12

Sello: JUANITA M. NOBLE
Notario Público, Sello Notarial
Estado de Missouri
Condado de Buchanan
Comisión No. 08495643
Mi comisión vence el 4 de marzo de 2012

ESTADO DE MISSOURI
Oficina del Secretario de Estado

Solicitado para uso en COLOMBIA
No para ser usado en los Estados Unidos de América.
El propósito de la Apostilla es el de certificar la autenticidad de la rúbrica del funcionario quien firma el documento, el cargo del funcionario quien firma el documento, y, donde fuese adecuado, la certificación del sello.

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América

   Este documento público

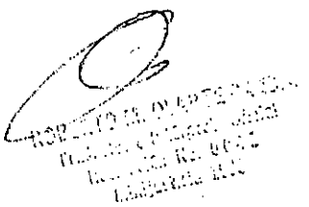
2. ha sido firmado por JUANITA M. NOBLE
3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de Missouri
4. lleva el sello de JUANITA M. NOBLE - NOTARIO PÚBLICO - ESTADO DE MISSOURI

CERTIFICA

5. en Jefferson City, Missouri
6. este 3 de marzo de 2011
7. Por Robin Carnahan, Secretario de Estado, Estado de Missouri
8. No. 232205
9. (SELLO OFICIAL: SELLO DEL SECRETARIO DE ESTADO - MISSOURI)

10. Firma:

    (firma: ilegible)



OLARTE MOURE
OLARTEMOURE & ASOCIADOS LTDA.

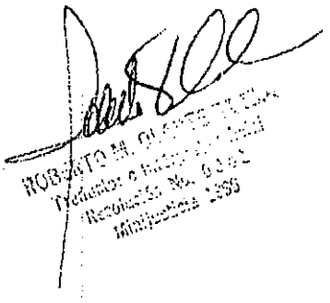
Certificación Notarial

(traducción adicional)

Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. Declaración de Consentimiento Unánime de los Directores con fecha de 8 de noviembre de 2007.

Estatutos de Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. 19 de mayo de 2009

(firma ilegible)
R. Michael Herrman
Sub-Secretario
Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.



STATE OF MISSOURI

Office of
Secretary of State

Requested for use in COLOMBIA

Not for use within the United States of America.

The purpose of the Apostille is to certify the authenticity of the signature of the official signing the document, the capacity in which the official signing the document has acted, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp.

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by JUANITA M. NOBLE

3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC - STATE OF MISSOURI

4. bears the seal/stamp of JUANITA M. NOBLE - NOTARY PUBLIC - STATE OF MISSOURI

Certified

5. at Jefferson City, Missouri

6. the 24th day of FEBRUARY, 2011.

7. by Robin Carnahan, Secretary of State, State of Missouri

8. No. 232026

9. Seal/Stamp

SEAL OF THE SECRETARY OF STATE
MISSOURI

10. Signature:

Robin Carnahan
Secretary of State

Comm. 27 (01-01)

OLARTEMOURE
OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Power of Attorney

The undersigned,

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.

domiciled in

2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO 64506-2002 United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's **Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property righ, also to file Unfair competition actions and request injunctions** in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications, collect refunds, desist, settle, conciliate or negotiate. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.

domiciliado en

2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO 64506-2002 United States of America

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure** poder amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las **Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual y también para presentar acciones de competencia desleal y pedir medidas cautelares a nombre** de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir, transigir, y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma: R. Michael Jr. — Assistant Secretary

Date/Fecha: 2/14/2011

City,Country/Ciudad,País:

USA

OLARTEMOURE
OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

State of Missouri)
)
County of Buchanan)

On this 14th day of Feb. in the year 2011 before me, Juanita M. Noble, Asst. a Notary Public in and for said state, personally appeared R. Michael Herrman, Secretary and General Counsel for Beohringer Ingelheim Vetmedica, Inc., known to me to be the person whose name is subscribed to the within instrument on behalf of said corporation and acknowledged to me that he executed the same for the purposes therein stated.

In witness whereof, I hereunto set my hand and official seal.

Juanita M. Noble
Notary Public

My Commission Expires: 3/4/12

(seal)

JUANITA M. NOBLE
Notary Public, Notary Seal
State of Missouri
Buchanan County
Commission # 08495643
My Commission Expires March 04, 2012

STATE OF MISSOURI

Office of
Secretary of State

Requested for use in COLOMBIA
Not for use within the United States of America.
The purpose of the Apostille is to certify the authenticity of the signature of the official signing the document, the capacity in which the official signing the document has acted, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp.

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document
2. has been signed by JUANITA M NOBLE
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC - STATE OF MISSOURI
4. bears the seal/stamp of JUANITA M NOBLE - NOTARY PUBLIC - STATE OF MISSOURI

Certified

5. at Jefferson City, Missouri
6. the 3RD day of MARCH, 2011
7. by Robin Carnahan, Secretary of State, State of Missouri
8. No. 232205
9. Seal/Stamp
10. Signature:

SEAL OF THE SECRETARY OF STATE MISSOURI

Robin Carnahan
Secretary of State

Comm. 27 (01-01)

CLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Notarial Certification

On this date,

The undersigned Notary Public certifies:

1. That

R. Michael Herrman

of legal age and domiciled in

2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO 64506, USA

signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Secretary of **BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.**

3. That **BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.,** having its principal place of business located in **2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO 64506-2002 United State of America** is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. Unanimous Written Consent of Directors dated November 8, 2007

Bylaws of Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. May 19, 2009

R. Michael Herrman
Assistant Secretary
Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que

R. Michael Herrman

mayor de edad y domiciliado

2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO 64506, USA

suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

de

3. Que

con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

...TEMOURE
...LARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

State of Missouri)
)
County of Buchanan)

On this 1st day of March, in the year 2011 before me, Juanita M. Noble, a Notary Public in and for said state, personally appeared R. Michael Herrman, Assistant Secretary and General Counsel for Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., known to me to be the person whose name is subscribed to the within instrument on behalf of said corporation and acknowledged to me that he executed the same for the purposes therein stated.

In witness whereof, I hereunto set my hand and official seal.

Juanita M. Noble
Notary Public

My Commission Expires: 3/4/12

JUANITA M. NOBLE
Notary Public, Notary Seal
State of Missouri
Buchanan County
Commission # 08495643
My Commission Expires March 04, 2012

Box No. VIII (ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII (i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

In relation to international application no. PCT/US2009/061610,

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

(i) Jeffrey P. KNITTEL, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002, United States of America, a citizen of the USA, Michael BECK, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002, United States of America, a citizen of the USA, Phillip Wayne HAYES, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002, United States of America, a citizen of the USA, are the inventors for the subject matter for which protection is sought by way of this application.

(ii) BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC. is entitled as employer of the inventors Jeffrey P. KNITTEL, Michael BECK and Phillip HAYES.

Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002, United States of America

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (ii)".

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
6 May 2010 (06.05.2010)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2010/051210 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 39/02 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
C12N 1/36 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/061610

(22) International Filing Date:
22 October 2009 (22.10.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/110,286 31 October 2008 (31.10.2008) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.** [US/US]; 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **KNITTEL, Jeffrey** [US/US]; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002 (US). **BECK, Michael** [US/US]; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002 (US). **HAYES, Phillip Wayne** [US/US]; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002 (US).

(74) Agents: **MORRISON, Joyce** et al.; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St. Joseph, Missouri 64506-2002 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

WO 2010/051210 A1

(54) Title: USE OF VARIOUS ANTIGENS INCLUDING ANTIGENS FROM MYCOPLASMA BOVIS IN MULTIVALENT VACCINE COMPOSITION

(57) Abstract: The present invention relates to combination vaccines and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein the infections are caused by M. bovis and at least one further cattle relevant pathogen. The combination vaccine as described herein comprises at least one M. bovis antigen, preferably the attenuated, avirulent M. bovis as provided herewith and one or more further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle.

MULTIVALENT VACCINE COMPOSITION.

SEQUENCE LISTING

This application contains a sequence listing in paper format and in computer readable format, the teachings and content of which are hereby incorporated by reference. The sequence listing is identical to that incorporated in WO2008/030619.

BACKGROUND

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) is considered to be one of the more pathogenic species of Mycoplasma and causes significant economic losses worldwide. Mycoplasmas cause severe clinical signs in cattle of all ages. *M. bovis* is the most frequent Mycoplasma pathogen found to cause pneumonia, mastitis, and arthritis in cattle and its etiological role has also been associated with otitis, keratoconjuctivitis, synovitis, and reproductive disorders in cows and bulls. In general, Mycoplasmas are difficult to treat since they lack a cell wall or membrane, which tends to make them resistant to several classes of commonly used broad-spectrum antibiotic treatments. Mycoplasmas differ from viruses in that Mycoplasmas are larger than most viruses and damage tissue cells by attaching to the surface of cells and destroying them, rather than by entering the cells. Animals infected with *M. bovis* have depressed immune responses and can exhibit signs of *M. bovis* infection such as fever, depression, anorexia, labored breathing, nasal and ocular discharge, coughing, sneezing, gasping, grunting, lameness and swollen joints, mastitis, middle ear infections, abortions, recumbence and death. The organism persists in unsanitary, warm, moist environments. Mycoplasmas can survive in milk, and even seem to thrive in the presence of large numbers of leukocytes, which are produced in response to the infection.

There are several references available in the art disclosing *M. bovis* vaccines. U.S. Patent

No. 6,548,069 discloses a vaccine composition that incorporates a whole cell inactivated bacterin containing at least two killed *M. bovis* strains. Other references available disclose passaging an *M. bovis* strain less than 10 times to prepare an inactivated vaccine, but do not describe attenuation of an infectious or pathogenic *M. bovis* strain through serial passaging or any such attenuated live *M. bovis* strain as the essence of an avirulent live culture vaccine.

The prior art is deficient in that killed *M. bovis* is not as effective or efficient in lessening the severity of clinical symptoms associated with a *Mycoplasma bovis* infection. Even passage at a low level does not produce a Mycoplasma vaccine with high efficacy such that clinical symptoms are greatly reduced. The few low passage, inactivated, *M. bovis* vaccines that are available do not show a large reduction in the severity of clinical symptoms. Additionally, the U.S. Patent No. 6,548,069 strongly teaches away from the idea of a high passage, attenuated strain of *M. bovis* being used in an immunogenic or vaccine composition by teaching:

"Because a Mycoplasma isolate may rapidly alter its antigens in culture, high passage strains of greater than about 50 passages may lose infectivity and elicit a poorer immune response when used in a bacterin of the present invention. Therefore, it is preferable to employ freshly isolated strains or cultured strains that are still virulent; that is, strains that have retained the ability to be infectious in the host animal. While no critical number of generations is known to exist, the present invention preferably starts with a Mycoplasma strain which has been passed no more than about ten, and preferably only about five or less times before mass scale production. By using strains with fewer generations in culture, it is believed that the antigens retain their natural state and thus will elicit a protective immune response against the infectious microorganism."

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 (BVDV-1) and type 2 (BVDV-2) cause bovine viral diarrhea (BVD) and mucosal disease (MD) in cattle (Baker, 1987; Moennig and Plagemann, 1992; Thiel et al., 1996). The division of BVDV into 2 serotypes is based on significant differences at the level of genomic sequences (summarized in Heinz et al., 2000)

which are also obvious from limited cross neutralizing antibody reactions (Ridpath et al. 1994). Inactivation of the RNase activity residing within the E^{rns} results in an attenuated apathogenic BVDV which can be used as a modified live vaccine (WO 99/64604, the content of which is entirely incorporated by reference). The international patent application WO2005/111201 (the content of which is entirely incorporated by reference) provides a further generation of an attenuated BVDV suitable for MLV vaccines, which comprises a multiple modified BVDV having at least one mutation in the coding sequence for glycoprotein E^{rns} and at least another mutation in the coding sequence for N^{pro}, wherein said mutation in the coding sequence for glycoprotein E^{rns} leads to inactivation of RNase activity residing in E^{rns} and/or said mutation in the coding sequence for N^{pro} leads to inactivation of said N^{pro}. Furthermore, various conventional attenuated BVDV viruses are known in the art, which are also suitable candidates for vaccine development.

Parainfluenza-3 virus (PI-3) is an RNA virus classified in the paramyxovirus family. Infections caused by PI-3 are common in cattle. Although PI-3 is capable of causing disease, it is usually associated with mild to subclinical infections. The most important role of PI-3 is to serve as an initiator that can lead to the development of secondary bacterial pneumonia. Clinical signs include pyrexia, cough, serous nasal and lacrimal discharge, increased respiratory rate, and increased breath sounds. The severity of clinical signs worsen with the onset of bacterial pneumonia. Fatalities from uncomplicated PI-3 pneumonia are rare. Lesions include cranioventral lung consolidation, bronchiolitis, and alveolitis with marked congestion and haemorrhage. Inclusion bodies may be identified. Most fatal cases will also have a concurrent bacterial bronchopneumonia.

Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) is an RNA virus classified as a pneumovirus in the paramyxovirus family. In addition to cattle, sheep and goats can also be infected by respiratory syncytial viruses. This virus was named for its characteristic cytopathic effect—the formation of syncytial cells. BRSV is distributed worldwide, and the virus is indigenous in the cattle population. BRSV infections associated with respiratory disease occur predominantly in

young beef and dairy cattle. Passively derived immunity does not appear to prevent BRSV infections but will reduce the severity of disease. Initial exposures to the virus are associated with severe respiratory disease; subsequent exposures result in mild to subclinical disease. BRSV appears to be an important virus in the bovine respiratory disease complex because of its frequency of occurrence, predilection for the lower respiratory tract, and its ability to predispose the respiratory tract to secondary bacterial infection. In outbreaks, morbidity tends to be high, and case fatality can be 0-20%. Signs include increased rectal temperature 40-42°C, depression, decreased feed intake, increased respiratory rate, cough, and nasal and lacrimal discharge. Generally, respiratory signs predominate. Dyspnea may become pronounced in the later stages of the disease. Subcutaneous emphysema is sometimes reported. Secondary bacterial pneumonia is a frequent occurrence. A biphasic disease pattern has been described but is not consistent. Gross lesions include a diffuse interstitial pneumonia with subpleural and interstitial emphysema along with interstitial edema. These lesions are similar to and must be differentiated from other causes of interstitial pneumonia. Histologic examination reveals syncytial cells in bronchiolar epithelium and lung parenchyma, intracytoplasmic inclusion bodies, proliferation and/or degeneration of bronchiolar epithelium, alveolar epithelialization, edema, and hyaline membrane formation.

Bovine Herpesvirus (BHV-1) is associated with several diseases and symptoms in cattle: Infectious bovine rhinotracheitis (IBR), infectious pustular vulvovaginitis (IPV), balanoposthitis, conjunctivitis, abortion, encephalomyelitis, and mastitis. Only a single serotype of BHV-1 is recognized; however, three subtypes of BHV-1 have been described on the basis of endonuclease cleavage patterns of viral DNA. These types are referred to as BHV-1.1 (respiratory subtype), BHV-1.2 (genital subtype), and BHV-1.3 (encephalitic subtype). Recently, BHV-1.3 has been reclassified as a distinct herpesvirus designated BHV-5. BHV-1 infections are widespread in the cattle population. In feedlot cattle, the respiratory form is most common. The viral infection alone is not life-threatening but predisposes cattle to secondary bacterial pneumonia, which may result in death. In breeding cattle, abortion or genital infections are more common. Genital infections can occur in bulls (infectious pustular balanoposthitis) and cows (IPV) within 1-3 days

of mating or close contact with an infected animal. Transmission can occur in the absence of visible lesions and through artificial insemination with semen from subclinically infected bulls. Cattle with latent BHV-1 infections generally show no clinical signs when the virus is reactivated, but they do serve as a source of infection for other susceptible animals and thus perpetuate the disease. The incubation period for the respiratory and genital forms is 2-6 days. In the respiratory form, clinical signs range from mild to severe, depending on the presence of secondary bacterial pneumonia. Clinical signs include pyrexia, anorexia, coughing, excessive salivation, nasal discharge that progresses from serous to mucopurulent, conjunctivitis with lacrimal discharge, inflamed nares (hence the common name "red nose"), and dyspnea if the larynx becomes occluded with purulent material. Pustules may develop on the nasal mucosa and later form diphtheritic plaques. Conjunctivitis with corneal opacity may develop as the only manifestation of BHV-1 infection. In the absence of bacterial pneumonia, recovery generally occurs 4-5 days after the onset of clinical signs. Abortions may occur concurrently with respiratory disease but can also occur up to 100 days after infection. Abortions can occur regardless of the severity of disease in the dam. Abortions generally occur during the second half of pregnancy, but early embryonic death may also occur. The first signs of genital infections in cows are frequent urination, elevation of the tailhead, and a mild vaginal discharge. The vulva is swollen, and small papules, then erosions and ulcers, are present on the mucosal surface. If secondary bacterial infections do not occur, animals recover in 10-14 days. If bacterial infection occurs, there may be inflammation of the uterus and transient infertility, with purulent vaginal discharge for several weeks. In bulls, similar lesions occur on the penis and prepuce. BHV-1 infection can be severe in young calves and cause a generalized disease. Pyrexia, ocular and nasal discharges, respiratory distress, diarrhea, incoordination, and eventually convulsions and death may occur in a short period after generalized viral infection. IBR is rarely fatal in cattle unless complicated by bacterial pneumonia. In uncomplicated IBR infections, most lesions are restricted to the upper respiratory tract and trachea. Petechial to ecchymotic hemorrhages may be found in the mucous membranes of the nasal cavity and the paranasal sinuses. Focal areas of necrosis develop in the nose, pharynx, larynx, and trachea. The lesions may coalesce to form plaques. The sinuses are often filled with a serous or serofibrinous exudate. As the disease

progresses, the pharynx becomes covered with a serofibrinous exudate, and blood-tinged fluid may be found in the trachea. The pharyngeal and pulmonary lymph nodes may be acutely swollen and hemorrhagic. The tracheitis may extend into the bronchi and bronchioles; when this occurs, epithelium is sloughed in the airways. The viral lesions are often masked by secondary bacterial infections. In young animals with generalized BHV-1 infection, erosions and ulcers overlaid with debris may be found in the nose, esophagus, and forestomachs. In addition, white foci may be found in the liver, kidney, spleen, and lymph nodes. Aborted fetuses may have pale, focal, necrotic lesions in all tissues, but which are especially visible in the liver.

A number of other Bovine Respiratory Viruses have been identified as being involved in BRD. ***Bovine herpesvirus-4*** has been implicated in several diseases, including BRD. Bovine adenovirus has been associated with a wide spectrum of diseases, with bovine adenovirus type 3 being the serotype most often associated with BRD. Two serotypes of bovine rhinovirus have been recognized to cause respiratory tract infections in cattle. Other viruses reported to be associated with BRD include ***bovine reovirus***, ***enterovirus***, and ***coronavirus***. These viruses have a role similar to the other viruses previously discussed in that, in combination with other stressors, they can serve as initiators of bacterial pneumonia. ***Bovine coronavirus*** is also commonly associated with diarrhea in calves. It replicates in the epithelium of the upper respiratory tract and in the enterocytes of the intestine, where it produces similar lesions to rotavirus but also infects the epithelial cells of the large intestine to produce atrophy of the colonic ridges. Vaccines are not available for prevention of these viral respiratory diseases.

Bovine rotavirus is the most common viral cause of diarrhea in calves. Group A and B rotavirus are involved, but group A is the most prevalent and clinically important and contains several serotypes of differing virulence. Rotavirus replicates in the mature absorptive and enzyme-producing enterocytes on the villi of the small intestine, leading to rupture and sloughing of the enterocytes with release of virus to infect adjacent cells. Rotavirus does not infect the immature cells of the crypts. With virulent strains of rotavirus, the loss of enterocytes exceeds the ability of the intestinal crypts to replace them; hence, villous height is reduced, with a

consequent decrease in intestinal absorptive surface area and intestinal digestive enzyme activity.

Other viruses, including Breda virus, a calici-like virus, ***Adenovirus, Astrovirus*** and ***Parvovirus***, have been demonstrated in the feces of calves with diarrhea and can produce diarrhea in calves experimentally. However, these agents can also be demonstrated in the feces of healthy calves. The importance of these agents in the syndrome of neonatal diarrhea has yet to be determined. ***Mannheimia haemolytica*** (formerly *Pasteurella haemolytica*) biotype A, serotype 1 is the bacterium most frequently isolated from the lungs of cattle with BRD. Although less frequently cultured than *M. haemolytica*, ***Pasteurella multocida*** is also an important cause of bacterial pneumonia. When pulmonary abscessation occurs, generally in association with chronic pneumonia, ***Actinomyces (Arcanobacterium) pyogenes*** is frequently isolated. Under normal conditions, *M. haemolytica* generally remains confined to the upper respiratory tract, in particular the tonsillar crypts, and is difficult to culture from healthy cattle. After stress or viral infection, the replication rate of *M. haemolytica* in the upper respiratory tract increases rapidly, as does the likelihood of culturing the bacterium. The increased bacterial growth rate and colonization of the lungs may be due to suppression of the host's defense mechanism related to environmental stressors or viral infections. It is during this log phase of growth that virulence factors are elaborated by *M. haemolytica*, such as an exotoxin that has been referred to as leukotoxin. The interaction between the virulence factors of the bacteria and host defenses results in tissue damage and development of pneumonia. Clinical signs of bacterial pneumonia are often preceded by signs of viral infection of the respiratory tract. With the onset of bacterial pneumonia, the severity of clinical signs increases and are characterized by depression and toxemia. There will be pyrexia (40-41°C); serous to mucopurulent nasal discharge; moist cough; and a rapid, shallow respiratory rate. Auscultation of the cranioventral lung field reveals increased bronchial sounds, crackles, and wheezes. In severe cases, pleurisy may develop, which is characterized by an irregular breathing pattern and grunting on expiration. The animal will become unthrifty in appearance if the pneumonia becomes chronic, which is usually associated with the formation of pulmonary abscesses. *M. haemolytica* causes a severe, acute fibrinous pneumonia or fibrinonecrotic pneumonia. The pneumonia has a bronchopneumonic pattern.

Grossly, there is extensive reddish black to greyish brown cranioventral regions of consolidation with gelatinous thickening of interlobular septa and fibrinous pleuritis. There are extensive thromboses, foci of lung necrosis, and limited evidence of bronchitis and bronchiolitis. *P. multocida* is associated with a less fulminating fibrinous to fibrinopurulent bronchopneumonia. In contrast to *M. haemolytica*, *P. multocida* is associated with only small amounts of fibrin exudation, some thromboses, limited lung necrosis, and suppurative bronchitis and bronchiolitis.

Haemophilus somnus (recently reclassified as ***Histophilus somni)*** is being increasingly recognized as an important pathogen in BRD; these bacteria are normal inhabitants of the nasopharynx of cattle. *H. somnus* infection of the lungs results in purulent bronchopneumonia that may be followed by septicemia and infection of multiple organs. Occasionally, *H. somnus* is associated with extensive pleuritis. *H. somnus* can cause an acute, usually fatal, septicemic disease that can involve the nervous, musculoskeletal, circulatory, and respiratory systems, either singly or together. The reproductive system is often affected but usually without the other systems being clinically involved. The disease may be characterized by fever, severe depression, ataxia, weakness, blindness, coma, and death within several hours to several days. It occurs sporadically in individual beef and dairy cattle and is found nearly worldwide. *H. somnus* is a gram-negative, nonmotile, nonsporeforming, pleomorphic coccobacillus that requires an enriched medium and a microaerophilic atmosphere for culture. It appears to be identical to ***Histophilus ovis*** and ***Haemophilus agni***, etiologic agents of ovine septicemia, mastitis, and epididymitis; however, transmission of *H. somnus* between sheep and cattle has not been demonstrated. Pathogenic and nonpathogenic strains have been differentiated by intracisternal inoculation of young calves with organisms from various sources. Pathogenic and nonpathogenic strains of *H. somnus* are carried in the sheath and prepuce of males, the vagina of female cattle, and in the nasal passages of both sexes. The organism may colonize the respiratory tract, presumably after inhalation, and is frequently found in urine. Prevalence of the organism in cattle is probably high because high titers of specific antibodies are found in a large proportion of tested cattle. Several disease syndromes caused by *H. somnus* have been recognized, including thrombomeningoencephalitis, fibrinopurulent bronchopneumonia, fibrinous pleuritis, and

polyarthritis. Myocardial and skeletal muscle necroses occur. Suppurative vaginitis, cervicitis, and endometritis have been documented in cows infected experimentally and naturally after breeding, and the organism is a cause of sporadic abortion. Strains of *H. somnus* that cause disease adhere to the endothelium of vessels, resulting in contraction, exposure of collagen, platelet adhesion, and thrombosis. TME results when this occurs in the brain and associated membranes, after invasion of the organism into the bloodstream of susceptible cattle. Strains may adhere to endothelium in vessels of the pleura, myocardium, synovium, or a variety of other tissues and produce inflammation in those sites (e.g., infections of the larynx and middle ear have been recorded). The susceptibility of individual animals and variations in the preference of strains of the organism for vessels in different tissues may be important in the development of the form of disease, but the mechanisms involved are incompletely understood. Reproductive problems may not necessarily be preceded by bacteremia, but the pathogenesis is poorly defined. A fever as high as 42°C is often the first sign of disease; however, this usually falls to normal or subnormal within hours. Other findings are determined by the system(s) involved and may include rapid respiration, stiffness, knuckling at the fetlocks, severe depression, ataxia, paralysis, and opisthotonos, followed by coma and death within several hours. Affected animals may be blind, and retinal hemorrhages with grey foci of retinal necrosis are sometimes seen. Signs such as hypersensitivity, convulsions, excitement, nystagmus, and circling occur inconsistently and may be related to the regions of the CNS affected in the course of disease development. Occasionally, animals are found dead, indicating a rapidly fatal course. A marked change in the total and differential WBC count is common; leukopenia and neutropenia occur in severe, usually acute, fatal disease, while neutrophilia may be present in less severe disease. In TME, the total cell count of the CSF is markedly increased, and neutrophils predominate. During septicemia, the organism can be recovered from blood, synovial fluid, CSF, brain, kidneys, urine, and a variety of other organs. The lesions are characterized by vascular thrombosis and infarction of the surrounding tissue. Randomly distributed red to brown foci of necrosis with hemorrhage on the surface and cut sections of the brain and spinal cord, retina, skeletal muscle, myocardium, kidney, intestine, and spleen are characteristic. A fibrinopurulent meningitis with cloudy CSF may sometimes be seen on the surface of the brain and spinal cord, and a polyserositis, especially

of joints and pleura, may occur. An acute fibrinous bronchopneumonia with tissue necrosis may develop after airborne infections.

Except for M. bovis, the exact role of mycoplasmas and ureaplasmas in BRD requires better definition. Mycoplasmas can be recovered from the respiratory tract of nonpneumonic calves, but the frequency of isolation is greater in those with respiratory tract disease. The mycoplasmas commonly recovered from the lungs of pneumonic calves include ***Mycoplasma dispar***, ***Ureaplasma*** **spp**. Experimental infections usually result in unapparent to mild signs of respiratory disease. This does not preclude a synergistic role for mycoplasmas in conjunction with viruses and bacteria in BRD. Lesions described include peribronchial and peribronchiolar lymphoid cuffing and alveolitis. Culture of these organisms requires special media and conditions and may take up to a week for growth of the organisms.

Chlamydiae have been identified in various parts of the world as a cause of enzootic pneumonia in calves. The causative agent is ***Chlamydia psittaci*** . Some respiratory isolates from calves have properties of immunotypes 1 and 6 and are similar to strains recovered from intestinal infections and abortions of cattle and sheep. Immunotype 6 has been recovered from pneumonic lungs of calves and pigs. Thus, the GI tract must be considered as an important site in the pathogenesis of chlamydial infections and as a natural reservoir and source of the organisms. Chlamydial pneumonia has affected calves under a whole range of conditions, including dairy farms. A synergism between *Chlamydia* and *P. haemolytica* has been demonstrated experimentally. Calves with chlamydial pneumonia are usually febrile, lethargic, and dyspneic, and have a serous and later mucopurulent nasal discharge and a dry hacking cough. Calves of weanling age are affected most frequently, but older cattle may also show signs of infection. The acute pulmonary lesion is a bronchointerstitial pneumonia. The anteroventral parts of the lungs are affected but, in severe cases, entire lobes can be involved. The dry cough is attributed to tracheitis. Microscopic changes in the lungs include suppurative bronchitis and alveolitis progressing to type II pneumocyte hyperplasia and interstitial thickening.

Bovine genital campylobacteriosis is a venereal disease of cattle characterized primarily by early embryonic death, infertility, a protracted calving season, and occasionally, abortion. Distribution is probably worldwide. The cause is the motile, gram-negative, curved or spiral, polar flagellated bacterium ***Campylobacter fetus venerealis*** or ***Campylobacter fetus fetus***. For many years, it was thought that *C. fetus fetus* (formerly *C. fetus intestinalis*) was generally an intestinal organism, only occasionally caused abortion in cattle, and was not a cause of infertility. However, it has been shown that *C. fetus fetus* can also be a significant cause of the classic infertility syndrome usually attributed to *Campylobacter fetus venerealis*. There are several strains of *C. fetus fetus*, and the only way to determine if a strain is a cause of infertility is to test that possibility in a group of heifers. *Campylobacter* spp are very labile and are destroyed quickly by heating, drying, and exposure to the atmosphere. Unless cultured quickly after collection from the animal and grown under microaerophilic or anaerobic conditions, campylobacters will not grow. *Campylobacter fetus* is transmitted venereally and also by contaminated instruments, bedding, or by artificial insemination using contaminated semen. Individual bulls vary in their susceptibility to infection because some become permanent carriers, while others appear to be resistant to infection. Bulls can also transmit the infection mechanically for several hours after copulating with an infected cow. In cows, the duration of the carrier state is also variable; some clear the infection rapidly, while others can carry *C. fetus* for $\geq$ 2 yr. IgA antibodies are shed in cervical mucus in significant amounts in ~50% of cows for several months after infection and are useful diagnostically. Although most of the genital tract may be free of infection when a cow eventually conceives, the vagina may remain chronically infected, even through pregnancy. Cows are systemically normal, but there is are variable degrees of mucopurulent endometritis that causes early embryonic death, prolonged luteal phases, irregular estrous cycles, repeat breeding and, as a result, protracted calving periods. Observed abortions are not common. In herds not managed intensively, disease may be noticed only when pregnancy examinations reveal low or marginally low pregnancy rates but, more importantly, great variations in gestation lengths, especially when the disease has recently been introduced to the herd. In subsequent years, infertility is usually confined to replacement heifers and a few susceptible cows. Bulls are asymptomatic and produce normal semen.

Leptospirosis is a contagious disease of animals, including man, caused by various immunologically distinct leptospiral serovars, most of which are regarded as subgroups of ***Leptospira interrogans***. Infections may be asymptomatic or cause various signs, including fever, icterus, hemoglobinuria, renal failure, infertility, abortion, and death. After acute infection, leptospires frequently localize in the kidneys or reproductive organs and are shed in the urine, sometimes in large numbers for months or years. Because the organisms survive in surface waters for extended periods, the disease is often waterborne. In the U.S. the disease is primarily due to the serovars ***Leptospira hardjo***, ***Leptospira interrogans serovar hardjo (hardjo Prajitno)***, ***L. borgpetersenii serovar hardjo (hardjo Bovis)***, ***Leptospira pomona***, and ***Leptospira grippotyphosa***. However, ***Leptospira canicola*** and ***Leptospira icterohaemorrhagiae*** serovars also have been isolated. Calves may have fever, anorexia, and dyspnea, and in *Leptospira pomona* infections, icterus, hemoglobinuria, and anemia. Body temperature may rise suddenly to 40.5-41°C. Hemoglobinuria rarely lasts longer than 48-72 hrs. Icterus clears rapidly and is followed by anemia. The RBC's begin to increase in number by 4-5 days and return to normal 7-10 days later. However, *Leptospira hardjo* infections usually do not cause hemolytic anemia, which makes diagnosis more difficult. Morbidity and mortality are higher in calves than in adult cattle. In older cattle, signs vary greatly and diagnosis is more difficult. Enzootic *Leptospira hardjo* infections, which usually result in abnormal milk, are more obvious in dairy than in beef cattle. Signs usually are restricted to lowered milk and calf production; a hemolytic crisis does not occur. The milk is thick, yellow, and blood-tinged; it may contain clots, although there is little evidence of mammary inflammation. Milk production returns to normal in 10-14 days, even in the absence of treatment. Abortion and stillbirths, which are common in *Leptospira pomona* infections and sporadic in *Leptospira hardjo* infections, generally occur 3-10 weeks after initial infection. The abortions are more common during the third trimester. An abortion storm in a breeding herd is often the first indication that leptospirosis exists, because the mild initial signs often pass unnoticed. In endemically infected herds, abortions occur mostly in younger animals and are sporadic, rather than being manifested as abortion storms. Calves reared by previously infected cows are protected by colostral antibodies for up to 6 months. The calves generally have

an antibody titer similar to that of their dams. In the acute form, anemia, icterus, hemoglobinuria, and submucosal hemorrhages are prominent. The kidneys are swollen, with multifocal petechial and ecchymotic hemorrhages that become pale with time. The liver may be swollen, with minute areas of focal necrosis. Petechiae in other organs are seen in fulminating cases; however, in the more prevalent *Leptospira hardjo* infections, the lesions are primarily restricted to the kidneys.

Brucellosis is caused by bacteria of the genus *Brucella* and is characterized by abortion, retained placenta, and to a lesser extent, orchitis and infection of the accessory sex glands in males. The disease in cattle, water buffalo, and bison is caused almost exclusively by ***Brucella abortus***; however, ***Brucella suis*** or ***Brucella melitensis*** is occasionally implicated in some cattle herds. *Brucella suis* does not appear to be contagious from cow to cow. ***Brucella abortus*** Infection spreads rapidly and causes many abortions in unvaccinated herds. Typically, in a herd in which disease is endemic, an infected cow aborts only once after exposure; subsequent gestations and lactations appear normal. After exposure, many cattle become bacteremic for a short period and develop agglutinins and other antibodies; others resist infection, and a small percentage of infected cows recover. A positive serum agglutination test usually precedes abortion or a normal parturition but may be delayed in ~15% of animals. The incubation period may be variable and is related to the stage of gestation at the time of exposure. Organisms are shed in milk and uterine discharges, and the cow may become temporarily sterile. Bacteria may be found in the uterus during pregnancy, uterine involution, and infrequently, for a prolonged time in the nongravid uterus. Shedding from the vagina largely disappears with reduction of the fluids after parturition. Some infected cows that aborted previously shed brucellae from the uterus at subsequent normal parturitions. Organisms are shed in milk for a variable length of time—in most cattle for life. Natural transmission occurs by ingestion of organisms, which are present in large numbers in aborted fetuses, fetal membranes, and uterine discharges. Cattle may ingest contaminated feed and water, or lick contaminated genitals of other animals. Venereal transmission by infected bulls to susceptible cows appears to be rare. Transmission may occur by artificial insemination when *Brucella*-contaminated semen is deposited in the uterus but, reportedly, not when deposited in the midcervix. Brucellae may enter the body through mucous

membranes, conjunctivae, wounds, or even intact skin. Mechanical vectors (eg, other animals, including man) may spread infection. Brucellae have been recovered from fetuses and from manure that has remained in a cool environment for > 2 mo. Exposure to direct sunlight kills the organisms within a few hours. Abortion is the most obvious manifestation. Infections may also cause stillborn or weak calves, retained placentas, and reduced milk yield. Usually, general health is not impaired in uncomplicated abortions. Seminal vesicles, ampullae, testicles, and epididymides may be infected in bulls; therefore, organisms are in the semen. Agglutinins may be demonstrated in seminal plasma from infected bulls. Testicular abscesses may occur. Long-standing infections may result in arthritic joints in some cattle.

Clostridia are relatively large, anaerobic, spore-forming, rod-shaped organisms. The spores are oval, sometimes spherical, and are central, subterminal, or terminal in position. The vegetative forms of clostridia in tissue fluids of infected animals occur singly, in pairs, or rarely in chains. Differentiation of the various pathogenic and related species is based on cultural characteristics, spore shape and position, biochemical reactions, and the antigenic specificity of toxins or surface antigens. The natural habitats of the organisms are the soil and intestinal tract of animals, including man. Pathogenic strains may be acquired by susceptible animals either by wound contamination or by ingestion. Diseases thus produced are a constant threat to successful livestock production in many parts of the world.

Clostridium haemolyticum is a soil-borne organism that may be found naturally in the GI tract of cattle. It can survive for long periods in contaminated soil or in bones from carcasses of animals that had been infected. After ingestion, latent spores ultimately become lodged in the liver. The incubation period is extremely variable, and the onset depends on the presence of a locus of anaerobiosis in the liver. Such a nidus for germination is most often caused by fluke infection, much less often by high nitrate content of the diet, accidental liver puncture, liver biopsy, or any other cause of localized necrosis. When conditions for anaerobiosis are favorable, the spores germinate, and the resulting vegetative cells multiply and produce β toxin (phospholipase C), which causes intravascular hemolysis and its sequelae, including hemolytic

anemia and hemoglobinuria. Cattle may be found dead without premonitory signs. Usually, there is a sudden onset of severe depression, fever, abdominal pain, dyspnea, dysentery, and hemoglobinuria. Anemia and jaundice are present in varying degrees. Edema of the brisket may occur. Hgb and RBC levels are quite low. The duration of clinical signs varies from ~12 hr in pregnant cows to ~3-4 days in other cattle. The mortality in untreated animals is ~95%. Some cattle suffer from subclinical attacks of the disease and thereafter act as immune carriers. Dehydration, anemia, and sometimes subcutaneous edema are present. There is bloody fluid in the abdominal and thoracic cavities. The lungs are not grossly affected, and the trachea contains bloody froth with hemorrhages in the mucosa. The small intestine and occasionally the large intestine are hemorrhagic; their contents often contain free or clotted blood. An anemic infarct in the liver is virtually pathognomonic; it is slightly elevated, lighter in color than the surrounding tissue, and outlined by a bluish red zone of congestion. The kidneys are dark, friable, and usually studded with petechiae. The bladder contains purplish red urine. After death, *rigor mortis* sets in more rapidly than usual.

Clostridium chauvoei occurs naturally in the intestinal tract of animals. It probably can remain viable in the soil for many years, although it does not actively grow there. Contaminated pasture appears to be a source of organisms. Outbreaks of blackleg have occurred in cattle on farms in which recent excavations have occurred, which suggests that disturbance of soil may activate latent spores. The organisms probably are ingested, pass through the wall of the GI tract, and after gaining access to the bloodstream, deposited in muscle and other tissues. In cattle, blackleg infection is endogenous, in contrast to malignant edema. Lesions develop without any history of wounds, although bruising or excessive exercise may precipitate some cases. Commonly, the animals that contract blackleg are of the beef breeds, in excellent health, gaining weight, and usually the best animals of their group. Outbreaks occur in which a few new cases are found each day for several days. Most cases occur in cattle from 6 months to 2 years old, but thrifty calves as young as 6 weeks and cattle as old as 10-12 years may be affected. The disease usually occurs in summer and fall and is uncommon during the winter. In sheep, the disease is not restricted to the young, and most cases follow some form of injury such as shearing cuts,

docking, crutching, or castration. Usually, onset is sudden and a few cattle may be found dead without premonitory signs. Acute lameness and marked depression are common. Initially, there is a fever but, by the time clinical signs are obvious, the temperature may be normal or subnormal. Characteristic edematous and crepitant swellings develop in the hip, shoulder, chest, back, neck, or elsewhere. At first, the swelling is small, hot, and painful. As the disease rapidly progresses, the swelling enlarges, there is crepitation on palpation, and the skin becomes cold and insensitive as the blood supply to the area diminishes. General signs include prostration and tremors. Death occurs in 12-48 hrs. In some cattle, the lesions are restricted to the myocardium and the diaphragm, with no reliable ante mortem evidence of the localized lesion.

Clostridium novyi has been suspected but not yet confirmed as a cause of sudden death in cattle and pigs fed high-level grain diets, and in which pre-existing lesions of the liver were not detectable. The lethal and necrotizing toxins (primarily α toxin) damage hepatic parenchyma, thereby permitting the bacteria to multiply and produce a lethal amount of toxin. Usually, death is sudden with no well-defined signs. Affected animals tend to lag behind the flock, assume sternal recumbency, and die within a few hours. Most cases occur in the summer and early fall when liver fluke infection is at its height. The disease is most prevalent in 1- to 4-year-old sheep and is limited to animals infected with liver flukes. Differentiation from acute fascioliasis may be difficult, but peracute deaths of animals that show typical lesions on necropsy should arouse suspicion of infectious necrotic hepatitis. The most characteristic lesions are the greyish yellow necrotic foci in the liver that often follow the migratory tracks of the young flukes. Other common findings are an enlarged pericardial sac filled with straw-colored fluid, and excess fluid in the peritoneal and thoracic cavities. Usually, there is extensive rupture of the capillaries in the subcutaneous tissue, which causes the adjacent skin to turn black (hence the common name, black disease).

Clostridium septicum is found in soil and intestinal contents of animals (including man) throughout the world. Infection ordinarily occurs through contamination of wounds containing devitalized tissue, soil, or some other tissue-debilitant. Wounds caused by accident, castration,

docking, unsanitary vaccination, and parturition may become infected. General signs, such as anorexia, intoxication, and high fever, as well as local lesions, develop within a few hours to a few days after predisposing injury. The local lesions are soft swellings that pit on pressure and extend rapidly because of the formation of large quantities of exudate that infiltrates the subcutaneous and intramuscular connective tissue of the affected areas. The muscle in such areas is dark brown to black. Accumulations of gas are uncommon. Severe edema of the head of rams occurs after infection of wounds inflicted by fighting. Malignant edema associated with lacerations of the vulva at parturition is characterized by marked edema of the vulva, severe toxemia, and death in 24-48 hours. Similarity to blackleg is marked, and differentiation made on necropsy is unreliable; laboratory confirmation is the only certain procedure. Horses and pigs are susceptible to malignant edema but not to blackleg.

Infectious disease caused by ***Clostridium sordellii*** is also manifested as malignant edema in cattle, and also characterized by a nongaseous, nonhemorrhagic, edematous swelling of the head, face, and neck of young rams. This infection is initiated in young rams by their continual butting of one another. The bruised and battered subcutaneous tissues provide conditions suitable for growth of pathogenic clostridia, and the breaks in the skin offer an opportunity for their entrance

Infection with ***C. perfringens*** **types A, B and C** causes severe enteritis, dysentery, toxemia, and high mortality in young calves. Types B and C both produce the highly necrotizing and lethal β toxin that is responsible for the severe intestinal damage. This toxin is sensitive to proteolytic enzymes, and disease is associated with inhibition of proteolysis in the intestine. Sow colostrum, which contains a trypsin inhibitor, has been suggested as a factor in the susceptibility of young piglets. Type C also causes enterotoxemia in adult cattle. In calves, there is acute diarrhea, dysentery, abdominal pain, convulsions, and opisthotonos. Death may occur in a few hours, but less severe cases survive for a few days, and recovery over a period of several days is possible. Hemorrhagic enteritis with ulceration of the mucosa is the major lesion in all species. Grossly, the affected portion of the intestine is deep blue-purple and appears at first glance to be

an infarction associated with mesenteric torsion. Smears of intestinal contents can be examined for large numbers of gram-positive, rod-shaped bacteria, and filtrates made for detection of toxin and subsequent identification by neutralization with specific antiserum.

This classic enterotoxemia caused by ***C. perfringens* type D** rarely occurs in cattle. It is worldwide in distribution and may occur in animals of any age. The disease has been suspected in well-nourished beef calves nursing high-producing cows grazing lush pasture and in sudden death syndrome in feedlot cattle; however, supportive laboratory evidence in the latter is lacking. Acutely affected calves not found dead show mania, convulsions, blindness, and death in a few hours. Subacutely affected calves are stuporous for a few days and may recover.

Tetanus toxemia is caused by a specific neurotoxin produced by ***Clostridium tetani*** in necrotic tissue. Almost all mammals are susceptible to this disease. Although tetanus is worldwide in distribution, there are some areas, such as the northern Rocky Mountain section of the USA, where the organism is rarely found in the soil and where tetanus is almost unknown. In general, the occurrence of *C. tetani* in the soil and the incidence of tetanus in man and horses is higher in the warmer parts of the various continents. *Clostridium tetani*, an anaerobe with terminal, spherical spores, is found in soil and intestinal tracts. In most cases, it is introduced into the tissues through wounds, particularly deep puncture wounds, which provide a suitable anaerobic environment.

Infection with ***Salmonella spp*** can produce diarrhea in animals of all ages, especially those that are stressed, closely stocked, or exposed to a heavily contaminated feed or water supply. Salmonellosis is caused by many species of salmonellae and characterized clinically by one or more of three major syndromes—septicemia, acute enteritis, and chronic enteritis. The incidence has increased with the intensification of livestock production. Young calves usually develop the septicemic form. Adult cattle develop acute enteritis. Chronic enteritis may develop occasionally in cattle. Pregnant animals may abort. In older animals, the disease is manifested by dysentery and toxemia, and mortality can be significant. While many other Salmonella spp may

cause disease, the more relevant in cattle are ***S. typhimurium***, ***S. dublin***, and ***S. newport***. Although their resulting clinical patterns are not distinct, different species of salmonellae tend to differ in their epidemiology. Plasmid profile and drug-resistance patterns are sometimes useful markers for epidemiologic studies. Feces of infected animals can contaminate feed and water, milk, fresh and processed meats from abattoirs, plant and animal products used as fertilizers or feedstuffs, pasture and rangeland, and many inert materials. The organisms may survive for months in wet, warm areas such as in feeder pig barns or in water dugouts but survive less than 1 week in composted cattle manure. Rodents and wild birds also are sources of infection. The prevalence of infection varies among species and countries and is much higher than the incidence of clinical disease, which is commonly precipitated by stressful situations such as sudden deprivation of feed, transportation, drought, crowding, parturition, and the administration of some drugs.

Further relevant gastro-intestinal pathogens are ***Escherichia coli***, ***Cryptosporidium parvum*** and ***Mycobacterium avium paratuberculosis***. *Escherichia coli* infection causes severe intestinal disease in young animals characterized as neonatal diarrhea, post weaning diarrhea, edema disease, and/or septicemia depending upon the virulence factors present in the strain causing the infection. Calves infected with pathogenic *E. coli* can develop severe diarrhea causing fatal dehydration, or fatal septicemic infections. Paratuberculosis is a chronic contagious enteritis characterized by persistent and progressive diarrhea, weight loss, debilitation, and eventually death. It affects cattle, sheep, goats, llamas, camels, farmed deer, and other domestic, exotic, and wild ruminants. It has also been recognized in wild rabbits; horses and pigs can be infected experimentally. Distribution is worldwide.

There are conflicting data on the involvement of the organism in Crohn's disease, a chronic enteritis in people. Animals with paratuberculosis should be considered as potential zoonotic risks until the situation is clarified. The causative organism is ***Mycobacterium avium paratuberculosis***, formerly known as ***M. paratuberculosis*** or ***M. johnei.*** Occasionally, other *M. avium* subspecies are isolated from cases. The organism is quite resistant and can survive on pasture for more than 1 year, but sunlight, alkaline soils, and drying reduce its survival rate. It is

shed in large numbers in feces of infected animals, and infection is acquired by ingestion of contaminated feed and water. Introduction of the disease into a clean herd is usually by subclinically infected carriers. Infection is acquired early in life, but clinical signs rarely develop in cattle < 2 years old. Resistance increases with age, and cattle first exposed as adults are unlikely to become infected. Most calves are infected soon after birth either by nursing udders contaminated with feces from infected animals or by being housed in contaminated pens. The organism can also be present in colostrum and milk of infected cows, and intrauterine infections have also been described. After ingestion, the bacteria infect macrophages in the mucosa of the lower small intestine and in associated lymph nodes. Most animals will eliminate infection by an early cell-mediated immune response that encourages microbicidal activity in macrophages. In susceptible animals, the organisms multiply and provoke a chronic enteritis that leads to clinical disease. This may take months to years to develop and is usually paralleled by a decline in cell-mediated immunity and a rise in ineffective serum antibody. However, fecal shedding begins before clinical signs are apparent. *Mycobacterium avium paratuberculosis* can be isolated from feces, mesenteric and ileocecal lymph nodes, thickened intestinal walls, and less frequently the udder and the reproductive tracts of both sexes.

Cryptosporidiosis is an enterocolitis of cosmopolitan distribution caused by the coccidian parasite ***Cryptosporidium parvum***. It is not host-specific and is common in young ruminants, particularly calves; it is also found in man and pigs and is rare in dogs, cats, and horses. Other cryptosporidia cause disease in reptiles and birds. The disease in calves, characterized by weight loss and watery diarrhea, is clinically indistinguishable from many other causes of calf diarrhea. *Cryptosporidium parvum* is a minute protozoan that is transmitted by the fecal-oral route. Oocysts are sporulated (four sporozoites) when shed in the feces and, therefore, are immediately infective. The mean incubation period is ~4 days. Calves 1-3 weeks old seem to be most susceptible. Signs such as anorexia, weight loss, diarrhea, and tenesmus, resemble those caused by several other intestinal pathogens; however, infections without signs do occur. Uncomplicated cryptosporidiosis is seldom fatal. Disease can be severe in immunocompromised individuals. If severe disease in calves is seen, other disease agents or concurrent infections should be ruled out.

Although *C. parvum* can infect virtually the entire intestinal tract, the distal small intestine usually is affected most severely. Infection in horses is limited to the small intestine. Gross lesions may consist of hyperemic intestinal mucosa and yellowish intestinal contents. Microscopically, mild to severe villous atrophy with spherical organisms in the brush border is evident. Unlike *Eimeria* and *Isospora* spp, which are intracellular parasites, *C. parvum* is intramembranous and resides within the brush border of the intestinal epithelial cells.

Inflammation of the mammary gland (mastitis) is almost always due to the effects of infection by bacterial or mycotic pathogens. Mastitis may be associated with infection by many other organisms, including *Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae,* ***Streptococcus agalactiae,*** *Staphylococcus aureus,* ***Escherichia coli,*** *Klebsiella spp. Pseudomonas aeruginosa, Actinomyces pyogenes, Mycoplasma spp, Nocardia asteroides, Serratia, Mycobacterium spp, Clostridium perfringens, Pasteurella spp, yeasts, and Prototheca spp.*

Dermatomycoses (Dermatophytosis) in animals are anthropozoonotic diseases of the skin and related tissue. Clinical symptoms are characterized by loss of hair in the affected area, hyperemia, scaling and asbestos-like scabs. Inflammation is often accompanied by suppuration. Dermatomycoses are often also characterized by localized infection of the skin. Dermatomycoses in animals carry a substantial socioeconomic impact. Diseased animals required prolonged treatment and can spread infection to both animals and humans. Dermatophytosis are caused by mycosis infections of **Trichophyton spp.** or **Microsporum spp.** Most relevant causes for cattle are ***Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes*** or ***Trichophyton sarkisovii.***

An infection of the lower respiratory tract, usually resulting in bronchitis or pneumonia, can be caused by any of several parasitic nematodes, including ***Dictyocaulus viviparus*** in cattle. This lungworm belongs to the superfamily Trichostrongyloidea and has direct life cycles. The cattle lungworm is common in northwest Europe and is the cause of severe outbreaks of "husk" or "hoose" in young grazing cattle. Because *D. viviparus* infection in cattle is the most economically important, it has been most investigated and many of the observations from it are

applicable to the other species. Clinical disease usually develops on first exposure to sufficient infective larvae. In cattle, this usually occurs during their first season at pasture; however, an increase in the number of older cattle affected has been reported. Signs of lungworm infection range from moderate coughing with slightly increased respiratory rates to severe persistent coughing and respiratory distress and even failure. Reduced weight-gains, reduced milk yields, and weight loss accompany many infections in cattle. Patent subclinical infections can occur in all species. The most consistent signs in cattle are tachypnea and coughing.

Trichomoniasis is a venereal protozoal disease of cattle characterized primarily by early fetal death and infertility, resulting in extended calving intervals. Distribution is probably worldwide. The causative protozoan, ***Trichomonas (Tritrichomonas) foetus***, is pyriform and ordinarily 10-15 × 5-10 μm, but there is considerable pleomorphism. It may become spherical when cultured in artificial media. At its anterior end, there are three flagella about the same length as the body of the parasite. An undulating membrane extends the length of the body and is bordered by a marginal filament that continues beyond the membrane as a posterior flagellum. Although *T. foetus* can survive the process used for freezing semen, it is killed by drying or high temperatures. *Trichomonas foetus* is found in the genital tracts of cattle. When cows are bred naturally by an infected bull, 30-90% become infected, suggesting that strain differences exist. Variation in breed susceptibility to trichomoniasis may also exist. Bulls of all ages can remain infected indefinitely but this is less likely in younger males. By contrast, most cows are free of infection within 3 months after breeding. However, immunity is not long lasting and reinfection does occur. Transmission can also occur when the semen from infected bulls is used for artificial insemination. The most common sign is infertility caused by embryonic death. This results in repeat breeding and a prolonged calving season. Fetal death and abortions can also occur but are not as common as losses earlier in gestation. *Trichomonas foetus* has been found in vaginal cultures taken as late as 8 months of gestation and, apparently, live calves can be born to infected dams. Pyometra occasionally develops after breeding.

Neospora caninum is an obligate intracellular protozoan parasite that has been confused

previously with ***Toxoplasma gondii***. Only asexual stages are known, and they resemble *T. gondii*. The complete life cycle of *N. caninum* is unknown, but it can be transmitted transplacentally in dogs, cattle, goats, sheep, and cats, and subsequent offspring may be affected. Tachyzoites are 5-7 × 1-5 μm, depending on the stage of division. They divide by endodyogeny. Tachyzoites are found in myocytes, neural cells, dermal cells, macrophages, and other cells. Tissue cysts up to 100 μm in diameter are found in neural cells; the cyst wall is amorphous and up to 4 μm thick. Cysts have no septa and enclose slender 7 × 1.5 μm bradyzoites. In dairy cattle, *N. caninum* is a major cause of abortion in many countries, particularly in the USA. Calves may be aborted, stillborn, born underweight, weak, or paralyzed, or they may become paralyzed within 4 weeks of birth. Non-suppurative encephalitis is the main lesion in aborted fetal tissues. Abortion can occur throughout gestation, and some cows may abort again; dams of these calves are clinically normal.

Babesiosis is caused by intraerythrocytic protozoan parasites of the genus Babesia. A wide range of domestic and wild animals and occasionally man is affected by the disease, which is transmitted by ticks and has a worldwide distribution. Two important species in cattle— ***Babesia bigemina*** and ***Babesia bovis*** — are widespread in tropical and subtropical areas and are the focus of this discussion. In endemic areas, two features are important in determining the risk of clinical disease: 1) calves have a degree of immunity (related both to colostral-derived antibodies and to age) that persists for ~6 months, and 2) animals that recover from Babesia infections are immune for life. Thus, at high levels of tick transmission, all newborn calves will become infected with Babesia by 6 mos. of age, show few if any clinical signs, and subsequently be immune. This situation of endemic stability can be upset by either a natural (eg, climatic) or artificial (eg, acaricide treatment) reduction in tick numbers to levels where tick transmission of *Babesia* to calves is insufficient to ensure all are infected during this critical early period. Other circumstances that can lead to clinical outbreaks include the introduction of susceptible cattle to endemic areas and the incursion of Babesia -infected ticks into previously tick-free areas. Strain variation in immunity has been demonstrated but is probably not of significance in the field. The acute disease generally runs a course of ~1 week. The first sign is fever (frequently 41°C or

higher), which persists throughout, and is accompanied later by inappetence, increased respiratory rate, muscle tremors, anemia, jaundice, and loss of weight with hemoglobinemia and hemoglobinuria in the final stages. CNS involvement due to sludging of parasitized erythrocytes in brain capillaries occurs frequently with *B. bovis* infection. Either constipation or diarrhea may be present. Pregnant cows often abort. With virulent strains of *B. bovis*, a hypotensive shock syndrome, combined with generalized non-specific inflammation, coagulation disturbances, and erythrocytic stasis in capillaries, contribute to the pathogenesis. With most strains of *B. bigemina*, the pathogenic effects relate more directly to erythrocyte destruction. Animals that recover from the acute disease remain infected for a number of years with *B. bovis* and for a few months in the case of *B. bigemina*. No signs are apparent during this carrier state. Lesions include an enlarged and friable spleen; a swollen liver with an enlarged gallbladder containing thick granular bile; congested, dark-colored kidneys; and generalized anemia and jaundice. The urine is often, but not invariably, red. Other organs, including the brain and heart, may show congestion or petechial hemorrhages. The susceptibility of cattle breeds to Babesia infections varies; for example, Brahman cattle are more resistant to *B. bovis* infection than are British breeds.

What is needed in the art is an immunogenic composition effective for eliciting an immunological response against *M. bovis* and at least one further cattle relevant pathogen. What is further needed is an immunogenic composition effective for lessening the severity of or reducing the incidence of signs of microbiological infections of cattle, caused by *M. bovis* and one or more other cattle relevant pathogen(s). What is still further needed is a vaccine effective for reducing or eliminating the incidence of signs of microbiological infections of cattle caused by *M. bovis* and one or more cattle relevant pathogen(s). What is still further needed is a method of treatment and/or prophylaxis of infections of cattle caused by *M. bovis* and one or more further cattle relevant pathogen(s) comprising a co-administration of *M. bovis* antigen and an immunologically active component of one or more cattle relevant pathogen(s). The co-administration may occur by the administration of two or more immunogenic compositions, each comprising one or more of the cattle relevant antigens including the *M. bovis* antigen, or by

administration of a fixed-dose immunogenic composition comprising all the cattle relevant antigens, including the *M. bovis* antigen.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention relates to combination vaccines and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein the infections are caused by *M. bovis* and at least one further cattle relevant pathogen. The combination vaccine as described herein comprises at least one *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith and one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle. The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising a *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis,* as provided herewith, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle.

According to a further aspect, the present invention relates to a combination vaccine and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and/or reproductive system. The combination vaccine comprises the attenuated, avirulent *M. bovis* as described herein and at least one further *im*munologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV), Bovine Herpes virus (BHV), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Parainfluenza Virus (PI-3), *Campylobacter fetus, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira hardjo, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and/or *Leptospira ponoma*. The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising a *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith

and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV), Bovine Herpes virus (BHV), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Parainfluenza Virus (PI-3), *Campylobacter fetus, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira hardjo, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and/or *Leptospira ponoma*.

According to a further aspect, the present invention relates to a combination vaccine and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and/or reproductive system caused by *M. bovis*, BVDV, PI-3, BRSV, IBR and/or BHV, wherein said vaccine comprises at least one *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further *im*munologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by BVDV, PI-3, BRSV IBR and/or BHV.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1: Frequency of Culture Recovery from Nasal, Tonsil and Lung Samples (Days 0, 14, 28, 35 and Post)

Figure 2: Frequency of PCR Detection from Nasal, Tonsil and Lung Samples (Days 0, 14, 28, 35 and Post)

Figure 3: Average Group Score for *M. bovis* specific Antibodies from Serum Samples (Days 0, 14, 28, 35 and 42)

Figure 4: Comparison of Serology for Live Vac I, II, III and No Vaccine Group (SQ+IN only)

Figure 5: Comparison of Serology for Live Vac I using Various Routes of Administration

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

M. bovis antigen

The immunogenic compositions or vaccines of the present invention overcomes the problems present in the prior art by providing avirulent and attenuated strains of *M. bovis*, preferably high passaged, capable of being combined with a pharmaceutically or veterinarily acceptable carrier and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a relevant cattle pathogen other than *M. bovis*. Any of those immunogenic compositions or vaccines can be used as an immunogenic composition / vaccine with improved efficacy such that signs of *M. bovis* infection and/or the *M. bovis* infection itself and/or incidence or severity, are reduced in comparison with infection by wild-type *M. bovis* strains, preferably as well as in comparison to currently available vaccines. In other words, calves given a vaccine in accordance with the present invention are at a lower risk of developing signs of *M. bovis* infection, and any clinical signs that result would be less severe or prevalent than in animals not receiving any vaccine, but were infected with *M. bovis* or received a vaccine not in accordance with the present invention. The composition of the present invention provided surprising results in that strains of *M. bovis*, preferably high passaged strains of *M. bovis* were attenuated, live, and more highly effective as components of an immunogenic composition.

The invention disclosed herein provides for avirulent and attenuated strains or isolates of *M. bovis*, preferably high passaged attenuated and avirulent strains of *M. bovis* that elicit or provoke an immune response when administered to an animal. Advantageously, the immune response protects the animals receiving the administration of the composition of the present invention such that individual animals are a lower risk of developing signs of *M. bovis* infection, and such signs would be less severe or prevalent than in animals not receiving the composition or in animals receiving a vaccine or composition not made in accordance with the present invention.

For the purposes of the present invention, the terms "isolate" and "strain" are used interchangeably and those differences between individual strains or isolates can be detected using DNA fingerprinting (i.e. different strains or isolates will have differing fingerprints),

preferably by using the method as described in WO 2008-030619.

In one embodiment, the immunogenic composition disclosed herein comprises a high passage strain of *M. bovis*. Preferably, said *M. bovis* strain is attenuated and avirulent. The immunogenic composition of the present invention produces an immune response against *M. bovis* infection in cattle. The immunogenic response to *M. bovis* infection generated or induced by administration of the immunogenic composition greatly reduces the severity of or incidence of signs of *M. bovis* infection. In another embodiment, a method of stimulating a rapid and long lasting serological humoral immune response, and consequently disease protection, using the immunogenic composition provided herewith in calves is disclosed. In yet another embodiment, a method of immunizing calves against *M. bovis* infection by administering the immunogenic composition of the present invention in an effective amount is disclosed. The immunogenic or vaccine composition of the present invention, when administered to calves subsequently challenged with a wild-type strain of *M. bovis*, exhibited a decrease in signs of *M. bovis* infection including a decrease in clinical symptoms, lung pathology, lameness, and joint pathology normally associated with *M. bovis* infection. Specifically, a reduction in lung pathology and an appreciable reduction in joint clinical symptoms and associated lameness were observed in the vaccinated group. In another embodiment of the present invention, a method for reducing signs of *M. bovis* infection is disclosed, preferably by administering any of the attenuated, avirulent *M. bovis* bacteria according to the invention and/or disclosed in the present patent applications. The reduction of signs of *M. bovis* infection is achieved by administration of the immunogenic composition of the present invention.

The attenuated and avirulent *M. bovis* high passage strains as provided herewith are preferably passaged more than 10, preferably at least 20, still more preferably at least 30, even more preferably at least 40, still more preferably, at least 50, even more preferably at least 55, still more preferably at least 60, even more preferably at least 70, still more preferably, at least 80, even more preferably at least 90, still more preferably at least 95, even more preferably at least 100, still more preferably at least 102 times, and most preferably at least 106 times,

preferably *in vitro*. Three representative *M. bovis* strains are provided, which include *M. bovis* strain 052823A106, deposited with the ATCC in Manassas, VA on October 16, 2007 under the terms of the Budapest Treaty and designated as PTA-8694; *M. bovis* strain 05249A102, also deposited with the ATCC in Manassas, VA on October 16, 2007 under the terms of the Budapest Treaty and designated as PTA-8696; and *M. bovis* strain 0519021B106, also deposited with the ATCC in Manassas, VA on October 16, 2007 and designated as PTA-8695. Each of these strains prior to passaging are pathogenic, but after passaging each of these strains as described above, and particularly after passaging more than 100 times, the resultant passaged strains were attenuated, avirulent, and produced an immune response in an animal receiving an administration of the immunogenic composition of the strain. In a preferred embodiment of the present invention, the immunogenic compositions comprise one of the three high passage, attenuated strains of *M. bovis* provided herewith.

According to another aspect, the present invention provides immunogenic compositions as described herein, comprising any of the attenuated *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694; PTA-8695; or PTA-8696, or any attenuated descendant *M. bovis* bacterium strain of any of the foregoing deposited *M. bovis* bacteria strains. More preferably, the present invention provides those immunogenic compositions comprising any of the attenuated *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694; PTA-8695; or PTA-8696. Moreover, the present invention also relates to the veterinary use of any of those specific an attenuated *M. bovis* strains as described herein, e.g. for the reduction of the severity and/or incidence of clinical symptoms of *M. bovis* infection after laboratory or natural challenge with a pathogenic strain or wild-type strain of *M. bovis*.

According to another aspect, the present invention also relates the use of an attenuated *M. bovis* bacteria having the same characteristics as the *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694; PTA-8695; or PTA-8696 in any of the immunogenic compositions as provided herewith. The term "having the same characteristics as the *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694;

PTA-8695; or PTA-8696" means that such a bacterium strain is attenuated, is capable of inducing a humoral immune response in a calf within 14 days after administration of one avirulent live culture dose of 2.1E9 CFU via the subcutaneous or intranasal route to a calf. When given at the dose via the route that induces a humoral immune response in a calf within 14 days after administration, the immunogenic composition does not cause clinical signs normally caused by an infection with a pathogenic *M. bovis* wild-type strain. As a reference method, the humoral immune response may be determined by the BIOVET *M. bovis* ELISA-Kit using the protocol provided with the test kit. Preferably, each of the strains above induces a humoral immune response within 14 days after administration of one dose of 2.1 E9 CFU via the subcutaneous or intranasal route to a calf, that has a relative ELISA score in the BIOVET *M. bovis* ELISA-Kit using the protocol provided with the test kit of at least 1.75 when expressed as Optical Density (O.D.) readings.

In another aspect, the invention is a method for the treatment or prophylaxis, including a lessening of the incidence of wild type infection in a herd or reduction in the severity of clinical signs, of *M. bovis* infection associated with wild type *M. bovis* infected animals. Additionally, administration of the vaccine in accordance with the present invention reduces the number of animals in a herd that become infected with *M. bovis*. Such a method generally involves the administration of an effective amount of an *M. bovis* strain, attenuated through the methods disclosed above, to a subject or herd of subjects in need of or that could benefit from such a treatment. Preferably, clinical symptoms are lessened in incidence or severity by at least 10%, more preferably by at least 20%, still more preferably by at least 30%, even more preferably by at least 40%, still more preferably by at least 50%, even more preferably by at least 60%, still more preferably by at least 70%, even more preferably by at least 80%, still more preferably by at least 90%, and most preferably by at least 95% in comparison to animals that are either not vaccinated or vaccinated with an *M. bovis* immunogenic composition that was available prior to the present invention but subsequently infected by wild-type *M. bovis* .

Combination partners

As described above, the present invention relates to combination vaccines and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein the infections are caused by *M. bovis* and at least one further relevant cattle pathogen. The combination vaccine as described herein comprises at least one *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith and one or more further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more further relevant pathogen of cattle. The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further relevant pathogen of cattle.

Relevant cattle pathogens other than *M. bovis* include those listed in the background section above but are not limited to: **i) pathogens of viral origin** such as Bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 (BVDV-1) and type 2 (BVDV-2), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronavirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (BPV), and Adenovirus and Astrovirus; **ii) pathogens of bacterial origin,** such as *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* and *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* and *Brucella melitensis, Eschericia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium*

tetani, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma dispar*, and Ureaplasma spp., and *Streptococcus uberis* **iii) pathogens of other origin,** such as *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, and *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease).

The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle, wherein said further pathogen of cattle is selected from the group consisting of: **i) pathogens of viral origin** such as Bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 (BVDV-1) and type 2 (BVDV-2), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronavirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (BPV), and Adenovirus and Astrovirus; **ii) pathogens of bacterial origin,** such as *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* and *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans*, *Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus*, *Brucella suis* and *Brucella melitensis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Staphylococcus aureus*,

Streptococcus dysgalactiae, Mycoplasma dispar, and Ureaplasma spp., and *Streptococcus uberis* and **iii) pathogens of other origin,** such as *Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, and *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease) or any other pathogen listed in the background section or known to be pathogenic in cattle.

The present invention relates to combination vaccines and/or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein the infections are caused by *M. bovis* and at least one further cattle relevant pathogen, wherein said vaccine or combined use comprises or makes use of an *M bovis* antigen, preferably the avirulent, attenuated *M. bovis,* as described herein, and a further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by Bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 (BVDV-1) and type 2 (BVDV-2), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronavirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (BPV), Adenovirus Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* and *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* and *Brucella melitensis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus*

uberis, Mycoplasma spp, Mycoplasma dispar, and Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii), Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, and *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease) and/or any other pathogen known to be pathogenic in cattle, including the pathogens discussed in the background.

The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis*, as provided herewith, and at least one further immunogenic composition comprising one or more further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle, wherein said further pathogen of cattle is selected from the group consisting of: Bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1 (BVDV-1) and type 2 (BVDV-2), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronavirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (PPV), Adenovirus Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* and *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona, and Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* and *Brucella melitensis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar, Mycoplasma bovis*, and Ureaplasma spp.,

Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum (formerly *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, and *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease) and/or any other pathogen listed in the background section or known to be pathogenic in cattle. Preferably, the further immonogenic composition comprises an antigen of one or more of any of the cattle relevant pathogens as listed above.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine or the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and/or reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine or combined use comprises a *M. bovis* antigen, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR [combo 001]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis*, as described herein, and at least one antigen of IBR **[combo 002]**. According to a preferred embodiment, the IBR antigen is a **live modified virus [combo 003]**. According to a further embodiment, the combination vaccine of attenuated *M. bovis* and IBR **contains an antibiotic, e.g. neomycin, for preservation [combo 004]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **PI-3 [combo 005]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of PI-3 **[combo 006]**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination

vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 007]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and at least one antigen of BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 008]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **BHV [combo 009].** According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of BHV **[combo 010]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR and PI-3 [combo 011]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR and PI-3 **[combo 012].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination

vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 013]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 014].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR and BHV [combo 015]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR and BHV **[combo 016]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 017]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 018]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **PI-3 and BHV [combo 019]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of PI-3 and BHV **[combo 020]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 021]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and at least one antigen each of IBR, PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 022]**. Preferably, all viral antigens are modified live viruses **[combo 023]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **BRSV and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 024]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine

comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of each BRSV and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 **[combo 025]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 and **BHV [combo 026]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR BHV, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 **[combo 027]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 **and BHV [combo 028]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 and BHV **[combo 029]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*,

preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3 and BHV [combo 030]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, BHV and PI-3 **[combo 031]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2 and **BHV [combo 032]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR BHV PI-3, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 033]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against bacterial infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by *H. somnus* **[combo 034]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 035]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral and bacterial infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M.*

bovis, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR** and ***H. somnus*** **[combo 036]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of *H. somnus* and IBR **[combo 037]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral and bacterial infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3,** and ***H. somnus*** **[combo 038]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, and *H. somnus* **[combo 039]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) and ***H. somnus*** **[combo 040]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3 and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) and one antigen of *H. somnus* **[combo 041]**. According to a further embodiment of said combination vaccine, the IBR, PI-3 antigens are killed viruses **[combo 042]**. According to a further embodiment, any of said combination vaccines, preferably the combination vaccine that comprises killed IBR and killed PI-3 antigens,

contains neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 043]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against viral infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV** and ***H. somnus*** **[combo 044]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, BHV, PI-3, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) and one antigen of *H. somnus* **[combo 045].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*. **[combo 046].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and one or more antigens of at least one or more pathogenic species of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira*

interrogans and *Leptospira pomona* **[combo 047]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR** and one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*. **[combo 048].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and at least one antigen each of IBR and one or more pathogenic specie(s) of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 049]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR and *Leptospira pomona*** **[combo 050]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of IBR, preferably a live modified virus, and at least one *Leptospira pomona* bacterin **[combo 51]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3,** and one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 052]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, and PI-3, and one or more antigens each of one or more pathogenic specie(s) of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 053]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae*, and *Leptospira pomona* [combo 054].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae* and *Leptospira pomona* **[combo 055]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) and one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the grpup consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 056]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 057].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo*** (***Leptospira hardjoprajitno*** **and/or** ***Leptospira hardjo-bovis*****),** ***Leptospira icterohaemorrhagiae*****, and** ***Leptospira pomona*** **[combo 058].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen

each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more antigens each of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae,* and *Leptospira pomona* **[combo 059]**. According to a preferred embodiment, **the viral antigens are killed viruses** and the bacterial antigens are bacterins **[combo 060]**. Preferably, said combination vaccines as described in this paragraph further contain neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 061]**.

According to a further embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, **live modified viruses of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and bacterin of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae* and *Leptospira pomona* **[combo 062]**. According to a further preferred embodiment, the combination vaccine described in this paragraph comprises neomycin as a preservative **[combo 063]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type2), **BHV** and one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*. **[combo 064].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR BHV, PI-3, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV

(type 1 and/or type 2), and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona* **[combo 065]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **species of Leptospira**, as mentioned above, and ***H. somnus*** **[combo 066]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 067]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***H. somnus*** **[combo 068]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of IBR and at least one antigen each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 069]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle,

wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***H. somnus*** **[combo 070]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, and at least one antigen each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 071]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona*** and ***H. somnus*** **[combo 072].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona*, and *H. somnus* **[combo 073]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***H. somnus*** **[combo 074]**. According to a preferred

embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 075]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV** (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo*** **(*Leptospirahardjo prajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona*** and ***H. somnus*** **[combo 076].** According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona* and *H. somnus* **[combo 077]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***H. somnus*** **[combo 078]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1

and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), BHV and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *H. somnus* **[combo 079]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 080]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 081]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo*** **(*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*)**, ***Leptospira lcterohaemorrhagiae, Leptospira pomona*** **and *Campylobacter fetus*** **[combo 082]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least antigen each of *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira lcterohaemorrhagiae, Leptospira pomona* and *Campylobacter fetus* **[combo 083]**. According to a more preferred embodiment, the bacterial antigens are chemically inactivated, aluminum hydroxide adsorbed, whole cultures of said bacteria **[combo 084]**. According to a further preferred embodiment, said combination vaccine comprises gentamicin

and Amphotericin B as preservatives **[combo 085]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 086]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of IBR and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 087]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 088]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 089]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**,

preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 090]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 091]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV,** one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 092]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), BHV and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 093]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, ***H. somnus*** and ***Campylobacter fetus*** **[combo 094]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of one or

more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, and at least one antigen each of *H. somnus* and *Campylobacter fetus* **[combo 095]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR,** one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, ***H. somnus*** and ***Campylobacter fetus*** **[combo 096]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, *H. somnus* and *Campylobacter fetus*, and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, **[combo 097]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3,** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, ***H. somnus*** and ***Campylobacter fetus*** **[combo 098]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, *H. somnus* and *Campylobacter fetus* and one or more atingens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, **[combo 099]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the

treatment and/or prophylaxis of infections caused by IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. somnus* and *Campylobacter fetus* **[combo 100]**. According to a further embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. somnus* and *Campylobacter fetus* **[combo 101]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, ***H. somnus*** and ***Campylobacter fetus*** **[combo 102]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), *H. somnus* and *Campylobacter fetus* and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above **[combo 100]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*),

Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira Pomona, H. somnus and *Campylobacter fetus* **[combo 103]**. According to a further embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno and/or Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. somnus* and *Campylobacter fetus* **[combo 104]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV** and one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, as mentioned above, ***H. somnus*** and ***Campylobacter fetus*** **[combo 105]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), BHV, *H. somnus* and *Campylobacter fetus*, and one or more antigens each of one or more pathogenic species of Leptospira, as mentioned above, **[combo 106]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections of the respiratory and reproductive systems in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by BHV, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), PI-3, IBR, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira*

icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans and *Campylobacter fetus* **[combo 107]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises attenuated *M. bovis,* as described herein, and at least one antigen each of BHV, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* and/or *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira borgpetersenii, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* and *Campylobacter fetus* **[combo 108]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Pasteurella haemolytica*** **and** ***Pasteurella multocida*** **[combo 109]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of *Pasteurella haemolytica* bacterin and *Pasteurella multocida* bacterin. **[combo 110]** According to a further preferred embodiment, said combination vaccine comprises neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 111].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR,** ***Pasteurella haemolytica*** **and** ***Pasteurella multocida*** **[combo 112]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen of each of IBR, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica* bacterin and *Pasteurella multocida* bacterin **[combo 113]**. According to a further preferred

embodiment, said combination vaccine comprises neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 114]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* [combo 115]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica* bacterin and *Pasteurella multocida* bacterin **[combo 116]**. According to a further preferred embodiment, said combination vaccine comprises neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 117]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), ***Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* [combo 118]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, preferably as live modified viruses, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), *Pasteurella haemolytica* bacterin and *Pasteurella multocida* bacterin **[combo 119]**. According to a further preferred embodiment, said combination vaccine comprises neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 120]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination

vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* [combo 121]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis*, as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), BHV, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica* bacterin and *Pasteurella multocida* bacterin **[combo 122]**. According to a further preferred embodiment, said combination vaccine comprises neomycin and thimerosal as preservatives **[combo 123]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **BRSV [combo 124]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least antigen of BRSV **[combo 125]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, and BRSV [combo 126]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least antigen of each IBR, preferably as live modified viruses, and BRSV **[combo 127]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, and BRSV [combo 128]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen eaxh of IBR, PI-3, preferably as live modified viruses, and BRSV **[combo 129]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BRSV, and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 130]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BRSV, preferably as live modified viruses, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 131]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BRSV, BHV, and BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 132]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BRSV,

BHV, preferably as live modified viruses, and BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2) **[combo 133]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*** **and BRSV [combo 134]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV **[combo 135]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*** **and BRSV [combo 136]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV **[combo 137]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*** **and BRSV [combo 138]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein,

and at least one antigen each of IBR, PI-3, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV **[combo 139]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV [combo 140]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV **[combo 141]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV [combo 140]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), BHV, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and BRSV **[combo 141]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as

described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida*** **and** ***H. somnus*** **[combo 142]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus* **[combo 143]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida*** **and** ***H. somnus*** **[combo 144]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, preferably as live modified virus, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus* **[combo 145]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida*** **and** ***H. somnus*** **[combo 146]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus* **[combo 147]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the

combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus*** **[combo 148]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), preferably as live modified viruses, and *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus* **[combo 149]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2)**, preferably attenuated BVDV (type 1 and/or type 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus*** **[combo 150]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one antigen each of IBR, PI-3, BVDV (type 1 and/or type 2), BHV, preferably as live modified viruses, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *H. somnus* **[combo 151]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **species of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*,

Leptospira interrogans and *Leptospira pomona* **[combo 152].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises one or more antigens each of one or more specie(s) of Leptospira, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*. **[combo 153].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises an *im*munologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Campylobacter fetus*** **[combo 154]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises antigen of *Campylobacter fetus* **[combo 155].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more pathogenic **specie(s) of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*,

Leptospira hardjo (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*, and ***Campylobacter fetus*** **[combo 156]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 and 151], that further comprises one or more antigen each of *Campylobacter fetus* and of one or more **specie(s) of Leptospira**, preferably selected from the group consisting of *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* and *Leptospira pomona*, and. **[combo 157].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium perfringens*****, preferably Types A, C and/or D [combo 158]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and toxins of *Clostridium perfringens* Types C and D **[combo 254]**. According to a more preferred embodiment, said vaccine comprises antigens, preferably toxins, of *Clostridium perfringens*, preferably Types A, B, C, and/or D **[combo 159]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068,

069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Clostridium perfringens*, preferably Types A, C and/or D [combo 160].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises antigen of *Clostridium perfringens*, preferably, Types A, C, and/or D **[combo 161].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises antigen of *Clostridium perfringens* Types, B, C, and/or D [**combo 162**].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium perfringens*** **Types A, C and/or D, and** ***Clostridium tetani*** **[combo 163]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and toxins of *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D, and *Clostridium tetani* **[combo 164]**. According to a more preferred embodiment, said vaccine comprises antigens, preferably toxins, of *Clostridium perfringens* Types A, B, C, and/or D, and *Clostridium tetani* **[combo 165]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Clostridium perfringens*** **Types A, C and/or D, and** ***Clostridium tetani*** **[combo 166].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046,

047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises antigen of *Clostridium perfringens* Types A, C, and/or D, and *Clostridium tetani* **[combo 167].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises one or more antigens of *Clostridium perfringens* Types A, B, C, and/or D, and *Clostridium tetani* **[combo 168]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D [combo 169]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens, preferably toxins, each of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*,

Clostridium novyi, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D **[combo 170]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D [combo 171].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises one or more antigens each of of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D **[combo 172].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of

[combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 and 157], that further comprises one or more antigens each of *Clostridium perfringens* Types, A, B, C, and/or D, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii* and *Clostridium tetani* [**combo 173**].

According to more preferred embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*** **Types A, C and/or D and BRSV [combo 174].** According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens, preferably toxins, each of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D and *Mycoplasma bovis* [**combo 175**].

According to more preferred embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium chauvoei*, *Clostridium***

***septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D, and *H. somnus*. [combo 176]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens, preferably toxins, each of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types C and D and *H. somnus*. [**combo 177**].

According to more preferred embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D, BRSV, and H.somnus [combo 178].** According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens, preferably toxins, each of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, and *Clostridium perfringens* Types A, C and/or D, *Mycoplasma bovis*, and *H.somnus* [**combo 179**].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by Salmonella, preferably ***Salmonella dublin*, *Salmonella newport* and *Salmonella typhimurium* [combo 180]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more toxins of Salmonella, preferably each of *Salmonella dublin*, *Salmonella newport*, and/or *Salmonella typhimurium* [**combo 181**].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178 and 179], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by Salmonella, preferably ***Salmonella dublin***, ***Salmonella newport*** **and** ***Salmonella typhimurium*** **[combo 182].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178 and 179], that further comprises one or more antigens, preferably toxins, of Salmonella, preferably each of ***Salmonella dublin***, ***salmonella newport*** **and/or** ***Salmonella typhimurium*** **[combo 183]**.

According to a preferred embodiment, the present invention relates to a combination

vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, Salmonella, preferably *Salmonella dublin*, *Salmonella newport* and *Salmonella typhimurium*** **[combo 184]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, Salmonella, preferably *Salmonella dublin*, *Salmonella newport*, and *Salmonella typhimurium*** Bacterin-Toxoid **[combo 185]**. According to more preferred embodiment, said combination vaccine comprises multiple isolates of *Pasteurella haemolytica* Type A1 and an associated toxoid fraction, and single isolates of *P. multocida*, *S. dublin,* and *S. typhimurium* **[combo 186]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Moraxella bovis*** **and/or Klebsiella spp. , preferably *Klebsiella pneumoniae*** **[combo 187]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more toxins each of ***Moraxella bovis*** **and/or Klebsiella spp. preferably *Klebsiella pneumoniae*** **[combo 188]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087,

088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, and 186], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Moraxella bovis*** **and/or Klebsiella spp., preferably** ***Klebsiella pneumoniae*** **[combo 189].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 163, 164, 165, 169, 170, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 184, 185 and 186], that further comprises one or more antigens, preferably toxins, each of ***Moraxella bovis*** **and/or Klebsiella spp., preferably,** ***Klebsiella pneumoniae*** **[combo 190].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Escherichia coli*** **[combo 191]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more toxins of *Escherichia coli*

[combo 192].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189 and 190], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by *Escherichia coli* **[combo 193].** According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189 and 190], that further comprises antigen, preferably a toxin, of *Escherichia coli* **[combo 194]**.

According to a preferred embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida, Salmonella dublin ,Salmonella typhimurium*** **and** ***Escherichia coli*** **[combo 195]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida, Salmonella dublin, Salmonella typhimurium*** **and** ***Escherichia coli*** Bacterin-Toxoid **[combo 196]**. According to more preferred embodiment, said combination vaccine comprises multiple isolates of *Pasteurella haemolytica* Type A1 and an associated toxoid fraction, and single isolates of *P. multocida*, *S. dublin*, and *S. typhimurium* **[combo 197]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **bovine Rotavirus [combo 198]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and antigen of bovine Rotavirus **[combo 199]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087,

088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 195, 196, and 197], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **bovine Rotavirus [200]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 and 197], that further comprises **antigen of bovine Rotavirus [combo 201]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **bovine Coronavirus [combo 202]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of bovine Coronavirus

[combo 203].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 and 197], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **bovine Coronavirus [combo 204]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188,189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, and 197], that further comprises antigen of bovine Coronavirus **[combo 205].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **bovine Coronavirus and bovine Rotavirus [combo 206]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein and one or more antigens each of bovine Coronavirus and bovine Rotavirus **[combo 207]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 and 197], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **bovine Coronavirus and bovine Rotavirus [combo 208]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070,

071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, and 197], that further comprises one or more antigens each of bovine Coronavirus and bovine Rotavirus **[combo 209].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Cryptosporidium parvum*** **[combo 210]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of *Cryptosporidium parvum* **[combo 211]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181,

182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Cryptosporidium parvum*** **[combo 212]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises antigen of *Cryptosporidium parvum* **[combo 213].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 214]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of *Cryptosporidium hominis* **[combo 215]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011,

012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 216]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises antigen of *Cryptosporidium hominis* **[combo 217].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle,

wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Cryptosporidium parvum*** and ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 218]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* **[combo 219]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Cryptosporidium parvum*** and ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 220]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089,

090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 and 209], that further comprises one or more antigens each of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* **[combo 221].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 222]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 223]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181,

182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220 and 221], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by ***Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 224]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220 and 221], that further comprises antigen of *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 225].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Adenovirus [combo 226]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of Adenovirus **[combo 227]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224 and 225], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **Adenovirus [combo 228]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223,224, and 225], that further comprises antigen of

Adenovirus **[combo 229]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Astrovirus [combo 230]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of Astrovirus **[combo 231]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 and 229], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **Astrovirus [combo 232]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040,

041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 and 229], that further comprises antigen of Astrovirus **[combo 233]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and at least one further immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **bovine Parvovirus [combo 234]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of bovine Parvovirus **[combo 235]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125,

126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232 and 233], that further comprises an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **bovine Parvovirus [combo 236]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, and 233], that further comprises antigen of bovine Parvovirus **[combo 237]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Cryptosporidium parvum*, Adenovirus,**

Astrovirus, bovine Parvovirus and *Mycobacterium avium paratuberculosis* [combo 238]. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, bovine Parvovirus and *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 239]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by ***Escherichia coli*, Salmonella spp., preferably *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella newport*, bovine Rotavirus and bovine Coronavirus, *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, bovine Parvovirus and *Mycobacterium avium paratuberculosis* [combo 240]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of *Escherichia coli*, Salmonella spp., preferably *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella newport*, bovine rotavirus and bovine Coronavirus, *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, bovine Parvovirus and *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 241]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Streptococcus spp., preferably *Streptococcus uberis* and /or *Streptococcus dysgalactiae* [combo 242]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and antigen of Streptococcus spp., preferably each of *Streptococcus uberis* and/or *Streptococcus dysgalactiae*, **[combo 243]**. According to a more

preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens of Streptococcus spp., preferably each of *Streptococcus uberis* and/or *Streptococcus dysgalactiae* [**combo 244**].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Streptococcus spp., preferably *Streptococcus uberis* and /or *Streptococcus dysgalactiae* and/or *Staphylococcus aureus* [combo 245]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens of Streptococcus spp., preferably each of *Streptococcus uberis* and/or *Streptococcus dysgalactiae*, and/or ***Staphylococcus aureus*** **[combo 246]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237,

238, 239, 240, and 241], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **Streptococcus spp., preferably *Streptococcus uberis* and/or *Streptococcus dysgalactiae*, and/or *Staphylococcus aureus* [combo 247]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240 and 241], that further comprises one or more antigens each of **Streptococcus spp., preferably *Streptococcus uberis* and/or *Streptococcus dysgalactiae*, and/or *Staphylococcus aureus* [combo 248]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,

157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240 and 241], that further comprises one or more antigens of **several serotypes of Streptococcus spp.**, preferably of **several serotypes** each of ***Streptococcus uberis*** and/or ***Streptococcus dysgalactiae*****, and/or *Staphylococcus aureus* [combo 249].**

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Streptococcus spp., preferably *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*** and/or ***Staphylococcus aureus*****, Klebsiella spp. and Mycoplasma spp. [combo 250]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens of **Streptococcus spp.,** preferably each of ***Streptococcus uberis*****, *Streptococcus dysgalactiae*****, and/or *Streptococcus aureus*****, Klebsiella spp. and Mycoplasma spp. [combo 251]**. According to a more preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens of **Streptococcus spp.,** preferably each of ***Streptococcus uberis*** **and/or *Streptococcus dysgalactiae*****, *Staphylococcus aureus*****, Klebsiella spp., Mycoplasma spp. and endotoxin [combo 252]**.

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections in cattle, wherein the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the

treatment and/or prophylaxis of infections caused by **Trichophyton** and **Microsporum**, preferably selected from the group consisting of ***Trichophyton verrucosum***, ***Trichophyton mentagrophytes***, ***Trichophyton equinum***, ***Trichophyton sarkisovii***, ***Microsporum canis***, ***Microsporum canis var. obesum***, ***Microsporum canis var. distortum***, **and** ***Microsporum gypseum*** **[combo 253]**. According to a preferred embodiment, the combination vaccine comprises *M. bovis*, preferably the attenuated and avirulent *M. bovis* as described herein, and one or more antigens each of Trichophyton, **and Microsporum**, preferably selected from the group consisting of *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum*, and *Microsporum gypseum* [**combo 254**].

According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201,202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, and 251], that further comprises immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by infections caused by **Trichophyton and Microsporum**, preferably selected from the group consisting of ***Trichophyton verrucosum***, ***Trichophyton mentagrophytes***, ***Trichophyton***

***equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum*, and *Microsporum gypseum* [combo 255]**. According to a further embodiment, the present invention relates to a combination vaccine according to any one of [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201,202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, and 252], that further comprises one or more antigens each of Trichophyton and Microsporum, preferably selected from the group consisting of *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum*, and *Microsporum gypseum* **[combo 256]**.

According to a further aspect, the present invention also relates to the combined use or co-administration of any of the antigens provided in the combination vaccines **[combo 1 to combo 256]**. Preferably, the *M. bovis* antigen is provided in a first immunogenic composition, and any other antigen/antigens are provided in one or more further immunogenic compositions to be administered.

According to further embodiment, the immunologically active component(s) effective for

the treatment and/or prophylaxis of infections caused by one or more cattle relevant pathogen(s) as source of the combination vaccine provided herewith is any one included in the vaccines selected from the group consisting of: Alpha 7™, ALPHA-7/MB™, ALPHA-CD™, BAR-VAC® 7, BAR-VAC® 7/SOMNUS, BAR-VAC® 8, BAR-VAC® CD, BAR-VAC® C/DT, BREED-BACK™ FP 10, BREED-BACK™ FP 10 HS, BREED-BACK™ FP 5, BREED-BACK™ FP 5 HS, BREED-BACK-10™, CALIBER® 3, CALIBER® 7, ELITE 4™, ELITE 9™, ELITE 9-HS™, EXPRESS®10, EXPRESS®10-HS, EXPRESS® 3, EXPRESS® 3/Lp, EXPRESS 4®, EXPRESS® 5, EXPRESS® 5-HS, EXPRESS® 5-PHM, EXPRESS® I, EXPRESS® I/LP, OCU-GUARD® MB, PULMO-GUARD™ MpB, PULMO-GUARD™ PH-M, PULMO-GUARD™ PH-M/SDT, PULMO-GUARD™ PHM-1, TETGUARD™, VIBRIO-LEPTO-5™ (all of **Boehringer Ingelheim, St. Joseph, MO**); Cobalt™ 7, I-Site™, Lepto 5, Master Guard® Preg 5, Master Guard® 10, Master Guard® 10 + Vibrio, Master Guard® J5, P.H.M. Bac® 1, Pre-vent 6™, Respromune® 4, Respromune® 4 + Somnumune® (IM, SC), Respromune® 5 I-B-P+BRSV, Respromune® 5+L5, Respromune® 5+L5 Somnus, Respromune® 5+Somnumune, Respromune® 5+VL5, Respromune® 8, Respromune® 9, Respromune® 10, Scour Vac™ 4, Scour Vac™ 9, Scour Vac™ E coli + C, Somnumune®, Titanium™ 3, Titanium™ 4, Titanium™ 4 L5, Titanium™ 5, Titanium™ 5 L5, Titanium® 5+P.H.M. Bac®-1, Titanium™ BRSV 3, Titanium™ IBR, Titanium™ IBR-LP (all of **Agri Laboratories Inc., St. Joseph, MO**); Herd-Vac® 3, Herd-Vac® 3 S, Herd-Vac® 8, Herd-Vac® 9, Surround™ 4, Surround™ 4+HS, Surround™ 8, Surround™ 9, Surround™ 9+HS, Surround™ HS, Surround™ L5, Surround™ V-L5 (all of **BioCor, Omaha, NE (Pfizer)**); Mycomune® (**Biomune Co., Lenexa, KS**); Bluetongue vaccine, Bovine Virus Diarrhea Vaccine, *Campylobacter fetus* bacterin-bovine, Essential 1, Essential 2, Essential 2+P, Essential 3, Essential 3+T, Essential 4, Lepto-5, *Mannheimia haemolytica-Pasteurella multocida* bacterin, Pre-breed 6, Pre-breed 8, Respira-1, Respira-3,Wart Vaccine (all of **Colorado Serum Company, Denver, CO**); Pyramid® 3, Pyramid® 4, Pyramid® 4 + Presponse® SQ, Pyramid® 5, Pyramid® 8, Pyramid® 9, Pyramid® IBR, Pyramid® IBR+Lepto, Triangle® 1 + Type II BVD, Triangle® 3 + VL5, Triangle® 4 + HS, Triangle® 4 + PH/HS, Triangle® 4 + PH-K, Triangle® 4 + Type II BVD, Triangle® 9 + HS, Triangle® 9 + PH-K, Triangle® + Type II BVD, Trichguard®, Trichguard® + V5L, TriVib

5L® (all of **Fort Dodge Animal Health, Overland Park, KS (Wyeth)**); J-5 *Escherichia coli* Bacterin, Serpens Species Bacterin; *Staphylococcus aureus* bacterin-toxoid (all of **Hygieia Biological Laboratories, Woodland, CA**); Endovac-Bovi® with Immuneplus® (**Immvac, Inc., Columbia, MO**); 20/20 Vision® with Spur®, L5 SQ, Neoguard™, MasterGuard® Preg 5, Once PMH®, Once PMH® SQ, Vibralone™-L5, Vision® 7 Somnus with Spur®, Vision® 7 with Spur®, Vision® 8 Somnus with Spur®, Vision® 8 with Spur®, Vision® CD-T with Spur®, Vision® CD with Spur®, Vista™ IBR SQ, Vista™ 3 SQ, Vista™ 5 SQ, Vista™ 5 L5 SQ, Vista™ Once SQ, VL5 SQ, Volar®, (all of **Intervet Inc., Millsboro, DE**); Vac®, Reliant® 3, Reliant® 4, Reliant® IBR, Reliant® IBR/BVD, Reliant® IBR/Lepto, Reliant® Plus BVD-K (Dual IBR™), Reliant® Plus (Dual IBR™), Respishield™ 4, Respishield™ 4 L5, Respishield™ HM (all of **Merial LTD, Duluth, GA**); Arsenal® 4.1, Arsenal® IBR, Arsenal® IBR BVD, Bovine Pili Shield™, Bovine Pili Shield™+C, Clostri Shield® 7, Clostri Shield® BCD, Fusogard®, Lepto Shield™ 5, Pinkeye Shield™ XT4, Salmo Shield® T, Salmo Shield® TD, Scour Bos™ 4, Scour Bos™ 9, Somnu Shield™, Trep Shield™ HW, Vib Shield® L5, Vib Shield® Plus, Vib Shield® Plus L5, Vira Shield® 2, Vira Shield® 2+BRSV, Vira Shield® 3, Vira Shield® 3+VL5, Vira Shield® 4, Vira Shield® 4+L5, Vira Shield® 5, Vira Shield® 5+L5, Vira Shield® 5+L5 Somnus, Vira Shield® 5+Somnus, Vira Shield® 5+VL5, Vira Shield® 5+VL5 Somnus, Vira Shield® 6, Vira Shield® 6+Somnus, Wart Shield™ (all of **Novartis Animal Health, Basel, Switzerland**); Bovi-K® 4, Bovi-Shield™ 3, Bovi-Shield™ 4, Bovi-Shield™ BRSV, Bovi-Shield® FP™ 4+L5, Bovi-Shield® GOLD 3, Bovi-Shield® GOLD 5, Bovi-Shield® GOLD FP™ 5 L5, Bovi-Shield® GOLD FP™ 5 VL5, Bovi-Shield® Gold IBR-BVD, Bovi-Shield® Gold IBR-BVD-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR, Bovi-Shield™ IBR-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR-BVD, Bovi-Shield™ IBR-BVD-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR-PI3-BRSV, Calf-Guard®, CattleMaster® 4, CattleMaster® 4+L5, CattleMaster® 4+VL5, CattleMaster® BVD-K, CattleMaster® Gold FP™ 5, CattleMaster® Gold FP™ 5 L5, Defensor® 3, Fortress® 7, Fortress® 8, Fortress® CD, Leptoferm®-5, One Shot®, One Shot Ultra™ 7, One Shot Ultra™ 8, PregGuard™ FP 9, PregGuard® Gold FP™ 10, Resvac® BRSV/Somubac®, Resvac® 4/Somubac®, ScourGuard 3® (K), ScourGuard 3® (K)/C, Somubac®, Spirovac®, Spirovac® L5, Spirovac® VL5, StayBred™ VL5, TSV-2™, Ultrabac®

7, Ultrabac® 7/Somubac®, Ultrabac® 8, Ultrabac® CD, UltraChoice™ 7, UltraChoice™ 8, UltraChoice™ CD, Upjohn J-5 Bacterin™, Vibrin® (all of **Pfizer Inc., New York, NY**); Covexin® 8 Vaccine, Electroid® 7 Vaccine, Electroid® D, Guardian™, Jencine® 2, Jencine® 3, Jencine® 4, Nasalgen® IP Vaccine, Piliguard® Pinkeye-1 Trivalent, Piliguard® Pinkeye + 7, Piliguard® Pinkeye Triview®, Siteguard® G, Siteguard® MLG Vaccine (all of **Schering-Plough Animal Health Corporation, Kenilworth, NJ**); Myco-Bac™ B, Poly-Bac B® 3, Poly-Bac B® Somnus, Super Poly-Bac B® Somnus (all of **Texas Vet Lab, Inc., San Angelo, TX**), Virabos™-3 with Immunostim®, Virabos™-4 + *H. somnus* with Immunostim®, and Virabos™-4 with Immunostim® (all of **Bioniche Animal Health, Athens, GA**), wherein the *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as described herein, is added. Alternatively, when *M. bovis* antigen is present in any of those vaccines, attenuated avirulent *M. bovis*, as described herein, is added, or the *M. bovis* antigen present any of those vaccines is substituted by the attenuated, avirulent *M. bovis* as described herein.

Formulations

A further aspect of the present invention is the preparation of the combination vaccine(s). One of skill in the art can determine additional components which are present in the composition of the invention. (see also Remington's Pharmaceutical Sciences, (1990) 18th ed. Mack Publ., Easton). Known injectable, physiologically acceptable sterile solutions may be used. For preparing a ready-to-use solution for parenteral injection or infusion, aqueous isotonic solutions, such as e.g. saline or corresponding plasma protein solutions, are readily available. The pharmaceutical compositions of the present invention may be present as lyophylisates or dry preparations, which can be reconstituted with a known injectable solution directly before use under sterile conditions, e.g. as a kit of parts.

In addition, the immunogenic and vaccine compositions of the present invention can include one or more veterinary-acceptable carriers. As used herein,"a veterinary-acceptable carrier" includes any and all solvents, dispersion media, coatings, adjuvants, stabilizing agents, diluents, preservatives, antibacterial and antifungal agents, isotonic agents, adsorption delaying

agents, and the like.

Diluents can include water, saline, dextrose, ethanol, glycerol, and the like. Isotonic agents can include sodium chloride, dextrose, mannitol, sorbitol, and lactose, among others. Stabilizers include albumin and alkali salts of ethylendiamintetracetic acid, among others.

Adjuvants include, but are not limited to, the RIBI adjuvant system (Ribi Inc.), alum, aluminum hydroxide gel, Cholesterol, oil-in water emulsions, water-in-oil emulsions such as, e. g., Freund's complete and incomplete adjuvants, Block co-polymer (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), CARBOPOL®, AMPHIGENO adjuvant, saponin, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL) or other saponin fractions, monophosphoryl lipid A, Avridine lipid-amine adjuvant, heat-labile enterotoxin from *E. coli* (recombinant or otherwise), cholera toxin, or muramyl dipeptide, among many others.

The immunogenic compositions can further include one or more other immunomodulatory agents such as, e. g., interleukins, interferons, or other cytokines. The immunogenic compositions can also include Gentamicin and Merthiolate. While the amounts and concentrations of adjuvants and additives useful in the context of the present invention can readily be determined by the skilled artisan, preferably the composition comprises from about 50 ug to about 2000 ug of adjuvant and preferably about 250 ug/ ml dose of the vaccine composition. In another preferred embodiment, the present invention an antibiotic is present in an amount of from about 1ug/ml to about 60 ug/ml of and preferably less than about 30 ug/ml.

According to a further embodiment the combination vaccine (or immunogenic composition) is first dehydrated. If the composition is first lyophilized or dehydrated by other methods, then, prior to vaccination, said composition is rehydrated in aqueous (e.g. saline, PBS (phosphate buffered saline)) or non-aqueous solutions (e.g. oil emulsion (mineral oil, or vegetable/metabolizable oil based/single or double emulsion based), aluminum-based, carbomer

based adjuvant).

According to a further embodiment, the immunogenic composition or combination vaccine as provided herewith, which comprises at least one *M. bovis* antigen and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* are formulated as fix-dose combination vaccine. Preferably, the immunogenic composition or combination vaccine provided herewith, in particular the fix-dose combination vaccine is formulated for use as a single-dose or multi-dose vaccine, whereas the formulation for use as a single-dose vaccine is most preferred. In other words the immunogenic compositions or vaccine, preferably the fix-dose combination vaccine provided herewith is formulated for the administration as a multi-dose or single-dose, whereas the formulation for the administration as single-dose is most preferred. As shown in the example section, such a single dose administration of the *M. bovis* antigen is effective in lessening or reducing the signs of an *M. bovis* infection. Thus, according to a further embodiment, the immunogenic compositions provided herewith, in particular the fix-dose combination vaccine is formulated for use as a single-dose vaccine, wherein the administration of such single-dose is effective in lessening or reducing the signs of an *M. bovis* infection.

Dose and administration

According to the present invention, an effective amount of a combination vaccine administered to cattle provides effective immunity against microbiological infections caused by *M. bovis* and at least one further pathogen as listed above. Preferred combinations of antigens for the treatment and prophylaxis of microbiological diseases in cattle are listed above.

In preferred forms, the dose volume of the combination vaccine as well as of each immunogenic composition when separately co-administered is no more than 5ml, more preferably no more than 3 ml, and more preferably no more than 2 ml. In a most preferred embodiment, the dose is 2 ml, preferably administered intranasally, with 1 ml being administered in each nostril, more preferably administered intramuscularly, even more preferably administered

subcutaneously, and most preferably administered both intranasally and subcutaneously on one occasion as a single dose. In some preferred forms, a second or subsequent administration of the immunogenic composition would be administered after the first administration. Such a subsequent administration would preferably occur at least 10 days after the initial administration, more preferably between at least 10 –32 days, more preferably between at least 12-30 days, still more preferably at least 14 days, and most preferably between at least 14-28 days. In most preferred forms, the vaccine would be administered either as a single dose, preferably on Day 0 or, in alternative forms, 14-28 days thereafter, preferably on Day 0 and 14-28 days thereafter with exposure to pathogenic forms of *M. bovis* not occurring until after the completion of the immunizing regimen. In a most preferred form, no booster is necessary and the vaccine is administered only one time. The vaccine is administered to animals from 1 day of age through adulthood, preferably to calves from 1 day of age through young adult cattle 2 years of age, more preferably to calves from 1 day of age through 16 weeks of age, and most preferably to calves from 6 weeks to 12 weeks of age. Such administration lessened or reduced signs of *M. bovis* infection as described below. Preferably, signs of *M. bovis* infection in the group vaccinated as described above are reduced by at least 50%, more preferably at least 60%, even more preferably at least 70%, and even more preferably at least 75% in comparison to the non-vaccinated group. Lung pathology assessment, specifically the percentage of lung consolidation attributed to lesions due to *M. bovis,* as customarily scored for various species, was made post-necropsy. Preferably lung lesions are reduced by at least 33%, more preferably at least 50%, even more preferably at least 70%, even more preferably at least 80%, even more preferably at least 90%, and most preferably by at least 95% in comparison to a non-vaccinated group.

The amount of combination vaccine that is effective depends on the ingredients of the vaccine and the schedule of administration. Typically, when bacterial antigen is used in the combination vaccine or in a combined use, the vaccine or immunogenic composition contains an amount of about 10^3 to about 10^{10} colony forming units (CFU) of the bacterial antigen per dose, preferably, about 10^4 to about 10^9 CFU of the bacterial antigen per dose, more preferably about 10^5 to about 10^6 CFU of the bacterial antigen per dose. For instance, the attenuated, avirulent *M.*

bovis is preferably used in amounts of about 10^2 to about 10^{10} CFU per dose, preferably about 10^3 to about 10^9 CFU per dose, even more preferably in an amount of about 10^8 to about 10^{10} CFU per dose, most preferably in an amount of about 2.1 x 10^9 CFU per dose.

Typically, when an inactivated virus or a modified live virus preparation is used in the combination vaccine or in a combined use, the vaccine or immunogenic composition containing about 10^2 to about 10^9 $TCID_{50}$ viral antigen per dose, preferably about 10^3 to about 10^8 $TCID_{50}$ viral antigen per dose, more preferably, about 10^4 to about 10^8 $TCID_{50}$ viral antigen per dose. For example, about 10^5 to about 10^8 $TCID_{50}$ per dose of attenuated BVDV (types 1 and 2) is effective when administered twice to the animal during a period of about 3 to 4 weeks. In general, inactivated antigen is normally used in higher amounts than live modified viruses.

In the event the combination vaccine comprises live modified IBR, the amount of IBR antigen is preferably in a range of about 10^5 to $10^{7.5}$ $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises live modified PI3, the amount of PI3 antigen is preferably in a range of about 10^7 to 10^9 $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises live modified BRSV, the amount of BRSV antigen is preferably in a range of about $10^{4.5}$ to $10^{6.5}$ $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises killed antigens the $TCID_{50}$ or CFU indicates the amount of antigen per dose in the live culture before inactivation, and for IBR, the amount of IBR antigen is preferably in a range of about $10^{7.0}$ to $10^{9.0}$ $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises killed PI3, the amount of PI3 antigen is preferably in a range of about $10^{7.2}$ to $10^{9.2}$ $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises killed BRSV, the amount of BRSV antigen is preferably in a range of about $10^{5.0}$ to $10^{7.5}$ $TCID_{50}$ per dose. In the event the combination vaccine comprises killed Leptospira spp. the amount of each Leptospira spp. antigen is preferably in a range of about $10^{7.0}$ to 10^{10} (CFU) per dose. In the event the combination vaccine comprises killed *H. somnus*, and/or killed *Pasteurella multocida*, and/or killed *Mannheimia haemolytica* the amount of *H. somnus* antigen and/or *Pasteurella multocida* antigen, and/or *Mannheimia haemolytica* antigen is preferably in a range of about $10^{6.0}$ to 10^{10} colony forming unit (CFU) per dose.

Combined use/ method of treatment

A further aspect of the present invention relates to the combined use of immunogenic compositions for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein the infections are caused by *M. bovis* and at least one further cattle relevant pathogen.

Yet another important embodiment of the invention is a method for the prophylaxis or treatment of diseases caused by *M. bovis*, and further cattle pathogenic microorganism(s), wherein a *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as described herein, and further immunologically active components effective for the treatment and/or prophylaxis of the infection caused by said further cattle pathogenic microorganism, preferably as described herein, are administered to an animal in need thereof at a suitable dose, as known to the skilled person.

The combined use or the method of co-administration of two or more antigens of pathogens affecting cattle comprises administering a first immunogenic composition comprising a *M. bovis* antigen, preferably the attenuated, avirulent *M. bovis* as provided herewith, and at least one further immunogenic composition comprising an immunologically active component effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further pathogen of cattle. Preferably, the further pathogen is one of the pathogens as listed herein. Preferably, the first and the further immunogenic compositions are administered separately. Preferably, the further immunogenic composition comprises one or more immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a pathogen of cattle other than *M. bovis*. More preferably, the first and the further immunogenic compositions are administered together by means such as mixing before administration and/or by formulating the first and the further immunogenic compositions in a single container.

The co-administration of each of the immunogenic compositions occurs simultaneously, which means at least within 48 hours, preferably within 24 hours, even more preferably within 12 hours, even more preferably within 6 hours, even more preferably within 3 hours, even more

preferably within 2, hours, even more preferably within 1 hour. The route of administration of each of the immunogenic compositions depends on the mode-of-action and may be the same, but also could be different.

According to a further embodiment the *M. bovis* antigen as provided herewith and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* can be used a medicament. Preferably, that medicament is a vaccine and can be used for lessening or reducing the signs of a *M. bovis* infection. Most preferably, that medicament or vaccine can be used for lessening or reducing the signs of a *M. bovis* infection and associated with or caused by an infection of the further cattle relevant antigen.

Further Definitions

An "antigen" or an "immunologically active component" as used herein refer to but is not limited to components which elicit an immunological response in a host of a cellular and/ or antibody-mediated immune response to a composition or vaccine of interest comprising said antigen or immunologically active component. The antigen or immunologically active component may be a microorganism that is whole (in inactivated or attenuated or modified live form), or any fragment or fraction thereof, which, if administered to a host, can elicit an immunological response in the host.

An "immunogenic or immunological composition" refers to a composition of matter that comprises at least one antigen, which elicits an immunological response in the host of a cellular and/ or antibody-mediated immune response to the composition or vaccine of interest. Usually, an "immunological response" includes but is not limited to one or more of the following effects: the production or activation of antibodies, B cells, helper T cells, suppressor T cells, and/or cytotoxic T cells and/or gamma-delta T cells, directed specifically to an antigen or antigens included in the composition or vaccine of interest. Preferably, the host will display either a therapeutic or protective immunological response such that resistance to new infection will be

enhanced and/or the clinical severity of the disease reduced. Such protection will be demonstrated by either a reduction or lack of clinical signs normally displayed by an infected host, a quicker recovery time and/or a lowered duration or lowered pathogen titer in the tissues or body fluids or excretions of the infected host. In such case, where the host will display either a therapeutic or protective immunological response such that resistance to new infection will be enhanced and/or the clinical severity of the disease reduced, the immunogenic composition is described as a vaccine.

"Signs of *M. bovis* infection" refers to the manifestations of infection or disease caused by *M. bovis* including both the clinical symptom(s) and pathology typically experienced by cattle infected with wild type *M. bovis*. These manifestations of infection or disease may take many forms including, but not limited to, fever, depression, anorexia, labored breathing, nasal and ocular discharge, coughing, sneezing, gasping, grunting, lameness and swollen joints, middle ear infections, discharge from inflammation of the inner ear, abortions and other reproductive disorders, recumbence, respiratory infection, head tilt, ataxia, arthritis, mastitis, otitis, keratoconjunctivitis, synovitis, pleuritis, lung lesions, lung consolidation and nodular formation in the lungs, increased synovial fluid, thickened joint capsules, joint surface erosions, and even death.

"High Passage strain" for purposes of this disclosure, refers to an *M. bovis* strain that has been passaged more than 10, preferably at least 20, still more preferably at least 30, even more preferably at least 40, still more preferably, at least 50, even more preferably at least 55, still more preferably at least 60, even more preferably at least 70, still more preferably, at least 80, even more preferably at least 90, still more preferably at least 95, even more preferably at least 100, still more preferably at least 102 times, and most preferably at least 106 times *in vitro*.

"Lung Pathology Assessment" refers to observation of the lungs during necropsy, including, but not limited to, assessment of consolidation, lesions, and nodular formations as well as assessment of the thoracic cavity including pleuritis and fluid accumulation.

"Attenuation" means reducing the virulence of a pathogen. In the present invention "attenuation" is synonymous with "avirulent". In the present invention, an attenuated *M. bovis* bacterium is one in which the virulence has been reduced so that it does not cause clinical signs of a *M. bovis* infection but is capable of inducing an immune response in the target mammal, but may also mean that the clinical signs are reduced in incidence or severity in animals vaccinated with the attenuated *M. bovis* in comparison with a "control group" of animals infected with non-attenuated *M. bovis* and not receiving a vaccination of the attenuated bacterium. In this context, the term "reduce/reduced" means a reduction of at least 10%, preferably 25%, even more preferably 50%, most preferably of more than 100% as compared to the control group as defined above. Thus, an attenuated, avirulent *M. bovis* strain is one that is suitable for incorporation into an immunogenic composition, comprising a modified live *M. bovis* bacterium.

An "effective amount of *M. bovis*" for purposes of the present invention, means an amount of an immunogenic composition capable of inducing an immune response that reduces the incidence of or lessens the severity of *M. bovis* infection in an animal. Particularly, an effective amount refers to 10E3 to 10E10, preferably to 10E6 to 10E10 colony forming units (CFU) per dose.

"Improved efficacy such that clinical signs associated with *M. bovis* infection and/or the *M. bovis* infection itself were reduced in comparison to currently available vaccines when vaccinates are exposed to *M. bovis* or suffer infection by wild-type *M. bovis* strains" refers to a reduction in either the incidence of or severity of clinical signs of *M. bovis* infection when comparing vaccines made from strains passaged as taught by the present invention with *M. bovis* vaccines that were available prior to this invention. In this context, animals not vaccinated, or vaccinated with *M. bovis* vaccines available prior to the present invention will have clinical signs of *M. bovis* infection that are at least 30%, and possibly up to more preferably at least 40%, still more preferably at least 50%, even more preferably at least 60%, still more preferably at least 70%, even more preferably at least 75%, still more preferably at least 80%, even more preferably

at least 85%, still more preferably at least 90%, and most preferably at least 95% more severe or prevalent than in animals receiving an administration of an *M. bovis* immunogenic composition in accordance with the present invention.

"Long-lasting protection" shall refer to "improved efficacy" that persists for at least 3 weeks, but more preferably at least 6 months, still more preferably at least 1 year, even more preferably at least 2 years for beef animals, and at least 6 months, more preferably at least 1 year, still more preferably at least 2 years, still more preferably at least 3 years, and even more preferably at least 4 years for dairy animals. For both dairy animals and beef animals, it is most preferred that the long lasting protection shall persist until the average age at which beef animals are marketed for meat and the age at which dairy animals conclude their productive life of milking.

The term "in need of such administration" or "in need of such administration treatment", as used herein, means that the administration/treatment is associated with the boosting or improvement in health or any other positive medicinal effect on health of the animals which receive the immunogenic composition in accordance with the present invention.

"DNA fingerprinting", as used herein, refers to the rapid identification of bacterial strains accomplished by amplifying the DNA between insertion sequences (IS) and measuring the pattern of amplified products as described in WO 2008-030619, hereby incorporated by reference in its entirety. Using PCR and a combination of outwardly facing primers designed against bacterial insertion sequences (transposable elements), patterns are produced that are unique to an isolate of a bacterial species. These patterns can then be compared for such things as epidemiology or phylogeny. One preferred method of DNA fingerprinting utilizes PCR and a combination of outwardly facing primers designed against single or multiple bacterial insertion sequences. Such a method produces amplification products from adjacent IS. Once the PCR amplification is complete, the products are separated (agar gel) and banding patterns are produced, according to the molecular weight of the amplification products, which are unique to

an isolate of a bacterial species. The preferred method is to carry out multiplex PCR using outwardly facing primers. Multiplex PCR is a variant of PCR which enables simultaneous amplification of many targets of interest in one reaction by using multiple primer sets. Of course, other molecular-based fingerprinting methods known in the art may also be used.

An "insertion sequence" (IS) is a short DNA sequence that acts as a transposable element. IS are generally around 700 to 2500 bp in length, which is relatively small compared to other types of transposable elements. They code for proteins implicated in transposition activity, wherein the proteins catalyze the enzymatic reaction allowing the IS to move. IS elements are unique to a particular species or can be shared between taxonomic groups. There are usually multiple copies of these insertion sequences, but they are located in unique locations for a specific transposable element.

EXAMPLES

The following examples are representative of preferred embodiments of the present invention. It is understood that nothing herein should be taken as a limitation upon the overall scope of the invention.

Example 1

This Example assessed the efficacy of an experimental live *M. bovis* vaccine using two different challenge models in a target species.

Materials and Methods

Thirty-five colostrum deprived (CD) Holstein calves ranging in age from 4 – 8 weeks of age were used. All animals met the inclusion criteria, namely that they tested negative for *M. bovis* and were in good health at the time of the challenge. The calves were first randomly assigned to 1 of 4 groups. Groups 1-3 each contained 9 calves, and Group 4 contained 8 calves. Group 1 and 2 calves were vaccinated with Live Vac 1, which is a culture of *M. bovis* isolate

052823 passaged 106 times (05-2823-1A-3A P106+) (ATCC Designation No. PTA-8694) while Group 3 and 4 calves were vaccinated with media only. The vaccine isolate for Groups 1 and 2 was obtained from naturally occurring disease outbreak and then serially passaged 106 times in *M. bovis* appropriate media. The culture was grown 24 ± 2 hours at 37° C after inoculation with an appropriate volume of seed culture determined before the study. The isolate was used without dilution. The average pre and post vaccination concentration was found to be 2.1E9 CFU / ml. The vaccine was administered in 2 ml doses subcutaneously and in 2 ml doses intranasally (1 ml in each nostril). All study calves were challenged with virulent *M. bovis* to induce the naturally occurring infection and disease with Groups 1 and 3 receiving a higher challenge dose and Groups 3 and 4 receiving a lower challenge dose

The doses and administrations of the test substance are summarized in Table 1.

Table 1

Group Treatments							
Groups	Animals/ group	Test Substance			Challenge		
		Article	Dose / Route	Admin Schedule	Material	Dose	Admin Schedule
Group 1	9	*M. bovis* Live I	2 ml SQ and 2ml IN (1ml each nostril)	Day 0 and 14	*M. bovis* (Single Isolate Fresh)	High dose of challenge material and 30ml of PBS	Day 29 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 2	9	*M. bovis* Live I	2 ml SQ and 2ml IN (1ml each nostril)	Day 0 and 14	*M. bovis* (Single Isolate Fresh)	Low dose of challenge material and 30ml of PBS	Day 29 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 3	9	Media Only	2 ml SQ and 2ml IN (1ml each nostril)	Day 0 and 14	*M. bovis* (Single Isolate Fresh)	High dose of challenge material and 30ml of PBS	Day 29 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 4	8	Media Only	2 ml SQ and	Day 0 and 14	*M. bovis* (Single Isolate	Low dose of challenge material and 30ml of PBS	Day 29 (approx 4 weeks after

			2ml IN (1ml each nostril)		Fresh)		vaccination)

Nasal swabs and blood samples were taken on Days 0, 14, 28, 35, and 42. At necropsy, samples of the lungs were taken, tonsil swabs were collected from all calves and joint swabs were taken from animals with clinical abnormalities. Additionally, samples were taken from other locations in certain animals showing area involvement. In all cases, three sterile swabs were rubbed around the regions, as aseptically as possible, for a few seconds and then removed. Two of the swabs were placed into individual transport containers with media and one was placed into a transport container without media. Table 2 summarizes the samples taken from each calf.

Table 2

Day	Event	Samples	Testing
-42 to 0	General Observations (Daily)	--	--
Approx -35	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
		Ear-notch	BVDV (IHC)
0 to 28	Clinical assessment	--	--
0	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	1st Vaccination	--	--
14	Injection site evaluation.	--	--
	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	2nd Vaccination	--	--
28	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	Injection site evaluation	--	--
29	**Challenge**	--	--
28 to 43	Clinical observation (Daily)	--	--
35	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
42	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
43	**Necropsy** and Gross Pathology	--	--

	Collect samples (Post)	Tonsil swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Lung Tissue (Preserved)	*M. bovis* (IHC)
		Lung Tissue (Fresh)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Joint swabs (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)

Testing

For microbiological testing, swabs were placed in the transport media and tissue samples were shipped for *M. bovis* isolation. Briefly, swabs were swirled in 5ml Mycoplasma selective broth. A small sample (approximately 5mm) was cut from lung tissue and homogenized in 2ml of Mycoplasma media. 100µl of homogenate was added to the Mycoplasma selective broth. Cultures were incubated at 37C/5% CO2. After 4-14 days, the broth was examined for growth and subcultured to plates for isolation. All positive subculture samples were stored at -70C.

For PCR, swabs from each calf not placed in transport media and tissue samples were shipped for DNA extraction and testing by PCR using primers and probes specific for the uvrC gene of *M. bovis*. Results of PCR testing were expressed as positive or negative for *M. bovis* DNA detection.

For serology testing, serum samples were tested using a commercially available ELISA (Biovet, Canada) using the protocol provided with the test kit. ELISA results were expressed as Optical Density (OD) readings. Sample OD's were compared to the Positivity level (Mean ODp x 0.3) established by the positive control included in the test kit. Positive results were then interpreted by the following scale:

Interval	Interpretation
OD sample < Positivity Level	Negative (0)
Positivity Level < OD Sample < 1.75 * Positivity Level	+1
1.75 * Positivity Level < OD Sample < 2.3 * Positivity Level	+2
2.3 * Positivity Level < OD Sample < 3 * Positivity Level	+3
OD Sample < 3 * Positivity Level	+4

For histopathology/IHC testing, formalin-fixed tissues were tested by hematoxylin/eosin stained slide and immunohistochemistry using monoclonal antibodies specific for *M. bovis*. For clinical testing, daily general observations were carried out from Day 0 to Day 28, and then daily

clinical observations were made from Day 28 to euthanasia and necropsy. Clinical and general observations that deviated from the norm were noted and documented. At necropsy, the thoracic cavity and trachea were examined for each calf and gross observations recorded. The lungs and about 6 inches of trachea from each calf were removed intact for further examination and sample collection. For each set of lungs, the dorsal and ventral lung surfaces were photographed with an appropriate ear tag alongside each view. For lung pathology, each lung lobe was examined by visualization and by palpation in order to determine how much pathology was present (as a percent) per each lung lobe due to *M. bovis*. Each lung lobe percent was then weighted and summed to determine the percentage of total lung with pathology. Joint pathology was tested by examining affected joints and recording gross observations. For data analysis purposes, data was summarized. Percent reduction of clinical symptoms and gross pathology were calculated using the following formula: % Reduction = [1 – (Treatment/Non-treatment)] * 100. Additionally, 1 animal from each of groups 2 and 3, and 2 animals from group 4 were removed for humane reasons at Day 37.

Results

Pre-challenge clinical assessments were made from Day 1 – Day 26. Loose/watery stool, depression, ear droop, and lethargy were observed during this phase of the study. Appropriate veterinary care was administered. No adverse site reactions or Mycoplasma specific clinical symptoms were noted from any groups on any day of observation. Post-challenge clinical assessments were made from Day 27-43. Coughing, labored respiration, depression, anorexia, swollen joints, lameness, and droopy ear were all clinical observations noted during this phase of the study. The incidence of clinical scores during the post-challenge period is summarized below in Table 3. Group 1 had two out of nine calves affected with at least one clinical sign of infection, two that were affected with respiratory signs and one that was affected with signs of joint infection. Group 3 had all calves affected with at least one clinical sign, seven calves affected with respiratory signs and three calves affected with signs of infection in their joints. Group 2 had four out of nine calves affected by at least one clinical sign, no calves affected with just respiratory signs, and four calves with signs of infection in their joints. Group 4 had seven

calves with at least one clinical sign, one with respiratory signs, and seven with signs of infection in their joints.

Table 3

Group		All (Respiratory + Joint + Other)			Respiratory			Joint		
		Affected	Frequency	% Reduction	Affected	Frequency	% Reduction	Affected	Frequency	% Reduction
1	Vac / Hi	2 / 9	22%	78%	2 / 9	22%	72%	1 / 9	11%	67%
3	NoVac / Hi	9 / 9	100%		7 / 9	78%		3 / 9	33%	
2	Vac / Lo	4 / 9	44%	50%	0 / 9	0%	100%	4 / 9	44%	50%
4	NoVac / Lo	7 / 8	88%		1 / 8	13%		7 / 8	88%	

Group 1 = Vaccine/High Respiratory Challenge
Group 2 = Vaccine/Low Respiratory Challenge
Group 3 = No Vaccine/ High Respiratory Challenge
Group 4 = No Vaccine/Low Respiratory Challenge

Lungs were collected at necropsy and observed for lesions associated with *M. bovis* infection. Animals exhibited variability in pathological features such as consolidation and nodular formation. Results of lung involvement were expressed as a percent using a scoring system reflecting the percentage of the total lung with gross pathology associated with *M. bovis* infection. In some cases, the determination of lung percent was hampered by adhesions or the atypical nature of lesions. Table 4 displays the ratios of individuals displaying any amount of lung lesions and percent range/average percent lung involvement. For lung pathology scores, group 3 had the most calves affected (9/9) and group 2 had the least number of calves affected (2/9).

Table 4 Summary of Lung Pathology Scores

Group	Lung Pathology			
	Affected	% Range	% AVG $\pm$ STD	% Reduction

1	Vac / Hi	6 / 9	0.8 – 26.7	4.0 ± 8.6	33%
3	No Vac / Hi	9 / 9	0.4 – 23.9	6.0 ± 7.4	
2	Vac / Lo	2 / 9	0.4 – 2.0	0.3 ± 0.7	96%
4	No Vac / Lo	6 / 8	0.4 – 36.3	7.2 ± 12.3	

At necropsy, joints from animals that previously exhibited clinical symptoms (swelling or lameness) were examined for gross pathology. Areas affected varied by animal and may have involved the carpus, hock, stifle, fetlock and/or elbow. Animals presented with gross swelling, increased synovial fluid, abnormal fluid appearance and thickening of the joint capsule. In more severely affected calves, fibrin was present as was erosion of the articular surface. Samples of joint fluid and/or surface swabs were tested by culture for the presence of *M. bovis*. The presence of gross pathological features in the joint is summarized in Table 5 below.

Table 5 Presence of Gross Pathologic Features in the Joint (0 = Normal; 1 = Abnormal)

Group	Animals	Joint	Gross Swelling	Synovial Fluid Volume	Synovial Fluid appearance	Fibrin Present	Joint Capsule	Articular Surface	Detection of *M. bovis*
1	5982	Right Stifle	1	1	1	1	1	1	Yes
1	5887	Left Stifle	NR	1	0	0	0	0	No
1	5007	Right Stifle	NR	1	0	0	0	0	No
1	0007	Right rear fetlock	0	0	0	0	0	0	No
2	5987	Right Elbow	0	0	0	0	0	0	Yes
2	5989	Right Hock	NR	1	NR	1	1	0	Yes
3	5995	Right Hock	1	1	1	1	1	0	Yes
3	5990	Left Stifle	0	1	1	0	0	0	Yes
4	5985	Left rear fetlock	1	1	1	0	1	0	Yes

4	5991	Left rear fetlock	1	0	1	0	1	0	No
4	0004	Left Stifle	1	1	NR	1	1	0	Yes
4	0000	Left Carpus	1	1	0	0	0	0	Yes
4	0011	Right Elbow	1	1	1	0	0	0	Yes
4	0011	Right Stifle	1	1	1	0	1	0	Yes
4	0013	Left Stifle	0	0	1	0	0	0	No
4	6015	Right Hock	0	1	1	1	0	0	Yes

Group 1=Vaccine / High Respiratory Challenge; 2=Vaccine / Low Respiratory Challenge; 3=No Vaccine / High Respiratory Challenge; 4=No Vaccine / Low Challenge (NR = Not Recorded)

The nasal passages were sampled by swab on Day 0, 14, 28, and 35 and then sampled at necropsy (Day 43). In addition, during the post-mortem, samples of tonsils were taken by swab and representative lung tissue was recovered. Figures 1 and 2 show the frequency of recovery by Mycoplasma selective culture or the frequency of detection by *M. bovis* specific PCR. As shown in Figure 1, there was 100% recovery from all groups when the tonsils were sampled post necropsy. There was 100% recovery in groups 1 and 3 in the lungs post necropsy. Group 2 recovered the least amount from the lungs (about 60%) and group 4 recovered about 90%. No group showed recovery of bacteria *M. bovis* until samples taken nasally on day 35 of the study, and the only group to show recovery on day 35 was group 4 (25%). All groups except group 2 showed recovery in nasal samples post necropsy.

Table 6: Summary of PCR and Serology:

Day		0			14			28			35			42 (or Post)										
Sample		Nasal	Nasal	Serum	Nasal	Nasal	Serum	Nasal	Nasal	Serum	Nasal	Nasal	Serum	Nasal	Nasal	Serum	Tonsil	Tonsil	Tonsil	Lung	Lung	Lung	Joint	Joint
Group	Cosby ID	Culture	PCR-uniC	ELISA	Culture	PCR-uniC	ELISA	Culture	PCR-uniC	ELISA	Culture	PCR-uniC	ELISA	Culture	PCR-uniC	ELISA	Culture	PCR-uniC	PCR-Vac specific	Culture	PCR-uniC	PCR-Vac specific	Culture	PCR-uniC
1	5981	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	1	4	1	0	4	1	1	1	1	1	0		
1	5986	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	1	1	1	0		
1	5998	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1	4	0	1	3	1	1	1	1	1	0		
1	5999	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	0	0		
1	6003	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	1	0		
1	6007	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	1	1	0	0	0
1	6008	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	0	0		
1	6009	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	1	4	0	1	4	1	1	0	1	1	0		
1	6012	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1	4	0	0	4	1	1	0	1	1	0		
2	5982	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	3	0	0	4	1	1	1	1	1	0	1	1
2	5983	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	1	1	0		
2	5984	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	0	0	0		
2	5987	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	3	0	0	4	1	1	1	1	1	0	1	1
2	5988	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	3	0	1	3	1	1	0	1	1	0		
2	5989	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	0	0	0	1	1
2	5990	0	0	0	0	1	2	0	0	2	0	0	4	0	1	3	1	1	1	0	0	0		
2	5992	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	1	0	0	0		
2	5994	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	1	1	1	0		
3	5993	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0		
3	5995	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	2	1	1	0	1	1	0	1	NT
3	5996	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0	1	3	1	1	0	1	1	0	1	1
3	5997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0		
3	6000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	1	1	0	1	1	0		
3	6001	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	3	1	1	0	1	1	0		
3	6002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0		
3	6010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	1	1	0	1	1	0		
3	6014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0		
4	5985	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	4	1	1	0	1	1	0	1	NT
4	5991	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0	NT
4	6004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0	1	NT
4	6005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1	1	0	1	0	0		
4	6006	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
4	6011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	NT
4	6013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	1	1	0	1	1	0	0	0
4	6015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	1	1	0	1	1	0	1	1

Culture	PCR	ELISA
0 = No *M. bovis* growth	0 = Negative for *M. bovis*	0 = Negative
1 = Growth of *M. bovis*	1 = Positive for *M. bovis*	1 = Positivity to 1.75x
M = Mixed/or other		2 = 1.75x to 2.3x
		3 = 2.3x to 3.0x
NS = No Sample		4 = 3.0x or greater
NT = Not Tested		

All samples were tested in the Biovet *M. bovis* ELISA to monitor the serological response to *M. bovis*. Seroconversion was scored according to grouped multipliers of positivity ODs. The following table shows the average serological scores detected from each group on Day 0, 14, 28, 35 and 42. Figure 3 shows the average group score for *M. bovis* specific antibodies from serum samples. Seroconversion indicating effective humoral immune response was detected at no more than 14 days following one dose of vaccine, and good duration of this immune response was evident by measurable serological response to *M. bovis* for at least 42 days after one vaccination and 28 days after two doses of vaccine. The score for group 1 was consistently higher than all other groups beginning on day 28. Groups 1 and 2 were equal on day 14 (1.5 ELISA score). Group 4 was the lowest from days 14 – 35, and came in third (about 2.2) on day 42.

Conclusions

This study assessed the efficacy of a live *M. bovis* vaccine in calves given as two doses, given both subcutaneously and intranasally, and challenge models in the target species. The challenge model included a high respiratory administration and a low respiratory administration. The study also evaluated efficacy, onset of immunity, and duration of immunity by an indirect assessment, seroconversion or humoral immune response following a single and two doses of vaccine. The onset of immunity and duration of immunity following vaccination was so proven.

Both the challenge and vaccine *M. bovis* isolates originated from different, naturally infected animals. The isolate used as the challenge was previously shown to cause both lung and

joint disease during experimental challenge and predominated in mixed isolate challenge studies. The vaccine isolate is a high passage isolate (passage 106) originally derived from a diagnostic sample. Furthermore, the genotypes of the challenge and vaccine isolates were shown to be dissimilar when using the fingerprinting method described in WO 2008-030619.

Within the high volume respiratory challenged groups (1 and 3), a reduction in respiratory clinical symptoms (72%) and lung pathology (33%) was observed in the vaccinated group. Most of the respiratory clinical symptoms in the non-vaccinated group occurred between day 2 and 3 post challenge. As shown in Table 3, the vaccine also reduced the occurrence of joint disease due to *M. bovis*.

Within the low volume respiratory challenged groups (2 and 4), a reduction (96%) in lung pathology was observed in the vaccinated group. In addition, the vaccinated group showed an appreciable reduction (50%) of joint clinical symptoms.

Laboratory testing of lung samples (IHC, PCR and culture) and joint samples (PCR and culture) agreed with gross pathology in most instances. Discrepancies may be attributed to bacterial distribution at the sampling site or between samples submitted for testing. The vaccine isolate was not detected from any lung samples tested by an experimental PCR assay designed to detect the vaccine candidate and not the challenge isolate.

The novel, high passage attenuated Live *M. bovis* vaccine candidate (05-2823 P106) given via both intranasal and subcutaneous route administered 2 times with a 2 week interval between vaccinations was shown to be safe and effective by providing a reduction in signs of *M. bovis* infection including both clinical symptoms and pathology (respiratory and joint) associated with *Mycoplasma bovis* infection in colostrum deprived calves using various challenge conditions. The *M. bovis* vaccine and immunological composition was also effective in stimulating an onset of immunity no more than 14 days following a single dose and with a duration of at least 42 days following the single dose.

Example 2

The purpose of this investigation was to determine the safety and efficacy of three live vaccine candidates.

Materials and Methods

The calves used for the study were 6 ± 2 weeks of age and were divided into 6 groups. As shown in Table 7, group 1 was comprised of 10 animals, which were vaccinated with *M. bovis* Live Vaccine I on day 0 (D0) and D14 of the study. Group 1 was vaccinated with 2 ml subcutaneously and 2 ml intranasally on D0 and D14. Group 2 was comprised of 10 animals and was vaccinated with 2 ml of *M. bovis* Live Vaccine I subcutaneously on D0 and D14 of the study. Group 3 was comprised of 9 calves vaccinated with *M. bovis* Live Vaccine I on D0 and D14. Group 3 was vaccinated with 2 ml intranasally. Group 4 was a control and was not administered any vaccine. Group 5 was comprised of 2 calves that were vaccinated with *M. bovis* Live II vaccine. Group 5 was vaccinated with 2 ml subcutaneously and 2 ml intranasally on D0 and D14. Group 6 was comprised of two calves that were administered *M. bovis* Live Vaccine III. The calves in Group 6 were administered 2 ml subcutaneously and 2 ml intranasally on D0 and D14. All groups were subsequently challenged with 120 ml of challenge material. All animals were challenged on D28.

As noted in Table 8, nasal swabs were collected from all calves on Days 0, 14, 27, 35 and 41. At necropsy, tonsil swabs were collected from all calves. Joint swabs were taken from animals with clinical abnormalities. In addition, samples were taken from other locations in certain animals showing area involvement. Blood was collected from all calves on Days 0, 14, 27, 35 and 41. Blood was collected aseptically from a jugular vein from each calf. After necropsy, lungs were scored for lung lesions.

Table 7 Group Treatments

	Animals / group	Test Substance			Challenge		
		Article	Dose / Route	Admin Schedule	Material	Dose	Admin Schedule
Group 1	10	*M. bovis* Live I (05-2823 P106)	2 ml SQ and 2mL IN	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 2	10	*M. bovis* Live I (05-2823 P106)	2 ml SQ	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 3	9	*M. bovis* Live I (05-2823 P106)	2mL IN	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 4	9	Media Only	2 ml SQ and 2mL IN	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 5	2	*M. bovis* Live II (05-249 P102)	2 ml SQ and 2mL IN	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)
Group 6	2	*M. bovis* Live III (05-1902-1 P106)	2 ml SQ and 2mL IN	Day 0 and 14	*M. bovis*	challenge material with a 5 ml wash of PBS	Day 28 (approx 4 weeks after vaccination)

Table 8 Sample Schedule

Day	Event	Samples	Testing
-42 to 0	General Observations (Daily)	--	--
Approx -35	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
		Ear-notch	BVDV (IHC)
0 to 28	Clinical assessment	--	--
0	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	1st Vaccination	--	--
14	Injection site evaluation.	--	--
	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)

	2nd Vaccination	--	--
27	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
28	**Challenge**	--	--
29 to 42	Clinical observation (Daily)	--	--
35	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
41	Collect samples	Nasal swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Blood (SST)	*M. bovis* (ELISA)
42	**Necropsy** and Gross Pathology	--	--
	Collect samples (Post)	Tonsil swab (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Lung Tissue (Preserved)	*M. bovis* (IHC)
		Lung Tissue (Fresh)	*M. bovis* (Culture/PCR)
		Joint swabs (Wet/Dry)	*M. bovis* (Culture/PCR)

Results and Discussion

Pre-Challenge Clinical Signs

Clinical assessments were made from Day -1 through Day 28. Loose/watery stool, ocular discharge, depression and lethargy were clinical observations noted during this phase of the study, and none were attributed to an effect of vaccination. Observation of injection sites recorded no adverse site reactions except for calf 6134 (group 6) that showed acceptable transient swelling at the 1st injection site on Day 14.

Post-Challenge Clinical Signs

Clinical observations were made from Day 28 through Day 42. Coughing, labored respiration, depression, swollen joints, lameness and droopy ear were clinical observations noted during this phase of the study. Clinical signs were divided into three types (respiratory, joint and other) typical of *Mycoplasma bovis* infection. Respiratory signs included coughing, rapid/labored respiration and nasal discharge. Joint signs included swollen joints and lameness. Other signs included ear droop, head tilt, depression and anorexia. Table 9 displaying individual results can be found below:

Table 9

	DPC	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Group	ID	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
1	6116						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
1	6123								4,7	4	4,5	4,5,8				
1	6124										4,5	1,4,5	4,5,8	4,5	4,5	4,5
1	6139									4,5	1,4,5	4,5	4,5	4,5	1,4,5, 8	4,5
1	6140								4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
1	6145						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
1	6151					5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5,8				
1	6152							4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
1	6153															
1	6156						1			4		4,5	4,5	4,5		
2	6117							4	4,5	4,5,8	4,5					
2	6118		2													
2	6119										4			4,5	4,5	
2	6125					5	5,8	4,5,6,8	4,5	4,5	4,5	4,5,8				
2	6127					5	5	4,5	4,5	4,5	4,5					
2	6128						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
2	6130											4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
2	6133							4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5, 8	4,5
2	6136						4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
2	6144							4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6129					5	5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5				
3	6132						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
3	6135						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
3	6138															
3	6141								4,5	4,5		4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6142									4,5	4	4,5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8
3	6154									4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6158													4,5	4,5	4,5
3	6159								4,5	4,5,8	4,5					
4	6120					5		4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6126					5	5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6131							8	4	4,5,8	4,5,8					
4	6143					5	1,5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6146					2,5,8	2,4,5,8									
4	6147							4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6150					1	1	4,5	4,5	1,4,5	4,5,8					
4	6155				5	5	4,5,8									
4	6157		1,2	2	2	2,8	1,2,8									
5	6122															

	DPC	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Group	ID	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
5	6137															
6	6121															
6	6134															

Key to Clinical Sign:

1 Coughing
2 Rapid (labored) respiration
3 Nasal discharge
4 Swollen Joint
5 Lame
6 Ear Droop
7 Head Tilt
S Depression
9 Anorexia
A Diarrhea
B Ocular Discharge
C Leg Laceration

Black Box = Animal removed from study

Table 10 - Incidence of Clinical Scores during the Post-Challenge period

Group		Respiratory			Joint			Early Removal		
		Affected	Frequency	% Reduction	Affected	Frequency	% Reduction	Affected	Frequency	% Reduction
1	Live Vac I (SQ+IN)	3/9	33%	0%	6/9	67%	33%	4/9	44%	56%
2	Live Vac I (SQ)	0/9	0%	100%	7/9	78%	22%	4/9	44%	56%
3	Live Vac I (IN)	0/9	0%	100%	5/8	63%	38%	3/8	38%	63%
5	Live Vac II (SQ+IN)	0/2	0%	100%	0/2	0%	100%	0/2	0%	100%
6	Live Vac III (SQ+IN)	0/2	0%	100%	0/2	0%	100%	0/2	0%	100%
4	No Vac	2/6	33%		6/6	100%		6/6	100%	

The table 10 is subdivided into respiratory and confirmed (culture and/or PCR) joint clinicals typical of *Mycoplasma bovis* infection. In addition, early removal rates due to severe joint involvement are reported.

Lung Pathology

At necropsy, lungs were collected and observed for lesions associated with *M. bovis*. Animals exhibited variability in pathological features such as consolidation and nodular formation. Results of lung involvement were expressed as a percent using a scoring system that reflects the percentage of the total lung with gross pathology associated with *Mycoplasma bovis* infection. In some cases, determination of lung percent was hampered by adhesions or the atypical nature of lesions. Below is a table with the ratios of individuals displaying any amount of lung lesions and percent range / mean percent lung involvement.

Table 11 -Summary of Lung Pathology Scores

Group		Lung Pathology			
		Affected	% Range	Mean % Lesion + STD	% Lesion Reduction
1	Live Vac I (SQ+IN)	7 / 9	0.2 - 2.0	1.0 ± 0.9	86%
2	Live Vac I (SQ)	9 / 9	0.4 - 12.5	2.8 ± 3.8	61%
3	Live Vac I (IN)	5 / 8	0.2 - 39.2	6.3 ± 13.5	13%
5	Live Vac II (SQ+IN)	1 / 2	N/A	0.2 ± 0.3	98%
6	Live Vac III (SQ+IN)	0 / 2	N/A	0.0	100%
4	No Vac	6 / 6	2.0 - 19.5	7.2 ± 6.9	

Joint Pathology

At necropsy, joints from animals that previously exhibited clinical symptoms (swelling

and/or lameness) were examined for gross pathology. Areas affected varied by animal and may involve the carpus, hock, stifle, fetlock and/or elbow. Animals presented with gross swelling, increased synovial fluid, abnormal fluid appearance or thickening of the joint capsule. In more severely affected calves, fibrin was present and erosion of the articular surface. Samples of joint fluid and/or surface swabs were tested by culture and PCR for the presence of *Mycoplasma bovis*. Vaccination using any of the attenuated live vaccines successfully reduced the total numbers of calves affected.

Table 12 - Incidence of Laboratory Confirmed Clinical Joints

Group	Total Animals Affected	Right Front				Left Front				Right Rear				Left Rear			
		Fetlock	Knee	Elbow	Shoulder	Fetlock	Knee	Elbow	Shoulder	Fetlock	Hock	Stifle	Hip	Fetlock	Hock	Stifle	Hip
1	6/9	0%	44%	11%	0%	11%	22%	0%	0%	11%	11%	11%	0%	33%	11%	22%	0%
2	7/9	29%	29%	0%	0%	29%	86%	0%	0%	29%	29%	14%	14%	57%	14%	14%	0%
3	5/8	0%	38%	0%	0%	0%	13%	0%	0%	13%	0%	13%	0%	13%	13%	25%	0%
4	6/6	50%	83%	33%	0%	50%	100%	0%	0%	67%	17%	0%	0%	83%	0%	0%	0%
5	0/2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
6	0/2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Group 1= Vac I (SQ+IN); 2=Vac I (SQ only); 3=Vac I (IN only); 4=No Vac; 5=Vac II (SQ+IN); 6=Vac III (SQ+IN)

Note: A sample was reported as laboratory confirmed if PCR and/or Culture was positive for *M.bovis*.

PCR Detection of *M. bovis* from Nasal, Tonsil and Lung Samples

The nasal passages were sampled from each animal by swab on Day 0, 14, 27, 35 and 41 or Day of Necropsy. In addition, during the post-mortem, samples of tonsils were taken by swab and representative lung tissue was recovered. The following tables show the frequency of detection using real-time PCR targeting a general *M. bovis* marker (uvrC). In addition, tonsil and lung tissue were analyzed using a recently developed end-point PCR assay targeting markers not found in the *M. bovis* challenge isolate but found in all vaccine candidates. As expected, PCR

detected the *M. bovis* vaccine and/or the challenge microorganism in various nasal swab samples.

Table 13 - PCR Detection Frequency of *M. bovis* from Nasal Swab Samples

Group		n=	Day of Test				
			D0	D14	D27	D35	Post
1	Live Vac I (SQ+IN)	9	0%	33%	0%	11%	22%
2	Live Vac I (SQ)	9	0%	0%	0%	22%	0%
3	Live Vac I (IN)	8	0%	0%	13%	0%	25%
4	No Vac	6	0%	0%	0%	50%	33%
5	Live Vac II (SQ+IN)	2	0%	0%	0%	50%	50%
6	Live Vac III (SQ+IN)	2	0%	0%	0%	0%	100%

Group 1= Vac I (SQ+IN); 2=Vac I (SQ only); 3=Vac I (IN only); 4=No Vac; 5=Vac II (SQ+IN); 6=Vac III (SQ+IN)

Note: PCR detection by real-time PCR targeting a general *M.bovis* marker (uvrC).

Table 14 - PCR Detection Frequency (General *M. bovis* and Non-Challenge assay) from Tonsil and Lung Tissue Samples

Group		n=	Tonsil		Lung	
			General	Non-Challenge	General	Non-Challenge
1	Live Vac I (SQ+IN)	9	100%	100%	67%	11%
2	Live Vac I (SQ)	9	100%	0%	100%	0%
3	Live Vac I (IN)	8	100%	100%	13%	0%
4	No Vac	5	100%	0%	100%	0%
5	Live Vac II (SQ+IN)	2	100%	100%	50%	0%
6	Live Vac III (SQ+IN)	2	100%	100%	50%	0%

Group 1= Vac I (SQ+IN); 2=Vac I (SQ only); 3=Vac I (IN only); 4=No Vac; 5=Vac II (SQ+IN); 6=Vac III (SQ+IN)

Note: **General** = PCR detection by real-time PCR targeting a general *M.bovis* marker (uvrC); **Non-challenge** = PCR detection by end-point PCR targeting markers not found in the *M. bovis* challenge isolate but found in all vaccine candidates.

Again, as expected PCR successfully detected the attenuated live vaccine in tonsil following intranasal vaccination, whereas the challenge microorganism was detected in a high percentage of both lung and tonsil samples.

M. bovis Serology

All samples were tested in the Biovet *M. bovis* ELISA to monitor the serological response to *M. bovis*. Seroconversion was scored according to grouped multipliers of positivity ODs. The following tables show the mean serological scores detected from each group on Day 0, 14, 27, 35 and Post (post represents a range of study days from 37 to 41 due to early removal of certain animals). The seroconversion seen following vaccination reinforces the conclusion that these new vaccines do provoke a suitable immune response in vaccinated animals such as calves with rapid onset and long duration (see Figure 4).

Discussion

The objective of this study was to assess the efficacy of three novel and experimental live *Mycoplasma bovis* vaccines including vaccine (05-2823 P106) (PTA-8694) using various 2mL administration routes (SQ, IN, SQ+IN) fourteen days apart and a dual challenge model in the target species. The challenge model used administration via the respiratory tract with the addition of a parenteral administration. In addition, two other live vaccine candidates (05-249 P102 (PTA-8696) and 05-1902-1 P106 (PTA-8695)) were evaluated for efficacy using only the SQ+IN route.

The challenge and vaccine candidate *Mycoplasma bovis* isolates originated from different naturally infected farms. The procedure using a total volume of 120mL of the challenge isolate was previously shown when administered to cause both lung pathology and joint disease during experimental challenge and predominated in mixed isolate challenge studies. The live vaccine candidates are high passage isolates originally derived from diagnostic samples. High passage of the vaccine candidates was performed by serial limiting dilution involvement in Mycoplasma

appropriate media. It is noted that high passage vaccine candidate 05 2823 P106 has demonstrated restricted growth on some Mycoplasma selective agar formulations, while the low passage parent isolate has not shown the same characteristic. Additionally, the genotypes of the challenge and vaccine isolates were (as determined by the fingerprinting method) shown to be different.

Multiple parameters were investigated during this study to assess vaccine benefits. Of those parameters, animal removal rates and joint clinical symptoms were used as primary indicators of joint protection. Lung pathology (percent gross lung lesions) was used as the primary indicator of lung protection. Other data such as detection of organism from tissue, joint distribution, and serology provided additional data for confirmation, as did seroconversion to *M. bovis* following vaccination.

All groups showed disease reducing lung and joint protective benefits after receiving the vaccine candidate *Mycoplasma bovis* Live Vaccine I (05-2823 P106) regardless of route or route combination as demonstrated by a reduction in lung lesions, joint clinical symptoms and animal removal rates. The combined SQ and IN route (Group 1) resulted in the greatest reduction of lung lesions (86%) compared to the groups using only a single route. Additionally, results of lung lesions, joint clinical symptoms and removal rate reductions confirm benefit from receiving the two other vaccine candidates Live Vaccine II (05-249 P102) and Live Vaccine III (05-1902-1 P106) by a combined SQ and IN route. ELISA results demonstrated a strong humoral response to vaccination with all vaccine candidates confirming that the onset of immunity following a single vaccination is as soon as 14 days and that the duration of immunity is at least 41 days (see Figure 5).

All vaccine candidates demonstrated safety. No animals from any group receiving a vaccine presented with clinical symptoms during the vaccination period and only one animal that had received Live Vaccine III (05-1902-1 P106) showed reactivity at an injection site and that reactivity was insignificant. Additionally, results of PCR showed non-challenge *M. bovis* detection from the tonsil tissue of only groups receiving a vaccine candidate via the IN route and detection of non-challenge from lung tissue in only a single animal that had received Live

Vaccine I (05-2823 P106) by both IN and SQ routes.

The data support the conclusion that, in general, novel, attenuated live *M. bovis* vaccines made in accordance with the present invention and given by various routes of administration are safe and effective, rapid in onset and long lasting in protection as immunological compositions for vaccination of calves to prevent and reduce various disease manifestations caused by infection with virulent wild type *M. bovis*.

Example 3

This example describes the DNA fingerprinting process used to differentiate *M. bovis* strains by isolating, amplifying and detecting DNA.

Materials and Methods

Mycoplasma sp. isolates were used in the studies. Isolates were obtained from in-house sources or field isolates obtained from infected animals. Isolates were grown using a combination of Mycoplasma-selective agar and broth for 1-7 days. To isolate DNA, broth cultures were spun and pelleted. DNA from the pellet was then extracted (using the Qiagen DNeasy Tissue Kit and resuspended in molecular grade water). Genomic DNA was quantitated using Picogreen (Invitrogen). Primers were designed based on the known insertion sequences (transposable elements) present in the bacterial genome (*Mycoplasma bovis*). Outwardly facing primers were manually selected from the element ends (excluding the terminal repeat regions) at a Tm of 55-58C. PCR reactions were then carried out using a multiplex PCR master mix (Qiagen Multiplex PCR Kit). The reactions contained 1x Master mix, 300nM of each primer and 1ng of template DNA. Thermal cycling conditions were 95C for 15 minutes, 35 cycles of 94C for 30 seconds, 56.1C for 90 seconds, 72C for 2 minutes, with a final extension of 72C for 4 minutes and a 4C hold. The amplified products were separated on a 4% agarose gel with ethidium bromide (Invitrogen E-gel), run for 50 minutes at room temperature and imaged under UV light.

Results and Discussion

The results showed that each of the isolates used in this application had a unique fingerprint. However, as shown in Example 2, each isolate was also an effective attenuated live culture vaccine that was effective at providing cross protection against a challenge isolate having a different fingerprint than any of the vaccine candidates. Three field isolates, 05-2823 P106 (PTA-8694), 05-249 P102 (PTA-8696), and 05-1902-1-P106 (PTA-8695), were grown and DNA isolated according to the above protocol. 2-5ng of DNA from each isolate was amplified according to the above protocol using a multiplex of 4 sets of IS primers identified as SEQ ID Nos 1-8 in WO 2008-030619. The amplified products were separated on a Invitrogen E-gel 4% agarose gel containing ethidium bromide (according to manufacturer) for 50 minutes and visualized under UV light. All isolates produced unique patterns. The patterns were reproducible using independent aliquots under the sample PCR reaction conditions.

Example 4:

This examples describes the preparation of combination vaccines according to the invention in an exemplarily manner.

Vaccine A

M. bovis, IBR, and BVDV types 1 and 2

Attenuated live BVDV type 1 and 2 strains, having at least one mutation in the coding sequence for glycoprotein E^{rns} and/or at least another mutation in the coding sequence for N^{pro}, wherein said mutation in the coding sequence for glycoprotein E^{rns} leads to inactivation of RNase activity residing in E^{rns} and/or said mutation in the coding sequence for N^{pro} leads to inactivation of said N^{pro} (as described in WO2005/111201), are grown in MDBK-cells until a $TCID_{50}$ of about $10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ per ml cell culture fluid. A live attenuated strain of IBR is grown in MDBK cells until a $TCID_{50}$ of about $10^{5.0}$ to $10^{8.6}$ per ml cell culture fluid. A live attenuated strain of *M.bovis* as provided herewith, preferably as deposited with the ATCC under accession numbers

PTA-8694, PTA-8695, or PTA-8696 is grown in MDBK cells until a CFU of about 10^{10} per ml cell culture fluid. Each culture fluids are collected. Equal amounts of the antigens are mixed and lyophilized by standard techniques. For reconstitution, an aqueous solution is used. One dose of the combination vaccine contains 2 ml of the reconstituted antigens. A final dose includes IBR ($10^{5.0}$ to $10^{8.6}$ $TCID_{50}$), BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), and *M. bovis* (2.1 x 10^{9} CFU).

Vaccine B

M. bovis, IBR, BVDV types 1 and 2, and PI3

The preparation of the IBR, BVDV 1 and 2 and *M. bovis* antigens is performed as described for vaccine A. In addition, a live attenuated strain of PI3 is grown in MDBK cells until a $TCID_{50}$ of about $10^{4.2}$ to $10^{6.5}$ per ml cell culture fluid. Afterwards, the PI3 containing culture fluid is harvested. An amount of $10^{4.2}$ to $10^{6.5}$ ($TCID_{50}$) of the PI3 antigen is mixed with the IBR, and BVDV types 1 and 2. The mixture is then lyophilized by standard techniques, so that one dose of the reconstituted combination vaccine contains 2 ml as described for Vaccine A. A final dose includes IBR ($10^{5.0}$ to $10^{8.6}$ $TCID_{50}$), BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), *M. bovis* (2.1 x 10^{9} CFU), and PI3 ($10^{4.2}$ to $10^{6.5}$ $TCID_{50}$).

Vaccine C

M. bovis, BVDV types 1 and 2, PI3, Mannheimia (Pasteurella) haemolytica

BVDV 1 and 2, *M. bovis* bacterium, and PI3 viruses are grown as described for vaccines A and B. After the culture fluids are harvested, the antigens are lyophilized. Mannheimia (Pasteurella) haemolytica is grown until the titer reaches $10^{8.0}$ to 10^{11} cells per ml of culture. The bacteria are inactivated and the culture fluid is lyophilized or freeze dried, or formulated as a liquid that will not inactivate attenuated cultures of BVD, M. bovis, and PI3. An amount of $10^{8.0}$ to $10^{11.0}$ lyophilized or freeze dried or formulated liquid bacteria cells are mixed with the lyophilized BVDV types 1 and 2 antigen (each in an amount of $10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), PI3

antigen ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$) and *M. bovis* antigen (2.1 x 10^9 CFU). Final antigen amounts per dose are BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$) *M. bovis* (2.1 x 10^9 CFU), and Mannheimia (Pasteurella) haemolytica ($10^{8.0}$ to $10^{11.0}$ cells).

Vaccine D

M. bovis BVDV types 1 and 2, IBR, PI3, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira pomoma, Leptospira borgpetersenii hardjo-bovis

BVDV 1 and 2, *M. bovis*, IBR, and PI3 are grown as described for vaccines A and B. After the culture fluids are harvested, the viruses and *M. bovis* are lyophilized. *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, Leptospira pomoma, *Leptospira borgpetersenii* hardjo-bovis are separately cultivated until reaching $10^{8.0}$ to $10^{11.0}$ cells per ml of culture. The Leptospira cultures are inactivated and the culture fluids are lyophilized or freeze dried, or formulated as a liquid that is non-virucidal for the live antigens of the vaccine. Each of the $10^{8.0}$ to $10^{11.0}$ of the lyophilised or freeze dried bacteria cells are reconstituted with the lyophilized modified BVDV types 1 and 2 (each in an amount of $10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), modified live PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$), modified live *M. bovis* (2.1 x 10^9 CFU) and modified live IBR ($10^{6.1}$ to $10^{7.7}$ $TCID_{50}$) using sterile water for injection, or the lyophilized components are reconstituted using the liquid non-virucidal formulation of the Leptospira cultures. The reconstituted suspension (2 ml per dose) contains traces of neomycin as preservative. Final antigen amounts per dose are BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$) *M. bovis* (2.1 x 10^9 CFU), PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$), and *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, Leptospira pomoma, and *Leptospira borgpetersenii* hardjo-bovis (each $10^{8.0}$ to $10^{11.0}$ cells).

Vaccine E

M. bovis, BVDV types 1 and 2, IBR, PI3, and H.somnus

BVDV 1 and 2, *M. bovis*, IBR, and PI3 are grown as described for vaccines A and B. After the culture fluids are harvested, the viruses and *M. bovis* are lyophilized. H.somnus is cultivated until achieving $10^{7.1}$ to $10^{9.2}$ cells per ml culture. The bacteria culture is inactivated and the culture fluid is lyophilized or freeze dried, or formulated as a liquid that is non-virucidal for the live antigens of the vaccine. $10^{7.1}$ to $10^{9.2}$ of the lyophilized or freeze dried bacteria are reconstituted with the lyophilized modified BVDV types 1 and 2 (each in an amount of $10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), modified live PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$), modified live *M. bovis* (2.1 x 10^{9} CFU), and modified live IBR ($10^{6.1}$ to $10^{7.7}$ $TCID_{50}$) using sterile water for injection, or the lyophilized components are reconstituted using the liquid non-virucidal formulation of the bacterial H.somnus culture. The reconstituted suspension (2 ml per dose) contains traces of neomycin as preservative. Final antigen amounts per dose are BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{7.0}$ $TCID_{50}$), PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$) *M. bovis* (2.1 x 10^{9} CFU), PI3 ($10^{7.3}$ to $10^{8.3}$ $TCID_{50}$), and H.somnus ($10^{7.1}$ to $10^{9.2}$ cells).

Vaccine F

M. bovis, IBR, BVDV types 1 and 2, PI3 and BRSV

The preparation of the IBR, PI3, BVDV 1 and 2 and *M. bovis* antigens is performed as described for vaccine A and B. In addition, a live attenuated strain of BRSV is grown in MDBK cells until a $TCID_{50}$ of about $10^{5.0}$ to $10^{7.2}$ per ml cell culture fluid. Afterwards, the BRSV containing culture fluid is harvested. After the culture fluids are harvested, the antigens are mixed and lyophilized as described for vaccine A and B. An amount of $10^{5.0}$ to $10^{7.2}$ of the BRSV antigen is mixed with the IBR, BVDV types 1 and 2, and *M. bovis* antigens. The mixture is then reconstituted in 2 ml dose volume as described for Vaccine A. For reconstitution, an aqueous solution is used. One dose of the combination vaccine contains 2 ml of the reconstituted antigens. A final dose includes IBR ($10^{5.0}$ to $10^{8.6}$ $TCID_{50}$), BVDV-1 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), BVDV-2 ($10^{5.0}$ to $10^{8.1}$ $TCID_{50}$), *M. bovis* (2.1 x 10^{9} CFU), PI3 ($10^{4.2}$ to $10^{6.5}$ $TCID_{50}$) and BRSV ($10^{5.0}$ to $10^{7.2}$ $TCID_{50}$).

CLAIMS

1. An immunogenic composition for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infections, wherein said immunogenic composition comprises

a. one or more *M. bovis* antigens; and

b. one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of microbiological infection in cattle caused by a cattle pathogen other than *M. bovis*.

2. The immunogenic composition according to claim 1, wherein the *M. bovis* antigen is an attenuated, avirulent *M. bovis* bacterium.

3. The immunogenic composition according to claims 1 or 2, wherein the *M. bovis* bacterium is passaged more than 10 times.

4. The immunogenic composition according to any of claims 1 to 3 , wherein the *M. bovis* bacterium is passaged more than 50 times.

5. The immunogenic composition according to any one of claims 1 to 4, wherein the *M. bovis* bacterium is selected from the group consisting of: the attenuated *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694, PTA-8695, or PTA-8696; any attenuated descendant *M. bovis* bacteria strains thereof; any attenuated, avirulent *M. bovis* bacterium strain having the same characteristics as any of the *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694, PTA-8695 or PTA-8696, and combinations thereof.

6. The immunogenic composition according to any one of claims 1 to 5,

wherein said microbiological infection in cattle caused by a cattle pathogen other than *M. bovis* is caused by one or more pathogens selected from the group consisting of:

Bovine viral diarrhea virus (BVDV), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronovirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (BPV), Adenovirus Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis and Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly C fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Brucella abortus*, *Brucella suis* and *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar*, and Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*,*Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease), and combinations thereof.

7. The immunogenic composition according to any one of claims 1 to 6, wherein the further immunologically active component(s) is/are antigen(s) of one or more of the pathogens selected from the group consisting of:

Bovine viral diarrhea virus (BVDV), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine

Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronovirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (PPV), Adenovirus Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis and Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly C fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Brucella abortus*, *Brucella suis* and *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, , Streptococcus agalactia, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar*, and Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease), and combinations thereof.

8. The immunogenic composition according to any oe of claims 1 to 7, wherein the immunogenic composition is a combination vaccine.

9. The immunogenic composition according to claims 1 to 7 or the vaccine according to claim 8, wherein said immunogenic composition or vaccine is formulated for a single-dose administration.

10. A method of co-administration of two or more antigens to a cattle comprising, administering to said cattle *M. bovis* antigen and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis*.

11. The method according to claim 10, wherein the *M. bovis* antigen is an attenuated, avirulent *M. bovis* bacterium.

12. The method according to claim 10 or 11, wherein the *M. bovis* bacterium is passaged more than 10 times.

13. The method according to any one of claims 10 to 12, wherein the *M. bovis* bacterium is passaged more than 50 times.

14. The method according to any one of claims 10 to 13, wherein the *M. bovis* bacterium is selected from the group consisting of: the attenuated *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694, PTA-8695 or PTA-8696; any attenuated descendant *M. bovis*, bacteria strains thereof; any attenuated, avirulent *M. bovis* bacterium strain having the same characteristics as any of the *M. bovis* bacteria strains deposited with the ATCC under accession numbers PTA-8694, PTA-8695 or PTA-8696; and combinations thereof.

15. The method according to any one of claims 10 to 14, wherein the *M. bovis* antigen is inactivated.

16. The method according to any one of claims 10 to 15, wherein said infection caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* is caused by at least one pathogen selected from the group consisting of:

Bovine viral diarrhea virus (BVDV), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine

Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronovirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (PPV), Adenovirus Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis and Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly C fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Brucella abortus*, *Brucella suis* and *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar*, and Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease), and combinations thereof.

17. The method according to any one of claims 10 to 16, wherein the further immunologically active component(s) is/are antigen(s) of one or more of the pathogens selected from the group consisting of:

Bovine viral diarrhea virus (BVDV), Parainfluenza-3 Virus (PI-3), Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV), Bovine Herpesvirus (BHV), Bovine Rotavirus (BRV), Bovine Enterovirus (BEV), Bovine Coronovirus (BCV), Bovine Rabies (BR), Bovine Parvovirus (PPV), Adenovirus

Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (formerly *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis and Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* and *Campylobacter fetus fetus* (formerly C fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomona*, and *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno and *Leptospira hardjo*-bovis), *Brucella abortus*, *Brucella suis* and *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar*, and Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (formerly *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (Lungworm disease), and combinations thereof.

18. The method according to any one of claims 10 to 17, wherein the *M. bovis* antigen and the further immunologically active component(s) are administered separately.

19. The method according to claim 18, wherein the separate co-administration of the *M. bovis* antigen and the further immunologically active component(s) occurs within 2 days.

20. The method according to any one of claims 10 to 19, wherein the two or more antigens which comprise *M. bovis* antigen and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by

a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* are formulated as fix-dose combination vaccine.

21. The method according to any one of claims 10 to 19, wherein the two or more antigens which comprise *M. bovis* antigen and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* are administered to said cattle in one only dose.

22. The method according to any one of claims 10 to 21, wherein said administration is effective in lessening or reducing the signs of a *M. bovis* infection.

23. A combination of a *M. bovis* antigen and one or more further immunologically active component(s) effective for the treatment and/or prophylaxis of infections caused by a further cattle relevant pathogen other than *M. bovis* for use as a medicament.

Figure 1:

Frequency of Culture Recovery from Nasal, Tonsil and Lung Samples

(Days 0, 14, 28, 35 and Post)

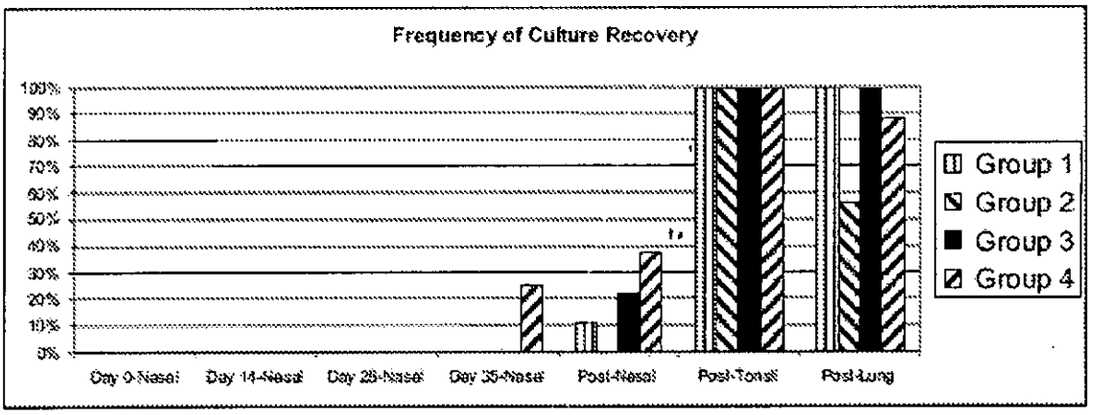
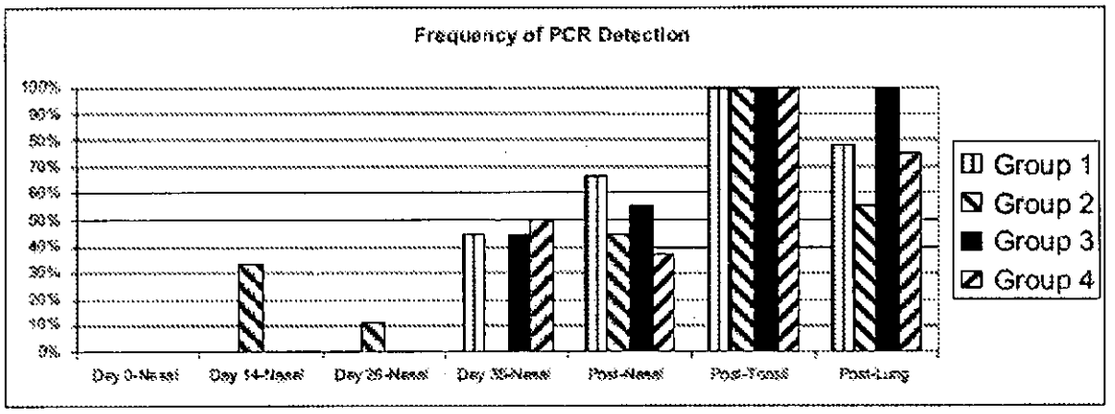


Figure 2:

Frequency of PCR Detection from Nasal, Tonsil and Lung Samples

(Days 0, 14, 28, 35 and Post)

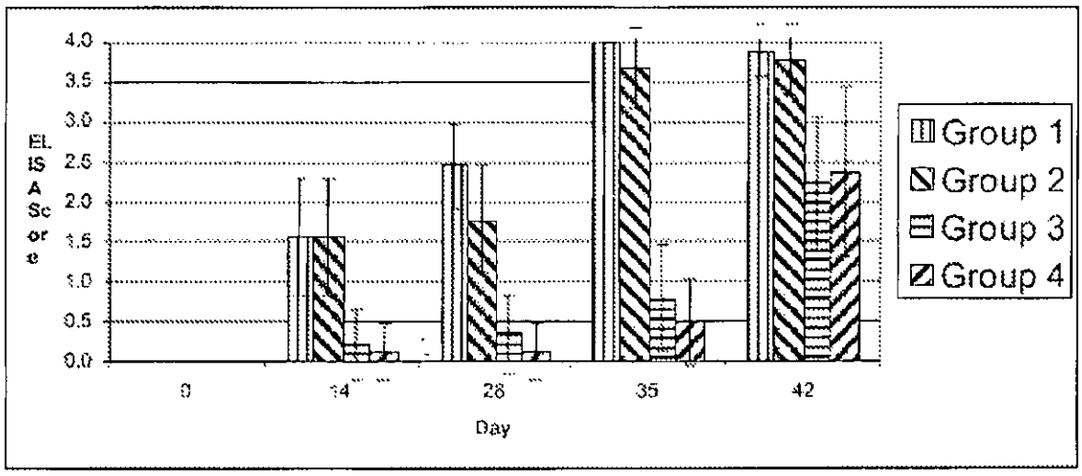


Group 1=Vaccine / High Respiratory Challenge; 2=Vaccine / Low Respiratory Challenge; 3=No Vaccine / High Respiratory Challenge; 4=No Vaccine / Low Respiratory Challenge

Figure 3:

Average Group Score for *M. bovis* specific Antibodies from Serum Samples

(Days 0, 14, 28, 35 and 42)



Group 1=Vaccine / High Volume Respiratory Challenge; 2=Vaccine /Low Respiratory Challenge; 3=No Vaccine / High Volume Respiratory Challenge; 4=No Vaccine / Low Respiratory Challenge

Figure 4:

Comparison of Serology for Live Vac I, II, III and No Vaccine Group (SQ+IN only)

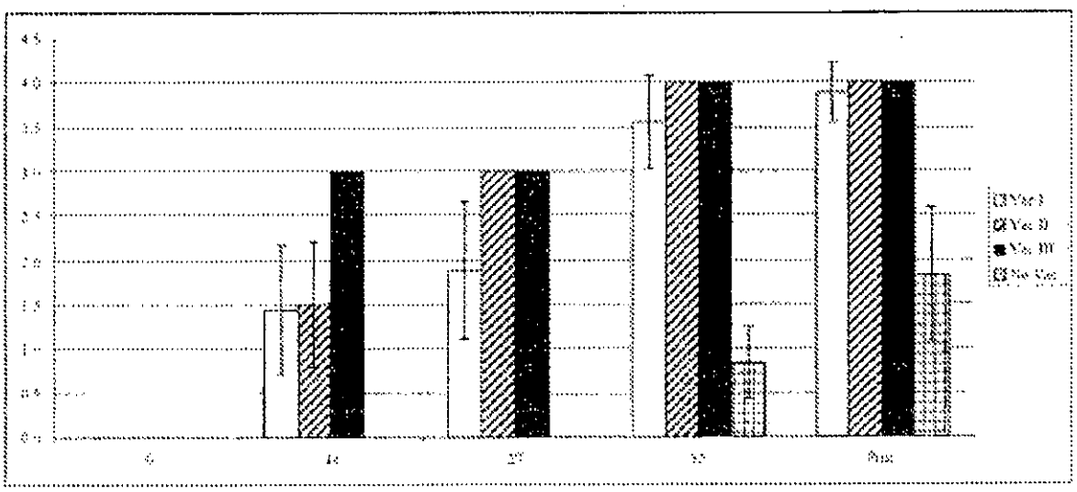
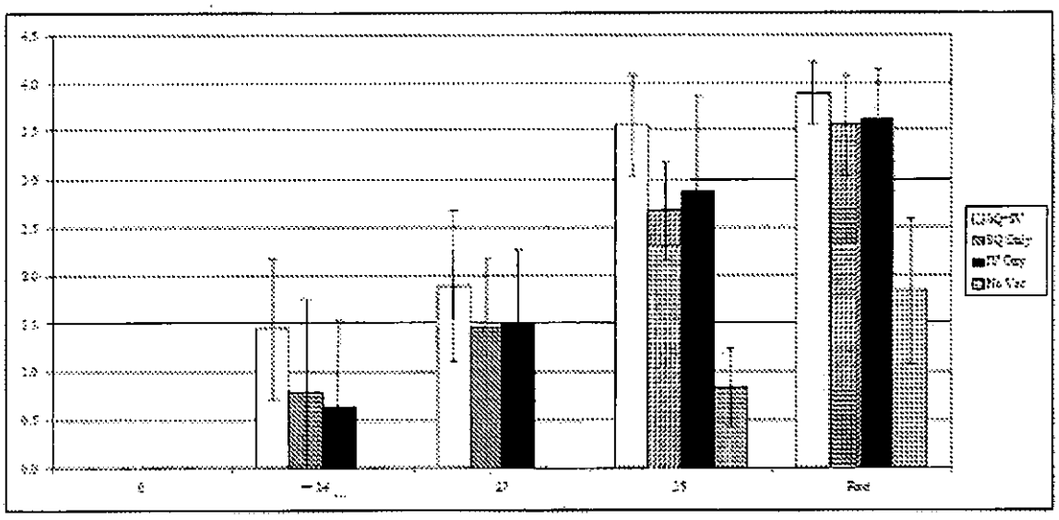


Figure 5:

Comparison of Serology for Live Vac 1 using Various Routes of Administration



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/061610

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/02 C12N1/36
ADD. A61P31/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2009/058833 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; BECK MICHAEL [US]; KNITTEL JEFFREY [) 7 May 2009 (2009-05-07) the whole document	1-23
X	WO 03/004052 A1 (PFIZER PROD INC [US]; KEICH ROBIN LEE [US]; MCGAVIN DAVID ROSS [US]; Y) 16 January 2003 (2003-01-16) the whole document	1-23
A	US 2005/053627 A1 (LEONARD JOAN D [US] ET AL) 10 March 2005 (2005-03-10) the whole document	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 January 2010	15/01/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Hermann, Patrice

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/061610

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2009058833 A2	07-05-2009	US	2009130148 A1	21-05-2009
		UY	31437 A1	29-05-2009
WO 03004052 A1	16-01-2003	BG	108496 A	28-02-2005
		BR	0210798 A	23-05-2006
		CA	2452580 A1	16-01-2003
		CN	1522152 A	18-08-2004
		CZ	20033465 A3	15-12-2004
		EP	1401488 A1	31-03-2004
		HR	20031078 A2	31-08-2005
		IS	7078 A	15-12-2003
		JP	2004536106 T	02-12-2004
		MA	27048 A1	20-12-2004
		MX	PA03011815 A	02-04-2004
		OA	12640 A	15-06-2006
		PA	8549801 A1	17-09-2003
		SK	15802003 A3	03-01-2005
		US	2003147914 A1	07-08-2003
		UY	27365 A1	30-04-2003
		YU	102103 A	25-05-2006
		ZA	200309747 A	27-05-2005
US 2005053627 A1	10-03-2005	US	2007077260 A1	05-04-2007
		US	2009220550 A1	03-09-2009
		US	2008226671 A1	18-09-2008

USO DE ANTÍGENO DE *MYCOPLASMA BOVIS*

LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud contiene un listado de secuencias en formato papel y en formato legible por ordenador, cuyas enseñanzas y contenido se incorporan por la presente como referencia. La lista de secuencias es idéntica a la incorporada en el documento WO06/030619.

ANTECEDENTES

Se considera que *Mycoplasma bovis* (M. bovis) es una de las especies más patógenas del género Mycoplasma y produce pérdidas económicas significativas en todo el mundo. Los micoplasmas causan signos clínicos graves en el ganado de todas las edades. *M. bovis* es el micoplasma patógeno más frecuente encontrado que produce neumonía, mastitis y artritis en el ganado bovino y su papel etiológico también se ha asociado con otitis, queratoconjuntivitis, sinovitis y trastornos reproductivos en vacas y toros. En general, los micoplasmas son difíciles de tratar ya que carecen de pared o membrana celular, que tiende a hacerlos resistentes a varias clases de tratamientos de antibiótico de amplio espectro usados comúnmente. Los micoplasmas difieren de los virus en que los microplasmas son de mayor tamaño que la mayoría de los virus y dañan a las células de los tejidos por medio de la unión a la superficie de las células destruyéndolas en lugar de por medio de la entrada en las células. Los animales infectados con *M. bovis* tienen respuestas inmunes reducidas y pueden presentar signos de infección por *M. bovis* tales como fiebre, depresión, anorexia, falta de aliento, descarga nasal y ocular, tos, estornudos, jadeos, gruñidos, cojera e hinchazón de articulaciones, mastitis, infecciones en el oído medio, abortos, postración y muerte. El organismo persiste en medios antihigiénicos, cálidos y húmedos. Los micoplasmas pueden sobrevivir en la leche, e incluso parecen prosperar en presencia de grandes números de leucocitos, que se producen en respuesta a la infección.

En la técnica están disponibles varias referencias que describen vacunas de *M. bovis*. La Patente de Estados Unidos Nº 6.548.069 describe una composición vacunal que incorpora una bacterina inactivada de célula completa que contiene al menos dos cepas de *M. bovis* destruidas. Otras referencias disponibles describen el pase de una cepa de *M. bovis* menos de 10 veces para preparar una vacuna inactivada, pero no describen la atenuación de una cepa de *M. bovis* infecciosa o patógena por pases seriados o cualquier cepa de *M. bovis* viva atenuada de este tipo como la esencia de una vacuna de cultivo vivo avirulento.

La técnica anterior presenta deficiencias ya que *M. bovis* destruido no es eficaz o eficiente en la reducción de la gravedad de los síntomas clínicos asociados con una infección

por *Mycoplasma bovis*. Incluso el pase a bajo nivel no produce una vacuna de micoplasma con alta eficacia de tal manera que se reduzcan en gran medida los síntomas clínicos. Las pocas vacunas de *M. bovis* inactivadas, de bajos pases que están disponibles no muestran una gran reducción en la gravedad de los síntomas clínicos. Además, la Patente de Estados Unidos N° 6.548.069 muestra contenidos claramente lejos de la idea de usar una cepa atenuada de alto número de pase de *M. bovis* en una composición inmunógena o vacunal mostrando:

"Como un aislado de micoplasma puede alterar rápidamente sus antígenos en cultivo, las cepas de alto pase de más de aproximadamente 50 pases pueden perder infectividad e inducir una respuesta inmune peor cuando se usan en una bacterina de la presente invención. Por lo tanto, es preferible emplear cepas recién aisladas o cepas cultivadas que sigan siendo virulentas; es decir, cepas que hayan retenido la capacidad de ser infecciosas en el animal hospedador. Aunque no se sabe que exista un número crítico de generaciones, la presente invención preferiblemente empieza con una cepa de micoplasma con un número de pases no mayor de aproximadamente diez, y preferiblemente de sólo cinco o menos, antes de la producción a gran escala. Al usar cepas con menos generaciones en cultivo, se cree que los antígenos retienen su estado natural y de esta manera se inducirá una respuesta inmune protectora contra el microorganismo infeccioso."

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) tipo 1 (BVDV-1) y tipo 2 (BVDV-2) causa diarrea viral bovina (BDV) y enfermedad de las mucosas (MD) en ganado vacuno (Baker, 1987; Moennig y Plagemann, 1992; Thiel et al., 1996). La división de BVDV en 2 serotipos se basa en diferencias significativas a nivel de secuencias genómicas (resumidas en Heinz et al., 2000) que también son evidentes a partir de reacciones cruzadas de anticuerpos neutralizantes limitadas (Ridpath et al. 1994). La inactivación de la actividad ARNasa que reside en la E^{ms} da como resultado un BVDV patógeno atenuado que puede usarse como vacuna viva modificada (documento WO 99/64604, cuyo contenido se incorpora en su totalidad como referencia). La solicitud de Patente Internacional WO2005/111201 (cuyo contenido se incorpora en su totalidad como referencia) proporciona una generación adicional de un BVDV atenuado adecuado para vacunas de MLV, que comprende un BVDV modificado múltiple que tiene al menos una mutación en la secuencia codificante de la glicoproteína E^{ms} y al menos otra mutación en la secuencia codificante para N^{pro}, donde dicha mutación en la secuencia codificante de la glicoproteína E^{ms} conduce a la inactivación de la actividad ARNasa que reside en E^{ms} y/o dicha mutación en la secuencia codificante de N^{pro} conduce a la inactivación de dicha N^{pro}. Además, se conocen en la técnica diversos virus BVDV atenuados convencionales que también son candidatos adecuados para el desarrollo

de vacunas.

El **virus *Parainfluenza-3*** (PI-3) es un virus ARN clasificado en la familia de paramixovirus. Las infecciones causadas por PI-3 son comunes en ganado. Aunque PI-3 es capaz de causar enfermedad, habitualmente se asocia con infecciones de leves a subclínicas. El papel más importante de PI-3 es servir como iniciador que puede conducir al desarrollo de neumonía bacteriana secundaria.Los signos clínicos incluyen fiebre, tos, descarga serosa, nasal y lacrimal, frecuencia respiratoria aumentada y ruidos respiratorios aumentados. La gravedad de los signos clínicos empeora con la aparición de una neumonía bacteriana. Son raras las muertes por neumonía por PI-3 sin complicaciones. Las lesiones incluyen consolidación pulmonar craneoventral, bronquiolitis y alveolitis con congestión y hemorragias marcadas. Pueden identificarse cuerpos de inclusión. La mayoría de los casos mortales también tendrán una bronconeumonía bacteriana concurrente.

El ***Virus Sincitial Respiratorio Bovino*** (BRSV) es un virus ARN clasificado como un neumovirus en la familia de paramixovirus. Además del ganado, las ovejas y cabras también pueden infectarse por virus sincitiales respiratorios. Este virus se denominó así por su efecto citopático característico — la formación de células sincitiales. El BRSV está distribuido por todo el mundo y el virus es autóctono en la población de ganado bovino. Las infecciones por BRSV asociadas con enfermedad respiratoria aparecen predominantemente en ganado joven de carne y de leche. La inmunidad de origen pasivo parece no prevenir las infecciones por BRSV pero reducirán la gravedad de la enfermedad. Las exposiciones iniciales al virus se asocian con enfermedad respiratoria grave; exposiciones posteriores darán como resultado enfermedad de leve a subclínica. El BRSV parece ser un virus importante en el complejo de enfermedades respiratorias bovinas debido a su frecuencia de aparición, predilección por el tracto respiratorio inferior y su capacidad para predisponer al tracto respiratorio a una infección bacteriana secundaria. En brotes, la morbilidad tiende a ser elevada y la mortalidad de casos puede ser del 0-20%. Los signos incluyen temperatura rectal aumentada de 40-42°C, depresión, ingesta de alimento disminuida, frecuencia respiratoria aumentada, tos y descarga nasal y lacrimal. Generalmente, predominan los signos respiratorios. La disnea puede hacerse pronunciada en las fases posteriores de la enfermedad. A veces se describe enfisema subcutáneo. La neumonía bacteriana secundaria es una aparición frecuente. Se ha descrito un patrón de enfermedad bifásico pero no es uniforme. Las lesiones macroscópicas incluyen una neumonía intersticial difusa con enfisema subpleural e intersticial junto con edema intersticial. Estas lesiones son similares a y deben diferenciarse de otras causas de neumonía intersticial. El examen histológico revela células sincitiales en el epitelio bronquiolar y parénquima pulmonar, cuerpos de inclusión

intracitoplásmicos, proliferación y/o degeneración del epitelio bronquiolar, epitelización alveolar, edema y formación de membranas hialinas.

El Herpesvirus Bovino (BHV-1) se asocia con varias enfermedades y síntomas en ganado: rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV), balanopostitis, conjuntivitis, aborto, encefalomielitis y mastitis. Sólo se reconoce un solo serotipo de BHV-1; sin embargo, se han descrito tres subtipos de BHV-1 en base a patrones de escisión por endonucleasas del ADN viral. Estos tipos se denominan BHV-1.1 (subtipo respiratorio), BHV-1.2 (subtipo genital) y BHV-1.3 (subtipo encefálico). Recientemente, el BHV-1.3 se ha vuelto a clasificar como un herpesvirus diferente denominado BHV-5. Las infecciones por BHV-1 están muy extendidas en la población de ganado. En el ganado en estabulación intensiva, la forma respiratoria es la más común. La infección vírica en solitario no supone riesgo para la vida pero predispone al ganado a neumonía bacteriana secundaria, que puede dar como resultado la muerte. En el ganado de reproducción, son más comunes los abortos o las infecciones genitales. Las infecciones genitales pueden aparecer en toros (balanopostitis pustular infecciosa) y vacas (IPV) a los 1-3 días desde el cruce o el contacto estrecho con un animal infectado. La transmisión puede producirse en ausencia de lesiones visibles y por inseminación artificial con semen de toros infectados de forma subclínica. El ganado con infecciones por BHV-1 latentes generalmente no muestra signos clínicos cuando se reactiva el virus, pero sirven como fuente de infección para otros animales suceptibles y por lo tanto perpetúan la enfermedad. El periodo de incubación para las formas respiratoria y genital es de 2-6 días. En la forma respiratoria, los signos clínicos varían de leves a graves, dependiendo de la presencia de neumonía bacteriana secundaria. Los signos clínicos incluyen fiebre, anorexia, tos, salivación excesiva, descarga nasal que evoluciona de serosa a mucopurulenta, conjuntivitis con descarga lacrimal, orificio nasal inflamadas (de ahí el nombre común "nariz roja") y disnea si se ocluye la laringe con material purulento. Pueden desarrollarse pústulas en la mucosa nasal y más tarde formar placas diftéricas. La conjuntivitis con opacidad corneal puede desarrollarse como la única manifestación de infección por BHV-1. En ausencia de neumonía bacteriana, la recuperación se produce generalmente 4-5 días después del comienzo de los signos clínicos. Pueden producirse abortos simultáneamente con la enfermedad respiratoria pero también pueden producirse hasta 100 días después de la infección. Los abortos pueden producirse independientemente de la gravedad de la enfermedad en la madre. Los abortos se producen generalmente durante la segunda mitad de la gestación, pero también puede producirse muerte embrionaria temprana. Los primeros signos de infecciones genitales en vacas son micción frecuente, elevación de la cabeza de la cola y descarga vaginal leve. La vulva está hinchada y se

presentan pequeñas pápulas, después de erosiones y úlceras en la superficie de la mucosa. Si no se producen infecciones bacterianas secundarias, los animales se recuperan en 10-14 días. Si se produce una infección bacteriana, puede haber inflamación del útero e infertilidad transitoria, con descarga vaginal purulenta durante varias semanas. En toros aparecen lesiones similares en el pene y el prepucio. La infección por BHV-1 puede ser grave en terneros jóvenes y causar una enfermedad generalizada. Puede aparecer fiebre, descargas oculares y nasales, dificultad respiratoria, diarrea, descoordinación y en última instancia convulsiones y muerte en un corto periodo después de una infección vírica generalizada. La IBR rara vez es mortal en ganado a menos que se complique por neumonía bacteriana. En infecciones por IBR sin complicaciones la mayoría de las lesiones se limitan al tracto respiratorio superior y tráquea. Pueden encontrarse hemorragias de petequiales a equimóticas en las membranas mucosas de la cavidad nasal y los senos paranasales. Se desarrollan áreas focales de necrosis en la nariz, faringe, laringe y tráquea. Las lesiones pueden unirse para formar placas. Los senos con frecuencia están cargados con un exudado seroso o serofibrinoso. A medida que avanza la enfermedad, la faringe se recubre con un exudado serofibrinoso y puede encontrarse fluido teñido de sangre en la tráquea. Los ganglios linfáticos faríngeos y pulmonares pueden hincharse intensamente y estar hemorrágicos. La traqueítis puede extenderse a los bronquios y bronquiolos; cuando esto sucede, el epitelio se desprende hacia las vías respiratorias. Las lesiones virales están con frecuencia enmascaradas por infecciones bacterianas secundarias. En animales jóvenes con infección por BHV-1 generalizada, pueden encontrarse erosiones y úlceras cubiertas con residuos en la nariz, esófago y preestómagos. Además puede encontrarse focos blancos en el hígado, riñón, bazo y ganglios linfáticos. Los fetos abortados pueden tener lesiones pálidas, focales y necróticas en todos los tejidos, pero que son especialmente visibles en el hígado.

Se ha identificado que varios otros virus respiratorios bovinos están implicados en la BRD. El ***herpesvirus bovino-4*** se ha implicado en varias enfermedad, incluyendo BRD. El adenovirus bovino se ha asociado con un amplio espectro de enfermedades, siendo el adenovirus bovino tipo 3 el serotipo más frecuentemente asociado con BRD. Se ha reconocido que dos serotipos de rinovirus bovino causan infecciones del tracto respiratorio en ganado. Otros virus que se ha descrito que están asociados con BRD incluyen ***reovirus***, ***enterovirus*** y ***coronavirus bovinos***. Estos virus tienen un papel similar al de los otros virus previamente analizados en el sentido de que, en combinación con otros agentes de agresión, pueden servir como iniciadores de una neumonía bacteriana. El ***coronavirus bovino*** también se asocia comúnmente con diarrea en terneros. Se replica en el epitelio del tracto respiratorio superior y en los enterocitos del intestino, donde produce lesiones similares a rotavirus pero

también infecta las células epiteliales del intestino grueso para producir atrofia de las crestas del colon. No están disponibles vacunas para la prevención de estas enfermedades respiratorias virales.

El ***rotavirus bovino*** es la causa vírica más común de diarrea en terneros. Están implicados rotavirus de grupo A y B, pero el grupo A es el más prevalente y clínicamente importante y contiene varios serotipos de diferente virulencia. El rotavirus se replica en los enterocitos maduros para la absorción y productores de enzimas en las vellosidades del intestino delgado, conduciendo a ruptura y desprendimiento de los enterocitos con liberación de virus para infectar células adyacentes. El rotavirus no infecta a las células inmaduras de las criptas. Con cepas virulentas de rotavirus, la pérdida de enterocitos supera la capacidad de las criptas intestinales para sustituirlos; por lo tanto, se reduce la altura de las vellosidades con una disminución consiguiente en el área de superficie de absorción intestinal y la actividad enzimática digestiva intestinal.

Se han demostrado otros virus, incluyendo virus Breda, un virus similar a calicivirus, ***Adenovirus, Astrovirus*** y ***Parvovirus*** en las heces de terneros con diarrea y pueden producir diarrea en terneros experimentalmente. Sin embargo, estos agentes también pueden demostrarse en las heces de terneros sanos. La importancia de estos agentes en el síndrome de diarrea neonatal todavía está por determinar. La ***Mannheimia haemolytica*** (antiguamente *Pasteurella haemolytica*) biotipo A, serotipo 1 es la bacteria que se aísla más frecuentemente de los pulmones de ganado con BRD. Aunque menos frecuentemente cultivada que *M. haemolytica*, la ***Pasteurella multocida*** también es una causa importante de neumonía bacteriana. Cuando se produce la formación de abscesos pulmonares, generalmente junto con neumonía crónica, se aísla frecuentemente ***Actinomyces (Arcanobacterium) pyogenes***. En condiciones normales, la *M. haemolytica* permanece generalmente confinada al tracto respiratorio superior, en particular a las fosas tonsilares, y es difícil de cultivar a partir de ganado sano. Después de una agresión o infección vírica, el índice replicación de *M. haemolytica* en el tracto respiratorio superior aumenta rápidamente, como lo hace la probabilidad de cultivar la bacteria. El índice de crecimiento bacteriano aumentado y la colonización de los pulmones pueden deberse a supresión del mecanismo de defensa del hospedador relacionada con agentes de agresión ambientales o infecciones víricas. Es durante esta fase de crecimiento logarítmico que se elaboran factores de virulencia por *M. haemolytica*, tales como una exotoxina que se ha denominado leucotoxina. La interacción entre los factores de virulencia de las bacterias y las defensas del hospedador da como resultado lesiones tisulares y desarrollo de neumonía. Los signos clínicos de neumonía bacteriana vienen precedidos con frecuencia por signos de infección vírica del tracto

respiratorio. Con la aparición de la neumonía bacteriana, la gravedad de los signos clínicos aumenta y se caracteriza por depresión y toxemia. Habrá fiebre (40-41°C); descarga nasal de serosa a mucopurulenta; tos productiva; y una frecuencia respiratoria superficial rápida. La auscultación del campo pulmonar craneoventral pone de manifiesto ruidos bronquiales aumentados, crepitaciones y sibilancias. En casos graves puede desarrollarse pleuresía que se caracteriza por un patrón de respiración irregular y gruñidos en la espiración. El animal tendrá mal aspecto si la neumonía se hace crónica, que habitualmente se asocia con la formación de abscesos pulmonares. La *M. haemolytica* causa una neumonía fibrinosa o neumonía fibrinonecrótica aguda grave. La neumonía tiene un patrón bronconeumónico. Macroscópicamente existen amplias regiones craneoventrales de negro rojizo a marrón grisáceo de consolidación con engrosamiento gelatinoso de septos interlobulares y pleuritis fibrinosa. Existen amplias trombosis, focos de necrosis pulmonar y pruebas limitadas de bronquitis y broncoilitis. La *P. multocida* se asocia con una bronconeumonía de fibrinosa a fibrinopurulenta menos fulminante. Al contrario que *M. haemolytica*, *P. multocida* se asocia sólo con pequeñas cantidades de exudación de fibrina, algunos trombos, necrosis pulmonar limitada y bronquitis y broncoilitis supurativa.

El ***Haemophilus somnus*** (recientemente reclasificado como ***Histophilus somni)*** se está reconociendo cada vez más como un patógeno importante en la BRD; estas bacterias son habitantes normales de la nasofaringe del ganado. La infección por *H. somnus* de los pulmones da como resultado una bronconeumonía purulenta que puede seguirse de septicemia e infección de múltiples órganos. Ocasionalmente, *H. somnus* se asocia con una pleuritis considerable. *H. somnus* puede causar una enfermedad septicémica aguda, habitualmente mortal, que puede implicar a los sistemas nervioso, musculoesquelético, circulatorio y respiratorio, por separado o en conjunto. El sistema reproductor se ve afectado con frecuencia pero habitualmente sin que los otros sistemas estén implicados clínicamente. La enfermedad puede caracterizarse por fiebre, depresión grave, ataxia, debilidad, ceguera, coma y muerte en un intervalo de varias horas a varios días. Aparece esporádicamente ganado de carne y de leche individuales y se encuentra casi por todo el mundo. *H. somnus* es un cocobacilo pleomórfico, gram negativo, inmóvil y no formador de esporas que requiere un medio enriquecido y una atmósfera microaerófila para cultivo. Parece ser idéntico a ***Histophilus ovis*** y ***Haemophilus agni***, agentes etiológicos de septicemia, mastitis y epididimitis en ovejas; sin embargo, la transmisión de *H. somnus* entre ovejas y ganado no se ha demostrado. Se han diferenciado cepas patógenas y no patógenas por inoculación intracisternal de terneros jóvenes con organismos de diversas fuentes. Las cepas patógenas y no patógenas de *H. somnus* se llevan en la cubierta y el prepucio de machos, la vagina de

ganado hembra y en los conductos nasales de ambos sexos. El organismo puede colonizar el tracto respiratorio, presumiblemente después de inhalación y se encuentra frecuentemente en la orina. La prevalencia del organsimo en ganado es probablemente elevada porque se encuentran altos títulos de anticuerpos específicos en una gran proporción de ganado ensayado. Se han reconocido varios síndromes patológicos causados por *H. somnus*, incluyendo trombomeningoencefalitis, bronconeumonía fibrinopurulenta, pleuritis fibrinosa y poliartritis. Aparecen necrosis de músculo miocárdico y esquelético. Se ha documentado vaginitis, cervicitis y endometritis supurativa en vacas infectadas experimentalmente y naturalmente después de la reproducción y el organismo es una causa de aborto esporádico. Las cepas de *H. somnus* que causan enfermedad se adhieren al endotelio de los vasos, dando como resultado contracción, exposición del colágeno, adhesión de plaquetas y trombosis. La TME es el resultado cuando esto se produce en el cerebro y membranas asociadas, después de la invasión del organismo hacia el torrente sanguíneo de ganado susceptible. Las cepas pueden adherirse al endotelio en vasos de la pleura, miocardio, sinovio o una diversidad de otros tejidos y producir inflamación en esos sitios (por ejemplo, se han registrado infecciones de la laringe y oído medio). La susceptibilidad de animales y variaciones individuales en la preferencia de cepas del organismo por vasos en diferentes tejidos pueden ser importante en el desarrollo de la forma de enfermedad, pero los mecanismos implicados no se entienden completamente. Los problemas reproductivos no tienen que estar precedidos necesariamente por bacteriemia, pero la patogénesis está muy poco definida. Con frecuencia una fiebre tan alta como de 42°C es el primer signo de enfermedad; sin embargo, esta habitualmente desciende a normal o subnormal en horas. Otros descubrimientos están determinados por el sistema o sistemas implicados y pueden incluir respiración rápida, rigidez, que las articulaciones se doblen hacia delante en los espolones, depresión grave, ataxia, parálisis y opistótonos, seguido de coma y muerte en varias horas. Los animales afectados pueden estar ciegos y a veces se observan hemorragias retinianas con focos grises de necrosis retiniana. De forma irregular aparecen signos tales como hipersensibilidad, convulsiones, excitación, nistagmo y caminar en círculos y pueden estar relacionados con las regiones del SNC afectadas en el curso de desarrollo de la enfermedad. Ocasionalmente, se encuentran animales muertos indicando un curso rápidamente mortal. Es común un cambio marcado en el recuento total y diferencial de glóbulos blancos; aparecen leucopenia y neutropenia en enfermedad mortal grave, habitualmente aguda, mientras que puede existir neutrofilia en una enfermedad menos grave. En la TME, el recuento celular total del LCR está notablemente aumentado y predominan los neutrófilos. Durante la septicemia, el organismo puede recuperarse de la sangre, líquido sinovial, LCR, cerebro, riñones, orina y una diversidad de

otros órganos. Las lesiones se caracterizan por trombosis vascular e infarto del tejido circundante. Son característicos focos de necrosis de rojos a marrones aleatoriamente distribuidos con hemorragia en la superficie y secciones de corte del cerebro y médula espinal, retina, músculo esquelético, miocardio, riñón, intestino y bazo. A veces puede observarse una meningitis fibrinopurulenta con LCR turbio en la superficie del cerebro y médula espinal y puede aparecer una poliserositis, especialmente de articulaciones y pleural. Puede desarrollarse una bronconeumonía fibrinosa aguda con un necrosis tisular después de infecciones de transmisión aérea.

Excepto para M. bovis, el papel exacto de micoplasmas y ureaplasmas en BRD requiere una mejor definición. Pueden recuperarse micoplasmas a partir del tracto respiratorio de terneros no neumónicos pero la frecuencia de aislamiento es mayor en los que presentan enfermedad del tracto respiratorio. Los micoplasmas comúnmente recuperados de los pulmones de terneros neumónicos incluyen ***Mycoplasma dispar***, ***Ureaplasma*** **spp**. Las infecciones experimentales habitualmente dan como resultado signos de inaparentes a leves de enfermedad respiratoria. Esto no excluye un papel sinérgico para micoplasmas junto con virus y bacterias en BRD. Las lesiones descritas incluyen manguitos linfoides peribronquiales y peribronquiolares y alveolitis. El cultivo de estos organismos requiere medios y condiciones especiales y a los organismos les puede llevar hasta una semana crecer.

Se han identificado clamidias en diversas partes del mundo como una causa de neumonía enzoótica en terneros. El agente causal es ***Chlamydia psittaci***. Algunos aislados respiratorios de terneros tienen propiedades de inmunotipos 1 y 6 y son similares a cepas recuperadas de infecciones intestinales y abortos de ganado y ovejas. Se ha recuperado el inmunotipo 6 a partir de pulmones neumónicos de terneros y cerdos. Por lo tanto, el tracto GI debe considerarse como un sitio importante en la patogénesis de infecciones clamidiales y como un depósito y fuente natural de los organismos. La neumonía clamidial ha afectado a terneros en una completa variedad de condiciones, incluyendo granjas de leche. Se ha demostrado experimentalmente un sinergismo entre *Chlamydia* y *P. haemolytica*. Habitualmente, los terneros con neumonía clamidial están febriles, letárgicos y disneicos y tienen una descarga nasal serosa y posteriormente mucopurulenta y una tos seca no productiva. Los terneros en edad de destete son los que se ven afectados más frecuentemente, pero ganado de más edad también puede mostrar signos de infección. La lesión pulmonar aguda es una neumonía broncointersticial. Las partes anteroventrales de los pulmones se afectan pero, en casos graves, pueden estar implicados lóbulos completos. La tos seca se atribuye a traqueítis. Los cambios microscópicos en los pulmones incluyen

bronquitis y alveolitis supurativa que evolucionan a hiperplasia neumocítica tipo II y engrosamiento intersticial.

La campilobacteriosis genital bovina es una enfermedad venérea de ganado caracterizada principalmente por muerte embrionaria temprana, infertilidad, una estación de partos prolongada y ocasionalmente aborto. La distribución probablemente es mundial. La causa es la bacteria flagelada polar móvil, gram negativa, curvada o espiral ***Campylobacter fetus venerealis*** o ***Campylobacter fetus fetus***. Durante muchos años, se pensaba que *C. fetus fetus* (antiguamente *C. fetus intestinalis*) era generalmente un organismo intestinal, que causaba sólo ocasionalmente abortos en ganado y que no era causa de infertilidad. Sin embargo, se ha demostrado que *C. fetus fetus* también puede ser una causa significativa del síndrome de infertilidad clásico habitualmente atribuido a *Campylobacter fetus venerealis*. Existen varias cepas de *C. fetus fetus* y el único modo de determinar si una cepa es una causa de infertilidad es ensayar esa posibilidad en un grupo de novillas. Los *Campylobacter* spp son muy lábiles y se destruyen rápidamente por calor, sequedad y exposición a la atmósfera. A menos que se cultiven rápidamente después de la recogida del animal y que se cultiven en condiciones microaerófilas o anaerobias, no crecerán las campilobacterias. El *Campylobacter fetus* se transmite de forma venérea y también por instrumentos, cama contaminados o por inseminación artificial usando semen contaminado. Los toros individuales varían en su susceptibilidad a infección debido a que algunos se convierten en portadores permanentes mientras que otros parecen ser resistentes a la infección. Los toros también pueden transmitir la infección mecánicamente durante varias horas después de la cópula con una vaca infectada. En vacas, la duración del estado de portador también es variable; algunas eliminan la infección rápidamente mientras que otras pueden llevar *C. fetus* durante $\geq$ 2 años. Se desprenden anticuerpos IgA en el moco cervical en cantidades significativas en ~50% de vacas durante varios meses después de la infección y son útiles para el diagnóstico. Aunque la mayor parte del tracto genital puede estar libre de infección cuando una vaca concibe finalmente, la vagina puede permanecer crónicamente infectada, incluso durante la gestación. Las vacas son sistémicamente normales, pero existen grados variables de endometritis mucupurulenta que causa muerte embrionaria temprana, fases lúteas prolongadas, ciclos de estro irregular, reproducción repetida y, como resultado, periodos de partos prolongados. No son comunes abortos observados. En rebaños no manejados de forma intensiva, la enfermedad puede reconocerse solamente cuando los exámenes de gestación pongan de manifiesto índices de gestación bajos o marginalmente bajos, o lo que es más importante, grandes variaciones en las duraciones de gestación, especialmente cuando la enfermedad se ha introducido recientemente en el rebaño. En años

posteriores, la infertilidad se limita habitualmente a sustituir novillas y unas pocas vacas susceptibles. Los toros son asintomáticos y producen semen normal.

La leptospirosis es una enfermedad contagiosa de los animales, incluyendo el hombre, causada por diversas serovariantes leptospirales inmunológicamente distintas, la mayoría de las cuales se consideran subgrupos de ***Leptospira interrogans***. Las infecciones pueden ser asintomáticas o pueden causar diversos signos, incluyendo fiebre, ictericia, hemoglobinuria, insuficiencia renal, infertilidad, aborto y muerte. Después de una infección aguda, las leptospiras se localizan frecuentemente en los riñones u órganos reproductores y se desprenden en la orina, a veces en grandes cantidades durante meses o años. Dado que los organismos sobreviven en aguas superficiales durante periodos prolongados, la enfermedad es a menudo de transmisión hídrica. En los Estados Unidos la enfermedad se debe principalmente a las serovariantes ***Leptospira hardjo***, ***Leptospira interrogans serovar hardjo (hardjo Prajitno)***, ***L. borgpetersenii serovar hardjo (hardjo Bovis)***, ***Leptospira pomona***, y ***Leptospira grippotyphosa***. Sin embargo, también se han aislado las serovariantes ***Leptospira canicola*** y ***Leptospira icterohaemorrhagiae***. Los terneros pueden tener fiebre, anorexia y disnea y en infecciones por *Leptospira pomona*, ictericia, hemoglobinuria, y anemia. La temperatura corporal puede aumentar súbitamente a 40,5-41°C. La hemoglobinuria rara vez dura más de 48-72 h. La ictericia se elimina rápidamente y se sigue de anemia. Los glóbulos rojos comienzan aumentar en número en 4-5 días y vuelven a lo normal 7-10 días después. Sin embargo, las infecciones por *Leptospira hardjo* habitualmente no causan anemia hemolítica, lo que hace el diagnóstico más difícil. La morbilidad y mortalidad son mayores en terneros que en ganado adulto. En ganado de más edad, los signos varían enormemente y el diagnóstico es más difícil. Las infecciones enzoóticas por *Leptospira hardjo*, que habitualmente dan como resultado leche anormal, son más evidentes en ganado de leche que de carne. Los signos se limitan habitualmente a producción de leche y terneros disminuida; no se produce una crisis hemolítica. La leche es espesa, amarilla y teñida de sangre; puede contener coágulos aunque existen pocas evidencias de inflamación mamaria. La producción de leche vuelve a lo normal en 10-14 días incluso en ausencia de tratamiento. Los abortos y mortinatos, que son comunes en infecciones por *Leptospira pomona* y esporádicos en infecciones por *Leptospira hardjo* ocurren generalmente a las 3-10 semanas después de la infección inicial. Los abortos son más comunes durante el tercer trimestre. Una tormenta de abortos en un rebaño de reproducción es a menudo el primer indicio de que existe leptospirosis, debido a que los signos iniciales leves con frecuencia pasan desapercibidos. En rebaños infectados de forma endémica, los abortos se producen principalmente en animales más jóvenes y son esporádicos, más que manifestarse como

tormentas de aborto. Los terneros criados por vacas infectadas previamente están protegidos por anticuerpos calostrales hasta 6 semanas. Los terneros generalmente tienen un título de anticuerpos similar al de sus madres. En la forma aguda, destacan anemia, ictericia, hemoglobinuria y hemorragia submucosas. Los riñones se hinchan, con hemorragias petequiales y equimóticas multifocales que se vuelven pálidas con el tiempo. El hígado puede hincharse, con áreas diminutas de necrosis focal. Se observan petequias en otros órganos en casos fulminantes; sin embargo, en las infecciones por *Leptospira hardjo* más prevalentes, las lesiones están principalmente limitadas a los riñones.

La brucelosis está causada por una bacteria del género *Brucella* y está caracterizada por aborto, retención de placenta y en menor grado, orquitis e infección de las glándulas sexuales accesorias en machos. La enfermedad en ganado, carabao y bisonte está causada casi exclusivamente por ***Brucella abortus***; sin embargo, ***Brucella suis*** o ***Brucella melitensis*** están ocasionalmente implicadas en algunos rebaños de ganado. *Brucella suis* no parece contagiarse de una vaca a otra. La infección por ***Brucella abortus*** se extiende rápidamente y causa muchos abortos en rebaños no vacunados. Típicamente, en un rebaño en el que la enfermedad sea endémica, una vaca infectada aborta sólo una vez tras la exposición; las gestaciones y lactaciones posteriores parecen normales. Después de la exposición, mucho ganado se vuelve bacteriémico durante un periodo corto y desarrolla aglutininas y otros anticuerpos; otros resisten la infección y un pequeño porcentaje de vacas infectadas se recupera. Un ensayo de aglutinación de suero positivo precede habitualmente al aborto o un parto normal, pero puede retrasarse en ~15% de los animales. El periodo de incubación puede ser variable y está relacionado con la fase de gestación en el momento de la exposición. Los organismos se desprenden en leche y descargas uterinas y la vaca puede volverse temporalmente estéril. La bacteria puede encontrarse en el útero durante la gestación, involución uterina y poco frecuentemente, durante un tiempo prolongado en el útero no grávido. El desprendimiento de la vagina desaparece en gran medida con la reducción de los fluidos después del parto. Algunas vacas infectadas que abortaron previamente desprenden brucelas desde el útero en partos normales posteriores. Los organismos se desprenden en leche durante un periodo de tiempo variable — en la mayoría del ganado de por vida. Se produce transmisión natural por ingestión de organismos que están presentes en grandes cantidades en fetos abortados, membranas fetales y descargas uterinas. El ganado puede ingerir pienso y agua contaminada o lamer los genitales contaminados de otros animales. Parece ser poco frecuente la transmisión venérea por toros infectados a vacas susceptibles. La transmisión puede producirse por inseminación artificial cuando se deposita semen contaminado con *Brucella* en el útero pero, según se dice, no

cuando se deposita en el cuello uterino medio. Las brucelas pueden entrar en el cuerpo a través de membranas mucosas, conjuntivas, heridas o incluso piel intacta. Los vectores mecánicos (por ejemplo, otros animales, incluyendo seres humanos) pueden extender la infección. Se han recuperado brucelas de fetos y de estiércol que ha permanecido en un entorno fresco durante > 2 meses. La exposición a luz directa del sol destruye los organismos en pocas horas. El aborto es la manifestación más evidente. Las infecciones también pueden causar mortinatos o terneros débiles, retención de placenta y producción de leche reducida. Habitualmente, no se altera la salud general en abortos sin complicaciones. La vesículas seminales, ampollas, testículos y epididímidos pueden infectarse en toros; por lo tanto, los organismos están en el semen. Pueden demostrarse aglutininas en el plasma seminal de toros infectados. Pueden aparecen abscesos testiculares. Las infecciones antiguas pueden dar como resultado articulaciones artríticas en algunos animales.

Los clostridios son organismos con forma de bacilo relativamente grandes, anaerobios, formadores de esporas. Las esporas son ovaladas, a veces esféricas y de posición central, subterminal o terminal. Las formas vegetativas de clostridios en líquidos tisulares de animales infectados aparecen individualmente, en parejas o rara vez en cadenas. La diferenciación de las diversas especies patógenas y relacionadas se basa en característica de cultivo, forma de espora y posición, reacciones bioquímicas y la especificidad antigénica de toxinas o antígenos de superficie. Los hábitas naturales de los organismos son el suelo y el tracto intestinal de animales, incluyendo el ser humano. Pueden adquirirse cepas patógenas por animales susceptibles por contaminación de heridas o por ingestión. Las enfermedades producidas de este modo son una amenaza constante para la producción de ganado con éxito en muchas partes del mundo.

El ***Clostridium haemolyticum*** es un organismo del suelo que puede encontrarse de forma natural en el tracto GI de ganado. Puede sobrevivir durante periodos prolongados en suelo contaminado o en huesos de canales de animales que se han infectado. Después de la ingestión, las esporas latentes se alojan en última instancia en el hígado. El periodo de incubación es extremadamente variable y el comienzo depende de la presencia de un lugar de anaerobiosis en el hígado. Dicho nido para la germinación está muy frecuentemente causado por infección por trematodos, mucho menos frecuentemente por alto contenido en nitrato de la dieta, perforación accidental del hígado, biopsia hepática o cualquier otra causa de necrosis localizada. Cuando las condiciones para anaerobiosis son favorables, la esporas germinan y las células vegetativas resultantes se multiplican y producen β toxina (fosfolipasa C), que causa hemolisis intravascular y sus secuelas, incluyendo anemia hemolítica y hemoglobinuria. Puede encontrarse ganado bovino muerto sin signos premonitorios.

Habitualmente, existe un comienzo súbito de depresión grave, fiebre, dolor abdominal, disnea, disentería y hemoglobinuria. La anemia y la ictericia están presentes en grados variables. Puede aparecer edema de la falda. Los niveles de hemoglobina y glóbulos rojos son muy bajos. La duración de los signos clínicos varía de ~12 h en vacas gestantes a ~3-4 días en otro ganado. La mortalidad en animales sin tratar es del ~95%. Algunas vacas sufren ataques subclínicos de la enfermedad y por lo tanto actúan como portadores inmunes. Están presentes deshidratación, anemia y a veces edema subcutáneo. Existe fluido corporal en las cavidades abdominal y torácica. Los pulmones no se afectan macroscópicamente y la tráquea contiene espuma sanguinolenta con hemorragias en la mucosa. El intestino delgado y ocasionalmente el intestino grueso están hemorrágicos; sus contenidos contienen con frecuencia sangre libre o coagulada. Un infarto anémico en el hígado es prácticamente patognomónico; está ligeramente elevado, más claro de color que el tejido circundante y perfilado por una zona rojo azulada de congestión. Los riñones están oscuros, friables y habitualmente tachonados con petequias. La vejiga contiene orina rojo púrpura. Después de la muerte, el *rigor mortis* se establece más rápidamente de lo habitual.

El ***Clostridium chauvoei*** aparece de forma natural en el tracto instetinal de animales. Probablemente puede permanecer viable en el suelo durante muchos años, aunque no crece activamente en el mismo. El pasto contaminado parece ser una fuente de organismos. Se han producido brotes de carbunco sintomático en ganado en granjas en las que se han realizado excavaciones recientes que sugieren que la alteración del suelo puede activar esporas latentes. Los organismos probablemente se ingieren, pasan a través de la pared del tracto GI y después de obtener acceso al torrente sanguíneo se depositan en el músculo y otros tejidos. En ganado, la infección por carbunco sintomático es endógena, al contrario que el edema maligno. Se desarrollan lesiones sin ninguna historia de heridas, aunque la aparición de cardenales o un ejercicio excesivo pueden precipitar algunos casos. Comúnmente, los animales que contraen el carbunco sintomático son de la variedad de carne, con un estado de salud excelente, aumentado de peso y habitualmente los mejores animales de su grupo. Aparecen brotes en los que se encuentran unos pocos nuevos casos cada día durante varios días. La mayoría de los casos se dan en ganado de 6 meses a 2 años de edad, pero pueden verse afectados terneros de buen aspecto tan jóvenes como de 6 semanas y ganado tan mayor como de 10-12 años. La enfermedad aparece habitualmente en verano y otoño y es poco común durante el invierno. En ovejas, la enfermedad no se limita a los jóvenes y la mayoría de los casos siguen a alguna forma de lesión tal como cortes por esquileo, corte de cola, recortes de lana o castración. Habitualmente el comienzo es súbito y pueden encontrarse unos pocos animales de ganado bovino muertos sin signos premonitorios. Son comunes una

cojera aguda y una depresión marcada. Inicialmente existe fiebre, pero en el momento en el que los signos clínicos son evidentes, la temperatura puede ser normal o subnormal. Se desarrollan hinchamientos edematosos y crepitantes característicos en la cadera, hombro, pecho, espalda, cuello o en otra parte. Al principio, el hinchamiento es pequeño, caliente y doloroso. A medida que la enfermedad evoluciona rápidamente, el hinchamiento aumenta, existe crepitación a la palpación y la piel se vuelve fría e insensible a medida que disminuye el suministro de sangre al área. Los signos generales incluyen postración y temblores. La muerte se produce a las 12-48 h. En algunos animales, las lesiones se limitan al miocardio y al diafragma, sin pruebas *ante mortem* fiables de la lesión localizada.

Se sospecha, aunque no se ha confirmado todavía, que ***Clostridium novyi*** es una causa de muerte súbita en ganado bovino y cerdos alimentados con dietas con alto contenido de cereales, y en los que no se podían detectar lesiones pre-existentes en el hígado. Las toxinas letales y necrosantes (principalmente toxina α) dañan el parénquima hepático, permitiendo de este modo que las bacterias se multipliquen y produzcan una cantidad letal de la toxina. Habitualmente, la muerte es súbita sin síntomas bien definidos. Los animales afectados tienden a quedarse rezagados detrás del rebaño, asumen una postura de postración esternal y mueren en pocas horas. La mayoría de los casos aparecen en verano y a principios del otoño, cuando la infección hepática provocada por trematodos está en su esplendor. La enfermedad es más prevalente en ovejas de 1 a 4 años de edad y se limita a animales infectados con trematodos en el hígado. La diferenciación de la fascioliasis aguda puede ser difícil, pero las muertes peragudas de los animales que muestran lesiones típicas en la necropsia deberían levantar sospechas de hepatitis necrótica infecciosa. Las lesiones más características son los focos necróticos amarillo grisáceo en el hígado que con frecuencia siguen las trayectorias migratorias de los trematodos jóvenes. Otros hallazgos comunes son un pericardio aumentado de tamaño relleno con un fluido de color paja, y un exceso de fluido en las cavidades peritoneal y torácica. Habitualmente, se produce una ruptura extensa de los capilares en el tejido subcutáneo, que hace que la piel adyacente se torne negra (de allí el nombre común de enfermedad negra).

El ***Clostridium septicum*** se halla en el suelo y los contenidos intestinales de animales (incluyendo el hombre) de todo el mundo. La infección comúnmente se produce a través de la contaminación de heridas que contienen tejido desvitalizado, suciedad o algún otro debilitante de los tejidos. Se infectan heridas causadas por accidente, castración, recortes de lana, vacunación antihigiénica y parto. Los signos generales, tales como anorexia, intoxicación y fiebre alta, así como lesiones locales, se manifiestan al cabo de unas pocas horas o unos pocos días de la lesión predisponente. Las lesiones locales son hinchamientos

blandos que se hunden al presionar y que se extienden rápidamente debido a la formación de grandes cantidades de exudado que infiltra el tejido conjuntivo subcutáneo e intramuscular de las áreas afectadas. El músculo en dichas áreas es de marrón oscuro a negro. Las acumulaciones de gas no son comunes. Se produce edema grave de la cabeza de carneros después de la infección de heridas inflingidas por la lucha. El edema maligno asociado con laceraciones de la vulva en el parto se caracteriza por edema marcado de la vulva, toxemia grave y muerte en 24-48 horas. La similitud con el carbunco sintomático es notable, y la diferenciación realizada en la necropsia es poco fiable; el único procedimiento seguro es la confirmación por laboratorio. Los caballos y cerdos son susceptibles al edema maligno pero no al carbunco sintomático.

La enfermedad infecciosa causada por ***Clostridium sordellii*** también se manifiesta como edema maligno en ganado y también se caracteriza por un hinchamiento edematoso, no hemorrágico ni gaseoso de la cabeza, cara y cuello de carneros jóvenes. Esta infección se inicia en carneros jóvenes por su sus topetazos continuos entre sí. Los tejidos subcutáneos amoratados y magullados proporcionan condiciones adecuadas para el crecimiento de clostridios patógenos y las roturas de la piel ofrecen una oportunidad para su entrada.

La infección con ***C. perfrigens*** **tipos A, B y C** causa enteritis grave, disentería, toxemia y alta mortalidad en terneros jóvenes. Los tipos B y C producen ambos la toxina β altamente necrosante y letal que es responsable del extenso daño intestinal. Esta toxina es sensible a las enzimas proteolíticas, y la enfermedad está asociada con la inhibición de proteólisis en el intestino. Se ha sugerido que el calostro de las cerdas, que contiene un inhibidor de tripsina, es un factor en la susceptibilidad de los cerdos jóvenes. El tipo C también causa enterotoxemia en ganado adulto. En terneros, existe diarrea aguda, disentería, dolor abdominal, convulsiones y opistótonos. La muerte puede producirse en unas pocas horas, pero los casos menos graves sobreviven durante algunos días y es posible la recuperación en un periodo de varios días. La enteritis hemorrágica con ulceración de la mucosa es la lesión más importante en todas las especies. Macroscópicamente, la parte afectada del intestino presenta un color azul oscuro-púrpura y a simple vista parece ser un infarto asociado con torsión mesentérica. Se pueden analizar muestras de los contenidos intestinales para grandes cantidades de bacterias gram-positivas con forma de bacilos, y se pueden realizar filtrados para detectar toxinas y luego identificar por neutralización con antisuero específico.

Esta enterotoxemia clásica causada por ***C. perfringens*** **tipo D** se produce rara vez en ganado. Su distribución es mundial y puede suceder en animales de cualquier edad. Se ha sospechado la enfermedad en terneros de carne bien nutridos que lactan de vacas altas

productoras que pastan de pasto lozano y en síndrome de muerte súbita en ganado de estabulación intensiva; sin embargo, faltan pruebas de laboratorio que lo confirmen al final. Los terneros afectados de forma aguda que no se encuentra muertos muestran manía, convulsiones, ceguera y muerte en unas pocas horas. Los terneros afectados de forma subaguda presentan estupor durante unos pocos días y pueden recuperarse.

La toxemia por tétanos está causada por una neurotoxina específica producida por el ***Clostridium tetani*** en el tejido necrótico. Casi todos los mamíferos son susceptibles a esta enfermedad. Si bien el tétanos se distribuye por todo el mundo, hay algunas zonas, como la sección de Montañas Rocosas del Norte de los Estados Unidos, en donde el organismo es muy infrecuente en el suelo y en donde el tétanos prácticamente se desconoce. En general, la aparición de *C. tetani* en el suelo y la incidencia de tétanos en seres humanos y caballos es mayor en las partes más cálidas de los diversos continentes. *Clostridium tetani*, un anacrobio con esporas esféricas terminales, se halla en el suelo y en los tractos intestinales. En la mayoría de los casos, se introduce en los tejidos a través de heridas, particularmente heridas punzantes profundas que proporcionan un entorno anaerobio adecuado.

La infección con ***Salmonella spp*** puede producir diarrea en animales de todas las edades, especialmente aquellos que están estresados, amontonados o expuestos a alimentación o suministro de agua densamente contaminado. La salmonelosis está causada por muchas especies de salmonelas y se caracteriza clínicamente por uno o más de tres síndromes principales: septicemia, enteritis aguda y enteritis crónica. La incidencia ha aumentado con la intensificación de la producción de todo tipo de ganado. Los terneros jóvenes desarrollan habitualmente la forma septicémica. El ganado adulto desarrolla enteritis aguda. Puede desarrollarse una enteritis crónica ocasionalmente en ganado. Los animales gestantes pueden abortar. En animales de más edad, la enfermedad se manifiesta por disentería y toxemia y la mortalidad puede ser significativa. Aunque muchas otras Salmonella spp pueden causar enfermedad, los más importantes en ganado son ***S. typhimurium***, ***S. dublin*** y ***S. newport***. Aunque sus patrones clínicos resultantes no son diferentes, diferentes especies de salmonela tienden a diferir en su epidemiología. El perfil plasmídico y los patrones de resistencia a los fármacos a veces son marcadores útiles para estudios epidemiológicos. Las heces de animales infestados pueden contaminar pienso y agua, leche, carnes frescas y procesadas de mataderos, productos vegetales y animales usados como fertilizantes o piensos, pastos y pastizales y muchos materiales inertes. Los organismos pueden sobrevivir durante meses en áreas húmedas, templadas tales como en granjas de cerdos de engorde o en casetas de agua pero sobreviven menos de 1 semana en estiércol de ganado compuesto. Los roedores y las aves salvajes son también fuentes de

infección. La prevalencia de la infección varía entre las especies y los países, y es mucho más alta que la incidencia de la enfermedad clínica, que comúnmente se precipita por situaciones de agresión tales como privación súbita del alimento, transporte, sequía, amontonamiento, parto y administración de algunos fármacos.

Son patógenos gastrointestinales relevantes adicionales ***Escherichia coli***, ***Cryptosporidium parvum*** y ***Mycobacterium avium paratuberculosis***. La infección por *Escherichia coli* causa enfermedad intestinal grave en animales jóvenes caracterizada como diarrea neonatal, diarrea post destete, enfermedad de edema y/o septicemia dependiendo de los factores de virulencia presentes en la cepa que causa la infección. Los terneros infectados con *E. coli* patógena pueden desarrollar diarrea grave causando deshidratación mortal o infecciones septicémicas mortales. La paratuberculosis es una enteritis contagiosa crónica caracterizada por diarrea persistente y progresiva, pérdida de peso, debilitamiento y finalmente muerte. Afecta a ganado bovino, ovejas, cabras, llamas, camellos, ciervos de granja y otros rumiantes domésticos, exóticos y silvestres. También se ha reconocido en conejos silvestres; pueden infectarse caballos y cerdos experimentalmente. La distribución es mundial.

Existen datos conflictivos sobre la implicación del organismo en la enfermedad de Crohn, una enteritis crónica en seres humanos. Los animales con paratuberculosis deberían considerarse como riesgos zoonóticos potenciales hasta que se aclare la situación. El organismo causal es ***Mycobacterium avium paratuberculosis,*** antiguamente conocido como ***M. paratuberculosis*** o ***M. johnei.*** Ocasionalmente, se aíslan otras subespecies de *M. avium* de casos. El organismos es muy resistente y puede sobrevivir en pasto durante más de 1 año, pero la luz del sol, suelos alcalinos y la sequedad reducen su índice de superviviencia. Se desprenden grandes cantidades en heces de animales infectados y la infección se adquiere por ingestión de pienso y agua contaminados. La introducción de la enfermedad en un rebaño limpio es habitualmente por portadores infectados de forma subclínica. La infección se adquiere pronto en la vida, pero rara vez se desarrollan signos clínicos en ganado < 2 años de edad. La resistencia aumenta con la edad, y es poco probable que el ganado expuesto por primera vez como adulto se infecte. La mayoría de los terneros se infectan poco después del nacimiento por lactación de ubres contaminadas con heces de animales infectados o por alojamiento en apriscos contaminados. El organismo también puede estar presente en el calostro y la leche de vacas infectadas y también se han descrito infecciones intrauterinas. Después de la ingestión, las bacterias infectan macrófagos en la mucosa del intestino delgado inferior y en ganglios linfáticos asociados. La mayoría de los animales eliminarán la infección por una respuesta inmune temprana mediada por células que estimula la actividad

microbicida de macrófagos. En animales susceptibles, los organismos se multiplican y provocan una enteritis crónica que conduce a enfermedad clínica. Puede llevar de meses a años desarrollarse y habitualmente es paralela a una disminución en la inmunidad mediada por células y un aumento en la ineficacia de anticuerpos séricos. Sin embargo, el desprendimiento fecal comienza antes que sean evidentes signos clínicos. Puede aislarse *Mycobacterium avium paratuberculosis* de heces, ganglios linfáticos mesentéricos e ileocecales, paredes intestinales engrosadas y, menos frecuentemente, de la ubre y de los tractos reproductivos de ambos sexos.

La criptosporidiosis es una enterocolitis de distribución cosmopolita causada por el parásito coccidiano ***Cryptosporidium parvum***. No es específico de hospedador y es común en rumiantes jóvenes, particularmente terneros; también se encuentra en seres humanos y cerdos y es poco frecuente en perros, gatos y caballos. Otros criptosporidios causan enfermedad en réptiles y aves. La enfermedad en terneros, caracterizada por pérdida de peso y diarrea acuosa, es clínicamente indistinguible de muchas otras causas de diarrea en terneros. *Cryptosporidium parvum* es un protozoo diminuto que se transmite por la vía fecal-oral. Se esporulan ooquistes (cuatro esporozoítos) cuando se desprenden en las heces y, por lo tanto, son inmediatamente infecciosos. El periodo de incubación media es de ~4 días. Los terneros de 1-3 semanas de edad parecen ser más susceptibles. Signos tales como anorexia, pérdida de peso, diarrea y tenesmo, se parecen a los causados por varios otros patógenos intestinales; sin embargo, se producen infecciones sin signos. La cripstosporidiosis sin complicaciones rara vez es mortal. La enfermedad puede ser grave en individuos inmunocompremetidos. Si se observa enfermedad grave en terneros, deberían descartarse otros agentes de enfermedad o infecciones concurrentes. Aunque *C. parvum* puede infectar prácticamente el tracto intestinal completo, habitualmente se afecta más gravemente el intestino delgado distal. La infección en caballos se limita al intestino delgado. Las lesiones macroscópicas pueden consistir en mucosa intestinal hiperémica y contenidos intestinales amarillentos. Microscópicamente, es evidente una atrofía vellosa de leve a grave con organismos esféricos en el borde en cepillo. A diferencia de *Eimeria* e *Isospora* spp, que son parásitos intracelulares, *C. parvum* es intramembranoso y reside en el borde en cepillo de las células epiteliales intestinales.

La inflamación de la glándula mamaria (mastitis) se debe casi siempre a los efectos de la infección por patógenos bacterianos o micóticos. La mastitis puede asociarse con infección por muchos otros organismos, incluyendo *Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae,* ***Streptococcus agalactiae,*** *Staphylococcus aureus,* ***Escherichia coli,*** *Klebsiella spp., Pseudomonas aeruginosa, Actinomyces pyogenes, Mycoplasma spp, Nocardia*

asteroides, Serratia, Mycobacterium spp, Clostridium perfringens, Pasteurella spp y Prototheca spp.

Las dermatomicosis (Dermatofitosis) en animales son enfermedades antropozoonóticas de la piel y tejidos relacionados. Los síntomas clínicos se caracterizan por pérdida de pelo en el área afectada, hiperemia, descamación y costras similares a las producidas por exposición a asbestos. La inflamación se acompaña con frecuencia de supuración. Con frecuencia las dermatomicosis se caracterizan también por infección localizada de la piel. Las dermatomicosis en animales conllevan un impacto socieconómico sustancial. Los animales enfermos requieren un tratamiento prolongado y pueden proposar la infección tanto a animales como a seres humanos. Las dermatofitosis están causadas por infecciones micóticas de **Trichophyton spp.** o **Microsporum spp.** Las causas más relevantes para ganado son ***Trichophyton verrucosum***, ***Trichophyton mentagrophytes*** o ***Trichophyton sarkisovii.***

Una infección del tracto respiratorio inferior, que habitualmente de como resultado bronquitis o neumonía, puede estar causada por cualquiera de varios nematodoso parasitarios, incluyendo ***Dictyocaulus viviparus*** en ganado. Este verme pulmonar pertenece a la superfamilia Trichostrongyloidea y tiene ciclos biológicos directos. El verme pulmonar de ganado es común en el Noroeste de Europa y es la causa de brotes graves de bronquitis verminosa "*husk*" o "*hoose*" en ganado de pastoreo joven. Debido a que la infección por *D. viviparus* en ganado es la más económicamente importante, es la que más se ha investigado y muchas de las observaciones de la misma son aplicables a las otras especies. Habitualmente se desarrolla enfermedad clínica en la primera exposición a suficientes larvas infecciosas. En ganado, esto se produce habitualmente durante su primera estación en pastoreo; sin embargo, se ha descrito un aumento en el número de ganado de más edad afectado. Los signos de infección por vermes pulmonares varían de tos moderada con frecuencias respiratorias ligeramente aumentadas a tos grave persistente y dificultad respiratoria e incluso insuficiencia. Aumentos de peso reducidos, producciones de leche reducidas y pérdida de peso acompañan a muchas infecciones en ganado. Pueden producirse infecciones subclínicas patentes en todas las especies. Los signos más uniformes en ganado son taquipnea y tos.

La tricomoniasis es una enfermedad protozoaria venérea de ganado caracterizada principalmente por muerte fetal temprana e infertilidad, dando como resultado intervalos de partos prolongados. La distribución probablemente es mundial. El protozoo causal, ***Trichomonas (Tritrichomonas) foetus***, es piriforme y comúnmente de 10-15 × 5-10 µm, pero existe un pleomorfismo considerable. Puede volverse esférico cuando se cultiva en medios artificiales. En su extremo anterior existen tres flagelos de aproximadamente la

misma longitud que el cuerpo del parásito. Una membrana ondulante se extiende por la longitud del cuerpo y está bordeada por un filamento marginal que continúa más allá de la membrana como flagelo posterior. Aunque *T. foetus* puede sobrevivir al proceso usado para congelar el semen, se destruye por sequedad o altas temperaturas. *Trichomonas foetus* se encuentra en los tractos genitales de ganado. Cuando las vacas se reproducen de forma natural por un toro infectado, el 30-90% se infectan, sugiriendo que existen diferencias entre cepas. También puede existir variación en la susceptibilidad de raza a la tricomoniasis. Los toros de todas las edades pueden permanecer infectados de forma indefinida pero esto es menos probable en machos más jóvenes. Por el contrario, la mayoría de las vacas están libres de infección a los 3 meses después de la reproducción. Sin embargo, la inmunidad no es duradera y se producen reinfecciones. La transmisión también puede suceder cuando el semen de toros infectados se usa para inseminación artificial. El signo más común es infertilidad causada por muerte embrionaria. Esto da como resultado reproducción repetida y una estación de partos prolongada. También pueden producirse muerte fetal y abortos que no son tan comunes como las pérdidas tempranas en la gestación. Se ha encontrado *Trichomonas foetus* en cultivos vaginales tomados tan tarde como a los 8 meses de gestación y, aparentemente, pueden nacer terneros vivos de madres infectadas. Ocasionalmente se desarrolla piómetra después de la reproducción.

Neospora caninum es un parásito protozoario intracelular obligado que se ha confundido anteriormente con ***Toxoplasma gondii***. Solo se conocen fases asexuales y se parecen a *T. gondii*. Se desconoce el ciclo biológico completo de *N. caninum* pero puede transmitirse por vía transplacentaria en perros, ganado, cabras, ovejas y gatos y puede afectarse la descendencia posterior. Los taquizoítos son de 5-7 × 1-5 µm, dependiendo de la fase de división. Se dividen por endodiogenia. Se encuentran taquizoítos en miocitos, células nerviosas, células dérmicas, macrófagos y otras células. Se encuentran quistes tisulares de hasta 100 µm de diámetro en células nerviosas; la pared quística es amorfa y de hasta 4 µm de grosor. Los quistes no tienen septos y encierran bradizoítos finos de 7 × 1,5 µm. En ganado de leche, *N. caninum* es una causa principal de abortos en muchos países, particularmente en los Estados Unidos. Los terneros pueden terminar en abortos, mortinatos, de bajo peso al nacimiento, débiles o paralizados o pueden paralizarse en un intervalo de 4 semanas desde el nacimiento. La lesión principal en los tejidos fetales abortados es encefalitis no supurativa. El aborto puede producirse durante toda la gestación y algunas vacas pueden abortar de nuevo; las madres de estos terneros son clínicamente normales.

La babesiosis está causada por parásitos protozoarios intraeritrocitarios del género Babesia. Un amplia variedad de animales domésticos y silvestres y ocasionalmente seres

humanos se ven afectados por la enfermedad, que se transmite por garrapatas y tiene una distribución mundial. Dos especies importantes en ganado — ***Babesia bigemina*** y ***Babesia bovis*** — están ampliamente distribuidas en áreas tropicales y subtropicales y son el centro de esta discusión. En área endémicas, son importantes dos características en la determinación del riesgo de enfermedad clínica: 1) los terneros tienen un grado de inmunidad (relacionada tanto con los anticuerpos procedentes del calostro como con la edad) que persiste durante ~6 meses y 2) los animales que se recuperan de infecciones por Babesi*a* son inmunes de por vida. Por lo tanto, a altos niveles de transmisión por garrapatas, todos los terneros recién nacidos se habrán infectado con Babesia a los 6 meses de edad, mostrarán escasos si algún signo clínico y posteriormente serán inmunes. Esta situación de estabilidad endémica puede alterarse por una reducción natural (por ejemplo, climática) o artificial (por ejemplo, tratamiento acaricida) en el número de garrapatas a niveles en los que la transmisión por garrapatas de Babesia a terneros sea insuficiente para asegurar que todos se infecten durante este periodo temprano crítico. Otras circunstancias que pueden conducir a brotes clínicos incluyen la introducción de ganado susceptible en áreas endémicas y la incursión de garrapatas infectadas con Babesia en áreas previamente libres de garrapatas. Se ha demostrado variación de cepa en la inmunidad pero probablemente no es significativa en el campo. La enfermedad aguda generalmente tiene un curso de ~1 semana. El primer signo es fiebre (frecuentemente de 41°C o superior), que persiste durante todo el proceso y se acompaña posteriormente de inapetencia, frecuencia respiratoria aumentada, temblores musculares, anemia, ictericia y pérdida de peso con hemoglobinemia y hemoglobinuria en las fases finales. Se produce frecuentemente implicación del SNC debido a residuos de eritrocitos parasitados en capilares cerebrales con infección por *B. bovis*. Puede existir estreñimiento o diarrea. Las vacas gestantes con frecuencia abortan. Con cepas virulentas de *B. bovis*, un síndrome de choque hipotensivo, combinado con inflamación inespecífica generalizada, alteraciones de la coagulación y estasis eritrocitaria en capilares contribuyen a la patogénesis. Con la mayoría de cepas de *B. bigemina*, los efectos patógenos se relacionan más directamente con destrucción de eritrocitos. Los animales que se recuperan de la enfermedad aguda permanecen infectados durante varios años con *B. bovis* y durante unos pocos meses en el caso de *B. bigemina*. No son evidentes signos durante este estado de portador. Las lesiones incluyen un bazo aumentado de tamaño y friable; un hígado hinchado con una vesícula biliar aumentada de tamaño que contiene bilis granular espesa; riñones congestionados de color oscuro; y anemia e ictericia generalizadas. Con frecuencia, pero no siempre, la orina es roja. Otros órganos, incluyendo el cerebro y el corazón pueden mostrar congestión o hemorragias petequiales. La susceptibilidad de razas de terneros a infecciones

por Babesia varía; por ejemplo, el ganado Brahman es más resistente a la infección por *B. bovis* que las razas británicas.

Se necesita en la técnica una composición inmunógena eficaz para generar una respuesta inmunológica contra *M. bovis* y al menos un patógeno relevante para ganado adicional. Se necesita una composición inmunógena eficaz para disminuir la gravedad de o reducir la incidencia de signos de infecciones microbiológicas de ganado, causadas por *M. bovis* y uno u otros más patógenos relevantes para ganado. Se necesita además una vacuna eficaz para reducir o eliminar la incidencia de signos de infecciones microbiológicas de ganado causadas por *M. bovis* y uno o más patógenos relevantes para el ganado. Se necesita además un método de tratamiento y/o profilaxis de infecciones de ganado causadas por *M. bovis* y uno o más patógenos relevantes de ganado adicionales que comprende una coadministración de antígeno de *M. bovis* y un componente inmunológicamente activo de uno o más patógenos relevantes para el ganado. La coadministración puede producirse por la administración de dos o más composiciones inmunógenas, comprendiendo cada una uno o más antígenos relevantes para ganado incluyendo el antígeno *M. bovis*, o por administración de una composición inmunógena de dosis fija que comprenda todos los antígenos relevantes para ganado, incluyendo el antígeno de *M. bovis*.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a vacunas de combinación y/o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas, donde las infecciones están causadas por *M. bovis* y al menos un patógeno relevante de ganado adicional. La vacuna de combinación, como se describe en la presente memoria, comprende al menos un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado que se proporciona con la presente memoria y un componente adicional inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por un patógeno adicional de ganado. El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan a ganado comprende administrar una primera composición inmunógena que comprende un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado que se proporciona con la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno de ganado adicional.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación y/o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones del sistema respiratorio y/o reproductor. La vacuna de combinación comprende el *M. bovis* avirulento atenuado que se describe en la

presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis del infecciones causadas por el virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV), Herpesvirus Bovino (BHV), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Virus Parainfluenza (PI-3), *Campylobacter fetus, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira hardjo, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y/o *Leptospira ponoma*. El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan a ganado comprende administrar una primera composición inmunógena que comprende un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado, como se proporciona con la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV), Herpesvirus Bovino (BHV), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Virus Parainfluenza (PI-3),), *Campylobacter fetus, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira hardjo, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y/o *Leptospira ponoma.*

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación y/o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones del sistema respiratorio y/o reproductor causadas por *M. bovis*, BVDV, PI-3, BRSV, IBR y/o BHV, donde dicha vacuna comprende al menos un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado como se describe en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por BVDV, PI-3, BRSV IBR y/o BHV.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Frecuencia de Recuperación de Cultivo de Muestras Nasales, de Tonsila y de Pulmón (Días 0, 14, 28, 35 y Posteriores)

Figura 2: Frecuencia de Detección por PCR a partir de Muestras Nasales, de Tonsila y de Pulmón (Días 0, 14, 28, 35 y Posteriores)

Figura 3: Puntuación Media de Grupo para Anticuerpos específicos para *M. bovis* de Muestras de Suero (Días 0, 14, 28, 35 y 42)

Figura 4: Comparación de Serología para el Grupo de Vacuna Viva I, II, III y el Grupo sin Vacuna (SC+IN sólo)

Figura 5: Comparación de Serología para el grupo de Vacuna Viva I usando Diversas Vías de Administración

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Antígeno de *M. bovis*

Las composiciones inmunógenas o vacunas de la presente invención superan los problemas presentes en la técnica anterior proporcionando cepas avirulentas y atenuadas de *M. bovis*, preferiblemente de alto número de pase, capaces de combinarse con un vehículo farmacéuticamente o veterinariamente aceptable y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por un patógeno de ganado relevante distinto de *M. bovis*. Cualquiera de las composiciones inmunógenas o vacunas pueden usarse como una composición inmunógena/vacuna con una eficacia mejorada de modo que los signos de una infección por *M. bovis* y/o la propia infección por *M. bovis* y/o la incidencia o gravedad se reduzcan en comparación con las infección por cepas de *M. bovis* de tipo silvestre, preferiblemente así como en comparación con las vacunas disponibles actualmente. En otras palabras, los terneros que han recibido una vacuna de acuerdo con la presente invención tienen menos riesgo de desarrollar signos de infección por *M. bovis*, y cualquier signo clínico que se produzca será menos grave o prevalente que en animales que no han recibido ninguna vacuna pero que se han infectado por *M. bovis* o que han recibido una vacuna que no está de acuerdo con la presente invención. La composición de la presente invención proporcionaba resultados sorprendentes en el sentido de que las cepas de *M. bovis*, preferiblemente cepas de alto número de pase de *M. bovis*, estaban atenuadas, vivas, y eran más altamente eficaces como componentes de una composición inmunógena.

La invención descrita en la presente memoria proporciona cepas avirulentas y atenuadas o aislados de *M. bovis*, preferiblemente cepas atenuadas y avirulentas de alto número de pase de *M. bovis* que generen o provoquen una respuesta inmune cuando se administran a un animal. Ventajosamente, la respuesta inmune protege a los animales que reciben la administración de la composición de la presente invención de tal forma que los animales individuales tienen menos riesgo de desarrollar signos de infección por *M. bovis*, y estos signos serán menos graves o prevalentes que en animales que no han recibido la composición o que en animales que han recibido una vacuna o composición no realizada de acuerdo con la presente invención.

Para los fines de la presente invención, los términos "aislados" y "cepa" se usan indistintamente y las diferencias entre cepas o aislados individuales pueden detectarse usando identificación genéticas de ADN (es decir, diferentes cepas o aislados tendrán diferentes identificaciones), preferiblemente usando el método que se describe en el documento WO 2008-030619.

En una realización, la composición inmunógena descrita en la presente memoria comprende una cepa de alto número de pase de *M. bovis*. Preferiblemente, dicha cepa de *M. bovis* está atenuada y es avirulenta. La composición inmunógena de la presente invención produce una respuesta inmune contra una infección por *M. bovis* en el ganado. La respuesta inmunogénica contra la infección por *M. bovis* generada o inducida por la administración de la composición inmunógena reduce en gran medida la gravedad o la incidencia de signos de infección por *M. bovis*. En otra realización, se describe un método para estimular una respuesta inmune humoral serológica rápida y de larga duración y por consiguiente, protección frente a la enfermedad, usando la composición inmunógena proporcionada con la presente memoria en terneros. En otra realización más, se describe un método para inmunizar terneros contra la infección por *M. bovis* por medio de la administración de la composición inmunógena de la presente invención en una cantidad eficaz. La composición inmunógena o de vacunas de la presente invención, cuando se administró a terneros después de la exposición a una cepa de *M. bovis* de tipo silvestre, presentó una reducción en los signos de infección por *M. bovis* incluyendo una reducción en los síntomas clínicos, patología pulmonar, cojera y patología articular asociados normalmente con la infección por *M. bovis*. Específicamente, en el grupo vacunado se observaron una reducción en la patología pulmonar y una reducción apreciable en los síntomas clínicos de las articulaciones y de la cojera asociada. En otra realización de la presente invención se describe un método para reducir los signos de infección por *M. bovis*, preferiblemente por medio de la administración de cualquiera de las bacterias *M. bovis* atenuadas avirulentas de acuerdo con la invención y/o descritas en las presentes solicitudes de patente. La reducción de los signos de infección por *M. bovis* se consigue por medio de la administración de la composición inmunógena de la presente invención.

Las cepas de alto número de pase de *M. bovis* atenuadas y avirulentas que se proporcionan con la presente memoria se pasan preferiblemente más de 10, preferiblemente al menos 20, aún más preferiblemente al menos 30, aún más preferiblemente al menos 40, aún más preferiblemente al menos 50, aún más preferiblemente al menos 55, aún más preferiblemente al menos 60, aún más preferiblemente al menos 70, aún más preferiblemente al menos 80, aún más preferiblemente al menos 90, aún más preferiblemente al menos 95, aún más preferiblemente al menos 100, aún más preferiblemente al menos 102 veces, y más preferiblemente al menos 106 veces, preferiblemente *in vitro*. Se proporcionan tres cepas de *M. bovis* representativas que incluyen la cepa de *M. bovis* 052823A106, depositada en la ATCC en Manassas, VA el 16 de octubre de 2007 bajo los términos del Tratado de Budapest y denominada PTA-8694; cepa de *M. bovis* 05249A102, también depositada en la ATTC en

Manassas, VA el 16 de octubre de 2007 bajo los términos del Tratado de Budapest y denominada PTA-8696; y cepa de *M. bovis* 0519021B106, también depositada en la ATCC en Manassas, VA el 16 de octubre de 2007 y denominada PTA-8695. Cada una de estas cepas era patógena antes del pase, pero después del pase de cada una de estas cepas como se ha descrito anteriormente, y particularmente después del pase más de 100 veces, las cepas pasadas resultantes estaban atenuadas, eran avirulentas y producían una respuesta inmune en un animal que recibía la administración de la composición inmunógena de la cepa. En una realización preferida de la presente invención, las composiciones inmunógenas comprenden una de las tres cepas de *M. bovis* atenuadas de alto número de pase proporcionadas con la presente memoria.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones inmunógenas como se describen en la presente memoria, que comprenden cualquiera de las cepas de bacterias de *M. bovis* atenuadas depositadas en la ATCC bajo los números de acceso PTA-8694; PTA-8695; o PTA-8696, o cualquier cepa de bacteria *M. bovis* atenuada descendiente de cualquiera de las cepas bacterianas de M. bovis depositadas anteriores. Más preferiblemente, la presente invención proporciona las composiciones inmunógenas que comprenden cualquiera de las cepas de bacterias *M. bovis* depositadas en la ATCC bajo los números de acceso PTA-8694; PTA-8695; o PTA-8696. Además, la presente invención también se refiere al uso veterinario de cualquiera de los específicos de cepas de *M. bovis* atenuadas como se describe en la presente memoria, por ejemplo para la reducción de la gravedad y/o incidencia de síntomas clínicos de infección por *M. bovis* después de la exposición en laboratorio o natural con una cepa patógena o cepa de tipo silvestre de *M. bovis*.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención también se refiere al uso de una bacteria de *M. bovis* atenuada que tienen las mismas características que las cepas de bacterias *M. bovis* depositadas en la ATCC bajo los números de acceso PTA-8694; PTA-8695; o PTA-8696 en cualquiera de las composiciones inmunógenas que se proporcionan con la presente memoria. La expresión "que tiene las mismas características que las cepas de bacterias *M. bovis* depositadas en la ATCC bajo los números de acceso PTA-8694; PTA-8695; o PTA-8696" significa que dicha cepa bacteriana está atenuada, es capaz de inducir una respuesta inmune humoral en un ternero en 14 días desde la administración de una dosis de cultivo vivo avirulento de 2,1E9 UFC por la vía subcutánea o intranasal a un ternero. Cuando se administra a la dosis por la vía que induce una respuesta inmune humoral en un ternero en 14 días después de la administración, la composición inmunógena no causa los signos clínicos normalmente causados por una infección con una cepa de tipo silvestre de *M. bovis*

patógeno. Como método de referencia, la respuesta inmune humoral puede determinarse mediante el Kit de ELISA de *M. bovis* BIOVET usando el protocolo proporcionado con el kit de ensayo. Preferiblemente, cada una de las cepas anteriores induce una respuesta inmune humoral en 14 días desde la administración de una dosis de 2,1E9 UFC por la vía subcutánea o intranasal a un ternero, que tiene una puntuación de ELISA relativa en el Kit de ELISA de *M. bovis* BIOVET usando el protocolo proporcionado con el kit de ensayo, de al menos 1,75 cuando se expresa como lecturas de densidad óptica (D.O.).

En otro aspecto, la invención es un método para el tratamiento o la profilaxis incluyendo una disminución de la incidencia de infección de tipo silvestre en un rebaño o una reducción en la gravedad de los signos clínicos, de infección por *M. bovis* asociada con animales infectados con *M. bovis* de tipo silvestre. Además, la administración de la vacuna de acuerdo con la presente invención reduce el número de animales en un rebaño que se infectan con *M. bovis*. Dicho método generalmente implica la administración de una cantidad eficaz de una cepa de *M. bovis* atenuada por los métodos descritos anteriormente, a un sujeto o rebaño de sujetos que lo necesiten o que podrían beneficiarse de dicho tratamiento. Preferiblemente, los síntomas clínicos se reducen en incidencia o gravedad en al menos 10%, más preferiblemente en al menos 20%, aún más preferiblemente en al menos 30%, incluso más preferiblemente en al menos 40%, aún más preferiblemente en al menos 50%, incluso más preferiblemente en al menos 60%, aún más preferiblemente en al menos 70%, incluso más preferiblemente en al menos 80%, aún más preferiblemente en al menos 90%, y aún más preferiblemente en al menos 95% en comparación con animales que no se vacunaron o que se vacunaron con una composición inmunógena de *M. bovis* que estaba disponible antes de la presente invención pero posteriormente se infectaron por *M. bovis* de tipo silvestre.

Compañeros de combinación

Como se ha descrito anteriormente, la presente invención se refiere a vacunas de combinación y/o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas, donde las infecciones están causadas por *M. bovis* y al menos un patógeno de ganado relevante adicional. La vacuna de combinación, como se describe en la presente memoria, comprende al menos un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado que se proporciona con la presente memoria y uno o más componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por uno o más patógenos de ganado relevantes adicionales. El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan a ganado comprende administrar una primera composición

inmunógena que comprende un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado, que se proporciona con la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno de ganado relevante adicional.

Los patógenos de ganado relevantes distintos de *M. bovis* incluyen los enumerados en la sección de antecedentes anterior pero no se limitan a: **i) patógenos de origen viral** tales como virus de la diarrea viral Bovina (BVDV) tipo 1 (BVDV-1) y tipo 2 (BVDV-2), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la RinotraqueítisInfecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV), Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV) y Adenovirus y Astrovirus; **ii) patógenos de origen bacteriano,** tales como *Mannheimia haemolytica* (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona*, y *Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella melitensis, Eschericia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis,* Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., y *Streptococcus uberis* **iii) patógenos de otro origen,** tales como *Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum* (antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Babesia bigemina* y *Babesia bovis* y *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares).

El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan al ganado comprende administrar una primera composición inmunógena que comprende antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado que se proporciona con la presente memoria y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno adicional de ganado, donde dicho patógeno adicional de ganado se selecciona del grupo que consiste en: **i) patógenos de origen viral** tales como virus de la

diarrea viral Bovina (BVDV) tipo 1 (BVDV-1) y tipo 2 (BVDV-2), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV, Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV) y Adenovirus y Astrovirus; **ii) patógenos de origen bacteriano,** tales como *Mannheimia haemolytica* (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira* pomona, y *Leptospira* grippotyphosa, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus,* Brucella suis y *Brucella melitensis, Eschericia coli, Listeria monocytogenes,* Chlamydia psittaci, *Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis,* Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae,* Salmonella typhimurium; *Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Mycoplasma dispar y* Ureaplasma spp., y *Streptococcus uberis* y **iii) patógenos de otro origen,** tales como *Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii,* Neospora caninum (antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Babesia bigemina* y *Babesia bovis* y *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) o cualquier otro patógeno enumerado en la sección de antecedentes o que se sabe que es patógeno en ganado.

La presente invención se refiere a vacunas de combinación y/o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas, donde las infecciones están causadas por *M. bovis* y al menos un patógeno relevante de ganado adicional, donde dicha vacuna o uso combinado comprende o hace uso de un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado avirulento que se describe en la presente memoria y un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por virus de la diarrea viral Bovina (BVDV) tipo 1 (BVDV-1) y tipo 2 (BVDV-2), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV), Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella*

multocida, Haemophilus somnus (*Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira* pomona y *Leptospira* grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella melitensis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci,* Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae,* Salmonella typhimurium; *Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis, Mycoplasma spp, Mycoplasma dispar y* Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum* (antiguamente *Toxoplasma gondii), Babesia bigemina* y *Babesia bovis* y *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) y/o cualquier otro patógeno que se sabe que es patógeno en ganado, incluyendo los patógenos analizados en los antecedentes.

El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan al ganado comprende administrar una primera composición inmunógena que comprende antígeno de *M. bovis* preferiblemente el *M. bovis* avirulento atenuado como se proporciona con la presente memoria y al menos una composición inmunógena adicional que comprende uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno adicional de ganado, donde dicho patógeno adicional de ganado se selecciona del grupo que consiste en: virus de la diarrea viral Bovina (BVDV) tipo 1 (BVDV-1) y tipo 2 (BVDV-2), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV), Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (*Histophilus ovis* y *Haemophilus agni*), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente *C. fetus intestinalis*), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona y Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella*

melitensis, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*; *Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Mycoplasma spp*, *Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (antiguamente *Toxoplasma gondii)*, *Babesia bigemina* y *Babèsia bovis* y *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) y/o cualquier otro patógeno enumerado en una sección de antecedentes o que se sepa que es patógeno en ganado. Preferiblemente, la composición inmunógena adicional comprende un antígeno de uno o más de cualquiera de los patógenos relevantes de ganado que se han enumerado anteriormente.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación o al uso combinado de composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones de los sistemas respiratorio y/o reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación o el uso combinado comprende un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR [combo 001]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de IBR **[combo 002]**. De acuerdo con una realización preferida, el antígeno de IBR es un **virus vivo modificado [combo 003]**. De acuerdo con una realización adicional, la vacuna de combinación de *M. bovis* atenuado e IBR **contiene un antibiótico, por ejemplo neomicina para su conservación [combo 004]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **PI-3 [combo 005]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de PI-3 **[combo 006]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 007]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 008]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por BHV **[combo 009]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de BHV **[combo 010]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR y PI-3 [combo 011]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR -3 y PI-3 **[combo 012]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR y BVDV (tipo**

1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 013]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 014]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR y BHV [combo 015]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR y BHV **[combo 016]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 017]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) [combo 018].

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **PI-3 y BHV [combo 019]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprendeel *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de PI-3 y BHV **[combo 020]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una

vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 021]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 022]**. Preferiblemente, todos los antígenos virales son virus vivos modificados**[combo 023]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente *el M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **BRSV y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 024]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de BRSV y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 025]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y **BHV [combo 026]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR BHV y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 2 y/o tipo 2 **[combo 027]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones

víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2 **y BHV [combo 028]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cda uno de PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2 y BHV **[combo 029]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3 y BHV[combo 030]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprendeel *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, BHV y PI-3 **[combo 031]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2 y **BHV [combo 032]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR BHV PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 033]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones bacterianas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por *H. sommus* **[combo**

034].De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de *H. sommus* **[combo 035]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas y bacterianas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR** y ***H. sommus*[combo 036]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de *H. sommus* e IBR **[combo 037]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas y bacterianas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3 y *H. sommus*** **[combo 038]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3 y H. sommus **[combo 039]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y ***H. somnus*** **[combo 040]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3 y BVDV (tipo -1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y un antígeno de *H. sommus* **[combo 041]**.De acuerdo con una realización adicional de dicha vacuna de combinación, los

antígenos de IBR, PI-3 son virus destruidos **[combo 042]**. De acuerdo con una realización adicional, cualquiera de dichas vacunas de combinación, preferiblemente la vacuna de combinación que comprende antígenos de IBR destruido y PI-3 destruido, contiene neomicina y timerosal como conservantes **[combo 043]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones víricas de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV** y ***H. somnus*** **[combo 044]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, BHV, PI-3 y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y un antígeno de *H. sommus* **[combo 045]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por una o más especies patógenas de **Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona.* **[combo 046].** De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos de al menos una o más especies patógenas de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 047]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una

vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR** y una o más especies patógenas de **Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona.* **[combo 048].** De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR y una o más especies patógenas de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 049]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR y *Leptospira pomona*** **[combo 050]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de IBR, preferiblemente un virus vivo o modificado y al menos una bacterina de *Leptospira pomona* **[combo 51]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3** y una o más especies patógenas de **Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira*

hardjo (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 052]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos de cada uno de IBR, y PI-3 y uno o más antígenos de cada una de una o más especies patógenas de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* -3(*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 053]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira pomona* [combo 054]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria, y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira pomona* **[combo 055]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y una o más especies patógenas de **Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona*. **[combo 056]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación

comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 057]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae*,** y ***Leptospira pomona*** **[combo 058]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y virulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y uno o más antígenos de cada una de *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae y Leptospira pomona* **[combo 059]**. De acuerdo con una realización preferida, **los antígenos virales son virus destruidos** y los antígenos bacterianos son bacterianas **[combo 060]**. Preferiblemente, dichas vacunas de combinación como se describen en este párrafo contienen además neomicina y timerosal como conservantes **[combo 061]**.

De acuerdo con una realización adicional, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria, **virus vivos modificados de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo y/o tipo 2), y bacterina de *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira pomona* **[combo 062]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, la vacuna de combinación descrita en este párrafo comprende neomicina como conservante **[combo 063]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una

vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV** y una o más especies patógenas de **Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona.* **[combo 064].** De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, BHV, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira prajitno, Leptospira icterohaemmorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 065]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente **y *H. sommus*[combo 066]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *H. somnus* **[combo 067]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la

profilaxis de infecciones causadas por **IBR** y una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***H. sommus* [combo 068]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de IBR y al menos un antígeno de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *H. somnus* **[combo 069]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3** y una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***H. sommus* [combo 070]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3 y al menos un antígeno de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *H. somnus* **[combo 071]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae*, Leptospira pomona y *H. somnus* [combo 072]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira pomona*, y *H. somnus* **[combo 073]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*,

preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***H. sommus*[combo 074].** De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *H. somnus* **[combo 075]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV** (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo (Leptospira hardjoprajitno y/o Leptospira hardjo-bovis), Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona*** y ***H. sommnus*** **[combo 076]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2)), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona* y *H. somnus* **[combo 077]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2) preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV** y una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***H. sommus*[combo 078]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un

antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), BHV y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *H. somnus* **[combo 079]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***Campylobacter fetus*** **[combo 080]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 081]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas ***Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo (Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae*** **y Campylobacter fetus [combo 082]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada una de *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona Campylobacter fetus* **[combo 083]**. De acuerdo con una realización más preferida, los antígenos bacterianos están químicamente inactivados, adsorbidos en hidróxido de aluminio, cultivos completos de dichas bacterias **[combo 084]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende gentamicina y anfotericina B como conservantes. **[combo 085]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*,

preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR** y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***Campylobacter fetus*** **[combo 086]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de IBR y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 087]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3** y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***Campylobacter fetus*** **[combo 088]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3 y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 089]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***Campylobacter fetus*** **[combo 090]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente, y al menos un antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 091]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV** y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente y ***Campylobacter fetus*** **[combo 092]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), BHV y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 093]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente, ***H. sommus*** y ***Campylobacter fetus*** **[combo 094]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente y al menos un antígeno de cada uno de *H. sommus* y *Campylobacter fetus* **[combo 095]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR,** una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente, ***H. sommus*** y ***Campylobacter fetus*****[combo 096]**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y

al menos un antígeno de cada uno de IBR, *H. sommus* y *Campylobacter fetus* y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente. **[combo 097]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3** y una o más **especies** patógenas **de Leptospira** como se han mencionado anteriormente, ***H. sommus*** y ***Campylobacter fetus*** **[combo 098]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, *H. sommus* y *Campylobacter fetus* y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente. **[combo 099]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. sommus* y *Campylobacter fetus* **[combo 100]**. De acuerdo con una realización adicional, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. somnus* y *Campylobacter fetus* **[combo 101]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se

han mencionado anteriormente y ***H. sommus*** y ***Campylobacter fetus*****|combo 102|**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), *H. somnus* y *Campylobacter fetus* y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han mencionado anteriormente **|combo 100|**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. somnus* y *Campylobacter fetus* **|combo 103|**. De acuerdo con una realización adicional, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo (Leptospira hardjoprajitno y/o Leptospira hardjo-bovis), Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira pomona, H. sommus* y *Campylobacter fetus*. **|combo 104|**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2),** preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV** y una o más **especies** patógenas de **Leptospira** como se han mencionado anteriormente, ***H. sommus*** y ***Campylobacter fetus*** **|combo 105|**.De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), BHV, *H. somnus* y *Campylobacter fetus* y uno o más antígenos de cada de una o más especies patógenas de Leptospira, como se han

mencionado anteriormente **[combo 106]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado frente a infecciones de los sistemas respiratorio y reproductor en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente, el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por BHV, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), PI-3, IBR, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Lepstospira prajitno, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans y Campylobacter fetus* **[combo 107]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, que se ha descrito en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de BHV, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), IBR, PI-3, *Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira borgpetersenii Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y/o *Leptospira hardjo-bovis*), *Lepstospira prajitno, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira bovis, Leptospira interrogans y Campylobacter fetus* **[combo 108]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Pasteurella haemolytica*** y ***Pasteurella multocida*** **[combo 109]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de bacterina de *Pasteurella haemolytica* y bacterina de *Pasteurella multocida*. **[combo 110]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende neomicina y timerosal como conservantes. **[combo 111]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de

infecciones causadas por **IBR**, ***Pasteurella haemolytica*** y ***Pasteurella multocida*** **[combo 112]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, preferiblemente como virus vivos modificados, bacterina de *Pasteurella haemolytica* y bacterina de *Pasteurella multocida* **[combo 113]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende neomicina y timerosal como conservantes. **[combo 114].**

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, *Pasteurella haemolytica*** y ***Pasteurella multocida*** **[combo 115]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, preferiblemente como virus vivos modificados, bacterina de *Pasteurella haemolytica* y bacterina de *Pasteurella multocida* **[combo 116]**. . De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende neomicina y timerosal como conservantes **[combo 117].**

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2***), Pasteurella haemolytica*** **y *Pasteurella multocida*** [combo 118]. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, preferiblemente como virus vivos modificados, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), bacterina de *Pasteurella haemolytica* y bacterina de *Pasteurella multocida* **[combo 119]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende neomicina y timerosal como conservantes **[combo 120].**

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en

ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica* y *Pasteurella multocida*** [combo 121]. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), BHV, preferiblemente virus vivos modificados, bacterina de *Pasteurella haemolytica* y bacterina de *Pasteurella multocida* **[combo 122]**. De acuerdo con una realización preferida adicional, dicha vacuna de combinación comprende neomicina y timerosal como conservantes **[combo 123]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **BRSV [combo 124]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de BRSV **[combo 125]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR** y **BRSV [combo 126]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende el *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, preferiblemente virus vivos modificados, y BRSV**[combo 127]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de

infecciones causadas por **IBR, PI-3 y BRSV [combo 128]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprendeel *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, preferiblemente virus vivos modificados, y BRSV **[combo 129]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BRSV y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **[combo 130]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BRSV, preferiblemente como virus vivos modificados, y BVDV (tipo -3 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 131]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BRSV, BHV y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **[combo 132]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BRSV, preferiblemente como virus vivos modificados y BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2) **[combo 133]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones víricas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida y BRSV [combo 134]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida*

y BRSV **[combo 135]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR**, ***Pasteurella haemolytica***, ***Pasteurella multocida*** **y BRSV [combo 136]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, preferiblemente como virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y BRSV **[combo 137]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y BRSV [combo 138]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, preferiblemente como virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y BRSV **[combo 139]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida*** **y BRSV [combo 140]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente como virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y BRSV **[combo 141]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en

ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y BRSV [combo 140]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), BHV, preferiblemente virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y BRSV **[combo 141]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* [combo 142]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* **[combo 143]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* [combo 144]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, preferiblemente como virus vivo modificado, *Pasteurella haemolytica* , *Pasteurella multocida* y *H. somnus* **[combo 145]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes

inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* [combo 146]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada uno de IBR, PI-3, preferiblemente como virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *H. somnus* **[combo 147]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), ***Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* [combo 148]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), preferiblemente como virus vivos modificados y *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* **[combo 149]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2)**, preferiblemente BVDV atenuado (tipo 1 y/o tipo 2), **BHV, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* [combo 150]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y al menos un antígeno de cada de IBR, PI-3, BVDV (tipo 1 y/o tipo 2), BHV, preferiblemente como virus vivos modificados, *Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida* y *H. somnus* **[combo 151]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151],

que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por una o más **especies** patógenas **de Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* **[combo 152]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151], que comprende además uno o más antígenos de cada de una o más especies de Leptospira, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno y *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona*. **[combo 153]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Campylobacter fetus*** **[combo 154]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151], que comprende además antígeno de *Campylobacter fetus* **[combo 155]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por una o más **especies** patógenas **de Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno y *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira*

icterohaemmorrhagiae, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona* y ***Campylobacter fetus*** **[combo 156]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150 y 151], que comprende además uno o más antígenos de cada de*Campylobacter fetus* y de uno o más **especies de Leptospira**, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en*Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjo*prajitno y *Leptospira hardjo*-bovis), *Leptospira prajitno*, *Leptospira icterohaemmorrhagiae*, *Leptospira bovis*, *Leptospira interrogans* y *Leptospira pomona*, y. **[combo 157]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Clostridium perfringes***, **preferiblemente Tipos A, C y/o D [combo 158]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y toxinas de *Clostridium perfringens* Tipos C y D **[combo 254]**. De acuerdo con una realización más preferida, dicha vacuna comprende antígenos, preferiblemente toxinas de *Clostridium perfringens*, preferiblemente Tipos A, B, C y/o D **[combo 159]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones

causadas por infecciones causadas por ***Clostridium perfringens*, preferiblemente Tipos A, C y/o D [combo 160].** De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además antígeno de *Clostridium perfringens*, preferiblemente Tipos A, C y/o D **[combo 161]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además antígeno de *Clostridium perfringens*, preferiblemente Tipos A, C y/o D **[combo 162]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D y *Clostridium tetani* [combo 163]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y toxinas de *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D y *Clostridium tetani* **[combo 164]**. De acuerdo con una realización más preferida, dicha

vacuna comprende antígenos, preferiblemente toxinas de *Clostridium perfringens* Tipos A, B, C y/o D, y *Clostridium tetani* **[combo 165]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por ***Clostridium perfringens*** **Tipos A, C y/o D y *Clostridium tetani* [combo 166]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además antígeno de *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D y *Clostridium tetani* **[combo 167]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115,

116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además uno o más antígenos de *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D y *Clostridium tetani* **[combo 168]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, y Clostridium perfringens*** **Tipos A, C y/o D [combo 169]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos, preferiblemente toxinas de cada uno de *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D [**combo 170**].

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por ***Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii*** **y** ***Clostridium perfringens*** **Tipos A, C y/o D [combo 171]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058,

059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de *Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D **[combo 172]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156 y 157], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de *Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii* y *Clostridium tetani* **[combo 173]**.

De acuerdo con una realización más preferida, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, y Clostridium perfringens Tipos A, C y/o D y BRSV [combo 174]**.De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos, preferiblemente toxinas de cada uno de *Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D [**combo 175**].

De acuerdo con una realización más preferidal, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones

microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, y Clostridium perfringens Tipos A, C y/o D** y ***H. somnus*** **[combo 176]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos, preferiblemente toxinas de cada uno de *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D *y H. somnus* **[combo 177]**.

De acuerdo con una realización más preferida, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens Tipos A, C y/o D, BRSV *y* H. somnus [combo 178]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos, preferiblemente toxinas de cada uno de *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* Tipos A, C y/o D, *Mycoplasma bovis* y *H. somnus* **[combo 179]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por Salmonella preferiblemente ***Salmonella dublin, Salmonella newport*** **y** ***Salmonella typhimurinum*** **[combo 180]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y una o más toxinas de Salmonella, preferiblemente de cada una de *Salmonella dublin*, *Salmonella newport*, y/o *Salmonella typhimurium* **[combo 181]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005,

006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178 y 179], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por Salmonella, preferiblemente ***Salmonella dublin***, ***Salmonella newport*** y ***Salmonella typhimurium*** **[combo 182]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178 y 179], que comprende además uno o más antígenos, preferiblemente toxinas, de Salmonella, preferiblemente de cada una de ***Salmonella dublin***, ***salmonella newport*** y/o ***Salmonella typhimurium*** **[combo 183]**.

De acuerdo con una realización preferida, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Pasteurella haemolytica***, ***Pasteurella multocida***, **Salmonella, preferiblemente** ***Salmonella dublin***, ***Salmonella newport*** **y** ***Salmonella typhimurium*** **[combo 184]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de

combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y Bacterina-Toxoide de ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, Salmonella, preferably *Salmonella dublin*, *Salmonella newport* y *Salmonella typhimurium*** **[combo 185]**. De acuerdo con una realización más preferida, dicha vacuna de combinación comprende múltiples aislados de *Pasteurella haemolytica* Tipo A1 y una fracción de toxoide asociado y aislados individuales de *P. multocida*, *S. dublin* y *S. typhimurium* [**combo 186**].

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Moraxella bovis*** **y/o Klebsiella spp. , preferiblemente *Klebsiella pneumoniae* [combo 187]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y una o más toxinas de cada una de ***Moraxella bovis*** **y/o Klebsiella spp. preferiblemente *Klebsiella pneumoniae* [combo 188]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, y 186], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por ***Moraxella bovis*** **y/o Klebsiella spp., preferiblemente *Klebsiella pneumoniae* [combo 189]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007,

008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 163, 164, 165, 169, 170, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 184, 185 y 186], que comprende además uno o más antígenos, preferiblemente toxinas, de cada una de ***Moraxella bovis*** **y/o Klebsiella spp., preferiblemente,** ***Klebsiella pneumoniae*** **[combo 190].**

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratatamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Escherichia coli*** **[combo 191]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y una o más toxinas de *Escherichia coli* **[combo 192]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189 y 190], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones

causadas por *Escherichia coli* **[combo 193]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189 y 190], que comprende además un antígeno, preferiblemente una toxina de *Escherichia coli* **[combo 194]**.

De acuerdo con una realización preferidal, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella dublin* ,*Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*** **[combo 195]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos de cada una de Bacterina-Toxoide de ***Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*** **[combo 196]**. De acuerdo con una realización más preferida, dicha vacuna de combinación comprende múltiples aislados de *Pasteurella haemolytica* Tipo A1 y una fracción toxoide asociada y aislados individuales de *P. multocida, S. dublin* y *S. typhimurium* [**combo 197**].

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Rotavirus bovino [combo 198]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el

M. bovis atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y antígeno de Rotavirus bovino **[combo 199]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 195, 196, y 197], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por **Rotavirus bovino [200]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 y 197], que comprende además **antígeno de Rotavirus bovino [combo 201]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente

memoria, y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Coronavirus bovino [combo 202]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de Coronavirus bovino. **[combo 203]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 y 197], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por **Coronavirus bovino [combo 204]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188,189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 y 197], que comprende además un antígeno de Coronavirus bovino **[combo 205]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una

vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Coronavirus bovino y Rotavirus bovino [combo 206]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento que se describe en la presente memoria y uno o más antígenos de cada uno de Coronavirus bovino y Rotavirus bovino **[combo 207]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196 y 197], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por **Coronavirus bovino y Rotavirus bovino [combo 208]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165,

166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, y 197], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de Coronavirus bovino y Rotavirus bovino **[combo 209]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Cryptosporidium parvum*** **[combo 210]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y un antígeno de *Cryptosporidium parvum* **[combo 211]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Cryptosporidium parvum*** **[combo 212]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086,

087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además un antígeno de *Cryptosporidium parvum* **[combo 213].**

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 214]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de *Cryptosporidium hominis* **[combo 215]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 216]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010,

011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además un antígeno de *Cryptosporidium hominis* **[combo 217]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Cryptosporidium parvum*** y ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 218]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y uno o más antígenos de cada una de *Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium hominis* **[combo 219]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201,

202, 203, 204, 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por ***Cryptosporidium parvum*** y ***Cryptosporidium hominis*** **[combo 220]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208 y 209], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de *Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium hominis* **[combo 221]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y la menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 222]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 223]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095,

096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220 y 221], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por ***Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 224]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220 y 221], que comprende además antígeno de *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 225]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Adenovirus [combo 226]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de Adenovirus **[combo 227]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una

vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224 y 225], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Adenovirus [combo 228]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223,224 y 225], que comprende además un antígeno deAdenovirus **[combo 229]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el

tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Astrovirus [combo 230]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de Astrovirus **[combo 231]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 y 229], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por infecciones causadas por **Astrovirus [combo 232]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226,

227, 228 y 229], que comprende además un antígeno de Astrovirus **[combo 233]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y al menos un componente inmunológicamente activo adicional eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Parvovirus bovino [combo 234]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de Parvovirus bovino **[combo 235]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232 y 233], que comprende además un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Parvovirus bovino [combo 236]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,

119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, y 233], que comprende además un antígeno de Parvovirus bovino **[combo 237]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente *el M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, Parvovirus bovino y *Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 238]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno o más antígenos de cada uno de *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, Parvovirus bovino y *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 239]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente *el M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por ***Escherichia coli*, Salmonella spp., preferiblemente *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella newport*, Rotavirus bovina y Coronavirus bovina, *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, Parvovirus bovina y *Mycobacterium avium paratuberculosis*** **[combo 240]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y uno o más antígenos de cada una de *Escherichia coli*, Salmonella spp., preferiblemente *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella newport*, rotavirus bovino y Coronavirus bovino, *Cryptosporidium parvum*, Adenovirus, Astrovirus, Parvovirus bovino y *Mycobacterium avium paratuberculosis* **[combo 241]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Streptococcus spp., preferiblemente *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae* [combo 242]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y un antígeno de Streptococcus spp., preferiblemente de cada uno de *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae*, **[combo 243]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno o más antígenos de Streptococcus spp., preferiblemente cada uno de *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae* **[combo 244]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria, y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por **Streptococcus spp., preferiblemente *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae* y/o *Staphylococcus aureus* [combo 245]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno más antígenos de Streptococcus spp., preferiblemente de cada uno de *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae*, y/o ***Staphylococcus aureus* [combo 246]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113,

114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156. 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240 y 241], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Streptococcus spp., preferiblemente *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae*, y/o *Staphylococcus aureus* [combo 247]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240 y 241], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de **Streptococcus spp., preferiblemente *Streptococcus uberis* y/o *Streptococcus dysgalactiae*, y/o *Staphylococcus aureus* [combo 248]**. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104,

105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185,186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240 y 241], que comprende además uno o más antígenos **de varios serotipos de Streptococcus spp.**, preferiblemente de **varios serotipos** de cada uno de ***Streptococcus uberis*** y/o ***Streptococcus dysgalactiae***, y/o ***Staphylococcus aureus*** **[combo 249]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Streptococcus spp., preferiblemente *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*** y/o ***Staphylococcus aureus*, Klebsiella spp. y Mycoplasma spp. [combo 250]**. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno o más antígenos de **Streptococcus spp.**, preferiblemente de cada uno de ***Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, y/o *Streptococcus aureus*, Klebsiella spp. y Mycoplasma spp. [combo 251]**. De acuerdo con una realización más preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno o más antígenos de **Streptococcus spp.**, preferiblemente cada uno de ***Streptococcus uberis*** **y/o *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, Klebsiella spp., Mycoplasma spp. y endotoxina [combo 252]**.

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas en ganado, donde la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por **Trichophyton** y **Microsporum**, preferiblemente seleccionado del grupo constituido por ***Trichophyton verrucosum*,**

Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum* y *Microsporum gypseum [**combo 253**]. De acuerdo con una realización preferida, la vacuna de combinación comprende *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado y avirulento como se ha descrito en la presente memoria y uno o más antígenos de cada uno de Trichophyton y **Microsporum**, preferiblemente seleccionado por el grupo constituido por *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum* y *Microsporum gypseum* [**combo 254**].

De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201,202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250 y 251], que comprende además componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas **Trichophyton y Microsporum**, preferiblemente seleccionados del grupo constituido por ***Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum* y *Microsporum gypseum*** [**combo 255**]. De acuerdo con una realización adicional, la presente invención se refiere a una vacuna de combinación de acuerdo con uno cualquiera de [combo 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061,

062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 ,158, 254, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201,202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251 y 252], que comprende además uno o más antígenos de cada uno de Trichophyton y Microsporum, preferiblemente seleccionado del grupo constituido por *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton sarkisovii*, *Microsporum canis*, *Microsporum canis var. obesum*, *Microsporum canis var. distortum y Microsporum gypseum* **[combo 256]**.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención también se refiere al uso combinado o coadministración de cualquiera de los antígenos proporcionados en las vacunas de combinación [**combo 256**]. Preferiblemente, el antígeno de *M. bovis* se proporciona en una primera composición inmunógena y cualquier otro antígeno/antígenos se proporcionan en una o más composiciones inmunógenas adicionales a administrar.

De acuerdo con la realización adicional, el componente o componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por uno o más patógenos relevantes de ganado como fuente de la vacuna de combinación que se proporciona con la presente memoria es uno cualquiera incluido en las vacunas seleccionadas del grupo que consiste en: Alpha 7™, ALPHA-7/MB™, ALPHA-CD™, BAR-VAC® 7, BAR-VAC® 7/SOMNUS, BAR-VAC® 8, BAR-VAC® CD, BAR-VAC® C/DT, BREED-BACK™ FP 10, BREED-BACK™ FP 10 HS, BREED-BACK™ FP 5, BREED-BACK™ FP 5 HS, BREED-BACK-10™, CALIBER® 3, CALIBER® 7, ELITE 4™, ELITE 9™, ELITE 9-HS™, EXPRESS®10, EXPRESS®10-HS, EXPRESS® 3, EXPRESS® 3/Lp, EXPRESS 4®, EXPRESS® 5, EXPRESS® 5-HS, EXPRESS® 5-PHM, EXPRESS® I, EXPRESS® I/LP, OCU-GUARD® MB, PULMO-GUARD™ MpB, PULMO-GUARD™ PH-M, PULMO-GUARD™ PH-M/SDT, PULMO-GUARD™ PHM-1, TETGUARD™, VIBRIO-LEPTO-5™ (todas de **Boehringer Ingelheim, St. Joseph, MO**); Cobalt™ 7, I-Site™, Lepto 5, Master Guard® Preg 5, Master Guard® 10, Master Guard® 10 + Vibrio, Master Guard® J5, P.H.M. Bac® 1, Pre-vent 6™, Respromune® 4,

Respromune® 4 + Somnumune® (IM, SC), Respromune® 5 I-B-P+BRSV, Respromune® 5+L5, Respromune® 5+L5 Somnus, Respromune® 5+Somnumune, Respromune® 5+VL5, Respromune® 8, Respromune® 9, Respromune® 10, Scour Vac™ 4, Scour Vac™ 9, Scour Vac™ E coli + C, Somnumune®, Titanium™ 3, Titanium™ 4, Titanium™ 4 L5, Titanium™ 5, Titanium™ 5 L5, Titanium® 5+P.H.M. Bac®-1, Titanium™ BRSV 3, Titanium™ IBR, Titanium™ IBR-LP (todas de **Agri Laboratories Inc., St. Joseph, MO);** Herd-Vac® 3, Herd-Vac® 3 S, Herd-Vac® 8, Herd-Vac® 9, Surround™ 4, Surround™ 4+HS, Surround™ 8, Surround™ 9, Surround™ 9+HS, Surround™ HS, Surround™ L5, Surround™ V-L5 (todas de **BioCor, Omaha, NE (Pfizer));** Mycomune® **(Biomune Co., Lenexa, KS);** vacuna de lengua azul, Vacuna de Diarrea Viral Bovina, bacterina de *Campylobacter fetus* bovina, Essential 1, Essential 2, Essential 2+P, Essential 3, Essential 3+T, Essential 4, Lepto-5, bacterina de *Mannheimia haemolytica-Pasteurella multocida*, Pre-breed 6, Pre-breed 8, Respira-1, Respira-3,Wart Vaccine (todas de **Colorado Serum Company, Denver, CO);** Pyramid® 3, Pyramid® 4, Pyramid® 4 + Presponse® SC, Pyramid® 5, Pyramid® 8, Pyramid® 9, Pyramid® IBR, Pyramid® IBR+Lepto, Triangle® 1 + Type II BVD, Triangle® 3 + VL5, Triangle® 4 + HS, Triangle® 4 + PH/HS, Triangle® 4 + PH-K, Triangle® 4 + Type II BVD, Triangle® 9 + HS, Triangle® 9 + PH-K, Triangle® + Type II BVD, Trichguard®, Trichguard® + V5L, TriVib 5L® (todas de **Fort Dodge Animal Health, Overland Park, KS (Wyeth));** Bacterina de *Escherichia coli* J-5, Bacterina de Especies Serpens; bacterina-toxoide de *Staphylococcus aureus* (todas de **Hygieia Biological Laboratories, Woodland, CA);** Endovac-Bovi® con Immuneplus® **(Immvac, Inc., Columbia, MO);** 20/20 Vision® con Spur®, L5 SC, Neoguard™, MasterGuard® Preg 5, Once PMH®, Once PMH® SC, Vibralone™-L5, Vision® 7 Somnus con Spur®, Vision® 7 con Spur®, Vision® 8 Somnus con Spur®, Vision® 8 con Spur®, Vision® CD-T con Spur®, Vision® CD con Spur®, Vista™ IBR SC, Vista™ 3 SC, Vista™ 5 SC, Vista™ 5 L5 SC, Vista™ Once SC, VL5 SC, Volar®, (todas de **Intervet Inc., Millsboro, DE);** Vac®, Reliant® 3, Reliant® 4, Reliant® IBR, Reliant® IBR/BVD, Reliant® IBR/Lepto, Reliant® Plus BVD-K (Dual IBR™), Reliant® Plus (Dual IBR™), Respishield™ 4, Respishield™ 4 L5, Respishield™ HM (todas de **Merial LTD, Duluth, GA);** Arsenal® 4.1, Arsenal® IBR, Arsenal® IBR BVD, Bovine Pili Shield™, Bovine Pili Shield™+C, Clostri Shield® 7, Clostri Shield® BCD, Fusogard®, Lepto Shield™ 5, Pinkeye Shield™ XT4, Salmo Shield® T, Salmo Shield® TD, Scour Bos™ 4, Scour Bos™ 9, Somnu Shield™, Trep Shield™ HW, Vib Shield® L5, Vib Shield® Plus, Vib Shield® Plus L5, Vira Shield® 2, Vira Shield® 2+BRSV, Vira Shield® 3, Vira Shield® 3+VL5, Vira Shield® 4, Vira Shield® 4+L5, Vira Shield® 5, Vira Shield® 5+L5, Vira Shield® 5+L5 Somnus, Vira Shield® 5+Somnus, Vira

Shield® 5+VL5, Vira Shield® 5+VL5 Somnus, Vira Shield® 6, Vira Shield® 6+Somnus, Wart Shield™ (todas de **Novartis Animal Health, Basel, Switzerland);** Bovi-K® 4, Bovi-Shield™ 3, Bovi-Shield™ 4, Bovi-Shield™ BRSV, Bovi-Shield® FP™ 4+L5, Bovi-Shield® GOLD 3, Bovi-Shield® GOLD 5, Bovi-Shield® GOLD FP™ 5 L5, Bovi-Shield® GOLD FP™ 5 VL5, Bovi-Shield® Gold IBR-BVD, Bovi-Shield® Gold IBR-BVD-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR, Bovi-Shield™ IBR-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR-BVD, Bovi-Shield™ IBR-BVD-BRSV-LP, Bovi-Shield™ IBR-PI3-BRSV, Calf-Guard®, CattleMaster® 4, CattleMaster® 4+L5, CattleMaster® 4+VL5, CattleMaster® BVD-K, CattleMaster® Gold FP™ 5, CattleMaster® Gold FP™ 5 L5, Defensor® 3, Fortress® 7, Fortress® 8, Fortress® CD, Leptoferm®-5, One Shot®, One Shot Ultra™ 7, One Shot Ultra™ 8, PregGuard™ FP 9, PregGuard® Gold FP™ 10, Resvac® BRSV/Somubac®, Resvac® 4/Somubac®, ScourGuard 3® (K), ScourGuard 3® (K)/C, Somubac®, Spirovac®, Spirovac® L5, Spirovac® VL5, StayBred™ VL5, TSV-2™, Ultrabac® 7, Ultrabac® 7/Somubac®, Ultrabac® 8, Ultrabac® CD, UltraChoice™ 7, UltraChoice™ 8, UltraChoice™ CD, Upjohn J-5 Bacterin™, Vibrin® (todas de **Pfizer Inc., New York, NY);** vacuna Covexin® 8, Electroid® 7 Vaccine, Electroid® D, Guardian™, Jencine® 2, Jencine® 3, Jencine® 4, vacuna Nasalgen® IP, Piliguard® Pinkeye-1 Trivalent, Piliguard® Pinkeye + 7, Piliguard® Pinkeye Triview®, Siteguard® G, vacuna Siteguard® MLG (todas de **Schering-Plough Animal Health Corporation, Kenilworth, NJ);** Myco-Bac™ B, Poly-Bac B® 3, Poly-Bac B® Somnus, Super Poly-Bac B® Somnus (todas de **Texas Vet Lab, Inc., San Angelo, TX),** Virabos™-3 con Immunostim®, Virabos™-4 + *H. somnus* con Immunostim®, y Virabos™-4 con Immunostim® (todas de **Bioniche Animal Health, Athens, GA),** en el que se añade el antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado avirulento que se describe en la presente memoria. Como alternativa, cuando está presente antígeno de *M. bovis* en cualquiera de las vacunas, se añade *M. bovis* atenuado avirulento como se describe en la presente memoria o el antígeno de *M. bovis* presente en cualquiera de las vacunas se sustituye por *M. bovis* atenuado avirulento que se describe en la presente memoria.

Formulaciones

Un aspecto adicional de la presente invención es la preparación de la vacuna o vacunas de combinación. Un especialista en la técnica puede determinar componentes adicionales que estén presentes en la composición de la invención. (véase también Remington's Pharmaceutical Sciences, (1990) 18ª ed. Mack Publ., Easton). Pueden usarse soluciones inyectables estériles fisiológicamente aceptables conocidas. Para preparar una disolución lista para el uso para inyección o infusión parenteral, se encuentran disponibles

fácilmente soluciones isotónicas acuosas, tales como, por ejemplo, una solución salina o las correspondientes soluciones de proteínas plasmáticas. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar presentes como liofilizados o preparaciones secas que pueden reconstituirse con una solución inyectable conocida directamente antes del uso en condiciones estériles, por ejemplo, como un kit de partes.

Además, las composiciones inmunógenas y de vacuna de la presente invención pueden incluir uno o más vehículos veterinariamente aceptables. Tal como se emplea en esta memoria,"un vehículo veterinariamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, adyuvantes, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes que retrasan la adsorción y similares.

Los diluyentes pueden incluir agua, solución 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 etilendiaminotetraacético, entre otros.

Los adyuvantes incluyen, pero sin limitación, el sistema adyuvante RIBI (Ribi Inc.), alúmina, gel de hidróxido de aluminio, Colesterol, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite tales como, por ejemplo adyuvante completo e incompleto de Freund, copolímero de bloque (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), CARBOPOL®, adyuvante AMPHIGENO, saponina, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL) u otras fracciones de saponina, monofosforil lípido A, adyuvante de amina lipoidal Avridina, enterotoxina termolábil de *E. coli* (recombinante o de otro modo), toxina del cólera o dipéptido de muramilo entre muchos otros.

Las composiciones inmunógenas pueden además incluir uno o más de otros agentes inmunomoduladores tales como p. ejemplo, interleucinas, interferones u otras citocinas. Las composiciones inmunógenas pueden también incluir gentamicina y mertiolato. Aunque las cantidades y concentraciones de adyuvantes y aditivos útiles en el contexto de la presente invención pueden determinarse fácilmente por el especialista, preferiblemente la composición comprende de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 2000 µg de adyuvante y preferiblemente de aproximadamente 250 µg/ml dosis de la composición vacunal. En otra realización preferida, en la presente invención está presente un antibiótico en una cantidad de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 60 µg/ml de y preferiblemente menos de aproximadamente 30 µg/ml.

De acuerdo con una realización adicional, la vacuna de combinación (o composición

inmunógena) se deshidrata primero. Si la composición se liofiliza o deshidrata primero por otros métodos, entonces, antes de la vacunación, dicha composición se rehidrata en soluciones acuosas (por ejemplo solución salina, PBS (solución salina tamponada con fosfato)) o no acuosas (por ejemplo emulsión en aceite (aceite mineral, o basado en aceite vegetal/metabolizable/basado en emulsión sencilla o doble), basado en aluminio, adyuvante basado en carbómero).

De acuerdo con una realización adicional, la composición inmunógena o vacuna de combinación como se proporciona con la presente memoria, que comprende al menos un antígeno de *M. bovis* y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* se formula como vacuna de combinación de dosis fija. Preferiblemente, la composición inmunógena o vacuna de combinación que se proporciona con la presente memoria, en particular la vacuna de combinación de dosis fija se formula para el uso como una vacuna de dosis individual o multidosis, aunque que se prefiere más la formulación para el uso como una vacuna de dosis individual. En otras palabras, las composiciones inmunógenas o vacuna, preferiblemente la vacuna de combinación de dosis fija proporcionada con la presente memoria se formula para la administración como multidosis o dosis individual, aunque que se prefiere más la formulación para la administración como dosis individual. Como se muestra en la sección de ejemplo, la administración de una dosis individual de este tipo del antígeno de *M. bovis* es eficaz en la disminución o reducción de los signos de una infección por *M. bovis*. Por lo tanto, de acuerdo con una realización adicional, las composiciones inmunógenas proporcionados con la presente memoria en particular la vacuna de combinación de dosis fija se formula para uso como una vacuna de dosis individual, en la que la administración de dicha dosis individual es eficaz en la disminución o reducción de los signos de una infección por *M. bovis*.

Dosis y Administración

De acuerdo con la presente invención, una cantidad eficaz de una vacuna de combinación administrada a ganado proporciona una inmunidad eficaz contra infecciones microbiológicas causadas por *M. bovis* y al menos un patógeno adicional como se ha enumerado anteriormente. Se han enumerado anteriormente combinaciones preferidas de antígenos para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades microbiológicas.

En formas preferidas, el volumen de dosis de la vacuna de combinación así como de cada composición inmunógena cuando se coadministran por separado no es superior a 5 ml, más preferiblemente no es superior a 3 ml y más preferiblemente no es superior a 2 ml. En

una realización más preferida, la dosis es de 2 ml, preferiblemente administrada por vía intranasal, administrándose 1 ml en cada orificio nasal, más preferiblemente administrada por vía intramuscular, aún más preferiblemente administrada por vía subcutánea y más preferiblemente administrada tanto por vía intranasal como subcutánea en una ocasión como dosis individual. En algunas formas preferidas, después de la primera administración se administraría una segunda o posterior administración de la composición inmunógena. Dicha administración posterior se produciría preferiblemente al menos 10 días después de la administración inicial, más preferiblemente entre al menos 10-32 días, más preferiblemente entre al menos 12-30 días, aún más preferiblemente al menos 14 días y, más preferiblemente entre al menos 14 y 28 días. En formas más preferidas, la vacuna se administraría como una dosis individual, preferiblemente el Día 0 o en formas alternativas, 14-28 días a partir de entonces, preferiblemente el Día 0 y 14-28 días después de eso, no produciéndose la exposición a formas patógenas de *M. bovis* hasta después de terminar el régimen de inmunización. En una forma más preferida no se necesita refuerzo y la vacuna se administra sólo una vez. La vacuna se administra a animales desde 1 día de edad hasta que son adultos, preferiblemente a terneros desde 1 día de edad hasta que son ganado adultos jovenes de 2 años de edad, más preferiblemente a terneros desde 1 día de edad hasta 16 semanas de edad, y aún más preferiblemente a terneros desde 6 semanas hasta 12 semanas de edad. Dicha administración disminuía o reducía los signos de infección por *M. bovis* como se describe a continuación. Preferiblemente, los signos de infección por *M. bovis* en el grupo vacunado como se ha descrito anteriormente se reducían en al menos 50%, más preferiblemente al menos 60%, aún más preferiblemente al menos 70% y aún más preferiblemente al menos 75% en comparación con el grupo no vacunado. La evaluación de patología pulmonar, específicamente el porcentaje de consolidación pulmonar atribuido a lesiones debidas a *M. bovis*, según se puntúa normalmente para diversas especies, se realizó después de la necrosia. Preferiblemente las lesiones pulmonares se reducían en al menos 33%, más preferiblemente al menos 50%, aún más preferiblemente al menos 70%, aún más preferiblemente al menos 80% aún más preferiblemente al menos 90% y más preferiblemente al menos 95% en comparación con un grupo no vacunado.

La cantidad de la vacuna de combinación que es eficaz depende de los ingredientes de la vacuna y del programa de administración. Típicamente, cuando se usa antígeno bacteriano en la vacuna de combinación o en un uso combinado, la composición de vacuna o inmunógeno contiene una cantidad de aproximadamente 10^3 a aproximadamente 10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC) del antígeno bacteriano por dosis, preferiblemente de aproximadamente 10^4 a aproximadamente 10^9 UFC del antígeno bacteriano por dosis,

más preferiblemente de aproximadamente 10^5 a aproximadamente 10^6 UFC del antígeno bacteriano por dosis. Por ejemplo, el *M. bovis* atenuado avirulento se usa preferiblemente en cantidades de aproximadamente 10^2 a aproximadamente 10^{10} UFC por dosis, preferiblemente de aproximadamente 10^3 a aproximadamente 10^9 UFC por dosis, aún más preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 10^8 a aproximadamente 10^{10} UFC por dosis, más preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 2,1 x 10^9 UFC por dosis.

Típicamente, cuando se usa una preparación de virus inactivado o virus vivo modificado en la vacuna de combinación o en un uso combinado, la vacuna o composición inmunógena que contiene de aproximadamente 10^2 a aproximadamente 10^9 $DICT_{50}$ de antígeno viral por dosis, preferiblemente de aproximadamente 10^3 a aproximadamente 10^8 $DICT_{50}$ de antígeno viral por dosis, más preferiblemente de aproximadamente 10^4 a aproximadamente 10^8 $DICT_{50}$ de antígeno viral por dosis. Por ejemplo, de aproximadamente 10^5 a aproximadamente 10^8 $DICT_{50}$ por dosis de BVDV atenuado (tipos 1 y 2) es eficaz cuando se administra dos veces al animal durante un periodo de aproximadamente 3 a 4 semanas. En general, se usa normalmente antígeno inactivado en mayores cantidades que virus vivos modificados.

En el caso de la vacuna de que la vacuna de combinación comprenda IBR vivo modificado, la cantidad de antígeno de IBR está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente 10^5 a $10^{7,5}$ $DICT_{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda PI3 vivo modificado, la cantidad de antígeno de PI3 está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente 10^7 a 10^9 $DICT_{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda BRSV vivo modificado, la cantidad de antígeno de BRSV está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{4,5}$ a $10^{6,5}$ $DICT^{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda antígenos destruidos, la $DICT_{50}$ o UFC indica la cantidad de antígeno por dosis en el cultivo vivo antes de la inactivación y para IBR, la cantidad de antígeno de IBR está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{7,0}$ a $10^{9,0}$ $DICT_{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda PI3 destruido, la cantidad de antígeno de PI3 está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{7,2}$ a $10^{9,2}$ $DICT_{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda BRSV destruido, la cantidad de antígeno de BRSV está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{5,0}$ a $10^{7,5}$ $DICT_{50}$ por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda Leptospira spp. destruida, la cantidad de cada antígeno de Leptospira spp. está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{7,0}$ a 10^{10} (UFC) por dosis. En el caso de que la vacuna de combinación comprenda *H. somnus* destruido y/o *Pasteurella multocida* destruida y/o *Mannheimia haemolytica*

destruida la cantidad de antígeno de *H. somnus* y/o antígeno de *Pasteurella multocida* y/o antígeno de *Mannheimia haemolytica* está preferiblemente en un intervalo de aproximadamente $10^{6,0}$ a 10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC) por dosis.

Uso combinado/método de tratamiento

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso combinado composiciones inmunógenas para el tratamiento y/o profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas, donde las infecciones están causadas por *M. bovis* y al menos un patógeno relevante de ganado adicional.

Otra realización importante más de la invención es un método para la profilaxis o tratamiento de enfermedades causadas por *M. bovis* y un microorganismo o microorganismos patógenos de ganado adicionales, donde un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado avirulento como se ha descrito en la presente memoria y componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de la infección causada por dicho microorganismo patógeno de ganado adicional, preferiblemente como se ha descrito en la presente memoria, se administran a un animal que lo necesite a una dosis adecuada, conocida por el especialista.

El uso combinado o el método de coadministración de dos o más antígenos de patógenos que afectan a ganado comprende administrar una primera composición inmunógena que comprende un antígeno de *M. bovis*, preferiblemente el *M. bovis* atenuado avirulento que se proporciona con la presente memoria y al menos una composición inmunógena adicional que comprende un componente inmunológicamente activo eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno de ganado adicional. Preferiblemente, el patógeno adicional es uno de los patógenos que se enumeran en la presente memoria. Preferiblemente, la primera y las composiciones inmunógenas adicionales se administran por separado. Preferiblemente, la composición inmunógena adicional comprende uno o más componentes inmunológicamente activos eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno de ganado distinto de *M. bovis*. Más preferiblemente, la primera y las composiciones inmunógenas adicionales se administran juntas por medios tales como mezcla antes de la administración y/o por formulación de la primera y de las composiciones inmunógenas adicionales en un solo recipiente.

La coadministración de cada una de las composiciones inmunógenas se produce simultáneamente, que significa al menos en un intervalo de 48 horas, preferiblemente un intervalo de 24 horas, aún más preferiblemente en un intervalo de 12 horas, aún más preferiblemente en un intervalo de 6 horas, aún más preferiblemente en un intervalo de 3 horas, aún más preferiblemente en un intervalo de 2 horas, aún más preferiblemente en un

intervalo de 1 hora. La vía de administración de cada una de las composiciones inmunógenas depende del modo de acción y puede ser igual pero también podría ser diferente.

De acuerdo con una realización adicional el antígeno de *M. bovis* como se proporciona con la presente memoria y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* pueden usarse como medicamento. Preferiblemente, este medicamento es una vacuna y puede usarse para disminuir o reducir los signos de una infección por *M. bovis*. Más preferiblemente, el medicamento o vacuna puede usarse para disminuir o reducir los signos de una infección por *M. bovis* y asociada con o causada por una infección del antígeno relevante de ganado adicional .

Definiciones adicionales

Un "antígeno" o un "componente inmunologicamente activo" como se usa en la presente memoria se refieren, pero sin limitación, a componentes que generan una respuesta inmunológica en un hospedador de una respuesta inmune celular y/o mediada por anticuerpos a una composición o vacuna de interés que comprende dicho antígeno o componente inmunológicamente activo. El antígeno o componente inmunológicamente activo puede ser un microorganismo que sea completo (en forma inactivada o atenuada o viva modificada) o cualquier fragmento o fracción del mismo que, si se administra a un hospedador, puede generar una respuesta inmunológica en el hospedador.

Una "composición inmunógena o inmunológica" se refiere a una composición de materia que comprende al menos un antígeno, que induce una respuesta inmunológica en el hospedador que es una respuesta inmune celular y/o mediada por anticuerpos a la composición de vacuna de interés. Normalmente, una "respuesta inmunológica" incluye pero sin limitación 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 y/o células T gamma-delta, dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos incluidos en la composición o vacuna de interés. Preferiblemente, el hospedador exhibirá una respuesta inmunológica terapéutica o protectora, de modo que la resistencia a la nueva infección se aumentará y/o la gravedad clínica de la enfermedad se reducirá. Dicha protección se demostrará por una reducción o ausencia de signos clínicos normalmente presentados por un hospedador infectado, un tiempo de recuperación más rápido y/o una duración disminuida o título de patógeno disminuido en los tejidos o fluidos corporales o excreciones del hospedador infectado. En tal caso, cuando el hospedador presente una respuesta inmunológica terapéutica o protectora de modo

que se aumentará la resistencia a una nueva infección y/o se reducirá la gravedad clínica de la enfermedad, la composición inmunógena se describe como una vacuna.

La expresión "signos de infección por *M. bovis*" se refiere a las manifestaciones de infección o enfermedad causada por *M. bovis* incluyendo tanto el síntoma o síntomas clínicos como la patología experimentada típicamente por el ganado bovino infectado con *M. bovis* de tipo silvestre. Estas manifestaciones de infección o enfermedad pueden adoptar muchas formas incluyendo, pero sin limitación, fiebre, depresión, anorexia, falta de alientom descarga nasal y ocular, tos, estornudo, jadeo, gruñido, cojera e hinchazón de las articulaciones, infecciones del oído medio, descarga a partir de inflamación del oído interno, abortos y otros trastornos reproductivos, postración, infección respiratoria, ladeo de cabeza, ataxia, artritis, mastitis, otitis, queratoconjuntivitis, sinovitis, pleuritis, lesiones pulmonares, consolidación pulmonar y formación de nódulos en los pulmones, aumento del líquido sinovial, engrosamiento de cápsulas articulares, erosiones de la superficie articular e incluso muerte.

La expresión "cepas de alto número de pase", para los fines de esta descripción, se refiere a una cepa de *M. bovis* que se ha pasado más de 10, preferiblemente al menos 20, aún más preferiblemente al menos 30, aún más preferiblemente al menos 40, aún más preferiblemente al menos 50, aún más preferiblemente al menos 55, aún más preferiblemente al menos 60, aún más preferiblemente al menos 70, aún más preferiblemente al menos 80, aún más preferiblemente al menos 90, aún más preferiblemente al menos 95, aún más preferiblemente al menos 100, aún más preferiblemente al menos 102 veces y más preferiblemente al menos 106 veces *in vitro*.

La expresión "evaluación de patología pulmonar" se refiere a la observación de los pulmones durante la necropsia incluyendo, pero sin limitación, la evaluación de la consolidación, lesiones y formaciones nodulares, así como la evaluación de la cavidad torácica incluyendo pleuritis y acumulación de líquido.

El término "atenuación" se refiere a la reducción de la virulencia de un patógeno. En la presente invención, "atenuación" es sinónimo de "avirulento". En la presente invención, una bacteria *M. bovis* atenuada es una en la que se ha reducido la virulencia de modo que no cause signos clínicos de una infección por *M. bovis* pero sea capaz de inducir una respuesta inmune en el mamífero diana, pero también puede significar que los signos clínicos se reducen en incidencia o gravedad en animales vacunados con la *M. bovis* atenuada en comparación con un "grupo de control" de animales infectados con *M. bovis* no atenuado y que no reciben una vacunación de la bacteria atenuada. En este contexto, el término "reducir/reducido" significa una reducción de al menos 10%, preferiblemente 25%, incluso

más preferiblemente 50%, aún más preferiblemente de más de 100% en comparación con el grupo de control como se ha definido anteriormente. Por lo tanto, una cepa de *M. bovis* atenuada avirulenta es una que es adecuada para la incorporación a una composición inmunógena que comprende una bacteria *M. bovis* viva modificada.

Una "cantidad eficaz" de *M. bovis* para los fines de la presente invención significa una cantidad de una composición inmunógena capaz de inducir una respuesta inmune que reduzca la incidencia de o disminuya la gravedad de una infección por *M. bovis* en un animal. Particularmente, una cantidad eficaz se refiere a una cantidad de 10E3 a 10E10, preferiblemente de 10E6 a 10E10 unidades formadoras de colonias (CFU) por dosis.

La expresión "mejor eficacia de tal manera que se reduzcan los signos clínicos asociados con la infección por *M. bovis* y/o la propia infección por *M. bovis* en comparación con las vacunas disponibles actualmente cuando los animales vacunados se exponen a *M. bovis* o padecen una infección por cepas de *M. bovis* de tipo silvestre" se refiere a una reducción en la incidencia o gravedad de los signos clínicos de la infección por *M. bovis* en comparación con las vacunas preparadas a partir de cepas sometidas a pases como se enseña en la presente invención con vacunas de *M. bovis* que estaban disponibles antes de esta invención. En este contexto, los animales no vacunados o vacunados con vacunas de *M. bovis* disponibles antes de la presente invención tendrán signos clínicos de infección por *M. bovis* que son al menos 30%, y posiblemente o más preferiblemente al menos 40%, aún más preferiblemente al menos 50%, incluso más preferiblemente al menos 60%, aún más preferiblemente al menos 70%, incluso más preferiblemente al menos 75%, aún más preferiblemente al menos 80%, incluso más preferiblemente al menos 85%, aún más preferiblemente al menos 90%, y aún más preferiblemente al menos 95% más graves o prevalentes que en animales que reciben una administración de una composición inmunógena de *M. bovis* de acuerdo con la presente invención.

La "protección duradera" se refiere a la "mejor eficacia" que persiste durante al menos 3 semanas, pero más preferiblemente al menos 6 meses, aún más preferiblemente al menos 1 año, incluso más preferiblemente al menos 2 años en el caso de animales para obtención de carne, y al menos 6 meses, más preferiblemente al menos 1 año, aún más preferiblemente al menos 2 años, aún más preferiblemente al menos 3 años, e incluso más preferiblemente al menos 4 años para animales para la obtención de leche. Tanto en los animales para obtención de carne como en los animales para obtención de leche, lo más preferido es que la protección duradera persista hasta la edad media a la que se comercializan los animales de obtención de carne y la edad a la que los animales para obtención de leche concluyen su vida de producción de leche.

La expresión "que necesita dicha administración" o "que necesita dicho tratamiento de administración", como se usa en la presente memoria, se refiere a que la administración/tratamiento se asocian con el refuerzo o mejora en la salud o cualquier otro efecto medicinal positivo sobre la salud de los animales que reciben la composición inmunógena de acuerdo con la presente invención.

La "identificación de ADN" como se usa en la presente memoria se refiere a la identificación rápida de cepas bacterianas lograda por amplificación del ADN entre secuencias de inserción (IS) y medición del patrón de productos amplificados como se describe en el documento WO 2008-030619 incorporado en la presente memoria como referencia en su totalidad. Usando PCR y una combinación de cebadores que se dirigen hacia el exterior diseñados contra secuencias de inserción bacterianas (elementos transponibles), se producen patrones que son únicos para un aislado de una especie bacteriana. Estos patrones después pueden compararse en relación con aspectos tales como la epidemiología o la filogenia. Un método preferido de identificación de huellas de ADN utiliza PCR y una combinación de cebadores que se dirigen hacia el exterior diseñados contra secuencias de inserción bacterianas únicas o múltiples. Dicho método produce productos de amplificación a partir de IS adyacentes. Una vez completada la amplificación por PCR, los productos se separan (gel de agar) y se producen patrones de bandas, de acuerdo con el peso molecular de los productos de amplificación, que son únicos para un aislado de una especie bacteriana. El método preferido es realizar una PCR múltiple usando cebadores que se dirigen hacia el exterior. La PCR múltiple es una variante de PCR que permite una amplificación simultánea de muchas dianas de interés en una reacción por medio del uso de múltiples conjuntos de cebadores. Por supuesto, también pueden usarse otros métodos de identificación de huellas de ADN de base molecular conocidos en la técnica.

Una "secuencia de inserción" (IS) es una secuencia de ADN corta que actúa como elemento transponible. Las IS generalmente tienen una longitud de aproximadamente 700 a 2500 pb, que es relativamente pequeña en comparación con otros tipos de elementos transponibles. Codifican proteínas implicadas en la actividad de transposición, donde las proteínas catalizan la reacción enzimática que permite que se mueva la IS. Los elementos IS son únicos para una especie particular o pueden compartirse entre grupos taxonómicos. Normalmente son múltiples copias de esas secuencias de inserción, pero están localizadas en localizaciones únicas para un elemento transponible específico.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos son representativos de realizaciones preferidas de la presente invención. Debe entenderse que nada de lo presentado en la presente memoria

debería considerarse como una limitación del alcance global de la invención.

Ejemplo 1

Este ejemplo evaluó la eficacia de una vacuna viva experimental de *M. bovis* usando dos modelos de exposición diferentes en una especie diana.

Materiales y Métodos

Se usaron treinta y cinco terneros Holstein (CD) privados de calostro con edades que variaban de 4 – 8 semanas. Todos los animales cumplieron los criterios de inclusión, particularmente dieron un resultado negativo en el ensayo de *M. bovis* y tenían buena salud en el momento de la exposición. Los terneros primero se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 grupos. Cada uno de los Grupos 1-3 contenía 9 terneros, y el Grupo 4 contenía 8 terneros. Los terneros del Grupo 1 y 2 se vacunaron con Vacuna Viva 1, que es un cultivo de aislado de *M. bovis* 052823 pasado 106 veces (05-2823-1A-3A P106+) (Designación de la ATCC Nº PTA-8694) mientras que los terneros del Grupo 3 y 4 se vacunaron con medio solamente. El aislado de vacuna para los Grupos 1 y 2 se obtuvo a partir de brotes de la enfermedad naturales y después se sometió a pases en serie 106 veces en medio apropiado de *M. bovis*. El cultivo se desarrolló durante 24 ± 2 horas a 37°C después de la inoculación con un volumen apropiado de cultivo de siembra determinado antes del estudio. El aislado se usó sin dilución. Se descubrió que la concentración media antes y después de la vacunación fue de 2,1E9 CFU/ml. La vacuna se administró en dosis de 2 ml por vía subcutánea y en dosis de 2 ml por vía intranasal (1 ml en cada orificio nasal). Todos los terneros del estudio se expusieron a *M. bovis* virulento para inducir la infección natural y la enfermedad, recibiendo los Grupos 1 y 3 una mayor dosis de exposición y recibiendo los Grupos 3 y 4 una menor dosis de exposición.

Las dosis y administraciones de la sustancia de ensayo se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Tratamientos de Grupos							
Grupos	**Animales/ grupo**	**Sustancia de Ensayo**			**Exposición**		
		Artículo	**Dosis / Vía**	**Programa de Administración**	**Material**	**Dosis**	**Programa de Administración**
Grupo 1	9	*M. bovis* Vivo 1	2 ml SC y 2 ml IN (1 ml cada	Día 0 y 14	*M. bovis* (un solo aislado nuevo)	Alta dosis de material de exposición y 30 ml de PBS	Día 29 (aprox 4 semanas después de la vacunación)

			orificio nasal)				
Grupo 2	9	*M. bovis* Vivo I	2 ml SC y 2 ml IN (1 ml cada orificio nasal)	Día 0 y 14	*M. bovis* (un solo aislado nuevo)	Baja dosis de material de exposición y 30 ml de PBS	Día 29 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 3	9	Sólo Medio	2 ml SC y 2 ml IN (1 ml cada orificio nasal)	Día 0 y 14	*M. bovis* (un solo aislado nuevo)	Alta dosis de material de exposición y 30 ml de PBS	Día 29 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 4	8	Sólo Medio	2 ml SC y 2 ml IN (1 ml cada orificio nasal)	Día 0 y 14	*M. bovis* (un solo aislado nuevo)	Baja dosis de material de exposición y 30 ml de PBS	Día 29 (aprox 4 semanas después de la vacunación)

Se tomaron hisopos nasales y muestras de sangre los Días 0, 14, 28, 35 y 42. En la necropsia, se tomaron muestras de los pulmones y hisopos de las tonsilas de todos los terneros y se tomaron hisopos de las articulaciones de los animales con anomalías clínicas. Además, se tomaron muestras de otras localizaciones en ciertos animales que mostraron implicación del área. En todos los casos, se frotaron tres hisopos estériles alrededor de las regiones, tan asépticamente como fue posible, durante unos segundos y después se retiraron. Dos de las hisopos se pusieron en recipientes de transporte individuales con medio y uno se puso en un recipiente de transporte sin medio. La Tabla 2 resume las muestras tomadas de

cada ternero.

Tabla 2

Día	Acontecimiento	Muestras	Ensayo
-42 a 0	Observaciones Generales (Diarias)	--	--
Aprox. -35	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
		Corte de oreja	BVDV (IHC)
0 a 28	Evaluación clínica	--	--
0	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	1ª Vacunación	--	--
14	Evaluación del sitio de inyección	--	--
	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	2ª Vacunación	--	--
28	Recoger muestras.	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	Evaluación del sitio de inyección	--	--
29	**Exposición**	--	--
28 a 43	Observación clínica (Diaria)	--	--
35	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
42	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)

43	**Necropsia** y Patología General	--	--
	Recoger muestras (Post)	Hisopo de tonsila (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Tejido Pulmonar (Conservado)	*M. bovis* (IHC)
		Tejido Pulmonar (Fresco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Hisopos de articulaciones (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)

Ensayo

Para el ensayo microbiológico, se pusieron hisopos en el medio de transporte y se enviaron muestras para el aislamiento de *M. bovis*. En resumen, se giraron hisopos en 5 ml de caldo selectivo de micoplasma. Se cortó una pequeña muestra (de aproximadamente 5 mm) del tejido pulmonar y se homogeneizó en 2 ml de medio de micoplasma. Se añadieron 100 µl de homogeneizado al caldo selectivo de micoplasma. Los cultivos se incubaron a 37°C/5% de CO2. Después de 4-14 días, el caldo se examinó para determinar el crecimiento y se subcultivó en placas para el aislamiento. Todas las muestras de subcultivo positivas se almacenaron a -70°C.

Para la PCR, se enviaron hisopos de cada ternero no puestos en medios de transporte y muestras de tejido para la extracción del ADN y el ensayo por PCR usando cebadores y sondas específicas para el gen uvrC de *M. bovis*. Los resultados de los ensayos de PCR se expresaron como positivos o negativos para la detección de ADN de *M. bovis*.

Para el ensayo de serología, se ensayaron muestras de suero usando un ELISA disponible en el mercado (Biovet, Canadá) usando el protocolo proporcionado con el kit de ensayo. Los resultados del ELISA se expresaron como lecturas de Densidad Óptica (DO). Las DO de las muestras se compararon con el nivel de positividad (DOp medio x 0,3) establecido por el control positivo incluido en el kit de ensayo. Los resultados positivos después se interpretaron por medio de la siguiente escala:

Intervalo	Interpretación
DO de muestra < Nivel de Positividad	Negativo (0)

Nivel de Positividad < Muestra de DO < 1,75 * Nivel de Positividad	+1
1,75 * Nivel de Positividad < Muestra de DO < 2,3 * Nivel de Positividad	+2
2,3 * Nivel de Positividad < Muestra de DO < 3 * Nivel de Positividad	+3
Muestra de DO < 3 * Nivel de Positividad	+4

Para los ensayos de histopatología/IHC, se ensayaron tejidos fijados con formalina mediante portaobjetos teñidos con hematoxilina/eosina y la inmunohistoquímica usando anticuerpos monoclonales específicos para *M. bovis*. Para el ensayo clínico, se realizaron observaciones generales diarias desde el Día 0 al Día 28, y después se realizaron observaciones clínicas diarias desde el Día 28 hasta el momento de la eutanasia y la necropsia. Se anotaron y se documentaron las observaciones clínicas y generales que se desviaban de la norma. En la necropsia, se examinaron la cavidad torácica y la tráquea para cada ternero y se registraron las observaciones macroscópicas. Se extrajeron los pulmones y aproximadamente 15,24 cm (6 pulgadas) de tráquea intactos de cada ternero para un examen adicional y para recoger muestras. Para cada conjunto de pulmones, se fotografiaron las superficies pulmonares dorsales y ventrales con un crotal al lado de cada imagen. Para la patología pulmonar, cada lóbulo pulmonar se examinó por visualización y por palpación para determinar la cantidad de patología presente (como un porcentaje) por cada lóbulo pulmonar debido a *M. bovis*. Después, cada porcentaje de lóbulo pulmonar se ponderó y se sumó para determinar el porcentaje de pulmón total con patología. La patología articular se ensayó examinando las articulaciones afectadas y registrando las observaciones macroscópicas. Para el análisis de los datos, se resumieron los datos. El porcentaje de reducción de síntomas clínicos y la patología macroscópica se calculó usando la siguiente fórmula: % Reducción = [1 – (Tratamiento/No tratamiento)] * 100. Además, se retiró 1 animal de cada uno de los grupos 2 y 3, y 2 animales del grupo 4 por razones humanitarias el Día 37.

Resultados

Las evaluaciones clínicas previas a la exposición se realizaron desde el Día 1 al Día 26. Durante esta fase del estudio se observaron deposiciones sueltas/acuosas, depresión, orejas caídas y letargia. Se administraron las atenciones veterinarias apropiadas. No se detectó ninguna reacción adversa o síntoma clínico específico de Mycoplasma en ninguno de los grupos en ningún día de observación. Las evaluaciones clínicas posteriores a la exposición se realizaron desde el Día 27 al Día 43. Todas las observaciones clínicas anotadas

durante esta fase del estudio fueron tos, dificultad respiratoria, depresión, anorexia, hinchazón de articulaciones, cojera y orejas caídas. La incidencia de puntuaciones clínicas durante el periodo posterior a la exposición se resume a continuación en la Tabla 3. En el Grupo 1, dos de nueve terneros tuvieron al menos un signo clínico de infección, dos tuvieron signos respiratorios y uno tuvo signos de infección articular. En el Grupo 3 todos los terneros tuvieron al menos un signo clínico, siete tuvieron signos respiratorios y tres tuvieron signos de infección en sus articulaciones. En el Grupo 2 cuatro de nueve terneros tuvieron al menos un signo clínico, ningún ternero tuvo signos sólo respiratorios y cuatro terneros tuvieron signos de infección en sus articulaciones. En el Grupo 4, siete terneros tuvieron al menos un signo clínico, uno tuvo signos respiratorios y siete tuvieron signos de infección en sus articulaciones.

Tabla 3

Grupo		Todos (Respiratorios + Articulares + Otros)			Respiratorio			Articular		
		Afectados	Frecuencia	% Reducción	Afectados	Frecuencia	% Reducción	Afectados	Frecuencia	% Reducción
1	Vac / Alta	2/ 9	22%	78%	2/ 9	22%	72%	1/ 9	11%	67%
3	Sin Vac / Alta	9/ 9	100%		7/ 9	78%		3/ 9	33%	
2	Vac / Baja	4/ 9	44%	50%	0/ 9	0 %	100%	4/ 9	44%	50%
4	Sin Vac / Baja	7/ 8	88%		1/ 8	13%		7/ 8	88%	

Grupo 1 = Vacuna/Alta Exposición Respiratoria

Grupo 2 = Vacuna/Baja Exposición Respiratoria

Grupo 3 = Sin Vacuna/Alta Exposición Respiratoria

Grupo 4 = Sin Vacuna/Baja Exposición Respiratoria

Se recogieron los pulmones en la necropsia y se observaron para determinar las lesiones asociadas con la infección por *M. bovis*. Los animales presentaban variabilidad en características patológicas tales como consolidación y formación de nódulos. Los resultados de la implicación pulmonar se expresaron como porcentaje usando un sistema de puntuación que refleja el porcentaje del pulmón total con patología macroscópica asociada con infección por *M. bovis*. En algunos casos, la determinación del porcentaje de pulmón se vio obstaculizada por adhesiones o la naturaleza atípica de las lesiones. La Tabla 4 presenta las relaciones de individuos que presentan cualquier cantidad de lesiones pulmonares y el intervalo de porcentajes/porcentaje medio de implicación pulmonar. Para las puntuaciones de patología pulmonar, el grupo 3 tuvo el máximo número de terneros afectados (9/9) y el

grupo 2 tuvo el mínimo número de terneros afectados (2/9).

Tabla 4 Resumen de Puntuaciones de Patología Pulmonar

Grupo		Patología Pulmonar			
		Afectados	% Intervalo	% MEDIA ± DT	% Reducción
1	Vac / Alta	6/ 9	0,8 – 26,7	4,0 ± 8,6	33%
3	Sin Vac / Alta	9/ 9	0,4 – 23,9	6,0 ± 7,4	
2	Vac / Baja	2/ 9	0,4 – 2,0	0,3 ± 0,7	96%
4	Sin Vac / Baja	6/ 8	0,4 – 36,3	7,2 ± 12,3	

En la necropsia, se examinaron las articulaciones de los animales que previamente presentaron síntomas clínicos (hinchazón o cojera) para la patología macroscópica. Las áreas afectadas variaban por animal y pueden implicar el carpo, corvejón, babilla, espolón y/o codo. Los animales presentaron hinchazón general, aumento del líquido sinovial, anomalías en el aspecto del líquido y engrosamiento de la cápsula articular. En terneros afectados de manera más grave, estaba presente fibrina además de erosión de la superficie articular. Se ensayaron muestras de fluido articular y/o hisopos de superficie por cultivo para determinar la presencia de *M. bovis*. En la Tabla 5 mostrada a continuación se resume la presencia de características patológicas macroscópicas en las articulaciones.

Tabla 5 Presencia de Características Patológicas Macroscópicas en la Articulación (0 = Normal; 1 = Anormal)

Grupo	Animales	Articular	Hinchazón Macroscópico	Volumen de Líquido Sinovial	Aspecto de Líquido Sinovial	Fibrina Presente	Cápsula Articular	Superficie Articular	Detección de *M. bovis*
1	5982	Babilla Derecha	1	1	1	1	1	1	Si
1	5887	Babilla Izquierda	NR	1	0	0	0	0	No
1	5007	Babilla Derecha	NR	1	0	0	0	0	No
1	0007	Espolón trasero derecho	0	0	0	0	0	0	No
2	5987	Codo Derecho	0	0	0	0	0	0	Sí
2	5989	Corvejón Derecho	NR	1	NR	1	1	0	Sí
3	5995	Corvejón Derecho	1	1	1	1	1	0	Sí
3	5990	Babilla Izquierda	0	1	1	0	0	0	Sí

4	5985	Espolón trasero izquierdo	1	1	1	0	1	0	Sí
4	5991	Espolón trasero izquierdo	1	0	1	0	1	0	N°
4	0004	Babilla Izquierda	1	1	NR	1	1	0	Sí
4	0000	Carpo Izquierdo	1	1	0	0	0	0	Sí
4	0011	Codo Derecho	1	1	1	0	0	0	Si
4	0011	Babilla Derecha	1	1	1	0	1	0	Sí
4	0013	Babilla Izquierda	0	0	1	0	0	0	N°
4	6015	Corvejón Derecho	0	1	1	1	0	0	Sí

Grupo 1 = Vacuna/Alta Exposición Respiratoria; 2 = Vacuna/Baja Exposición Respiratoria

3 = Sin Vacuna/Alta Exposición Respiratoria; 4 = Sin Vacuna / Baja Exposición (NR = No Registrado)

Se tomaron muestras de conductos nasales por medio de hisopos los Días 0, 14, 28 y 35 y después se tomaron muestras en la necropsia (Día 43). Además, durante el examen post-mortem, se tomaron muestras de tonsilas por medio de un hisopo y se recuperaron muestras representativas de tejido pulmonar. Las Figuras 1 y 2 muestran la frecuencia de la recuperación por cultivo selectivo de micoplasma o la frecuencia de detección por PCR específica para *M. bovis*. Como se muestra en la Figura 1, hubo una recuperación de 100% en todos los grupos cuando se recogieron muestras de las tonsilas después de la necropsia. Hubo una recuperación de 100% en los grupos 1 y 3 en los pulmones después de la necropsia. En el grupo 2 se recuperó la mínima cantidad de los pulmones (aproximadamente 60%) y en el grupo 4 se recuperó aproximadamente 90%. Ningún grupo mostró recuperación de bacterias *M. bovis* hasta las muestras nasales tomadas el día 35 del estudio, y el único grupo que mostró recuperación el día 35 fue el grupo 4 (25%). Todos los grupos excepto el grupo 2 mostraron recuperación en muestras nasales después de la necropsia.

Tabla 6: Resumen de PCR y Serología

Día		0			14			28			35			42 (o Post)										
Muestra		Nasal	Nasal	Suero	Nasal	Nasal	Suero	Nasal	Nasal	Suero	Nasal	Nasal	Suero	Nasal	Nasal	Suero	Tonsila	Tonsila	Tonsila	Pulmón	Pulmón	Pulmón	Artelación	Artelación
Grupo	Cosby ID	Cultivo	PCR nuevo	ELISA	Cultivo	PCR nuevo	ELISA	Cultivo	PCR nuevo	ELISA	Cultivo	PCR nuevo	ELISA	Cultivo	PCR nuevo	ELISA	Cultivo	PCR nuevo	PCR especifica de Vac	Cultivo	PCR nuevo	PCR especifica de Vac	Cultivo	PCR nuevo
1	5981	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	1	4	1	0	4	1	1	1	1	1	0		
1	5986	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	1	1	1	0		
1	5998	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1	4	0	1	3	1	1	1	1	1	0		
1	5999	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	0	0		
1	6002	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	1	0		
1	6007	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	1	1	0	0	0
1	6008	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	0	1	0	0		
1	6009	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	1	4	0	1	4	1	1	0	1	1	0		
1	6012	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1	4	0	0	4	1	1	0	1	1	0		
2	5982	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	3	0	0	4	1	1	1	1	1	0	1	1
2	5983	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	1	1	0		
2	5984	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	0	0	0		
2	5987	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	3	0	0	4	1	1	1	1	1	0	1	1
2	5988	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	3	0	1	3	1	1	0	1	1	0		
2	5989	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	4	0	0	4	1	1	1	0	0	0	1	1
2	5990	0	0	0	0	1	2	0	0	2	0	0	4	0	1	3	1	1	1	0	0	0		
2	5992	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	4	0	1	4	1	1	1	0	0	0		
2	5994	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	4	0	1	4	1	1	1	1	1	0		
3	5993	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0		
3	5995	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	2	1	1	0	1	1	0	1	NT
3	5996	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0	1	3	1	1	0	1	1	0	1	1
3	5997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0		
3	6000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	1	1	0	1	1	0		
3	6001	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	3	1	1	0	1	1	0		
3	6002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0		
3	6010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	1	1	0	1	1	0		
3	6014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0		
4	5985	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	4	1	1	0	1	1	0	1	NT
4	5991	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0	NT
4	6004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	1	0	1	NT
4	6005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1	1	0	1	0	0		
4	6006	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
4	6011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	NT
4	6013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	1	1	0	1	1	0	0	0
4	6015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	1	1	0	1	1	0	1	1

Cultivo

0 = Sin crecimiento de *M. bovis*

1 = crecimiento de M. bovis

M = Mixto/u otro

NS = Sin Muestra

NT = No Ensayado

PCR:

0 = Negativo para *M. bovis*

1 = Positivo para *M. bovis*

ELISA

0 = Negativo

1 = Positividad 1,75x

2 = 1,75x a 2,3x

3 = 2,3x a 3,0x

4 = 3,0x o mayor

Todas las muestras se ensayaron en el ELISA de *M. bovis* Biovet para controlar la respuesta serológica a *M. bovis*. La seroconversión se puntuó de acuerdo con multiplicadores agrupados de DO de positividad. La siguiente tabla muestra las puntuaciones serológicas

medias detectadas a partir de cada grupo los Días 0, 14, 28, 35 y 42. La Figura 3 muestra la puntuación media de grupo para anticuerpos específicos de *M. bovis* a partir de muestras de suero. Se detectó seroconversión que indicaba una respuesta inmune humoral eficaz a no más de 14 días después de una dosis de vacuna, y fue evidente una buena duración de esta respuesta inmune por medio de la respuesta serológica medible a *M. bovis* durante al menos 42 días después de una vacunación y 28 días después de dos dosis de vacuna. La puntuación para el grupo 1 fue sistemáticamente mayor que todos los demás grupos comenzando el día 28. Los grupos 1 y 2 fueron iguales el día 14 (puntuación de ELISA 1,5). El grupo 4 fue el menor de los días 14 – 35, y pasó al tercer lugar (aproximadamente 2,2) el día 42.

Conclusiones

Este estudio evaluó la eficacia de una vacuna viva de *M. bovis* viva en terneros que recibieron dos dosis, tanto por vía subcutánea como por vía intranasal, y en modelos de exposición en la especie diana. El modelo de exposición incluía una administración respiratoria elevada y una administración respiratoria baja. El estudio también evaluó la eficacia, el inicio de inmunidad y la duración de la inmunidad por medio de una evaluación indirecta, seroconversión o respuesta inmune humoral después de una sola y dos dosis de vacuna. De esta manera se demostró el inicio de inmunidad y la duración de la inmunidad después de la vacunación.

Los aislados de *M. bovis* tanto de exposición como vacunales procedían de diferentes animales infectados de manera natural. Previamente se demostró que el aislado usado como exposición producía enfermedad tanto pulmonar como articular durante la exposición experimental y predominaba en estudios de exposición a aislados mixtos. El aislado vacunal es un aislado de alto número de pase (pase 106) procedente originalmente de una muestra de diagnóstico. Además, se demostró que los genotipos de los aislados de exposición y vacunales que eran diferentes cuando se usó el método de identificación descrito en el documento WO 2008-030619.

Dentro de los grupos expuestos con alto volumen respiratorio (1 y 3), se observó una reducción en los síntomas clínicos respiratorios (72%) y en la patología pulmonar (33%) en el grupo vacunado. La mayoría de los síntomas clínicos respiratorios en el grupo no vacunado se produjeron entre el día 2 y el día 3 después de la exposición. Como se muestra en la Tabla 3, la vacuna también redujo la aparición de enfermedad articular debida a *M. bovis*.

Dentro de los grupos expuestos de bajo volumen respiratorio (2 y 4), se observó una reducción (96%) en la patología pulmonar en el grupo vacunado. Además, el grupo vacunado mostró una reducción apreciable (50%) de los síntomas clínicos articulares.

Los ensayos de laboratorio de muestras de pulmón (IHC, PCR y cultivo) y de muestras articulares (PCR y cultivo) coincidieron con la patología macroscópica en la mayoría de los casos. Las discrepancias pueden atribuirse a la distribución bacteriana en el sitio de muestreo o entre muestras sometidas a ensayo. El aislado vacunal no se detectó en ninguna de las muestras pulmonares ensayadas por un ensayo de PCR experimental diseñado para detectar el candidato de vacuna y no el aislado de exposición.

Se demostró que el nuevo candidato de vacuna de *M. bovis* vivo, atenuado, de alto pase, (05-2823 P106) administrado tanto por vía intranasal como por vía subcutánea, administrado 2 veces con un intervalo de 2 semanas entre vacunaciones, era seguro y eficaz proporcionando una reducción en los signos de infección por *M. bovis* incluyendo tanto síntomas clínicos como la patología (respiratoria y articular) asociada con la infección por *Mycoplasma bovis* en terneros privados de calostro usando diversas condiciones de exposición. La vacuna de *M. bovis* y la composición inmunológica también fueron eficaces en la estimulación de un inicio de inmunidad no más de 14 días después de una sola dosis y con una duración de al menos 42 días después de la dosis única.

Ejemplo 2

El objetivo de esta investigación fue determinar la seguridad y eficacia de tres candidatos de vacuna vivos.

Materiales y Métodos

Los terneros usados para el estudio tenían 6 ± 2 semanas de edad y se dividieron en 6 grupos. Como se muestra en la Tabla 7, el Grupo 1 comprendía 10 animales, que se vacunaron con Vacuna Viva de *M. bovis* I el Día 0 (D0) y D14 del estudio. El Grupo 1 se vacunó con 2 ml por vía subcutánea y 2 ml por vía intranasal los días D0 y D14. El Grupo 2 comprendía 10 animales, y se vacunaron con 2 ml de vacuna viva de *M. bovis* I por vía subcutánea los días D0 y D14 del estudio. El Grupo 3 comprendía 9 terneros vacunados con vacuna viva de *M. bovis* I los días D0 y D14. El Grupo 3 se vacunó con 2 ml por vía intranasal. El Grupo 4 era un control y no recibió ninguna vacuna. El Grupo 5 comprendía 2 terneros que se vacunaron con Vacuna Viva de *M. bovis* II. El Grupo 5 se vacunó con 2 ml por vía subcutánea y 2 ml por vía intranasal los días D0 y D14. El Grupo 6 comprendía dos terneros que recibieron vacuna viva de *M. bovis* III. Los terneros del Grupo 6 recibieron 2 ml por vía subcutánea y 2 ml por vía intranasal los días D0 y D14. Todos los grupos se expusieron posteriormente a 120 ml de material de exposición. Todos los animales se expusieron el día D28.

Como se indica en la Tabla 8, se recogieron hisopos nasales de todos los terneros los Días 0, 14, 27, 35 y 41. En la necropsia, se recogieron hisopos de las tonsilas de todos los

terneros. Se cogieron hisopos articulares de los animales con anomalías clínicas. Además, se tomaron muestras de otras localizaciones en ciertos animales que mostraron implicación del área. Se extrajo sangre de todos los terneros los Días 0, 14, 27, 35 y 41. La sangre se recogió asépticamente de la vena yugular de cada ternero. Después de la necropsia, se puntuaron las lesiones pulmonares.

Tabla 7 Tratamientos de Grupos

	Animales/ grupo	Sustancia de Ensayo			Exposición		
		Artículo	**Dosis / Vía**	**Programa de Administración**	**Material**	**Dosis**	**Programa de Administración**
Grupo 1	10	*M. bovis* Vivo I (05-2823 P106)	2 ml SC y 2 ml IN	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 2	10	*M. bovis* Vivo I (05-2823 P106)	2 ml SC	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 3	9	*M. bovis* Vivo I (05-2823 P106)	2 ml IN	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 4	9	Sólo Medio	2 ml SC y 2 ml IN	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)

Grupo 5	2	*M. bovis* Vivo II (05-249 P102)	2 ml SC y 2 ml IN	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)
Grupo 6	2	*M. bovis* Vivo III (05-1902-1 P106)	2 ml SC y 2 ml IN	Día 0 y 14	*M. bovis*	material de exposición con un lavado con 5 ml de PBS	Día 28 (aprox 4 semanas después de la vacunación)

Tabla 8 Programa de Muestras

Día	**Acontecimiento**	**Muestras**	**Ensayo**
-42 a 0	Observaciones Generales (Diarias)	--	--
Aprox. -35	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
		Corte de oreja	BVDV (IHC)
0 a 28	Evaluación clínica	--	--
0	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	1ª Vacunación	--	--
14	Evaluación del sitio de inyección	--	--
	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
	2ª Vacunación	--	--

27	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
28	**Exposición**	--	--
29 a 42	Observación clínica (Diaria)	--	--
35	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
41	Recoger muestras	Hisopo nasal (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Sangre (SST)	*M. bovis* (ELISA)
42	**Necropsia** y Patología Macroscópica	--	--
	Recoger muestras (Post)	Hisopo de tonsila (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Tejido Pulmonar (Conservado)	*M. bovis* (IHC)
		Tejido Pulmonar (Fresco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)
		Hisopos de articulaciones (Húmedo/Seco)	*M. bovis* (Cultivo/PCR)

Resultados y análisis

Signos Clínicos Antes de la Exposición

Las evaluaciones clínicas se realizaron desde el Día -1 al Día 28. Durante esta fase del estudio, las observaciones clínicas anotadas fueron deposiciones sueltas/acuosas, descarga ocular, depresión y letargia, y ninguna se atribuyó a un efecto de la vacunación. La observación de los sitios de inyección no registró ninguna reacción adversa en el sitio de inyección excepto para el ternero 6134 (grupo 6) que mostraba una hinchazón transitoria aceptable en el primer sitio de inyección el día 14.

Signos Clínicos Después de la Exposición

Las observaciones clínicas se realizaron desde el Día 28 al Día 42. Las observaciones clínicas anotadas durante esta fase del estudio fueron tos, dificultad respiratoria, depresión, hinchazón de articulaciones, cojera y orejas caídas. Los signos

clínicos se dividieron en tres tipos (respiratorios, articulares y otros) típicos de la infección por *Mycoplasma bovis*. Los signos respiratorios incluían tos, respiración rápida/dificultosa y descarga nasal. Los signos articulares incluían articulaciones hinchadas y cojera. Otros signos incluían orejas caídas, inclinación de la cabeza, depresión y anorexia. A continuación puede encontrarse la Tabla 9 que presenta resultados individuales:

Tabla 9

	DPC	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Grupo	ID	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
1	6116						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
1	6123								4,7	4	4,5	4,5,8				
1	6124										4,5	1,4,5	4,5,8	4,5	4,5	4,5
1	6139									4,5	1,4,5	4,5	4,5	4,5	1,4,5,8	4,5
1	6140								4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
1	6145						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
1	6151					5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5,8				
1	6152							4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
1	6153															
1	6156						1			4		4,5	4,5	4,5		
2	6117							4	4,5	4,5,8	4,5					
2	6118		2													
2	6119										4			4,5	4,5	
2	6125					5	5,8	4,5,6,8	4,5	4,5	4,5	4,5,8				
2	6127					5	5	4,5	4,5	4,5	4,5					
2	6128						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
2	6130											4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
2	6133							4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5, 8	4,5
2	6136						4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
2	6144							4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6129					5	5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5				
3	6132						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
3	6135						5	4,5	4,5	4,5	4,5					
3	6138															

	DPC	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Grupo	ID	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
3	6141								4,5	4,5		4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6142									4,5	4	4,5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8
3	6154									4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
3	6158													4,5	4,5	4,5
3	6159								4,5	4,5,8	4,5					
4	6120					5		4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6126					5	5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6131							8	4	4,5,8	4,5,8					
4	6143					5	1,5	4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6146					2,5,8	2,4,5,8									
4	6147							4,5	4,5	4,5,8	4,5,8					
4	6150					1	1	4,5	4,5	1,4,5	4,5,8					
4	6155				5	5	4,5,8									
4	6157		1,2	2	2	2,8	1,2,8									
5	6122															
5	6137															
6	6121															
6	6134															

Clave para los Signos Clínicos:

1 Tos

2 Respiración rápida (difícil)

3 Descarga nasal

4 Articulación Hinchada

5 Cojera

6 Orejas Caídas

7 Inclinación de la cabeza

A Diarrea

B Descarga Ocular

C Laceración de Patas

S Depresión

9 Anorexia

Recuadro Negro = Animal retirado del estudio

Tabla 10 - Incidencia de Puntuaciones Clínicas durante el periodo posterior a la exposición

Grupo		Respiratorio			Articular			Retirada temprana		
		Afectado	Frecuencia	% Reducción	Afectado	Frecuencia	% Reducción	Afectado	Frecuencia	% Reducción
1	Vac Viva I (SC+IN)	3 / 9	33%	0%	6 / 9	67%	33%	4 / 9	44%	56%
2	Vac Viva I (SC)	0 / 9	0%	100%	7 / 9	78%	22%	4 / 9	44%	56%
3	Vac Viva I (IN)	0 / 9	0%	100%	5 / 8	63%	38%	3 / 8	38%	63%
5	Vac Viva II (SC+IN)	0 / 2	0%	100%	0 / 2	0%	100%	0 / 2	0%	100%
6	Vac Viva III (SC+IN)	0 / 2	0%	100%	0 / 2	0%	100%	0 / 2	0%	100%
4	Sin Vac	2 / 6	33%		6 / 6	100%		6 / 6	100%	

La tabla 10 se subdivide en signos clínicos respiratorios y articulares confirmados (cultivo y/o PCR) típicos de la infección por *Mycoplasma bovis*. Además, se notifican las tasas de retirada temprana debida a una implicación grave de las articulaciones.

Patología Pulmonar

En la necropsia, se recogieron los pulmones y se observaron para determinar las lesiones asociadas con la infección por *M. bovis*. Los animales presentaron variabilidad en características patológicas tales como consolidación y formación de nódulos. Los resultados de la implicación pulmonar se expresaron como porcentaje usando un sistema de puntuación que refleja el porcentaje del pulmón total con patología macroscópica asociada con infección por Mycoplasma bovis. En algunos casos, la determinación del porcentaje de pulmón se vio obstaculizada por adhesiones o la naturaleza atípica de las lesiones. A continuación se proporciona una tabla con las relaciones de individuos que presentan cualquier cantidad de lesiones pulmonares y el intervalo de porcentajes/porcentaje medio de implicación pulmonar.

Tabla 11 Resumen de Puntuaciones de Patología Pulmonar

Grupo		Patología Pulmonar			
		Afectados	Intervalo de %	% Medio lesión + DT	% Reducción lesiones
1	Vac Viva (SC+IN)	7 / 9	0,2 - 2,0	1 ,0 ± 0,9	86%
2	Vac Viva I (SC)	9 / 9	0,4 - 12,5	2,8 ± 3,8	61%
3	Vac Viva I (IN)	5 / 8	0,2 - 39,2	6,3 ± 13,5	13%
5	Vac Viva II (SC +IN)	1 / 2	N/A	0,2 ± 0,3	98%
6	Vac Viva III (SC+IN)	0 / 2	N/A	0,0	100%
4	Sin Vac	6 / 6	2,0 - 19,5	7,2 ± 6,9	

Patología Articular

En la necropsia, se examinaron las articulaciones de los animales que previamente presentaron síntomas clínicos (hinchazón y/o cojera) para la patología macroscópica. Las áreas afectadas variaban por animal y pueden implicar el carpo, corvejón, babilla, espolón y/o codo. Los animales presentaron hinchazón general, aumento del líquido sinovial, anomalías en el aspecto del líquido o engrosamiento de la cápsula articular. En terneros afectados de manera más grave, estaba presente fibrina y erosión de la superficie articular. Se ensayaron muestras de fluido articular y/o hisopos de superficie por medio del cultivo y PCR con respecto a la presencia de *Mycoplasma bovis*. La vacunación usando cualquiera de las vacunas vivas atenuadas redujo satisfactoriamente el número total de terneros afectados.

Tabla 12 - Incidencia de Signos Clínicos Articulares Confirmados de Laboratorio

Grupo	Animales Afectados Totales	Delantera derecha				Delantera izquierda				Trasera derecha				Trasera izquierda			
		Espolón	Rodilla	Codo	Hombro	Espolón	Rodilla	Codo	Hombro	Espolón	Corvejón	Babilla	Cadera	Espolón	Corvejón	Babilla	Cadera
1	6/9	0%	44%	11%	0%	11%	22%	0%	0%	11%	11%	11%	0%	33%	11%	22%	0%
2	7/9	29%	29%	0%	0%	29%	86%	0%	0%	29%	29%	14%	14%	57%	14%	14%	0%
3	5/8	0%	38%	0%	0%	0%	13%	0%	0%	13%	0%	13%	0%	13%	13%	25%	0%
4	6/6	50%	83%	33%	0%	50%	100%	0%	0%	67%	17%	0%	0%	83%	0%	0%	0%
5	0/2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
6	0/2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Grupo 1= Vac I (SC+IN); 2=Vac I (SC sólo); 3=Vac I (SC sólo); 4= Sin Vac; 5=Vac II (SC+IN); 6=Vac III (SC+IN)

Nota: Se consideró que una muestra estaba confirmada en laboratorio si la PCR y/o el cultivo daban resultados positivos para *M.bovis*.

Detección por PCR de *M. bovis* en Muestras Nasales, de Tonsila y Pulmonares

Se tomaron muestras de pases nasales de cada animal por medio de hisopos los Días 0, 14, 27, 35 y 41 o el día de la necropsia. Además, durante el examen post-mortem, se tomaron muestras de las tonsilas por medio de un hisopo y se recuperaron muestras representativas de tejido pulmonar. Las siguientes tablas muestran la frecuencia de detección usando PCR a tiempo real que se dirige a un marcador de *M. bovis* general (uvrC). Además, se analizaron tejidos de tonsila y pulmonar usando un ensayo de PCR de punto final desarrollado recientemente que se dirigía a marcadores no encontrados en el aislado de exposición de *M. bovis* pero encontrado en todos los candidatos de vacuna. Como era de esperar, la PCR detectó la vacuna de *M. bovis* y/o el microorganismo de exposición en diversas muestras de hisopos nasales.

Tabla 13 - Frecuencia de detección por PCR de *M. bovis* en Muestras de hisopos Nasales

Group		n=	Day of Test				
			D0	D14	D27	D35	Post
1	Live Vac I (SQ+IN)	9	0%	33%	0%	11%	22%
2	Live Vac I (SQ)	9	0%	0%	0%	22%	0%
3	Live Vac I (IN)	8	0%	0%	13%	0%	25%
4	No Vac	6	0%	0%	0%	50%	33%
5	Live Vac II (SQ+IN)	2	0%	0%	0%	50%	50%
6	Live Vac III (SQ+IN)	2	0%	0%	0%	0%	100%

Grupo 1= Vac I (SC+IN); 2=Vac I (SC sólo); 3=Vac I (SC sólo); 4=No Vac; 5=Vac II (SC+IN); 6=Vac III (SC+IN)

Nota: Detección por PCR a tiempo real que se dirige a un marcador de *M.bovis* general (uvrC).

Tabla 14 - Frecuencia de detección por PCR (Ensayo de *M. bovis* general y sin exposición) a partir de Muestras de Tonsila y Tejido Pulmonar

Grupo		n=	Tonsila		Pulmón	
			General	Sin exposición	General	Sin exposición
1	Vac Viva I (SC+IN)	9	100%	100%	67%	11%
2	Vac Viva I (SC)	9	100%	0%	100%	0%
3	Vac Viva I (IN)	8	100%	100%	13%	0%
4	Sin Vac	5	100%	0%	100%	0%
5	Vac Viva II (SC+IN)	2	100%	100%	50%	0%
6	Vac Viva III (SC+IN)	2	100%	100%	50%	0%

Grupo 1= Vac I (SC+IN); 2=Vac I (SC sólo); 3=Vac I (SC sólo); 4= Sin Vac; 5=Vac II (SC+IN); 6=Vac III (SC+IN)

Nota: General = Detección por PCR a tiempo real que se dirige a un marcador de *M.bovis* general (uvrC); **Sin exposición**= detección por PCR de punto final que se dirige a marcadores no encontrados en el aislado de exposición de *M. bovis* pero encontrados en todos los candidatos de vacuna.

De nuevo, como era de esperar, la PCR detectó satisfactoriamente la vacuna viva atenuada en tonsila después de la vacunación intranasal, mientras que el microorganismo de

detección se detectó en un alto porcentaje de muestras de pulmón y tonsila.

Serología *de M. bovis*

Todas las muestras se ensayaron en el ELISA de *M. bovis* Biovet para controlar la respuesta serológica a *M. bovis*. La seroconversión se puntuó de acuerdo con multiplicadores agrupados de DO de positividad. Las siguientes tablas muestran las puntuaciones serológicas medias detectadas a partir de cada grupo el Día 0, 14, 27, 35 y Posteriores (post representa un intervalo de días de estudio de 37 a 41 debido a la retirada temprana de ciertos animales). La seroconversión observada después de la vacunación refuerza la conclusión de que estas nuevas vacunas provocan una respuesta inmune adecuada en animales vacunados tales como terneros con un inicio rápido y una duración prolongada (véase la Figura 4).

Discusión

El objetivo de este estudio era evaluar la eficacia de tres vacunas vivas de *Mycoplasma bovis* nuevas y experimentales incluyendo la vacuna (05-2823 P106) (PTA-8694) usando diversas vías de administración de 2 ml (SC, IN, SC+IN) con una separación de catorce días y un modelo de exposición doble en la especie diana. El modelo de exposición usó administración a través del tracto respiratorio con la adición de una administración parenteral. Además, se evaluó la eficacia de otros dos candidatos de vacuna viva (05-249 P102 (PTA-8696) y 05-1902-1 P106 (PTA-8695)) usando sólo la vía SC+IN.

Los aislados de *Mycoplasma bovis* de exposición y de candidato a vacuna procedían de diferentes granjas infectadas de manera natural. El procedimiento que usa un volumen total de 120 ml de aislado de exposición se demostró previamente que cuando se administraba para producía patología pulmonar y enfermedad articular durante la exposición experimental y predominaron en estudios de exposición a aislados mixtos. Los candidatos de vacuna viva son aislados de alto número de pase procedentes originalmente de muestras de diagnóstico. El alto pase de los candidatos de vacuna se realizó por implicación de dilución limitante seriada en medio apropiado para micoplasma. Debe tenerse en cuenta que el candidato de vacuna de alto pase 05 2823 P106 ha demostrado un crecimiento restringido en algunas formulaciones de agar selectivas para micoplasma, mientras que el aislado parental de bajo pase no ha mostrado la misma característica. Además, se demostró que eran diferentes los genotipos de los aislados de exposición y vacunal (como se determina por el método de identificación genética).

Durante este estudio se investigaron múltiples parámetros para evaluar las ventajas de la vacuna. De estos parámetros, las tasas de retirada de animales y los síntomas clínicos articulares se usaron como indicadores primarios de la protección articular. La patología pulmonar (porcentaje de lesiones pulmonares macroscópicas) se usó como indicador

primario de la protección pulmonar. Otros datos tales como detección de organismo a partir de tejido, distribución articular y serología proporcionaron datos adicionales para confirmación, así como la seroconversión en *M. bovis* después de vacunación.

Todos los grupos mostraron efectos beneficiosos protectores de las articulaciones y del pulmón reductores de la enfermedad después de recibir el candidato de vacuna Vacuna Viva de *Mycoplasma bovis* I (05-2823 P106) independientemente de la vía o la combinación de vías como se demuestra por una reducción en las lesiones pulmonares, síntomas clínicos de las articulaciones y tasas de retirada de animales. Las vías SC e IN combinadas (Grupo 1) produjeron la mayor reducción de las lesiones pulmonares (86%) en comparación con los grupos en los que se usó sólo una vía. Además, los resultados de las lesiones pulmonares, síntomas clínicos articulares y reducciones en tasas de retirada confirman los efectos beneficiosos de recibir los otros dos candidatos de vacuna Vacuna Viva II (05-249 P102) y Vacuna Viva III (05-1902-1 P106) por una vía SC e IN combinada. Los resultados de ELISA demostraron una fuerte respuesta humoral a la vacunación confirmando todos los candidatos de vacuna que el inicio de la inmunidad después de una sola inmunización se produce tan sólo después de 14 días y que la duración de la inmunidad es de al menos 41 días (véase la Figura 5).

Todos los candidatos de vacuna demostraron seguridad. Ningún animal de ningún grupo que recibió una vacuna presentó síntomas clínicos durante el periodo de vacunación y sólo un animal que recibió la Vacuna Viva III (05-1902-1 P106) mostró reactividad en el sitio de inyección y esa reactividad fue insignificante. Además, los resultados de la PCR demostraron detección de *M. bovis* sin exposición en el tejido de tonsila únicamente de los grupos que recibieron un candidato de vacuna a través de la vía IN y detección de no exposición a partir de tejido pulmonar únicamente en un solo animal que había recibido la Vacuna Viva I (05-2823 P106) por vía IN tanto como SC.

Los datos confirman la conclusión de que, en general, las nuevas vacunas de *M. bovis* vivas atenuadas preparadas de acuerdo con la presente invención y administradas por diversas vías de administración son seguras y eficaces, rápidas en su inicio y de larga duración en la protección como composiciones inmunológicas para la vacunación de terneros para prevenir y reducir diversas manifestaciones de enfermedad producidas por la infección con *M. bovis* de tipo silvestre virulento.

Ejemplo 3

Este ejemplo describe el proceso de identificación de ADN usado para diferenciar las cepas de *M. bovis* por aislamiento, amplificación y detección de ADN.

Materiales y Métodos

En los estudios se usaron aislados de *Mycoplasma sp.* Los aislados se obtuvieron a partir de fuentes internas o aislados de campo obtenidos a partir de animales infectados. Los aislados se desarrollaron usando una combinación de agar selectivo para micoplasma y caldo durante 1-7 días. Para aislar el ADN, se centrifugaron y sedimentaron cultivos de caldo. Después se extrajo el ADN del sedimento (usando el Qiagen DNeasy Tissue Kit) y se resuspendió en agua de calidad molecular. El ADN genómico se cuantificó usando Picogreen (Invitrogen). Se diseñaron cebadores basándose en las secuencias de inserción conocidas (elementos transponibles) presentes en el genoma bacteriano (*Mycoplasma bovis*). Se seleccionaron manualmente cebadores dirigidos hacia el exterior a partir de los extremos de elementos (excluyendo las regiones de repetición terminal) a una Tm de 55-58C. Después se realizaron las reacciones de PCR usando una mezcla madre de PCR múltiple (Kit de PCR Qiagen Multiplex). Las reacciones contenían Mezcla maestra 1x, 300 nM de cada cebador y 1 ng de ADN de molde. Las condiciones de termociclado fueron 95C durante 15 minutos, 35 ciclos de 94C durante 30 segundos, 56,1C durante 90 segundos, 72C durante 2 minutos, con una extensión final de 72C durante 4 minutos y un mantenimiento a 4C. Los productos amplificados se separaron en un gel de agarosa al 4% con bromuro de etidio (Invitrogen E-gel), procesado durante 50 minutos a temperatura ambiente y se tomaron imágenes bajo luz UV.

Resultados y análisis

Los resultados demostraron que cada uno de los aislados usados en esta solicitud tenía una identificación genética única. Sin embargo, como se muestra en el Ejemplo 2, cada aislado también era una vacuna de cultivo viva atenuada eficaz que era eficaz para proporcionar protección cruzada contra un aislado de exposición que tenía una identificación genética diferente que cualquiera de los candidatos de vacuna. Se cultivaron tres aislados de campo, 05-2823 P106 (PTA-8694), 05-249 P102 (PTA-8696) y 05-1902-1-P106 (PTA-8695), y el ADN se aisló de acuerdo con el protocolo anterior. Se amplificaron 2-5 ng de ADN de cada aislado de acuerdo con el protocolo anterior usando un PCR múltiple de 4 conjuntos de cebadores de IS identificados como SEC ID N° 1-8 en el documento WO 2008-030619. Los productos amplificados se separaron en un gel de agarosa al 4% Invitrogen E-gel que contenía bromuro de etidio (de acuerdo con el fabricante) durante 50 minutos y se visualizaron bajo luz UV. Todos los aislados produjeron patrones únicos. Los patrones fueron reproducibles usando alícuotas independientes en las condiciones de reacción de PCR de la muestra.

Ejemplo 4:

Este ejemplo describe la preparación de vacunas de combinación de acuerdo con la

invención de una forma ejemplar.

Vacuna A

M. bovis, IBR y BVDV tipos 1 y 2

Se cultivan cepas de BVDV vivo atenuado tipo 1 y 2, que tienen al menos una mutación en la secuencia codificante de glicoproteína E^{rns} y/o al menos otra mutación en la secuencia codificante de N^{pro}, donde dicha mutación en la secuencia codificante de glicoproteína E^{rns} conduce a la inactivación de la actividad ARNasa que reside en E^{rns} y/o dicha mutación en la secuencia codificante de N^{pro} conduce a la inactivación de dicha N^{pro} (como se describe en el documento WO2005/111201), en células MDBK hasta una $DICT_{50}$ de aproximadamente $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ por ml de líquido de cultivo de células. Se cultiva una cepa viva atenuada de IBR en células MDBK hasta una $DICT_{50}$ de aproximadamente $10^{5,0}$ a $10^{8,6}$ por ml de líquido de cultivo de células. Se cultiva una cepa viva atenuada de *M.bovis* como se proporciona con la presente memoria, preferiblemente como la depositada con los números de acceso de la ATCC PTA-8694, PTA-8695 o PTA-8696 en células MDBK hasta una UFC de aproximadamente 10^{10} por ml de líquido de cultivo de células. Cada líquido de cultivo se recoge. Se mezclan cantidades equivalentes de los antígenos y se liofilizan por técnicas convencionales. Para reconstitución, se usa una solución acuosa. Una dosis de la vacuna de combinación contiene 2 ml de los antígenos reconstituidos. Una dosis final incluye IBR (de $10^{5,0}$ a $10^{8,6}$ $DICT_{50}$), BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 ($10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$) y *M. bovis* (2,1 x 10^{9} UFC).

Vacuna B

M. bovis, IBR y BVDV tipos 1 y 2 y PI3

La preparación de los antígenos de IBR, BVDV 1 y 2 y *M. bovis* se realiza como se ha descrito para la vacuna A. Además, se cultiva una cepa viva atenuada de PI3 en células MDBK hasta una $DICT_{50}$ de aproximadamente $10^{4,2}$ a $10^{6,5}$ por ml de líquido de cultivo de células. Después, se recoge el líquido de cultivo que contiene PI3 . Se mezcla una cantidad de $10^{4,2}$ a $10^{6,5}$ ($DICT_{50}$) del antígeno de PI3 con el IBR y el BVDV tipos 1 y 2. Después la mezcla se liofiliza por técnicas convencionales de modo que una dosis de la vacuna de combinación reconstituida contiene 2 ml como se describe para la Vacuna A. Una dosis final incluye IBR (de $10^{5,0}$ a $10^{8,6}$ $DICT_{50}$), BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), *M. bovis* (2,1 x 10^{9} UFC) y PI3 (de $10^{4,2}$ a $10^{6,5}$ $DICT_{50}$).

Vacuna C

M. bovis, BVDV tipos 1 y 2, PI3, Mannheimia (Pasteurella) haemolytica

Se cultivaron BVDV 1 y 2, bacteria *M. bovis* y virus PI3 como se ha descrito para la vacunas A y B. Después de que se recojan los líquidos de cultivo, los antígenos se liofilizan.

Se cultiva *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* hasta que el título alcanza $10^{8,0}$ a 10^{11} células por ml de cultivo. Las bacterias se inactivan y el líquido de cultivo se liofiliza o se seca por congelación o se formula como un líquido que no inactivará cultivos atenuados de BVD, *M. bovis* y PI3. Se mezcla una cantidad de $10^{8,0}$ a $10^{11,0}$ células bacterianas liofilizadas o secadas por congelación o formuladas como líquido con el antígeno liofilizado de BVDV tipos 1 y 2 (cada uno en una cantidad de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), antígeno de PI3 ($10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) y antígeno de *M. bovis* (2,1 x 10^9 UFC). Las cantidades de antígeno final por dosis son BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), PI3 (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) *M. bovis* (2,1 x 10^9 UFC) y *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* (de $10^{8,0}$ a $10^{11,0}$ células).

Vacuna D

M. bovis BVDV tipos 1 y 2, IBR, PI3, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo, Leptospira pomoma, Leptospira borgpetersenii hardjo-bovis

Se cultivó BVDV 1 y 2, *M. bovis* y PI3 como se ha descrito para la vacunas A y B. Después de que se recogieran los líquidos de cultivo, los virus y el *M. bovis* se liofilizan. *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, Leptospira pomoma, *Leptospira borgpetersenii* hardjo-bovis se cultivaron por separado hasta alcanzar $10^{8,0}$ a $10^{11,0}$ células por ml de cultivo. Los cultivos de Leptospira se inactivaron y los líquidos de cultivo se liofilizaron o secaron por congelación o se formularon como un líquido que no es viricida para los antígenos vivos de la vacuna. Cada una de las $10^{8,0}$ a $10^{11,0}$ células bacterianas liofilizadas o secadas por congelación se reconstituyen con el BVDV modificado liofilizado tipos 1 y 2 (cada uno en una cantidad de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), PI3 vivo modificado (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$), *M. bovis* vivo modificado (2,1 x 10^9 UFC) e IBR vivo modificado (de $10^{6,1}$ a $10^{7,7}$ $DICT_{50}$) usando agua estéril para inyección o los componentes liofilizados se reconstituyen usando la formulación líquida no viricida de los cultivos de Leptospira. La suspensión reconstituida (2 ml por dosis) contiene trazas de neomicina como conservante. Las cantidades de antígeno finales por dosis son BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 (de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), PI3 (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) *M. bovis* (2,1 x 10^9 UFC), PI3 (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) y *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira pomoma* y *Leptospira borgpetersenii* hardjo-bovis (cada una de $10^{8,0}$ a $10^{11,0}$ células).

Vacuna E

M. bovis, BVDV tipos 1 y 2, IBR, PI3 y H. somnus

Se cultivó BVDV 1 y 2, *M. bovis*, IBR y PI3 como se ha descrito para la vacunas A y B. Después de que se recogieran los líquidos de cultivo, los virus y el *M. bovis* se

liofilizan. *H.somnus* se cultivó hasta lograr $10^{7,1}$ a $10^{9,2}$ células por ml de cultivo. El cultivo de bacterias se inactiva y el líquido de cultivo se liofiliza o se seca por congelación o se formula como un líquido que no sea viricida para los antígenos vivos de la vacuna. Se reconstituyen de $10^{7,1}$ a $10^{9,2}$ bacterias liofilizadas o secadas por congelación con el BVDV modificado liofilizado tipos 1 y 2 (cada uno en una cantidad de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), PI3 vivo modificado (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$), *M. bovis* vivo modificado (2,1 x 10^9 UFC) e IBR vivo modificado (de $10^{6,1}$ a $10^{7,7}$ $DICT_{50}$) usando agua estéril para inyección o los componentes liofilizados se reconstituyen usando la formulación líquida no viricida del cultivo bacteriano de *H.somnus*. La suspensión reconstituida (2 ml por dosis) contiene trazas de neomicina como conservante. Las cantidades de antígeno final por dosis son BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 (de $10^{5,0}$ a $10^{7,0}$ $DICT_{50}$), PI3 (de $10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) *M. bovis* (2,1 x 10^9 UFC), PI3 ($10^{7,3}$ a $10^{8,3}$ $DICT_{50}$) y *H.somnus* (de $10^{7,1}$ a $10^{9,2}$ células).

Vacuna F

M. bovis, IBR, BVDV tipos 1 y 2, PI3 y BRSV

La preparación de los antígenos de IBR, PI3, BVDV tipos 1 y 2 y *M. bovis* se realiza como se ha descrito para la vacuna A y B. Además, se cultiva una cepa viva atenuada de BRSV en células MDBK hasta una $DICT_{50}$ de aproximadamente 10^5 a $10^{7,2}$ por ml de líquido de cultivo de células. Después, se recoge el líquido de cultivo que contiene BRSV. Después de que se recojan los líquidos de cultivo, los antígenos se mezclan y se liofilizan como se ha descrito para la vacuna A y B. Se mezcla una cantidad de $10^{5,0}$ a $10^{7,2}$ del antígeno de BRSV con los antígenos de IBR, BVDV tipos 1 y 2 y *M. bovis*. La mezcla se reconstituye después en un volumen de dosis de 2 ml como se ha descrito para la Vacuna A. Para la reconstitución, se usa una solución acuosa. Una dosis de la vacuna de combinación contiene 2 ml de los antígenos reconstituidos. Una dosis final incluye IBR (de $10^{5,0}$ a $10^{8,6}$ $DICT_{50}$), BVDV-1 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), BVDV-2 (de $10^{5,0}$ a $10^{8,1}$ $DICT_{50}$), *M. bovis* (2,1 x 10^9 UFC), PI3 (de $10^{4,2}$ a $10^{6,5}$ $DICT_{50}$) y BRSV (de $10^{5,0}$ a $10^{7,2}$ $DICT_{50}$).

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunógena para el tratamiento y/o la profilaxis de ganado contra infecciones microbiológicas, donde dicha composición inmunógena comprende

   a. uno o más antígenos de *M. bovis*; y

   b. uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de una infección microbiológica en ganado causada por un patógeno de ganado distinto de *M. bovis*.

2. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el antígeno de *M. bovis* es una bacteria *M. bovis* atenuada avirulenta.

3. La composición inmunógena de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, en la que la bacteria *M. bovis* se pasa más de 10 veces.

4. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la bacteria *M. bovis* se pasa más de 50 veces.

5. La composición inmunógena de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la bacteria *M. bovis* se selecciona del grupo que consiste en: las cepas de bacterias *M. bovis* atenuadas depositadas con los números de acceso de la ATCC PTA-8694, PTA-8695 o PTA-8696; cualquier cepa de bacteria *M. bovis* descendiente atenuada de las mismas; cualquiera cepa de bacteria *M. bovis* atenuada avirulenta que tenga las mismas características que cualquiera de las cepas de bacterias *M. bovis* depositadas con los números de acceso de la ATCC PTA-8694, PTA-8695 o PTA-8696 y combinaciones de las mismas.

6. La composición inmunógena de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha infección microbiológica en ganado causada por un patógeno de ganado distinto de *M. bovis* está causada por uno o más patógenos seleccionados del grupo que consiste en:

   virus de la diarrea Bovina (BVDV), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV),Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus

Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, *Mannheimia haemolytica* (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis y Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente C. fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira pomona* y *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus*, *Brucella suis* y *Brucella melitensis*, , *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium; Salmonella newport*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Cryptsporidium parvum*, *Cryptsporidium hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton sarkisovii*, *Neospora caninum* (antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad de vermes pulmonares) y combinaciones de los mismos.

7. La composición inmunógena de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el componente o componentes inmunológicamente activos adicionales es o son un antígeno o antígenos de uno o más de los patógenos seleccionados del grupo que consiste en:

virus de la diarrea Bovina (BVDV), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV),Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, Mannheimia haemolytica (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* (Histophilus ovis y Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente C. fetus intestinalis), *Leptospira interrogans*, *Leptospira pomona* y *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola*,

Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella melitensis, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis,* Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli,* Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., Tritrichomonas foetus,Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, *Trichophyton sarkisovii, Neospora caninum* (antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* y *Babesia bovis, Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) y combinaciones de los mismos.

8. La composición inmunógena de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición inmunógena es una vacuna de combinación.

9. La composición inmunógena de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7 o la vacuna de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha composición inmunógena o vacuna se formula para una administración de dosis individual.

10. Un método de coadministración de dos o más antígenos a un ganado bovino que comprende administrar a dicho ganado antígeno de *M. bovis* y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis*.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el antígeno de *M. bovis* es una bacteria *M. bovis* atenuada avirulenta.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, en el que la bacteria *M. bovis* se pasa más de 10 veces.

13. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la bacteria *M. bovis* se pasa más de 50 veces.

14. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en la que la bacteria *M. bovis* se selecciona del grupo que consiste en: las cepas de bacterias *M. bovis* atenuadas depositadas con los números de acceso de la ATCC PTA-8694, PTA-8695 o PTA-8696; cualquier cepa de bacteria *M. bovis* descendiente atenuada de las mismas; cualquier cepa de bacteria *M. bovis* atenuada avirulenta que tenga las mismas características que cualquiera de las cepas de bacterias *M. bovis* depositadas con los números de acceso de la ATCC PTA-8694, PTA-8695 o PTA-8696; y combinaciones de las mismas.

15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en el que el antígeno de *M. bovis* está inactivado.

16. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en el que dicha infección causada por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* está causada por al menos un patógeno seleccionado del grupo que consiste en:

virus de la diarrea Bovina (BVDV), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV), Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, Mannheimia haemolytica (antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (Histophilus ovis y Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente C. fetus intestinalis), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona* y *Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella melitensis, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis*, Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., *Tritrichomonas foetus*, *Trichophyton verrucosum*, Trichophyton mentagrophytes, *Trichophyton sarkisovii*, Neospora caninum

(antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) y combinaciones de los mismos.

17. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 16, en el que el componente o componentes inmunológicamente activos adicionales es o son un antígeno o antígenos de uno o más de los patógenos seleccionados del grupo que consiste en:

virus de la diarrea Bovina (BVDV), Virus Parainfluenza-3 (PI-3), virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV), Herpesvirus Bovino (BHV), Rotavirus Bovino (BRV), Enterovirus Bovino (BEV), Coronavirus Bovino (BCV), Rabia Bovina (BR), Parvovirus Bovino (BPV), Adenovirus, Astrovirus, Mannheimia haemolytica(antiguamente *Pasteurella haemolytica*), *Pasteurella multocida, Haemophilus somnus* (Histophilus ovis y Haemophilus agni), Actinomyces (Corynebacterium), *Actinomyces pyogenes, Chlamydia psittaci, Campylobacter fetus venerealis* y *Campylobacter fetus fetus* (antiguamente C. fetus intestinalis), *Leptospira interrogans, Leptospira pomona* y *Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa, Leptospira hardjo* (*Leptospira hardjoprajitno* y *Leptospira hardjo-bovis*), *Brucella abortus, Brucella suis* y *Brucella melitensis, Listeria monocytogenes, Chlamydia psittaci, Clostridium chauvoei, Clostridium septicum, Clostridium haemolyticum, Clostridium novyi, Clostridium sordellii, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Moraxella bovis*, Klebsiella spp, *Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium; Salmonella newport, Mycobacterium avium paratuberculosis, Cryptsporidium parvum, Cryptsporidium hominis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis*, Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, Mycoplasma spp, *Mycoplasma dispar* y Ureaplasma spp., Tritrichomonas foetus, Trichophyton verrucosum, Trichophyton mentagrophytes, *Trichophyton sarkisovii*, Neospora caninum (antiguamente *Toxoplasma gondii*), *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*, *Dictyocaulus viviparous* (enfermedad por vermes pulmonares) y combinaciones de los mismos.

18. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 17, en el que el antígeno de *M. bovis* y el componente o componentes inmunológicamente activos adicionales se administran por separado.

19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en el que la coadministración separada del antígeno de *M. bovis* y el componente o componentes inmunológicamente activos adicionales se produce en un intervalo de 2 días.

20. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 19, en el que los dos o más antígenos que comprenden un antígeno de *M. bovis* y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* se formulan como una vacuna de combinación de dosis fija.

21. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 19, en el que los dos o más antígenos que comprenden un antígeno de *M. bovis* y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* se administran a dicho ganado en una sola dosis.

22. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 21, en el que dicha administración es eficaz en la disminución o reducción de los signos de una infección por *M. bovis*.

23. Una combinación de un antígeno de *M. bovis* y uno o más componentes inmunológicamente activos adicionales eficaces para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones causadas por un patógeno relevante de ganado adicional distinto de *M. bovis* para el uso como un medicamento.

Figura 1:

Frecuencia de Recuperación de Cultivo a partir de Muestras Nasales, de Tonsila y Pulmón

(Días 0, 14, 28, 35 y Post)

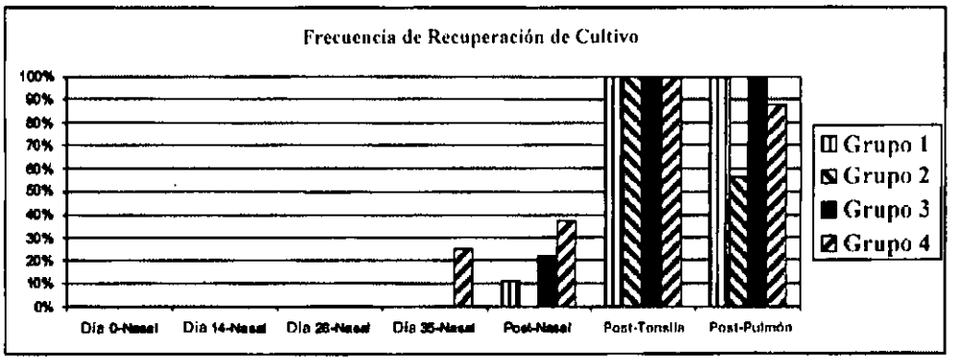
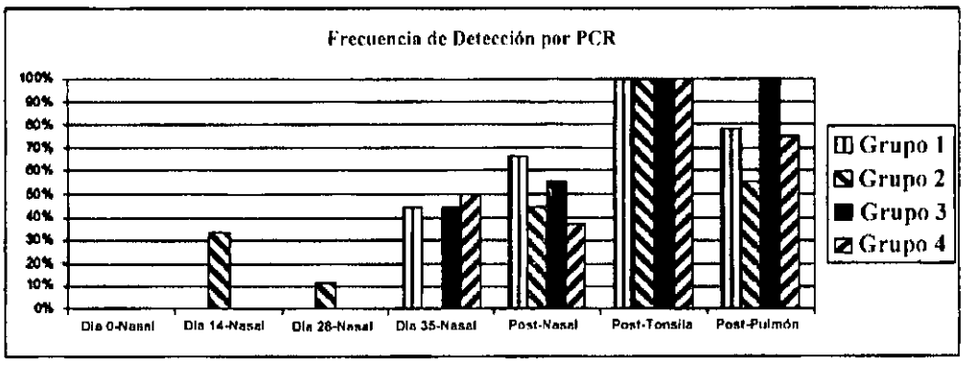


Figura 2:

Frecuencia de Detección por PCR a partir de Muestras Nasales, de Tonsila y Pulmón

(Días 0, 14, 28, 35 y Post)

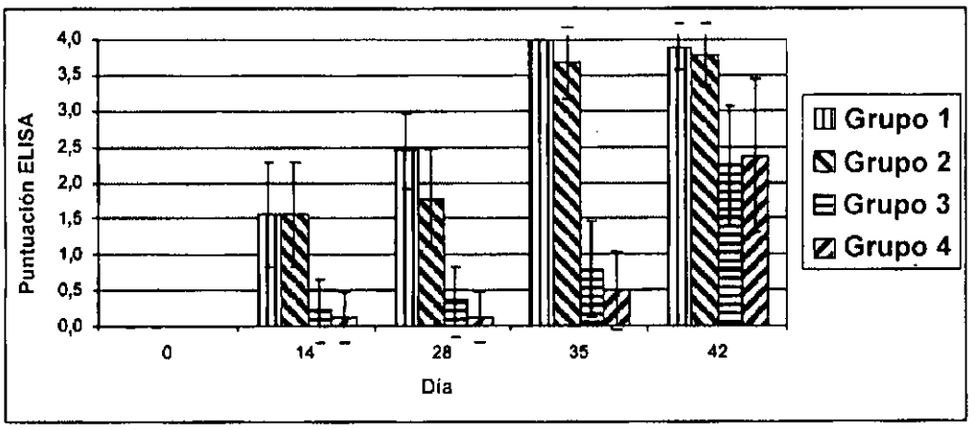


Grupo 1 = Vacuna/Alta Exposición Respiratoria; 2 = Vacuna/Baja Exposición Respiratoria; 3 = Sin vacuna/Alta Exposición Respiratoria; 4 = Sin Vacuna/Baja Exposición Respiratoria

Figura 3:

Puntuación Promedia de Grupo para Anticuerpos Específicos de *M. bovis* a partir de Muestras de Suero

(Días 0, 14, 28, 35 y 42)



Grupo 1 = Vacuna/Alto Volumen de Exposición Respiratoria; 2 = Vacuna/Baja Exposición Respiratoria; 3 = Sin vacuna/ Alto Volumen de Exposición Respiratoria; 4 = Sin vacuna/Baja Exposición Respiratoria

Figura 4:

Comparación de Serología para Grupo con Vacuna Viva I, II, III y Sin Vacuna (SC+IN solamente)

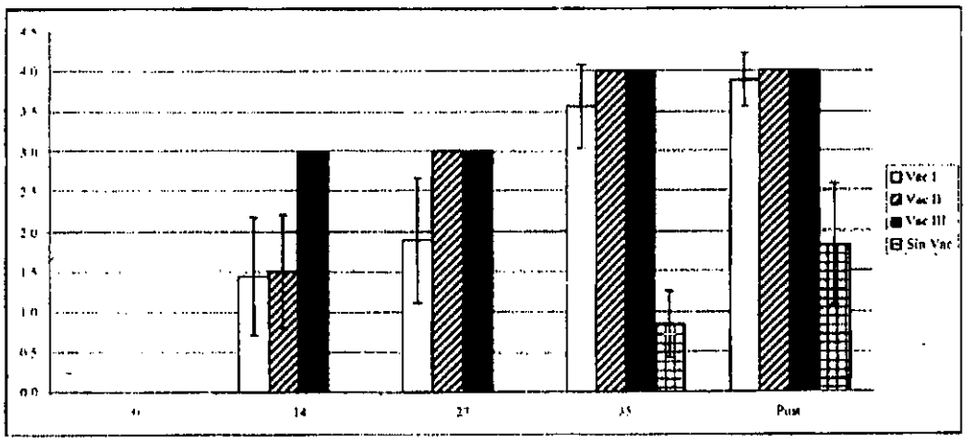
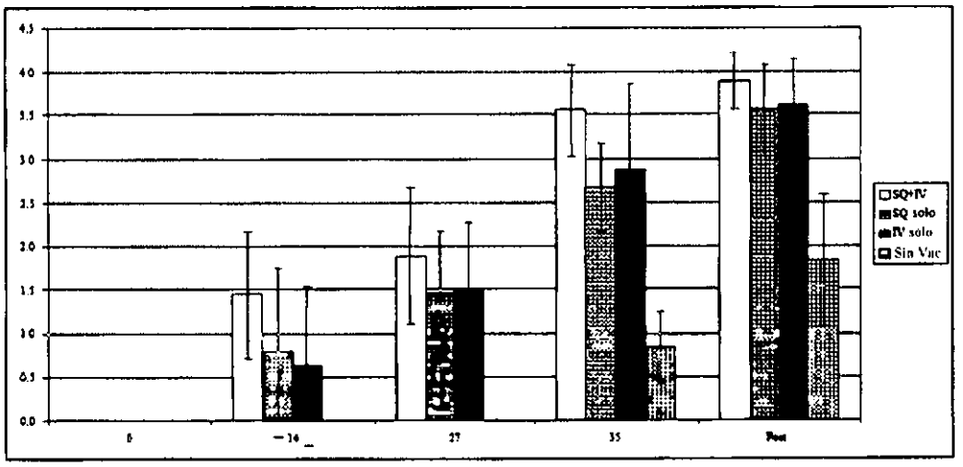


Figura 5:

Comparación de Serología para Vacuna Viva I usando Diversas Vías de Administración



PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2009/061610

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

MORRISON, Joyce
Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.
2621 North Belt Highway
St. Joseph, Missouri 64506-2002
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

of mailing *(day/month/year)* 19 January 2011 (19.01.2011)	
Applicant's or agent's file reference 10-0116-PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2009/061610	International filing date *(day/month/year)* 22 October 2009 (22.10.2009)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
KNITTEL, Jeffrey BECK, Michael HAYES, Phillip Wayne	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:
the order of the applicant and inventors has been changed as follows: BECK, Michael; HAYES, Phillip Wayne; KNITTEL, Jeffrey

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 89 65	Authorized officer Bai Lingfei e-mail pt02.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 02

Form PCT/IB/306 (January 2009) 1/EQUEHLOQ0

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing *(day/month/year)* see form PCT/ISA/210 (second sheet)	
Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220	**FOR FURTHER ACTION** See paragraph 2 below
International application No. PCT/US2009/061610	International filing date *(day/month/year)* 22.10.2009
Priority date *(day/month/year)* 31.10.2008	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC INV. A61K39/02 C12N1/36 ADD. A61P31/04	
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.	

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notifed the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:	Date of completion of this opinion	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	see form PCT/ISA/210	Hermann, Patrice Telephone No. +49 89 2399-7109

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2009/061610

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

   ☒ the international application in the language in which it was filed

   ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).

2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

   a. type of material:

      ☒ a sequence listing

      ☐ table(s) related to the sequence listing

   b. format of material:

      ☐ on paper

      ☒ in electronic form

   c. time of filing/furnishing:

      ☒ contained in the international application as filed.

      ☐ filed together with the international application in electronic form.

      ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43*bis*.1 and 64.1) is the claimed priority date.

2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43*bis*.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. Additional observations, if necessary:

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2009/061610

Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	3-5, 12-14, 18-19
	No:	Claims	1-2, 6-11, 15-17, 20-23
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-23
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-23
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)

see form 210

Re Item I

Basis of the report

Sequence listing pages 1-2 are also included in the basis of this written opinion.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1 **Reference is made to the following documents:**

D1: WO-A-2009/058833

D2: WO-A-03/004052

D3: US-A-2005/0053627

2 Document D2 already discloses the combination of antigens from *Mycoplasma bovis* with antigens from other infectious agents for the provision of vaccine composition for the treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infection (cf. D2 abstract, p. 2 lines 6-13, p. 6 line 33 - p. 7 line 2 and claims). Document D2 anticipates therefore the subject-matter of present claims 1-2, 6-11, 15-17 and 20-23 contrary to the requirements of Articles 33(1) and 33(2) PCT.

3 Dependent claims 3-5, 12-14, 18-19 do not appear to contain any additional features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the EPC with respect to inventive step (Articles 33(1) and 33(3) PCT) since these additional features appear to be conventional and do not appear to result in any unexpected effect (Articles 33 (1) and 33(3) PCT).

In that regard it is important to note that none of the experimental data provided in the description as filed pertains to the use of a vaccine composition as claimed. Therefore it is at present impossible to ascertain whether the problem to be solved, i.e. the provision of a treatment and/or prophylaxis of cattle against microbiological infection, is indeed solved over the entire claimed scope and/or if a surprising effect has indeed been achieved when compared to results provided in the prior-art documents.

Furthermore, since vaccine composition comprising *Mycoplasma bovis* antigens together with other infectious agent antigens are known in the art, in the absence of comparative data showing that a surprising effect is achieved by using vaccine compositions comprising bacteria strains PTA-8694,

PTA-8695 or PTA-8696, the use of said specific strains is considered to represent an alternative which cannot serve as a basis for inventive step acknowledgement.

Re Item VI

Certain documents cited

Certain published documents

Application No Patent No	Publication date *(day/month/year)*	Filing date *(day/month/year)*	Priority date *(valid claim)* *(day/month/year)*
WO-A-2009/058833	07.05.2009	29.10.2008	29.10.2007

Document D1 (WO-A-2009/058833) cited in the international search report is not considered to be part of the prior art for the purposes of Articles 33(2) and (3) PCT. However, should the present application enter the national or regional phase, and depending on the validity of the presently claimed priority, the above document could become relevant to the question of novelty [and inventive step].

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/061610

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/02 C12N1/36
ADD. A61P31/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2009/058833 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; BECK MICHAEL [US]; KNITTEL JEFFREY []) 7 May 2009 (2009-05-07) the whole document	1-23
X	WO 03/004052 A1 (PFIZER PROD INC [US]; KEICH ROBIN LEE [US]; MCGAVIN DAVID ROSS [US]; Y) 16 January 2003 (2003-01-16) the whole document	1-23
A	US 2005/053627 A1 (LEONARD JOAN D [US] ET AL) 10 March 2005 (2005-03-10) the whole document	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 January 2010	15/01/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Hermann, Patrice

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/061610

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009058833 A2	07-05-2009	US 2009130148 A1	21-05-2009
		UY 31437 A1	29-05-2009
WO 03004052 A1	16-01-2003	BG 108496 A	28-02-2005
		BR 0210798 A	23-05-2006
		CA 2452580 A1	16-01-2003
		CN 1522152 A	18-08-2004
		CZ 20033465 A3	15-12-2004
		EP 1401488 A1	31-03-2004
		HR 20031078 A2	31-08-2005
		IS 7078 A	15-12-2003
		JP 2004536106 T	02-12-2004
		MA 27048 A1	20-12-2004
		MX PA03011815 A	02-04-2004
		OA 12640 A	15-06-2006
		PA 8549801 A1	17-09-2003
		SK 15802003 A3	03-01-2005
		US 2003147914 A1	07-08-2003
		UY 27365 A1	30-04-2003
		YU 102103 A	25-05-2006
		ZA 200309747 A	27-05-2005
US 2005053627 A1	10-03-2005	US 2007077260 A1	05-04-2007
		US 2009220550 A1	03-09-2009
		US 2008226671 A1	18-09-2008

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	**FOR FURTHER ACTION**	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
10-0116-PCT		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/US2009/061610	22/10/2009	31/10/2008
Applicant		
BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**
   a. With regard to the **language,** the international search was carried out on the basis of:
      [X] the international application in the language in which it was filed
      [ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   b. [ ] This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).
   c. [X] With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. [ ] **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. [ ] **Unity of Invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title,**
   [ ] the text is approved as submitted by the applicant
   [X] the text has been established by this Authority to read as follows:

   USE OF VARIOUS ANTIGENS INCLUDING ANTIGENS FROM MYCOPLASMA BOVIS IN MULTIVALENT VACCINE COMPOSITION.

5. With regard to the **abstract,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings,**
   a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
      [ ] as suggested by the applicant
      [ ] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
      [ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
   b. [X] none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/061610

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

   a. type of material

   [X] a sequence listing

   [ ] table(s) related to the sequence listing

   b. format of material

   [ ] on paper

   [X] in electronic form

   c. time of filing/furnishing

   [X] contained in the international application as filed

   [ ] filed together with the international application in electronic form

   [ ] furnished subsequently to this Authority for the purpose of search

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-058044- -00000-0000

Fecha: 2011-05-11 17:00:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 160

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ **MODELO DE UTILIDAD PCT** ☐ **Art.33 Decisión 486/00, Circular Única**

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☑ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☑ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA.

REFERENCIA	Radicación No.	11 058044
	Solicitud internacional	PCT/US2009/61610
	Fecha inicio fase nacional	31/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	0 0 9 7 4 5

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se consideraró abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha [illegible] JUN 2011
adpa11

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA.

REFERENCIA	Radicación No.	11 058044
	Solicitud internacional	PCT/US2009/61610
	Fecha inicio fase nacional	31/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	0 0 9 7 4 6

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 17 JUN. 2011
adpa11