VACUNA CONTRA VIRUS DE BRONQUITIS INFECCIOSA

LISTADO DE SECUENCIAS

[0001] Esta solicitud contiene un listado de secuencias de acuerdo con 37 C.F.R. 1.821 - 1.825. El listado de secuencias que acompaña esta solicitud se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] El virus de la bronquitis infecciosa del coronavirus aviar (IBV, por sus siglas en inglés) es el prototipo gammacoronavirus de la familia Coronaviridae, orden Nidovirales. El virus de la bronquitis infecciosa infecta principalmente el epitelio respiratorio superior de los pollos, causando una enfermedad respiratoria, comúnmente complicada por patógenos bacterianos secundarios (Cook et al., Avian Pathol., 41: 239-250). Algunas cepas de IBV también afectan a los túbulos renales, oviductos y partes del tracto gastrointestinal, dando lugar a lesiones patológicas y síntomas clínicos en estos sistemas de órganos. El virus tiene una presencia mundial tanto en el pollo comercial como en el pollo casero. Debido a su alta variabilidad genómica, el IBV es discriminado en una amplia variedad de geno-, sero- y protectotipos. El IBV se considera actualmente como uno de los patógenos virales más importantes desde el punto de vista económico en la industria avícola.

[0003] El virus de la bronquitis infecciosa es un virus envuelto con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de 27,6 kb (Cavanagh 2007 Vet. Res. 38: 281-297). Los dos primeros tercios del genoma viral comprenden una región de codificación grande (también denominada gen 1), dividida en dos marcos de lectura abiertos 1a y 1b, que codifican para 15 proteínas no estructurales implicadas en la replicación, edición y transcripción del ARN. El último tercio del genoma viral codifica proteínas estructurales: la proteína spike (S, codificada por el gen 2), la proteína de la envoltura (E, codificada por el gen 3c), la proteína de membrana (M, codificada por el gen 4) y la proteína nucleocápside (N, codificada por el gen 6). Las proteínas S, E y M forman parte de la envoltura viral mientras que la proteína N forma junto con el ARN viral el núcleo de la ribonucleoproteína. La proteína spike es una proteína transmembrana dimérica o trimérica, que se escinde proteolíticamente en dos subunidades, S1 y S2. El dominio S1 fuertemente glicosilado forma la cabeza de la proteína spike y contiene el dominio de unión al receptor que interacciona con ácidos siálicos unidos por 2,3 en la superficie de la célula huésped (Promkuntod et al. 2014. Virology, 448: 26-32). El dominio S2 contiene

la parte restante del ectodominio (el “tallo”), el dominio transmembrana y el endodominio citoplasmático localizado. La proteína spike de coronavirus determina principalmente el tropismo de la especie huésped (Kuo et al., 2000, J. Virol., 74: 1393 - 1406).

[0004] Entre los genes estructurales del coronavirus intercalados hay un número variable de genes accesorios específicos de grupo localizados (Liu et al. 2014. Antiviral Res. 109: 97-109). La mayoría de estos genes no son estructurales, y su expresión no es esencial para la replicación del virus en los huevos de pollo embrionados o en el cultivo celular. El genoma del IBV contiene los genes accesorios 3 y 5, que codifican las proteínas 3a y 3b, y 5a y 5b, respectivamente (Britton et al., 2006; Adv Exp Med Biol., 581: 363-8). Además, hay un marco de lectura abierto situado en la región intergénica (IR) entre los genes 4 y 5 (Bentley et al., 2013, J. Virol, 87: 2128-2136).

[0005] El gen 3 es funcionalmente tricistrónico, que codifica tres proteínas, 3a, 3b y 3c. Esta última es la proteína E estructural del IBV. El gen 5 es funcionalmente bicistrónico y codifica dos proteínas, 5a y 5b (Britton et al. 2006, Adv Exp Med Biol.; 581: 363-8). Se descubrió recientemente que las proteínas IBV 3a y 3b accesorias indujeron una activación retardada de la respuesta de interferón de tipo I *in vitro*, estando implicada adicionalmente la proteína 3a en la resistencia de IBV al estado antiviral celular inducido por IFN (Kint et al., 2015: J. Virol, 89: 1156 - 1167, Kint et al., 2015: J. Virol. Doi: JVI.01057 - 15). La proteína accesoria 5b contribuye a que el huésped se aísle, inhibiendo por lo tanto entre otros la traducción del IFN de tipo I (Kint, PhD thesis 2015).

[0006] Britton et al. 2006 (Adv Exp Med Biol.; 581: 363-8) han suprimido la expresión de las proteínas 3a, 3b, 5a y 5b del IBV y han demostrado que ninguno de los productos génicos es esencial para la replicación *per se,* y que pueden considerarse como proteínas accesorias. Además, Bentley et al. 2013 (PLOS One. 8 (6): e67875) describen la sustitución de ORFs 3a y 3b con hRluc y la sustitución de Gene 5 por una versión IBV codón-optimizada del hRluc. Sin embargo, no se ha demostrado ni se ha sugerido que la sustitución del gen 3a y 3b o del gen 5 condujera a un fenotipo diferente (tal como la atenuación) como al IBV de tipo salvaje. Más bien, Bentley et al. se centran en sí o no los genes marcadores pueden ser introducidos en el genoma de IBV. A este respecto, Bentley et al. describen que la estabilidad del IBV recombinante varía dependiendo de la región del genoma que está siendo reemplazada.

[0007] A la fecha las cepas de la vacuna de IBV vivas-atenuadas más ampliamente utilizadas se desarrollaron en la década de 1960 en los Países Bajos, mediante el paso en serie de una cepa de IBV del tipo Massachusetts (Bijlenga et al., 2004, Avian Pathol., 33: 550-557). Durante el pasaje, el virus se adaptó a los huevos embrionados, con

enanas embriónicas observadas hasta el pasaje N.º 30, y mortalidad embrionaria en los pasajes más altos. Después de 51 pasajes, el virus causó la muerte embrionaria dentro de las 48 hpi, pero el paso 52 (llamado H52) era todavía demasiado virulento para los pollos. Después de otros 68 pasajes el virus (conocido como H120) fue suficientemente atenuado como para ser seguro para ser usado en pollos jóvenes mientras que todavía inducían una respuesta inmune protectora. Sin embargo, la aparición de nuevos serotipos de IBV en la década de 1970, para los cuales las vacunas similares a la Massachusetts tradicional no protegieron suficientemente, impulsó el desarrollo de nuevas vacunas vivas atenuadas y la investigación de otras vacunas de tipo que, potencialmente inducían inmunidad protectora contra múltiples serotipos (Cook et al. 2012. Avian Pathol. 41: 239 - 250). Hoy en día, las vacunas de IBV más ampliamente utilizadas siguen todavía atenuadas por el pasaje en serie de huevos embrionados, lo cual es trabajoso y requiere mucho tiempo. Además, este tipo de atenuación es aleatoria y el resultado es bastante impredecible.

[0008] Por lo tanto, se necesitan otros métodos que el paso en serie para desarrollar vacunas IBV. Varios grupos de investigación y sistemas desarrollados independientemente para manipular el genoma IBV mediante técnicas recombinantes (Youn, et al. 2005. Virología 332: 206-215; Zhou et al. 2013. Vet Microbiol. 162: 53-61.). Sin embargo, todos estos sistemas de genética inversa se basan en la cepa Beaudette de IBV adaptada al cultivo celular no patógena, o la cepa H120 de vacuna de IBV altamente atenuada. Dado que estas cepas de IBV son no virulentas (Bijlenga et al., 2004: 33-55-5 550), la inmunidad protectora sólo puede inducirse mediante la introducción de factores de virulencia de cepas patógenas de IBV. Este enfoque puede causar problemas de seguridad, y aún no ha llevado al registro de una vacuna recombinante IBV.

[0009] Por lo tanto, existe la necesidad de nuevas y altamente eficaces vacunas IBV y estrategias alternativas para atenuar el IBV, respectivamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0010] Antes de que se describan los aspectos de la presente invención, debe tenerse en cuenta que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “uno/a” y “el/la” incluyen referencia plural a menos que el contexto lo indique claramente de otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a “un antígeno” incluye una pluralidad de antígenos, la referencia al “virus” es una referencia a uno o más virus y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente. A menos que se defina lo contrario, todos los

términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen los mismos significados que comúnmente entienden los expertos en la técnica a los que pertenece esta invención. Aunque se pueden usar en la práctica o pruebas de la presente invención cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente invención, se describen ahora los métodos, dispositivos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento se incorporan en el presente documento como referencia con el fin de describir y revelar las líneas celulares, vectores y metodologías como se informan en las publicaciones que pueden ser utilizadas en relación con la invención. Ninguna de las presentes conclusiones debe interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a anticipar tal divulgación en virtud de la invención anterior.

Composición de material

[0011] La presente invención resuelve los problemas inherentes del estado de la técnica y proporciona un avance distintivo en el estado de la técnica.

[0012] En general, la presente invención proporciona un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o
- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado.

[0013] De esta manera, la presente invención también proporciona un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[0014] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados.

[0015] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[0016] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[0017] Además, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o

- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado.

[0018] De esta manera, la presente invención también proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[0019] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a está activado. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a está inactivado ha demostrado ser segura y eficaz.

[0020] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b está activado. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b está activado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0021] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a está activado. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a está activado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0022] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5b está activado. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5b está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0023] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados ha demostrado ser segura y eficaz.

[0024] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica

que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados ha demostrado ser segura y eficaz.

[0025] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 5a están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a o el ORF 5a está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0026] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 5b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a o el ORF 5b está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0027] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b y el ORF 5a están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b o el ORF 5a está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0028] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b y el ORF 5b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b o el ORF 5b está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0029] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a o el ORF 3b o el ORF 5a está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0030] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a o el ORF 3b o el ORF 5b está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0031] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b y el ORF 3a están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición

inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a o el ORF 5b o el ORF 3a está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0032] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b y el ORF 3b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a o el ORF 5b o el ORF 3b está inactivado, ha demostrado ser segura y eficaz.

[0033] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados. Como se muestra en los ejemplos, la composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados ha demostrado ser segura y eficaz.

[0034] Las vacunas IBV del estado de la técnica tienen varias desventajas. Las vacunas inactivadas en general sólo dan una respuesta inmune humoral (pero una respuesta inmune celular limitada) y las vacunas de refuerzo son en general necesarias cuando se usan vacunas de IBV inactivadas. Por esa razón las vacunas vivas modificadas de IBV (que inducen una respuesta humoral y una respuesta inmune celular) en general serían la opción preferida. Sin embargo, las vacunas vivas de IBV modificadas desarrolladas hasta ahora tienen diferentes inconvenientes. La cepa IBV de Beaudette (una cepa de IBV no patógena adaptada al cultivo celular no patogénico) está demasiado atenuada. Otras cepas tales como H52 pueden no estar suficientemente atenuadas, resultando un daño del tracto respiratorio después de la vacunación. Además, las vacunas vivas de IBV modificadas más ampliamente utilizadas han sido atenuadas por su paso seriado en huevos embrionados, lo cual es laborioso y consume tiempo. Además, este tipo de atenuación es aleatorio y el resultado es bastante impredecible. Existe el riesgo de reversión a la virulencia mientras se pasa en pollos. Por lo tanto, existe la necesidad de nuevas vacunas vivas de IBV modificadas recombinantes que sean seguras y eficaces.

[0035] Además, no se esperaba que los mutantes dobles (inactivación del ORF 3a y del ORF 3b, inactivación del ORF 5a y del ORF 5b) todavía no estuvieran sobreatenuados porque si se introducen muchas eliminaciones/inactivaciones, un virus puede llegar a ser sobreatenuado, lo que resulta en una capacidad insuficiente para inducir una respuesta inmune protectora en el huésped vacunado. Este fenómeno que también se llama “sobreatenuación” se ha descrito en la literatura ejemplar en Rennick et al 2015 (J

Virol. 2015 Feb; 89 (4): 2192-200) para un mutante de virus del sarampión que indujo una baja respuesta inmune. Otro ejemplo fue dado por Chen et al 2016 (Arch Virol., 2016, 161: 77-86) en donde un virus del síndrome reproductivo y respiratorio de porcino se hizo pasar con demasiada frecuencia en cultivos celulares, lo que ha conducido a una sobreactivación indicada por una inmunidad demasiado baja en los porcinos. Manservigi et al., 2010 (Open Virol J. 2010; 4: 123-156) plantearon la preocupación de que muchas eliminaciones en el genoma de un virus herpes simplex 1 podrían resultar en una atenuación excesiva que niega su valor. Por lo tanto, fue sorprendente que los mutantes dobles (inactivación del ORF 3a y del ORF 3b; inactivación del ORF 5a y del ORF 5b) fueran todavía capaces de inducir una respuesta inmune protectora en comparación con los mutantes individuales (inactivación del ORF 3a; inactivación del ORF 3b; inactivación del ORF 5a; inactivación de ORF 5b). Aún más sorprendente, el mutante de eliminación que tiene una inactivación en la totalidad de los cuatro ORF (inactivación del ORF 3a y del ORF 3b y del ORF 5a y del ORF 5b) no mostró un fenotipo sobreatenuado.

[0036] La expresión “composición inmunogénica” se refiere a una composición que comprende al menos un antígeno, que suscita una respuesta inmunológica en el huésped al que se administra la composición inmunogénica. Dicha respuesta inmunológica puede ser una respuesta inmune celular y/o mediada por anticuerpos a la composición inmunogénica de la invención. Es preferible que la composición inmunogénica induzca una respuesta inmune, y es más preferible que confiera una inmunidad protectora contra uno o más de los síntomas de una infección por IBV. El huésped también se describe como “sujeto”. Es preferible que cualquiera de los huéspedes o sujetos descritos o mencionados en la presente sea aviario o un ave de corral.

[0037] Usualmente, una “respuesta inmunológica” incluye, entre otros, uno o más de los siguientes efectos: la producción o activación de anticuerpos, células B, células T helper, células T supresoras, y/o células T citotóxicas y/o gamma-delta, dirigidas específicamente a uno o más antígenos incluidos en la composición inmunogénica de la invención. Es preferible que el huésped presente sea una respuesta inmunológica protectora o una respuesta terapéutica.

[0038] Una “respuesta inmunológica protectora” o “inmunidad protectora” se demostrará mediante sea una reducción o ausencia de síntomas clínicos normalmente mostrados por un huésped infectado, un tiempo de recuperación más rápido y/o una menor duración de la infectividad o un menor título de agentes patógenos en los tejidos o el

fluidos corporales o excreciones del huésped infectado.

[0039] En el caso en que el huésped presente una respuesta inmunológica protectora tal que la resistencia a una nueva infección se incremente y/o se reduzca la gravedad clínica de la enfermedad, la composición inmunogénica se describe como una “vacuna”.

[0040] El término “IBV” se refiere al virus de la bronquitis infecciosa que es bien conocido por el experto en la técnica. El término “IBV” abarca todas las cepas, genotipos, proteotipos, y serotipos de virus de la bronquitis infecciosa.

[0041] Los términos “ORF 3a” y “ORF 3b” se refieren a los marcos de lectura abiertos (ORF) 3a y 3b codificados por el gen 3 del IBV. El gen 3 del IBV es funcionalmente tricistrónico y codifica tres proteínas 3a, 3b, y 3c. La proteína 3c también se denomina proteína E. El ORF 3a tiene una longitud de 174 nucleótidos desde el codón de inicio (AUG) hasta el codón de parada (UAA), como se muestra en SEQ ID NO: 29. Sin embargo, el primer nucleótido (A) del AUG del ORF 3a es el último nucleótido del codón de parada (A) del ORF S (spike) y, por lo tanto, el ORF 3a se superpone con el ORF S en un nucleótido. Además, el último nucleótido del codón de parada (A) del ORF 3a es el primer nucleótido (A) del AUG del ORF 3b y, por lo tanto, el ORF 3a se superpone con el ORF 3b en un nucleótido. El ORF 3b tiene una longitud de 195 nucleótidos desde el codón de inicio (AUG) al codón de parada (UAA) como se muestra en la SEQ ID NO: 30. Sin embargo, el ORF 3b se superpone con el ORF 3c en 20 nucleótidos.

[0042] Los términos “ORF 5a” y “ORF 5b” se refieren a los marcos de lectura abiertos (ORF) 5a y 5b codificados por el Gen 5 del IBV. El gen 5 es funcionalmente bicistrónico y codifica dos proteínas, 5a y 5b. El ORF 5a tiene una longitud de 198 nucleótidos desde el codón de inicio (AUG) al codón de parada (UGA) como se muestra en la SEQ ID NO: 31. Sin embargo, el ORF 5a se superpone con el ORF 5b en 4 nucleótidos. El ORF 5b tiene una longitud de 249 nucleótidos desde el codón de inicio (AUG) al codón de parada (UAG), como se muestra en la SEQ ID NO: 32. Sin embargo, el ORF 5b se superpone con el ORF N en 58 nucleótidos.

[0043] El término “inactivado” se refiere a una mutación dentro del ORF 3a, ORF 3b, ORF 5a, y ORF 5b. El término “mutación” comprende modificaciones en el ARN viral que codifica dichas proteínas que conduce a una alteración de dicha proteína codificada. (Sustitución de uno o varios nucleótidos/pares de bases), eliminaciones (eliminación de uno, varios o todos los pares de nucleótidos/bases), inserciones y/o (adición de uno o varios nucleótidos/pares de bases). Por lo tanto, el término “mutación” comprende mutaciones que incluyen, entre otros, mutaciones puntuales (mutaciones de un solo nucleótido) o mutaciones más grandes en donde, por ejemplo, partes de los nucleótidos

modificantes (y/o que no codifican)/pares de base están eliminados (eliminación parcial) o todos los nucleótidos modificantes (y/o que no codifican/pares de bases son nucleótidos eliminados (eliminación completa), sustituidos y/o modificantes adicionales (y/o que no codifican/ pares de bases están insertados. Debe entenderse que el término "mutación" comprende mutaciones dentro de los nucleótidos modificantes/pares de bases, mutaciones dentro de los nucleótidos no modificantes/pares de bases tales como dentro de los nucleótidos reguladores/pares de bases y mutaciones dentro tanto de los nucleótidos modificantes/pares de bases y nucleótidos no modificantes/ pares de bases. Además, el término "mutación" también comprende la inversión de nucleótidos/pares de bases (que codifican y/o no modificantes) tales como la inversión de una parte o de la totalidad de los nucleótidos modificantes/pares de base o la inversión de una parte o de la totalidad de los nucleótidos no modificantes/pares de bases o una combinación de ellos. Además, el término "mutación" también comprende la reubicación de nucleótidos/pares de bases (que codifican y/o codifican) tales como la reubicación de una parte o de la totalidad de los nucleótidos/pares de base no modificantes o una combinación de ellos. Tal como se usa en la presente, la mutación puede ser una mutación única o varias mutaciones; por lo tanto, a menudo el término "mutación(es)" se usa y se refiere tanto a una mutación única como a varias mutaciones. Dichas mutaciones pueden dar como resultado una proteína expresada modificada debido al cambio en la secuencia de codificación. Sin embargo, el término "mutación" es bien conocido por el experto en la técnica y la persona experta en la técnica puede generar mutaciones sin más complicaciones.

[0044] Es preferible que la inactivación del ORF 3b o del ORF 3a y del ORF 3b no afecte a la expresión del ORF 3c y/o tampoco la actividad de la proteína E (codificada por el ORF 3c). Por lo tanto, se reduce (o se elimina) la expresión del ORF 3b o del ORF 3a y del ORF 3b (proteína ARN 3b o ARN 3a y/o 3b y/o proteína 3a y proteína 3b) y/o la actividad de la proteína, mientras que la expresión del ORF 3c y/o la actividad de la proteína E no se ve afectada. Por lo tanto, debe entenderse que las eliminaciones, truncamientos, sustituciones, inserciones, inversiones o reubicaciones dentro de la región de solapamiento del codón de inicio (AUG) del ORF 3c y el codón de parada (UAA) del ORF 3b están abarcados siempre y cuando la expresión del ORF 3c y/o la actividad de la proteína E no se vea afectada.

[0045] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF 3c y/o tampoco la actividad de la proteína E. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición

inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 3a está inactivado; o
- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde dicha inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF 3c y/o tampoco afecta la actividad de la proteína E.

[0046] Es preferible que la inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b no afecte la expresión del ORF S y/o tampoco afecta la actividad de la proteína S como indica la respuesta inmune protectora que se basa únicamente en la proteína S del IBV. Por lo tanto, la expresión del ORF 3a o del ORF 3a y/o del ORF 3b (ARN 3a o ARN 3a y/o 3b y/o proteína 3a y proteína 3b) y/o la actividad de la proteína se reduce (o se elimina), mientras que la expresión del ORF S y/o la actividad de la proteína S no se ve afectada. Es preferible que la inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b deje intacto el codón de terminación (UAA) de la proteína spike (S) que se superpone con el codón de inicio (AUG) del ORF 3a. Esto puede hacerse no inactivando el A del AUG del codón de inicio del ORF 3a o inactivando el ORF 3a y el ORF 3b de manera que el primer nucleótido 3' de los dos últimos nucleótidos (UA) del ORF S sea un A o G para tener un codón de terminación (UAA o UAG). Como alternativa, es posible generar un nuevo codón de terminación en el ORF S mediante eliminaciones, truncamientos, sustituciones, inserciones, inversiones o reubicaciones para leer UAA, UAG o UGA (codón de parada). Por lo tanto, debe entenderse que las eliminaciones, truncamientos, sustituciones, inserciones, inversiones o reubicaciones dentro de la región de solapamiento del codón de inicio (AUG) del ORF 3a y del codón de parada (UAA) del ORF S están abarcados siempre y cuando la actividad y/o expresión del ORF S no se vea afectada.

[0047] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF S y/o tampoco la actividad de la proteína S. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 3a está inactivado; o
- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde dicha inactivación del ORF 3a o del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF S y/o tampoco afecta la actividad de la proteína S.

[0048] Es preferible que la inactivación del ORF 5b o del ORF 5a y del ORF 5b no afecte

la expresión del ORF N ni tampoco la actividad de la proteína N (codificada por el ORF N). Por lo tanto, la expresión del ORF 5b o el ORF 5a y del ORF 5b (ARN 5b o ARN 5a y 5b y/o la proteína 5a y la proteína 5b) y/o la actividad de la proteína se reduce (o se elimina) mientras que la expresión del ORF N y/o la actividad de la proteína N no se ve afectada. Es preferible que la inactivación del ORF 5b o del ORF 5a y del ORF 5b deje el codón de inicio (AUG) de la proteína N intacto y por lo tanto también el ORF N. Sin embargo, debe entenderse que las eliminaciones, truncaciones, sustituciones, inserciones, inversiones, o reubicaciones dentro de la región de superposición del codón de inicio (AUG) del ORF N y del codón de parada (UAG) del ORF 5b están abarcados siempre y cuando la expresión del ORF N y/o la actividad de la proteína N no se vea afectada.

[0049] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación del ORF 5b o del ORF 5a y del ORF 5b no afecta la expresión del ORF N ni tampoco la actividad de la proteína N. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5b está inactivado; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados

en donde dicha inactivación del ORF 5b o del ORF 5a y del ORF 5b no afecta la expresión del ORF N y/o no afecta la actividad de la proteína.

[0050] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación es una eliminación completo parcial del ORF 3a y una eliminación parcial del ORF 3b y/o una eliminación parcial o completa del ORF 5a y una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación parcial o completa del ORF 3a y una truncación parcial del ORF 3b y/o una truncación parcial o completa del ORF 5a y una truncación parcial del ORF 5b, una inversión completa o parcial del ORF 3a y una inversión parcial del ORF 3b y/o una inversión completa o parcial del ORF 5a y una inversión parcial del ORF 5b, una reubicación completa o parcial del ORF 3a y una reubicación parcial del ORF 3b y/o una reubicación completa o parcial del ORF 5a y una reubicación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y del ORF 3b y/o del ORF 5a y del ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y del ORF 3b y/o del ORF 5a y del ORF 5b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o

- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde dicha inactivación es una eliminación parcial o completa del ORF 3a y una eliminación parcial del ORF 3b y/o una eliminación parcial o completa del ORF 5a y una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación parcial o completa del ORF 3a y una truncación parcial del ORF 3b y/o una truncación parcial o completa del ORF 5a y una truncación parcial del ORF 5b, una inversión completa o parcial del ORF 3a y una inversión parcial del ORF 3b y/o una inversión completa o parcial del ORF 5a y una inversión parcial del ORF 5b, una reubicación completa o parcial del ORF 3a y una reubicación parcial del ORF 3b y/o una reubicación completa o parcial del ORF 5a y una reubicación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y del ORF 3b y/o del ORF 5a y del ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y del ORF 3b y/o del ORF 5a y del ORF 5b.

[0051] El término “inactivado” se refiere a sea una expresión reducida o eliminada de la proteína (y/o ARN) y/o a una actividad reducida de la proteína.

[0052] El término “inactivado” comprende una expresión reducida (o eliminada) del ORF 3a y/o del ORF 3b (del ARN 3a y/o 3b y/o de una proteína 3a y/o de una proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (ARN 5a y/o 5b o proteína 5a y/o proteína 5b). Debe entenderse que una expresión reducida abarca tanto la transcripción reducida de ARN como también la expresión reducida de una proteína. Es preferible que la expresión del ORF 3a y/o del ORF 3b (del mARN 3a y/o de la proteína 3a y/o de la proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (del ARN 5a y/o proteína 5a y/o proteína 5b) esté reducida en el IBV de la presente invención en 5-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, 80-90%, 90-95%, 95-99% o más por ARN y/o proteína A en comparación con la expresión de un virus IBV de tipo salvaje. Es más preferible que la expresión del ORF 3a y/o del ORF 3b (del ARN 3a y/o 3b y/o de la proteína 3a y/o de la proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (del ARN 5a y/o 5b y/o de la proteína 5a y/o de la proteína 5b) esté reducida en el IBV de la presente invención en 50-100%, 60-100%, 70-100% 80-100% o 90-100% por ARN y/o proteína en comparación con la expresión de un virus IBV de tipo salvaje. Es más preferible aún que la expresión del ORF 3a y/o del ORF 3b (del ARN 3a y/o 3b y/o de la proteína 3a y/o de la proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (del ARN 5a y/o 5b y/o de la proteína 5a y/o de la proteína 5b) esté reducida en el IBV de la presente invención en 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% por ARN y/o proteína en comparación con la expresión de un virus IBV de tipo salvaje.

[0053] Es preferible que la expresión del ORF 3a y/o del ORF 3b (ARN 3a y/o 3b y/o proteína 3a y/o proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (ARN 5a y/o 5b y/o de proteína 5a y/o la proteína 5b) esté reducida en el IBV de la presente invención en de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 veces, de aproximadamente 5 a aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 veces, o 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 veces por ARN y/o proteína en comparación con la expresión de un virus IBV de tipo salvaje.

[0054] El término “ARN” se refiere a cualquier ácido ribonucleico. El término abarca tanto ARN mono como ARN bicatenario. El ARN de la presente invención abarca formas genéticamente modificadas de ARN aislado (es decir, aislado de su contexto natural) y genéticamente modificado. Además, comprende también ARN químicamente modificado que incluye ARN modificado naturalmente tal como ARN metilado o modificado artificialmente tal como ARN biotinilado. El término “ARN” también incluye específicamente ARN compuesto de bases distintas de los cuatro nucleótidos/bases biológicamente presentes (adenina, guanina, citosina y uracilo). El ARN de la presente invención se caracteriza porque codificará una proteína tal como se ha mencionado anteriormente (proteína 3a proteína y/o proteína 3b y/o proteína o 5a y/o proteína 5b).

[0055] Las expresiones “ácido nucleico” o “secuencia de ácido nucleico” se refieren a polinucleótidos que incluyen moléculas de ADN, moléculas de ARN, moléculas de ADNc o sus derivados. Las expresiones abarcan tanto polinucleótidos monocatenarios como bicatenarios. El ácido nucleico de la presente invención abarca polinucleótidos aislados (es decir, aislados de su entorno natural) y formas genéticamente modificadas. Además, comprenden también polinucleótidos modificados químicamente que incluyen polinucleótidos modificados naturales tales como polinucleótidos glicosilados o metilados o modificados artificialmente tales como polinucleótidos biotinilados. Además, las expresiones “ácido nucleico” y “polinucleótido” son intercambiables y se refieren a cualquier ácido nucleico. Las expresiones “ácido nucleico” y “polinucleótido” también incluyen específicamente ácidos nucleicos compuestos por bases distintas de las cinco bases de presentación biológica (adenina, guanina, timina, citosina y uracilo).

[0056] Las expresiones “proteína”, “aminoácido” y “polipéptido” se usan de manera intercambiable. El término “proteína” se refiere a una secuencia de aminoácidos compuesta por los aminoácidos que tienen lugar naturalmente, así como derivados de

los mismos. Los aminoácidos naturales son bien conocidos en la técnica y se describen en libros de texto estándar de bioquímica. Dentro de la secuencia de aminoácidos, los aminoácidos están conectados por enlaces peptídicos. Además, los dos extremos de la secuencia de aminoácidos se denominan como: terminal carboxilo (terminal-C) y terminal amino (terminal-N). El término “proteína” abarca proteínas o preparaciones de proteínas esencialmente purificadas que comprenden además otras proteínas. Además, el término también se refiere a fragmentos de proteína. Además, incluye proteínas químicamente modificadas. Tales modificaciones pueden ser modificaciones artificiales o de presentación natural tales como fosforilación, glicosilación, miristilación y similares.

[0057] Los métodos para medir la expresión reducida del ORF 3a y/o del ORF 3b (ARN 3a y/o 3b y/o proteína 3a y/o proteína 3b) y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b (ARN 5a y/o 5b y/o de proteína 5a y/o la proteína 5b) son bien conocidos por el experto en la materia. Tales métodos incluyen, entre otros, RT-PCR, RT-PCR en tiempo real, Northern blots, Western blots, radioinmunoensayo, ELISA, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, hibridación in situ.

[0058] Sin embargo, el término “inactivado” también abarca una actividad reducida (o eliminada) de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b proteína y/o proteína 5a y/o proteína 5b). Es preferible que la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) del IBV de la presente invención se reduzca en un 5-10%, un 10-20%, un 20-30%, un 30-40%, un 40-50%, un 50-60%, un60-70%, un70-80%, un80-90%, un90-95%, un95-99% en comparación con la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) de un virus IBV de tipo salvaje. Es más preferible que la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3 y/o proteína 5a y/o proteína 5b) del IBV de la presente invención se reduzca en un 50-100%, 60-100%, 70-100% 80-100% o 90-100% en comparación con la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) de un virus IBV de tipo salvaje. Es más preferible aun que la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) del IBV de la presente invención se reduzca en un 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o el 100% en comparación con la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) de un virus de IBV de tipo salvaje.

[0059] Es preferible que la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) del IBV de la presente invención se reduzca de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 veces, de aproximadamente 5 a

aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 veces, o 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 en comparación con la actividad de la proteína (proteína 3a y/o proteína 3b y/o proteína 5a y/o proteína 5b) de un virus IV de tipo salvaje.

[0060] Se descubrió recientemente que las proteínas de IBV accesorias 3a y 3b causan una activación retardada de la respuesta de interferón de tipo I *in vitro*, estando además la proteína 3a implicada en la resistencia del IBV al estado celular antiviral celular inducido por IFN (Kint et al 2015: J. Virol., 89: 1156 - 1167, Kint et al., 2015: J.Virol. doi: JVI.01057 - 15). La proteína accesoria 5b contribuye a la interrupción de la célula huésped, por lo que, entre otras, inhibe la traducción del IFN tipo I (Kint, PhD thesis 2015).

[0061] El término “inactivado” comprende un IBV recombinante que tiene una respuesta inmune celular al interferón, inhibida o reducida (un IBV que no tiene la capacidad de interferir por completo en la respuesta inmune de las células al interferón). Es preferible que el IBV recombinante tenga una interferencia reducida o inhibida con la expresión y/o actividad del interferón. Es preferible que se reduzca o inhiba la expresión y/o actividad de uno o dos tipos de interferón (IFN). En un ensayo de la presente invención, el IBV recombinante provoca un efecto sobre la expresión y/o actividad del IFN-[alfa]. En otro aspecto, la expresión y/o actividad del IFN-[β] está afectada. En otro aspecto, la expresión y/o actividad del IFN-[gamma] está afectada. Es preferible que la expresión y/o actividad del IFN-α IFN-β/IFN-γ se reduzca en 5-10%, 10-20%, 20- 30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, 80-90% o más por proteína, polipéptido, etc. con una actividad antagonista de interferón en comparación con un control (por ejemplo, PBS o una proteína sin actividad antagonista de interferón) en sistemas competentes para IFN, por ejemplo, una célula o un animal de tipo salvaje en las mismas condiciones. Es más preferible que la expresión y/o actividad del IFN-[alfa] y/o del IFN-[beta] y/o del IFN-[gamma] se reduzca en de aproximadamente 1 aproximadamente 100 veces, de aproximadamente 5 a aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 veces, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 veces, o de aproximadamente 1 a 5 veces, en de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 veces, o en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 veces o proteína, polipéptido, etc. con una actividad antagonista de interferón en comparación con un control (por ejemplo, PBS o una proteína sin actividad

antagonista de interferón) en sistemas competentes para IFN, por ejemplo, una célula o un animal de tipo salvaje en las mismas condiciones. Los métodos para medir la expresión y/o actividad reducidas del interferón son bien conocidos por el experto en la técnica.

[0062] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a está completa o parcialmente eliminado, sustituido o invertido y en donde el ORF 3b está parcialmente eliminado, sustituido o invertido. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

en donde el ORF 3a está completa o parcialmente eliminado, sustituido o invertido y en donde el ORF 3b está parcialmente eliminado, sustituido o invertido.

[0063] En un aspecto de la presente invención, el ORF 5a está completa o parcialmente eliminado, sustituido o invertido y en donde el ORF 5b está parcialmente eliminado, sustituido o invertido. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 5a está completa o parcialmente eliminado, sustituido o invertido y en donde el ORF 5b está parcialmente eliminado, sustituido o invertido.

[0064] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 5a están completa o parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos y en donde el ORF 3b y el ORF 5b están parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 3a y el ORF 5a están completa o parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos y en donde el ORF 3b y el ORF 5b están parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos.

[0065] La expresión “completa o parcialmente eliminado, sustituido o invertido” abarca una eliminación completa o parcial, una sustitución completa o parcial y una inversión completa o parcial. El término “completo” significa que la totalidad del ORF está afectado desde el codón de inicio al codón de parada del ORF. Es preferible que el ORF 3a y/o

el ORF 5a estén completamente eliminados, sustituidos o invertidos. Sin embargo, el término “parcial” significa que solamente una parte de la totalidad del ORF está afectada. Es preferible que el ORF 3a, el ORF 3b, el ORF 5a, el ORF 5b estén parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos. Es más preferible que el ORF 3b y/o el ORF 5b estén parcialmente eliminados, sustituidos o invertidos. Es más preferible que el ORF 3b y/o ORF 5b estén parcialmente eliminados para no afectar la expresión del ORF3c (que codifica la proteína E) y del ORF N (que codifica la proteína N) y/o la actividad de proteína E y de la proteína N.

[0066] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a está completa o parcialmente eliminado y el ORF 3b está parcialmente eliminado. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 3a está completa o parcialmente eliminado y el ORF 3b está parcialmente eliminado.

[0067] En un aspecto de la presente invención, el ORF 5a está completa o parcialmente eliminado y el ORF 5b está parcialmente eliminado. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 5a está completa o parcialmente eliminado y el ORF 5b está parcialmente eliminado.

[0068] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 5a están completa o parcialmente eliminados y el ORF 3b y el ORF 5b están parcialmente eliminados. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 3a y el ORF 5a están completa o parcialmente eliminados y el ORF 3b y el ORF 5b están parcialmente eliminados.

[0069] En un aspecto de la presente invención, el codón de inicio del ORF 3a y/o del ORF 3b y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b están activados. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o
- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado,

en donde el codón de inicio del ORF 3a y/o del ORF 3b y/o del ORF 5a y/o del ORF 5b están inactivados.

[0070] En un aspecto de la presente invención, el codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3b están inactivados. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3b están inactivados.

[0071] En un aspecto de la presente invención, el codón de inicio del ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) y el codón de inicio del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) están inactivados. Por lo tanto, debe entenderse que la inactivación del AUG abarca la inactivación/mutación de 1, 2 o 3 nucleótido(s) dentro del AUG. Por lo tanto, la inactivación del codón de inicio AUG abarca la mutación del A y/o la mutación del U y/o la mutación del G. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) y el codón de inicio del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) están inactivados.

[0072] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación del codón de inicio (AUG) del ORF 3a y del ORF 3b es una eliminación, sustitución o inversión. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) y el codón de inicio del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) están

inactivados por una eliminación, sustitución o inversión.

[0073] En un aspecto de la presente invención, el codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF 5b están inactivados. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF 5b están inactivados.

[0074] En un aspecto de la presente invención, el codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y el codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están inactivados. Por lo tanto, debe entenderse que la inactivación del AUG abarca la inactivación/mutación de 1, 2 o 3 nucleótido(s) dentro del AUG. Por lo tanto, la inactivación del codón de inicio AUG abarca la mutación del A y/o la mutación del U y/o la mutación del G. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y el codón de inicio del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) están inactivados.

[0075] En un aspecto de la presente invención, dicha inactivación del codón de inicio (AUG) del ORF 5a y del ORF 5b es una eliminación, sustitución o inversión. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y el codón de inicio del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) están inactivados por una eliminación, sustitución o inversión.

[0076] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a y del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que

comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,
en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a y del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1).

[0077] La expresión "truncado desde el término 5' del codón de inicio" se refiere a la truncación del ORF en el término 5'. La expresión "término 5" ya ha sido definida en otra parte. La expresión "truncado o truncación" se refiere a la eliminación de uno o más nucleótidos/bases dentro del ORF. Por lo tanto, algunas porciones del término 3' del ORF se conservan, mientras que algunas porciones de la región término 5' del ORF son eliminados. Sin embargo, la truncación en el término 5' puede resultar en la eliminación de uno o más aminoácidos dentro de la correspondiente proteína o en un corrimiento de marco en el ORF siendo el resultado una región de codificación que es diferente de la proteína del tipo salvaje. Sin embargo, la truncación en el término 5' puede resultar en la expresión de ninguna proteína ya que la totalidad del codón de inicio está truncado.

[0078] Debe entenderse que la expresión "término 5' del codón de inicio" tal como se utiliza en la presente significa que dicha truncación afecta (incluye) el codón de inicio del ORF. El término 5' del codón de inicio (AUG) es el A, mientras que el terminal 3' del AUG es el G. Sin embargo, los terminales "5-'" y "3-" son bien conocidos por experto en la técnica.

[0079] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 3b están truncados del A, U, o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a y del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,
en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados del A, U, o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a y del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1).

[0080] La expresión "truncado de A, U o G del codón de inicio" tal como se la utiliza en la presente, significa que dicha truncación puede empezar con el A o U o G. En el caso en que la truncación empieza con el A, el A está truncado. Sin embargo, si la truncación del A comprende la eliminación de dos o más nucleótidos, el U está también eliminado.

Además, si la truncación del A comprende la eliminación de tres o más nucleótidos el A, U, y G están eliminados. Sin embargo, debe entenderse que, si la truncación empieza con el U, el U está eliminado, mientras que el A del AUG subsiste. si la truncación empieza con el G, el G se elimina, mientras que el A y U del AUG subsisten.

[0081] En un aspecto de la presente invención, el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2). Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2).

[0082] En un aspecto de la presente invención, el ORF 5a y el ORF 5b están truncados del A, U, o G del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2). Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados del A, U, o G del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2).

[0083] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG) del ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) y del codón de inicio del ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) y en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el t 5' del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del codón de inicio ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2). Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG) del ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) y del codón de inicio del

ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) y en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio del ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) y del codón de inicio ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2).

[0084] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0085] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2

nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del A, U, o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0086] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG,

nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótido 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0087] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15

nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0088] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 173 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 175 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 173 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótido 1-3 SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 175 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0089] La expresión "entre 1 y 173 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos" se refiere a una eliminación, sustitución, o inversión de nucleótidos del ORF 3a del término 5', en donde el nucleótido terminal 5' (el A de AUG; nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) es el número 1. Por lo tanto, dicha expresión abarca las eliminaciones, sustituciones o inversiones del término 5' de los nucleótidos 1 a 173, 1 a 172, 1 a 171, 1 a 170, 1 a 169 y así seguido hasta de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2 y de 1 a 1. Por lo tanto, debe entenderse que la expresión "entre 1 y 173 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos" abarca 173 variantes, en donde en la totalidad de las 173 variantes el nucleótido terminal 5' (el A de AUG se define como el número 1) está eliminado, sustituido o invertido.

[0090] La expresión "entre 1 y 175 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos" se refiere a una eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos del ORF 3b del término 5', en donde en nucleótido terminal 5' (el A de AUG; nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO: 1) es el número 1. Por lo tanto, dicha expresión abarca las eliminaciones, sustituciones o inversiones del término 5' de los nucleótidos 1 a 175, 1 a 174, 1 a 173, 1 a 172, 1 a 170

y así seguido hasta de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2 y de 1 a 1. Por lo tanto, debe entenderse que la expresión “entre 1 y 175 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos” abarca 175 variantes, en donde en la totalidad de las 175 variantes el nucleótido terminal 5’ (el A de AUG se define como el número 1) está eliminado, sustituido o invertido.

[0091] Es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión del término 5’ del ORF 3a de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40, nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170, nucleótidos 1 - 173, en donde el nucleótido terminal 5’ (el A de AUG; nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 1) es el número 1, y, es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión del término 5’ del ORF 3b de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40, nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170, nucleótidos 1 - 175, en donde el nucleótido terminal 5’ (el A de AUG; nucleótidos 174 de la SEQ ID NO: 1) es el número 1.

[0092] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 173 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 1) o entre y 172 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 1) o entre y 171 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 175 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO: 1) o entre 1 y 174 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO: 1) o entre 1 y 173 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 173 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 1) o entre y 172 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 1) o entre 1 y 171 nucleótidos del G del codón de inicio

(G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 175 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO: 1) o entre 1 y 174 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO: 1) o entre 1 y 173 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0093] Las expresiones “entre 1 y 171 nucleótidos”, “entre 1 y 172 nucleótidos”, “entre 1 y 173 nucleótidos”, “entre 1 y 174 nucleótidos” y “entre 1 y 175 nucleótidos” han de entenderse de acuerdo con las otras definiciones dadas con anterioridad. Por lo tanto, dichas expresiones abarcan 171 variantes, 172 variantes, 173 variantes, 174 variantes o 175 variantes. Las expresiones “del A del codón de inicio”, “del U del codón de inicio” o “del G del codón de inicio” definen los puntos de partida de la eliminación, sustitución o inversión. La expresión “del A del codón de inicio”, dada como ejemplo, define que la eliminación, sustitución o inversión empieza del A del codón de inicio (AUG) y afecta al A.

[0094] Es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión del A, U o G del codón de inicio (AUG) del ORF 3a y el ORF 3b de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40, nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170.

[0095] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 194 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 191 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 194 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 191 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[0096] La expresión “entre 1 y 194 nucleótidos del término 5’ del codón de inicio del

ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos" se refiere a una eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos del ORF 5a del término 5', en donde el nucleótido terminal 5' (el A de AUG; nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) es el número 1. Por lo tanto, dicha expresión abarca las eliminaciones, sustituciones o inversiones del término 5' de los nucleótidos 1 a 194, 1 a 193, 1 a 192, 1 a 191, 1 a 190 y así seguido hasta de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2 y de 1 a 1. Por lo tanto, debe entenderse que la expresión "entre 1 y 194 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos" abarca 194 variantes, en la totalidad de las 194 variantes el nucleótido terminal 5' (el A de AUG se define como el número 1) está eliminado, sustituido o invertido.

[0097] La expresión "entre 1 y 191 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos" se refiere a una eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos del ORF 5b del término 5', en donde el nucleótido terminal 5' (el A de AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO: 2) es el número 1. Por lo tanto, dicha expresión abarca las eliminaciones, sustituciones o inversiones del término 5' de los nucleótidos 1 a 191, 1 a 190, 1 a 189, 1 a 188, 1 a 187 y así seguido hasta de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2 y de 1 a 1. Por lo tanto, debe entenderse que la expresión "entre 1 y 191 nucleótidos del término 5' del codón de inicio del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos" abarca 191 variantes, en donde en la totalidad de las 191 variantes el nucleótido terminal 5' (el A de AUG se define como el número 1) está eliminado, sustituido o invertido.

[0098] Es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión del término 5' del ORF 5a de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40, nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170, nucleótidos 1 - 180, nucleótidos 1 - 190, nucleótidos 1 - 194, en donde el nucleótido terminal 5' (el A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 2) es el número 1, y, es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión de término 5' del ORF 5b de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40, nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170, nucleótidos 1 - 180, nucleótidos 1 - 190, nucleótidos 1 - 191, en donde el nucleótido

terminal 5' (el A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO: 2) es el número 1.

[0099] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 194 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 193 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 192 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 191 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 190 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 189 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 194 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 193 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 192 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y en donde entre 1 y 191 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 190 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO: 2) o entre 1 y 189 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[00100] Las expresiones "entre 1 y 189 nucleótidos", "entre 1 y 190 nucleótidos", "entre 1 y 191 nucleótidos", "entre 1 y 192 nucleótidos", "entre 1 y 193 nucleótidos", "entre 1 y 194 nucleótidos" han de entenderse de acuerdo con las otras definiciones dadas con anterioridad. Dichas expresiones abarcan 189 variantes, 190 variantes, 191 variantes, 192 variantes, 193 variantes o 194 variantes. Las expresiones "del A del codón de inicio", "del U del codón de inicio" o "del G del codón de inicio" definen los puntos de partida de la eliminación, sustitución o inversión. La expresión "del A del codón de inicio", dada como ejemplo, define que la eliminación, sustitución o inversión empieza del A del codón de inicio (AUG) y afecta el A.

[00101] Es preferible que el IBV de la presente invención comprenda una eliminación, sustitución o inversión del A, U o G del codón de inicio (AUG) del ORF 5a y del ORF 5b de los nucleótidos 1 - 10, nucleótidos 1 - 20, nucleótidos 1 - 30, nucleótidos 1 - 40,

nucleótidos 1 - 50, nucleótidos 1 - 60, nucleótidos 1 - 70, nucleótidos 1 - 80, nucleótidos 1 - 90, nucleótidos 1 - 100, nucleótidos 1 - 110, nucleótidos 1 - 120, nucleótidos 1 - 130, nucleótidos 1 - 140, nucleótidos 1 - 150, nucleótidos 1 - 160, nucleótidos 1 - 170, nucleótidos 1 - 180, nucleótidos 1 - 189.

[00102] En un aspecto de la presente invención, al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del término 5' del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b.

[00103] En un aspecto de la presente invención, al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b.

[00104] En un aspecto de la presente invención, al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b.

[00105] En un aspecto de la presente invención, al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b.

[00106] En un aspecto de la presente invención, entre 174 y 200 nucleótidos o entre 174 y 300 nucleótidos o entre 174 y 348 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 174 y 200 nucleótidos o entre 174 y 300 nucleótidos o entre 174 y 348 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b.

[00107] En un aspecto de la presente invención, entre 174 y 348 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 1) o entre 173 y 347 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 1) o entre 172 y 346 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 174 y 348 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 1) o entre 173 y 347 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 1) o entre 172 y 346 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 3a y del ORF 3b.

[00108] En un aspecto de la presente invención, entre 195 y 250 nucleótidos o entre 195 y 300 nucleótidos o entre 195 y 350 o entre 195 y 385 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 195 y 250 nucleótidos o entre 195 y 300 nucleótidos o entre 195 y 350

o entre 195 y 385 nucleótidos del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b.

[00109] En un aspecto de la presente invención, entre 195 y 385 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 2) o entre 194 y 384 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 2) o entre 193 y 383 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y el ORF 5b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 195 y 385 nucleótidos del A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO: 2) o entre 194 y 384 nucleótidos del U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO: 2) o entre 193 y 383 nucleótidos del G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del ORF 5a y del ORF 5b.

[00110] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50,

nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[00111] En un aspecto de la presente invención, al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b están

eliminados, sustituidos o invertidos.

[00112] En términos generales, la expresión “los nucleótidos del ORF 3a/3b/5a/5b están eliminados, sustituidos o invertidos” se refiere a una eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos que puede presentarse en cualquier parte dentro de dicho ORF. Por lo tanto, dicha eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos puede afectar solamente el término 5’ de dicho ORF, solamente el término 3’ de dicho ORF o el resto de los nucleótidos (excluyéndose el término 5’ y el término 3’) de dicho ORF o cualquiera de sus combinaciones (tales como por ejemplo el término 5’ de dicho ORF y demás nucleótidos o el término 3’ de dicho ORF y demás nucleótidos). Por lo tanto, la expresión dada como ejemplo de “al menos 25 nucleótidos del ORF 3a/3b/5a/5b están eliminados, sustituidos o invertidos” significa que dichos 25 nucleótidos pueden eliminarse, sustituirse o invertirse en cualquier parte dentro de dicho ORF sin limitación en cuanto a la localización de la eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos dentro de dicho ORF. Además, la expresión dada como ejemplo de “entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos” significa que dichos nucleótidos pueden eliminarse, sustituirse o invertirse en cualquier parte dentro de dicho ORF sin limitación en cuanto a la localización de la eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos dentro de dicho ORF. Además, como se indicó con anterioridad, debe entenderse que la expresión “entre 1 y 173 nucleótidos” abarca 173 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 171, 172 o 173 nucleótidos). Por lo tanto, debe entenderse que la expresión “entre 1 y 175 nucleótidos” abarca 175 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 173, 174 o 175 nucleótidos), la expresión “entre 1 y 194 nucleótidos” abarca 194 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 192, 193 o 194 nucleótidos), la expresión “entre 1 y 90 nucleótidos” abarca 90 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 88, 89 o 90 nucleótidos), la expresión “entre 1 y 191 nucleótidos” abarca 191 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 189, 190 o 191 nucleótidos), la expresión “entre 1 y 348 nucleótidos” abarca 348 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 346, 347 o 348 nucleótidos) y la expresión “entre 1 y 385 nucleótidos” abarca 385 variantes (eliminaciones, sustituciones o inversiones de 1, 2, 3, 4 y así en adelante hasta 383, 384 o 385 nucleótidos).

[00113] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF

3b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a están eliminados, sustituidos o invertidos, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[00114] En un aspecto de la presente invención, entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a están eliminados, sustituidos o invertidos y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos.

[00115] En un aspecto de la presente invención, entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 3a y del codón de inicio del ORF 3c. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 3a y del codón de inicio del ORF 3c.

[00116] La expresión “dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 3a y del codón de inicio del ORF 3c” tal como se utiliza en la presente, debe entenderse como que dicha eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos puede afectar (puede incluir) el codón de inicio del ORF 3a, en donde el codón de inicio del ORF 3c no está afectado (está excluido). Por lo tanto, la expresión del ORF 3c y/o la actividad de la proteína E no está afectada. Por lo tanto, la expresión “dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 3a y del codón de inicio del ORF 3c” se refiere a una eliminación, sustitución o

inversión de los nucleótidos que puede presentarse en cualquier parte dentro de dichos ORF siempre y cuando el codón de inicio del ORF 3c no sea afectado. Por lo tanto, dicha eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos puede afectar solamente el término 5' del ORF 3a, solamente el término 3' del ORF 3b (sin afectar el codón de inicio del ORF 3c) o el resto de los nucleótidos (con la exclusión de dicho término 5' y término 3') de dicho ORF o cualquiera de sus combinaciones. Además, de lo que precede debe entenderse que la expresión "entre 176 y 348 nucleótidos" abarca eliminaciones, sustituciones o inversiones de 176, 177, 178 y así en adelante hasta 346, 347 o 348 nucleótidos.

[00117] En un aspecto de la presente invención, entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a al nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y del ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a hacia el nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1. Por lo tanto, la inactivación del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF 3c ni tampoco la actividad de la proteína E. Por lo tanto, la expresión del ORF 3a y del ORF 3b (ARN 3a y 3b y/o proteína 3a y proteína 2b) y/o la actividad de la proteína se reduce (o se elimina) mientras que la expresión del ORF 3c y/o la actividad de la proteína E no es afectada.

[00118] En un aspecto de la presente invención, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200

nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00119] En un aspecto de la presente invención, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a a nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a a nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1. Por lo tanto, la inactivación del ORF 3a y del ORF 3b no afecta la expresión del ORF 3c ni tampoco la actividad de la proteína E. Por lo tanto, la expresión de ORF 3a y del ORF 3b (ARN 3a y 3b y/o proteína 3a y proteína 2b) y/o actividad de la proteína se reduce (o se elimina) mientras que la expresión del ORF3c y/o la actividad de la proteína E no está afectada.

[00120] En un aspecto de la presente invención, entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00121] La expresión "dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N", tal como se utiliza en la presente, debe entenderse como que dicha eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos puede afectar (puede incluir) el

codón de inicio del ORF 5a, en donde el codón de inicio del ORF N no está afectado (está excluido). Por lo tanto, la expresión del ORF N y/o la actividad de la proteína N no se ve afectada. Por lo tanto, la expresión “dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N” se refiere a una eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos que puede presentarse en cualquier parte dentro de dichos ORF siempre y cuando el codón de inicio del ORF N no sea afectado. Por lo tanto, dicha eliminación, sustitución o inversión de los nucleótidos puede afectar solamente el término 5’ del ORF 5a, solamente el término 3’ del ORF 5b (sin afectar el codón de inicio del ORF N) o el resto de los nucleótidos (excluidos dichos término 5’ y término 3’) de dicho ORF o cualquiera de sus combinaciones. Además, debe entenderse de lo que precede que la expresión “entre 195 y 385 nucleótidos” abarca eliminaciones, sustituciones o inversiones de 195, 196, 197 y así en adelante hasta 383, 384 o 385 nucleótidos.

[00122] En un aspecto de la presente invención, entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a a nucleótido 385 de la SEQ ID NO: 2. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a a nucleótido 385 de la SEQ ID NO: 2. Por lo tanto, la inactivación del ORF 5a y del ORF 5b no afecta la expresión del ORF N ni tampoco la actividad de la proteína N. Por lo tanto, la expresión de ORF 5a y de OR 5b (proteína ARN 5a y 5b y/o proteína 5a y proteína 5b) y/o la actividad de la proteína se reduce (se o elimina) mientras que la expresión del ORF N y/o la actividad de la proteína N no se ve afectada.

[00123] En un aspecto de la presente invención, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00124] En un aspecto de la presente invención, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a a nucleótido 385 de la SEQ ID NO: 2. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b están eliminados, sustituidos o invertidos dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 2) del ORF 5a a nucleótido 385 de la SEQ ID NO: 2.

[00125] En un aspecto de la presente invención, el ORF 3a y el ORF 3b del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a al nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1 está eliminado, sustituido o invertido. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 3a y el ORF 3b del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO: 1) del ORF 3a al nucleótido 348 de la SEQ ID NO: 1 está eliminado, sustituido o invertido.

[00126] En un aspecto de la presente invención, la secuencia de ARN indicada en la SEQ ID NO:1 está eliminada, sustituida o invertido dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde la secuencia de ARN indicada en la SEQ ID NO:1 está eliminado, sustituido o invertido dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00127] En un aspecto de la presente invención, una secuencia de ARN que tiene una identidad de al menos el 70% con respecto a la secuencia de ARN indicada en la SEQ ID NO:1 está eliminada, sustituida o invertida dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde una secuencia de ARN que tiene una identidad de al menos 70% con respecto a la secuencia de ARN indicada en SEQ ID NO:1 está eliminada, sustituida o invertida dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00128] En un aspecto de la presente invención, una secuencia de ARN que tiene una identidad de al menos 70%, de al menos 75%, de al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos del 99% respecto a una secuencia de ARN indicada en la SEQ ID NO:1 está eliminada, sustituida, o invertida dentro del ORF 3a y del ORF 3b. Por lo tanto, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde una secuencia de ARN que tiene una identidad de al menos el 70%, de al menos el 75%, de al menos el 80%, de al menos el 85%, de al menos el 90%, de al menos el 91%, de al menos el 92%, de al menos el 93%, de al menos el 94%, de al menos el 95%, de al menos el 96%, de al menos el 97%, de al menos el 98% o de al menos el 99% respecto a la secuencia de ARN indicada en la SEQ ID NO:1 está eliminada, sustituida, o invertida dentro del ORF 3a y del ORF 3b.

[00129] Las expresiones “identidad” o “identidad de secuencia” se conocen en la técnica y se refieren a una relación entre dos o más secuencias de polipéptidos o dos o más secuencias de polinucleótidos, a saber, una secuencia de referencia y una dada secuencia a ser comparada con la secuencia de referencia. La identidad de la secuencia se determina comparando la secuencia dada con la secuencia de referencia después

de que las secuencias se hayan lineado óptimamente para producir la mayor similitud de la secuencia, determinada por las cadenas de concordancia entre dichas secuencias. Al tener lugar dicha alineación, se determina la identidad de secuencias en una base de posición por posición, por ejemplo, las secuencias son “idénticas” en una posición particular si en dicha posición, los nucleótidos o residuos de aminoácidos son idénticos. El número total de identidades posicionales se divide seguidamente por número total de los nucleótidos o residuos en la secuencia de referencia de manera de obtener una dada identidad porcentual de secuencias. La identidad de secuencias puede calcularse fácilmente mediante métodos conocidos, los que incluyen, entre otros, los descritos en: Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., y Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); y Carillo, H., y Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), cuyas enseñanzas incorporan en la presente como referencia. Los métodos preferidos para determinar una identidad de secuencias están diseñados para proveer la mayor concordancia posible entre las secuencias testeadas. Hay métodos para codificar una identidad de secuencias en programas de computadora públicamente disponibles que determinan una identidad de secuencias entre secuencias dadas. Los ejemplos de tales programas incluyen sin invitación; el paquete de programa GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990). El programa BLASTX ha sido puesto a disposición del público por NCBI y por otras fuentes (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990), cuyas enseñanzas se incorporan en la presente como referencia). Estos programas alinean de manera óptima secuencias utilizando ponderaciones de brecha por defecto para producir el mayor nivel posible de identidad de secuencias entre las secuencias dadas y las secuencias de referencia. Como ilustración, mediante un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos que tiene una “identidad de secuencias” de por lo menos, por ejemplo, el 85%, preferentemente el 90%, más del 95%, se da a entender que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido dado es idéntica a la secuencia de referencia con la salvedad que la secuencia de polinucleótidos dada puede incluir hasta 15, preferentemente hasta 10, más preferentemente hasta 5 mutaciones de punto por cada

100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, en un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos con una identidad de al menos 85%, preferentemente hasta el 90%, más preferentemente aun del 95%, respecto a la secuencia de nucleótidos de referencia, hasta el 15%, preferentemente el 10%, más preferentemente el 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia pueden estar eliminados o sustituidos con otro nucleótido, o un número de los nucleótidos de hasta el 15%, preferentemente 10%, más preferentemente el 5% de la totalidad de los nucleótidos en la secuencia de referencia puede estar insertado en la secuencia de referencia. Estas mutaciones de la secuencia de referencia pueden tener lugar en las posiciones terminales 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier parte entre estas posiciones terminales, interdispersas sea individualmente entre los nucleótidos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Análogamente, mediante un polipéptido que tiene una dada secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos, el 85%, preferentemente el 90%, más preferentemente aun, el 95% de identidad secuencial con respecto a una secuencia de aminoácidos de referencia, se da a entender que la dada secuencia de aminoácidos es idéntica a la secuencia de referencia con excepción de que la dada secuencia de polipéptidos puede incluir hasta 15, preferentemente hasta 10, más preferentemente aun hasta 5 alteraciones de aminoácidos por cada 100 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de referencia. Dicho con otras palabras, para tener una dada secuencia polipéptidica que tiene al menos el 85%, preferentemente el 90%, más preferentemente aun, el 95% de identidad de secuencias con una secuencia de aminoácidos de referencia, hasta un 15%, preferentemente hasta un 10%, más preferentemente aun hasta un 5% de los residuos de aminoácidos en la secuencia de referencia pueden estar eliminados o sustituidos con otro aminoácido, o un número de aminoácidos de hasta el 15%, preferentemente hasta el 10%, más preferentemente hasta el 5% del número total de residuos de aminoácidos en la secuencia de referencia puede estar insertado en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden tener lugar en las posiciones amino o carboxi terminales de la secuencia de aminoácidos de referencia o en cualquier lugar entre estas posiciones terminales, interdispersos sea individualmente entre los residuos en la secuencia de referencia o en el uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Es preferible que las posiciones de residuos que no sean idénticas difieran en sustituciones conservadoras de aminoácidos. Sin embargo, las sustituciones conservadoras no están incluidas como una concordancia cuando se determine una identidad de secuencias.

[00130] En la presente se usan de manera intercambiable las expresiones “identidades de la expresión”, “identidad de secuencia” y “porcentaje de identidad”. Para los fines de la presente invención, se define en la presente que para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos o de dos secuencias de ácido nucleico, las secuencias se alinean para fines de comparación óptimos (por ejemplo, se pueden introducir brechas en la secuencia de un primer aminoácido o ácido nucleico para una alineación óptima con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico). A continuación, se comparan los residuos de aminoácidos o nucleótidos en las correspondientes posiciones de aminoácidos o nucleótidos. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido como la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esta posición. El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % identidad = número de posiciones idénticas/número total de posiciones (es decir, posiciones superpuestas) x 100). Es preferible que las dos secuencias sean de la misma longitud.

[00131] Puede realizarse una comparación de secuencias a lo largo de las longitudes completas de las dos secuencias que se comparan o sobre un fragmento de las dos secuencias. Típicamente, la comparación se llevará a cabo en toda la longitud de las dos secuencias que se comparan. Sin embargo, la identidad de secuencia puede llevarse a cabo sobre una región de, por ejemplo, veinte, cincuenta, cien o más residuos de aminoácidos contiguos.

[00132] El experto en la técnica será consciente del hecho de que se hallan a disposición diferentes programas de computadora para determinar la homología entre dos secuencias. Por ejemplo, puede llevarse a cabo una comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias usando un algoritmo matemático. En una forma de realización preferida, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos se determina usando el algoritmo de Needleman y Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)) que se incorporó en el programa GAP en el paquete de software Accelrys GCG (disponible en http://www.accelris.com/products/gcg/), usando ya sea la matriz Blosum 62 o una matriz PAM250 y un peso de brecha de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y un peso en largo de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. El experto en la técnica apreciará que todos estos diferentes parámetros darán resultados ligeramente diferentes pero que todo el porcentaje de identidad de dos secuencias no se altera significativamente cuando se usan diferentes algoritmos.

[00133] Las secuencias de proteínas o las secuencias de ácidos nucleicos de la presente invención también se pueden usar como “secuencia de consulta” para llevar a cabo una búsqueda contra las bases de datos públicas, por ejemplo, para identificar otros miembros de la familia o secuencias relacionadas. Estas búsquedas se pueden llevar a cabo usando los programas BLASTN y BLASTP (versión 2,0) de Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Las búsquedas de proteínas BLAST se pueden llevar a cabo con el programa BLASTP, puntaje = 50, largo de palabra = 3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las moléculas de proteínas de la invención. Para obtener alineaciones de brecha con fines comparativos, se puede utilizar Gapped BLAST como se describe en Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. Cuando se utilizan programas BLAST y Gapped BLAST, se pueden usar los parámetros por defecto de los respectivos programas (por ejemplo, BLASTP y BLASTN). Ver el sitio web del National Center for Biotechnology Information en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/.

[00134] En un aspecto de la presente invención, el ORF 5a y el ORF 5b desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte. De esta manera, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde el ORF 5a y el ORF 5b desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00135] En un aspecto de la presente invención, la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b. De esta manera, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00136] En un aspecto de la presente invención, un ARN que tiene al menos el 70% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b. De esta manera, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV

(virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00137] En un aspecto de la presente invención, una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b. De esta manera, la presente invención proporciona un IBV o una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados,

en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00138] En un aspecto de la presente invención, la proteína E tiene una secuencia de aminoácidos del genotipo QX, Beaudette, H120 o H52 o una secuencia que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos uno de los genotipos antes mencionados.

[00139] En un aspecto de la presente invención, la proteína E tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para KM586818 (QX), AJ311317 (Beaudette), FJ807652 (H120) o la SEQ ID NO: 38 (H52) o una secuencia que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos una de las secuencias antes mencionadas.

[00140] En un aspecto de la presente invención, el IBV está atenuado.

[00141] El término “atenuado” se refiere a un patógeno que tiene una virulencia reducida en comparación con el aislado de tipo salvaje. En la presente invención, un IBV atenuado es uno en el que la virulencia se redujo, de modo que no cause signos clínicos de una infección por IBV, pero es capaz de inducir una respuesta inmune en el blanco animal, pero también puede significar que los signos clínicos se reducen en incidencia o severidad en animales infectados con el IBV atenuado en comparación con un “grupo control” de animales infectados con IBV no atenuado y que no recibe el virus atenuado. En este contexto, la expresión “reducir/reducido” significa una reducción de al menos el 10%, con preferencia, el 25%, con mayor preferencia aún, el 50%, con mayor preferencia aún, 60%, con mayor preferencia aún, el 70%, con mayor preferencia aún, el 80%, con mayor preferencia aún, el 90%, con mayor preferencia aún, el 95% y con máxima preferencia, de 100% en comparación con el grupo de control infectado con IBV no atenuado como se definió con anterioridad. De esta manera, una cepa de IBV atenuado es una que es apropiada para la incorporación en una composición inmunogénica que comprende un IBV vivo modificado.

[00142] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV atenuado o una composición inmunogénica que comprende un IBV atenuado (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00143] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV atenuado o una composición inmunogénica que comprende un IBV atenuado (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados.

[00144] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV atenuado o una composición inmunogénica que comprende un IBV atenuado (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00145] De esta manera, la presente invención proporciona un IBV atenuado o una composición inmunogénica que comprende un IBV atenuado (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

<u>Virus inactivado</u>

[00146] En un aspecto de la presente invención, el IBV de la presente invención fue inactivado resultando en virus inactivados enteros. De esta manera, la presente invención también se refiere a una composición inmunogénica que comprende un IBV

inactivado, en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o
- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado.

[00147] En otro aspecto de la presente invención, el IBV de la presente invención fue inactivado resultando en virus inactivados enteros. De esta manera, la presente invención también se refiere a una composición inmunogénica que comprende:

- un IBV inactivado, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- un IBV inactivado, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- un IBV inactivado, en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00148] Cualquier método de inactivación convencional se puede usar con fines de la presente invención. De esta manera, la inactivación se puede llevar a cabo por medio de tratamientos químicos y/o físicos que son conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos de inactivación preferidos incluyen la adición de etilenimina binaria ciclada (BEI) incluyendo la adición de una solución de bromhidrato de 2-bromoetilenamina (BEA), que se cicló en etilenimina binaria (BEI). Los otros agentes químicos de inactivación preferidos comprenden, entre otros, Triton X-100, desoxicolato de sodio, bromuro de cetiltrimetilamonio, β-Propiolactona, timerosal, fenol y formaldehído (formalina). Sin embargo, la inactivación también puede comprender una etapa de neutralización. Los agentes de neutralización preferidos incluyen, entre otros, tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio, y similares.

[00149] Las condiciones de inactivación de formalina preferidas incluyen concentración de formalina entre de aproximadamente el 0,02% (v/v) - 2,0% (v/v), con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,1% (v/v) - 1,0% (v/v), con mayor preferencia aún, de aproximadamente el 0,15% (v/v) - 0,8% (v/v), con mayor preferencia aún, de aproximadamente el 0,16% (v/v) - 0,6% (v/v) y con máxima preferencia, de aproximadamente el 0,2% (v/v) - el 0,4% (v/v). El tiempo de incubación depende de la resistencia del IBV. En general, el proceso de inacción se lleva a cabo hasta que no se pueda detectar un crecimiento del IBV en un sistema de cultivo apropiado.

[00150] Con preferencia, el IBV inactivado de la presente invención es formalina inactivada, con preferencia, usando las concentraciones como se describió con anterioridad en la presente.

[00151] El IBV inactivado de la invención se puede incorporar en liposomas usando

tecnología conocida como la descrita en Nature, 1974, 252, 252-254 o Journal of Immunology, 1978, 120, 1109-13. En otra forma de realización de la invención, el IBV inactivado de la invención se puede conjugar con compuestos biológicos apropiados tales como polisacáridos, péptidos, proteínas, o similares o una de sus combinaciones.

[00152] En un aspecto de la presente invención, el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00153] La expresión “genéticamente manipulado por ingeniería” se refiere a un IBV que fue mutado usando enfoques de “genética inversa”. Con preferencia, el IBV de acuerdo con la presente invención fue manipulada por genética. La técnica de genética inversa implica la preparación de ARM virales recombinantes sintéticos. Sin embargo, las técnicas de “genética inversa” son bien conocidas por los expertos en la técnica.

[00154] En un aspecto de la presente invención, el IBV es un IBV recombinante.

[00155] El término “recombinante” como se usa en la presente se refiere a un genoma de ARN (o secuencia o proteína de ARN) que tiene modificaciones que no se producen naturalmente en el correspondiente genoma de ARN (o secuencia o proteína de ARN). Por ejemplo, un genoma de ARN (o secuencia o proteína de ARN) se considera “recombinante” si contiene una inserción, eliminación, inversión, relocación o una mutación puntual introducida artificialmente, por ejemplo, por intervención humana. En consecuencia, la secuencia genómica de ARN (o secuencia o proteína de ARN) no está asociada con todas o una porción de las secuencias (secuencia de ARN o secuencia de aminoácido de la proteína) con la que se asocia naturalmente. El término “recombinante” como se usa con respecto a un virus implica un virus producido por manipulación artificial del genoma viral. La expresión “virus recombinante” comprende virus genéticamente modificados.

Cepas de IBV

[00156] Las cepas de IBV se pueden clasificar por serotipo y genotipo. La clasificación de serotipos implica el tratamiento del virus con anticuerpos neutralizantes, mientras que la clasificación de genotipos implica la examinación de la secuencia de la proteína S1 (spike). Sin embargo, las diferentes cepas de IBV son bien conocidas por los expertos en la técnica. El virus de bronquitis infecciosa se descubrió por primera vez en los Estados Unidos en la década de 1930. El primer serotipo de IBV identificado era Massachusetts, pero en los Estados Unidos, fueron identificados varios serotipos, incluyendo Arkansas y Delaware, además del tipo Massachusetts identificado originalmente.

[00157] La cepa de IBV Beaudette es del tipo Massachusetts y se derivó después de al

menos 150 pasajes en embriones de pollo. La cepa de IBV Beaudette se aisló originalmente por Beaudette y Hudson (J. Am. Vet. Med. A. 90, 51-60, 1937) y se pasó varios cientos de veces en embriones de pollo, se menciona comúnmente como una cepa “adaptada al embrión de pollo” o “adaptado al huevo”. Otra cepa de IBV de tipo Massachusetts además de Beaudette son H120, H52 y M41.

[00158] IB QX se describió como aislado de campo virulento de IBV que se había aislado originalmente en China. Sin embargo, el virus ha pasado a Europa y se identificó en partes de Europa occidental, predominantemente en los Países Bajos, pero también en Alemania, Francia, Bélgica, Dinamarca y en el Reino Unido. El serotipo QX se describió en varios países en Asia y África.

[00159] Otra cepa de IBV es el genotipo 4/91 que también se denomina comúnmente 793B.

[00160] Las cepas designadas “Italien-02” o “Italy-02” fueron aisladas a fines de 1990 en Italia. El análisis de secuencia de uno de estos aislados fue publicado en el año 2002 (NCBI-BLAST, número AJ457137). Sin embargo, estudios han mostrado que esta cepa Italian-02 está extendida en Europa y que, además de la cepa variante de IBV 4/91, se volvió uno de los genotipos más predominantes en el Reino Unido, España, Francia y Los Países Bajos.

[00161] Por otra parte, también se han identificado en Europa las cepas D274, B1648/D8880, D1466, V1397 y Arkansas.

[00162] En un aspecto de la presente invención, el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91(793B).

[00163] En un aspecto de la presente invención, el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00164] En un aspecto de la presente invención, el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00165] En un aspecto de la presente invención, el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00166] En un aspecto de la presente invención, el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00167] En un aspecto de la presente invención, el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00168] En un aspecto de la presente invención, el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00169] En un aspecto de la presente invención, el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00170] En un aspecto de la presente invención, el H52 es H52U.

[00171] En un aspecto de la presente invención, el H52 tiene una secuencia de nucleótidos como se muestra para EU817497 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00172] En un aspecto de la presente invención, la cepa de H52 tiene una proteína spike (S1) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF352315 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00173] En un aspecto de la presente invención, la cepa de H52 tiene una proteína de nucleocápside (N) tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AY044185 o AF352310 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos una de las secuencias antes mencionadas.

[00174] En un aspecto de la presente invención, la cepa de H52 tiene una proteína de envoltura (E) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF317210 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00175] En un aspecto de la presente invención, la cepa de H52 tiene una proteína de

glucoproteína de membrana (M) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF286185 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00176] Es de conocimiento general para un experto en la técnica cómo obtener cualquier cepa de IBV. Las cepas de IBV se pueden adquirir en comercios, obtener de institutos científicos o los genomas se pueden sintetizar por síntesis como ADN complementario, ya que las cepas de IBV fueron secuenciadas y las secuencias fueron publicadas y, así, son asequibles. Por otra parte, las cepas de IBV se pueden aislar del campo. Los métodos para aislar cepas de IBV, y para caracterizar las cepas de IBV son bien conocidos por los expertos en la técnica. Valter Leonardo de Quadros 2011 (Dissertation, Das Infektiöse Bronchitis Virus (IBV): Molekularbiologische Untersuchungen zur Diagnostik und zum Vorkommen sowie zur Patogenität des Genotyps IBV QX in spezifisch patogenfreien (SPF) Broilern, Freie Universität Berlin), Worthington et al 2009 (Avian Pathology 37(3), 247-257), Liu et al 2009 (Virus Genes 38: 56-65), Dolz et al 2006 (Avian Pathology 35 (2): 77-85), Farsang et al 2002 (Avian Pathology 31: 229-236) y Feng et al 2014 (Virus Genes 49: 292-303) describen cómo aislar y diferenciar distintas cepas de IBV.

[00177] Como ejemplo, es de conocimiento general para un experto en la técnica cómo obtener H52 de IBV. Las cepas H52 de IBV se pueden adquirir en comercios, tales como, por ejemplo, Nobilis IB H52 (MSD Animal Health), AviPro IB H52 (Lohmann Animal Health GmbH & Co. KG), Bronchovac (Ceva) y similares. Además, McDonald et al 1980 (Avian Pathology 9:245-259) revelan que H52 de IBV se puede obtener por Central Veterinary Laboratory Rotterdam, Kusters (J. gen Virol 68:343-352) revelan que H52 de IBV se puede obtener por el Poultry Health Institute Dorn en los Países Bajos (que ahora es Deventer Institute; H52 de IBV se puede obtener en Deventer) y Chen et al 2007 (Avian Pathology 36(4):269-274) revelan que H52 de IBV se puede obtener por el China Institute of Veterinary Drug Control. Por otra parte, H52 de IBV se usa como cepa de vacuna desde hace décadas (Bijlenga et al 2004, Avian Pathology 33 (6): 550-557) y, en consecuencia, se puede hallar y aislar del campo. Los métodos para aislar cepas de H52 de IBV y para caracterizar las cepas de H52 de IBV son bien conocidos por los expertos en la técnica. Como ejemplo, las cepas H52 de IBV se pueden caracterizar como se describe en Zwaagstra et al 1992 (J. Clin. Microbiol. 30 (1): 79-84), Handberg et al 1999 (Avian Pathology 28: 327-335) o Callison et al 2006 (Journal of Virological Methods 138: 60-65). Zwaagstra et al 1992 y Handberg et al 1999, por

ejemplo, revelan cebadores específicos de Massachusetts (para la proteína S y N, respectivamente) para secuenciación por RT-PCR y secuencias de referencia para comparación.

[00178] Además, la expresión “IBV” pretende comprender numerosos serotipos de IBV que fueron aislados y caracterizados, incluyendo (entre otros): B/D207/84; B/D274/84; B/UK 167/84; B/UK142/86; E D3S96/84; E/UK 123/82; Brazil/BRl/USP-73/09; 793B/4-91/91; FR/CR88121 88; China/Q1/98; Chka/LDL971 97 aaz09202; CAV/CAV9437/95; CAV/CAV1 86/95; CAV/CAV56b 91; PA/Wolgemnth/98; PA/i 71/99; C /557/03 SI; vacuna JAA/04 SI; HN99 SI; N1/62/SI; GAGS SI GU301925; Ark/ArkDPI 81 SI; Ark/Ark99/73; CAL99/CAL99/99 SI; CAL99/NE15172/95 SI; Holte/Holte/54; JMK/JMK/64; Gray/Gray/60; lowa/lowa609/56; Ca 1737/04 SI; DMA/5642/06 SI; GA07/GA07/07 Si; QX/QXIBV/99; Mass/H52/ SI; Mass/Hi 20/ SI; Mass/Mass41/4I SI; vacuna Cofln/Corm46/51 SI: FL/FL i 8288/71; DE DE072/92 SI vaccine; GA98/Q470/98 SI; y Dutch/D 1466/81.

[00179] Otros ejemplos de típicas cepas de referencia y los números de acceso a la base de datos de secuencias de nucleótidos de sus secuencias génicas spike son M41 (serotipo Massachusetts; X04722), NUD274/78 (serotipo D274; X15832), USA/Arkansas 99 (serotipo Ark 99; L10384), Belgium/B1648 (serotipo B1648; X87238), USA (DE)/072/92 (serotipo DE072; U77298), US (GA)/0470/98 (serotipo Georgia 98; AF274437), Ut14/91 (serotipo 793B1; AF093794), USA/Connecticut (serotipo Connecticut; L18990) y NL/D1466 (serotipo D1466; M21971).

[00180] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica es una vacuna. El término “vacuna” ya fue descrito en otra parte en la presente. Sin embargo, en un caso en el que el huésped muestra una respuesta inmunológica de modo que la resistencia a una nueva infección se mejore y/o la gravedad clínica de la enfermedad se reduzca, la composición inmunogénica se describe como una “vacuna”.

[00181] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00182] La expresión “portador farmacéuticamente aceptable” incluye todos y cualquiera de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes que demoran la absorción, adyuvantes, inmunoestimulantes y sus combinaciones.

[00183] 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 etilendiamintetracético, entre otros.

[00184] En un aspecto de la presente invención, el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00185] Con preferencia, la composición inmunogénica también comprende estabilizantes de gelatina de sacarosa.

[00186] En un aspecto de la presente invención, el portador farmacéuticamente aceptable es quitosano.

[00187] El quitosano es un polisacárido desacetilado natural de quitina en crustáceos (por ejemplo, camarón, cangrejo), insectos y otros invertebrados. Recientemente, Rauw et al. 2009 (Vet Immunol Immunop 134:249-258) demostró que el quitosano mejoraba la respuesta inmune celular de vacuna de enfermedad Newcastle viva y promovía su efecto protector. Además, Wang et al., 2012 (Arch Virol (2012) 157:1451-1461) mostró resultados que revelaban el potencial de quitosano como un adyuvante para usar en una vacuna de gripe atenuada viva.

[00188] Con preferencia, la composición inmunogénica también puede incluir uno o varios otros agentes inmunomoduladores tales como, por ejemplo, interleuquinas, interferones u otras citoquinas. Las cantidades y concentraciones de adyuvantes y aditivos útiles en el contexto de la presente invención se pueden determinar con facilidad por el experto en la técnica.

[00189] En algunos aspectos, la composición inmunogénica de la presente invención contiene un adyuvante. “Adyuvantes”, como se usa en la presente, pueden incluir hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio, saponinas, por ejemplo, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), emulsión de agua en aceite, emulsión de aceite en agua, emulsión de agua en aceite en agua. La emulsión se puede basar en particular en aceite parafínico líquido liviano (tipo de Pharmacopea Europea); aceite de isoprenoide tales como escualano o escualeno; aceite resultante de la oligomerización de alquenos, en particular de isobuteno o deceno; ésteres de ácidos o de alcoholes que contienen un grupo alquilo lineal, más en particular, aceites vegetales, oleato de etilo, di-(caprilato/caprato) de propilenglicol, tri-(caprilato/caprato) de glicerilo o dioleato de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos ramificados o alcoholes, en particular ésteres de ácido isoesteárico. El aceite se usa en combinación con emulsificantes para formar la emulsión. Los emulsificantes son preferentemente tensioactivos no iónicos, en particular éteres de sorbitano, de mannida (por ejemplo, oleato de anhidromanitol), de

glicol, de poliglicerol, de propilenglicol y de ácido oleico, isoesteárico, ricinoleico o hidroxiesteárico que son opcionalmente copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno y etoxilados, en particular los productos Pluronic, en especial L121. Ver Hunter *et al*., The Theory and Practical Application of Adjuvants (Ed.Stewart-Tull, D. E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp51-94 (1995) y Todd *et al*., Vaccine 15:564-570 (1997). Los adyuvantes de ejemplo son la emulsión de SPT descrita en la página 147 de "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" editado por M. Powell y M. Newman, Plenum Press, 1995 y la emulsión MF59 descrita en la página 183 del mismo libro.

[00190] Otra instancia de un adyuvante es un compuesto seleccionado de los polímeros de ácido acrílico o ácido metacrílico y los copolímeros de anhídrido maleico y derivado de alquenilo. Los compuestos adyuvantes ventajosos son los polímeros de ácido acrílico o ácido metacrílico que se reticulan, en especial con éteres de polialquenilo de azúcares o polialcoholes. Estos compuestos son conocidos por la expresión carbómeros (Phameuropa Vol. 8, No. 2, junio de 1996). Los expertos en la técnica también se pueden mencionar como patente U. S. N.º 2.909.462 que describen tales polímeros acrílicos reticulados con un compuesto polihidroxilado con al menos 3 grupos hidroxilo, con preferencia, no más de 8, estando reemplazados los átomos de hidrógeno de al menos tres hidroxilos por radicales alifáticos insaturados con al menos 2 átomos de carbono. Los radicales preferidos son aquellos que contienen de 2 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, vinilos, alilos y otros grupos etilénicamente insaturados. Los radicales insaturados pueden contener, en sí, otros sustituyentes, como metilo. Los productos vendidos bajo el nombre Carbopol; (BF Goodrich, Ohio, Estados Unidos) son particularmente apropiados. Se reticulan con sacarosa de alilo o con pentaeritritol de alilo. Entre ellos, se pueden mencionar Carbopol 974P, 934P y 971P. Se prefiere más el uso de Carbopol 971P. Entre los copolímeros de anhídrido maleico y derivado de alquenilo, son los copolímeros EMA (Monsanto) que son copolímeros de anhídrido maleico y etileno. La disolución de estos polímeros en agua lleva a una solución ácida que se puede neutralizar, con preferencia, a pH fisiológico, a fin de dar la solución adyuvante en la que se incorporará la composición inmunogénica, inmunológica o de vacuna en sí.

[00191] Otros adyuvantes apropiados incluyen, entre otros, el sistema de adyuvantes RIBI (Ribi Inc.), copolímero de bloque (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), lípido de monofosforilo A, adyuvante de lípido-amina Avridina, enterotoxina lábil al calor de E. coli (recombinante o de otro modo), toxina de cólera, IMS 1314 o dipéptido

de muramilo o citoquinas naturales o recombinantes o sus análogos o estimulantes de liberación de citoquina endógena, entre muchos otros.

[00192] Se espera que un adyuvante se pueda añadir en una cantidad de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 10 mg por dosis, con preferencia, en una cantidad de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 10 mg por dosis, con mayor preferencia, en una cantidad de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 5 mg por dosis, con mayor preferencia aún, en una cantidad de aproximadamente 750 µg a aproximadamente 2,5 mg por dosis y con máxima preferencia, en una cantidad de aproximadamente 1 mg por dosis. Alternativamente, el adyuvante puede estar en una concentración de aproximadamente el 0,01 al 50%, con preferencia, en una concentración de aproximadamente el 2% al 30%, con mayor preferencia, en una concentración de aproximadamente el 5% al 25%, con mayor preferencia aún, en una concentración de aproximadamente el 7% al 22% y con máxima preferencia, en una concentración del 10% al 20% en volumen del producto final.

[00193] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita. Las expresiones “tratamiento y/o prevención”, “signos clínicos” y “de necesidad” fueron definidos en otra parte.

En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga. Los términos “protege” y “prevención” y “prevenir” se usan indistintamente en esta solicitud. Sin embargo, estos términos fueron definidos en otra parte.

[00194] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00195] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00196] El volumen para una dosis simple se definió en otra parte de la presente.

[00197] Por otra parte, se mostró que una dosis de la composición inmunogénica de la presente invención es eficaz después de la administración de tal dosis simple de tal composición inmunogénica.

[00198] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00199] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID50/ml por dosis del IBV.

[00200] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID50/ml por dosis del IBV.

[00201] En un aspecto de la presente invención, la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID50/ml por dosis del IBV.

Kits

[00202] Las composiciones pueden presentarse, si se desea, en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contengan el ingrediente activo. El envase puede comprender, por ejemplo, una lámina de metal o de plástico, tal como un envase blíster. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones para la administración preferentemente para la administración a sujetos, especialmente a las aves de corral. Asociado con dicho(s) contenedor(es) puede haber una notificación en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regule la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, la cual refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, uso o venta para la administración humana.

[00203] Por lo tanto, la presente invención proporciona un kit que contiene el IBV o la composición inmunogénica tal como se describe en el presente documento.

[00204] En un aspecto de la presente invención, el kit contiene además un folleto de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades de las aves.

[00205] En un aspecto de la presente invención, el kit contiene además un folleto de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades de las aves de corral.

[00206] En un aspecto de la presente invención, el kit comprende además un folleto de instrucción para el tratamiento y/o la prevención de la IB (bronquitis infecciosa).

Métodos de tratamiento

[00207] Además, la presente invención proporciona un método para inmunizar a un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una composición inmunogénica tal como se describe en la presente memoria descriptiva.

[00208] El término “inmunización” se refiere a una inmunización activa mediante la administración de una composición inmunogénica a un sujeto a ser inmunizado, provocando de este modo una respuesta inmunológica contra el antígeno incluido en dicha composición inmunogénica.

[00209] Con preferencia, la inmunización da como resultado una disminución de la incidencia de la infección de IBV particular en un bandada o en la reducción de la gravedad de los signos clínicos causados por o asociados con la infección de IBV

particular.

[00210] Además, la inmunización de un sujeto necesitado con las composiciones inmunogénicas tal como se proporciona en el presente documento, da como resultado la prevención de la infección de un sujeto por infección por IBV. Aún más preferentemente, la inmunización da como resultado una respuesta inmunológica efectiva y duradera frente a la infección por IBV. Se entenderá que dicho periodo de tiempo durará más de 1 mes, preferentemente más de 2 meses, preferentemente más de 3 meses, más preferentemente más de 4 meses, más preferentemente más de 5 meses, más preferentemente más de 6 meses. Debe entenderse que la inmunización puede no ser efectiva en todos los sujetos inmunizados. Sin embargo, el término requiere que una porción significativa de sujetos de una bandada esté efectivamente inmunizada.

[00211] Con preferencia, en este contexto se prevé una bandada de sujetos que normalmente, es decir estando sin inmunización, desarrollaría signos clínicos normalmente causados por o asociados con una infección por IBV. El experto en la materia puede determinar sin más detalle si los sujetos de una bandada están efectivamente inmunizados. Con preferencia, la inmunización será efectiva si los signos clínicos en, al menos el 33%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, aún más preferentemente en al menos el 95% y más preferentemente en el 100% de los sujetos de una misma bandada se reducen en incidencia o gravedad en al menos un 10%, más preferentemente en al menos un 20%, aún más preferentemente en al menos un 30%, aún más preferentemente en al menos un 40%, aún más preferentemente en al menos un 50%, aún más preferentemente en al menos un 60%, aún más preferentemente en, al menos un 70%, aún más preferentemente en al menos un 80%, aún más preferentemente en un 90%, en al menos un 95% y lo aún más preferentemente en un 100% en comparación con sujetos que no están inmunizados o inmunizados con una composición inmunogénica que estaba disponible antes de la presente invención pero que posteriormente fue infectada por el IBV particular.

[00212] Además, la presente invención proporciona un método para tratar o prevenir signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición inmunogénica como se describe en el presente documento.

[00213] El término “tratamiento y/o prevención” se refiere a la disminución de la incidencia de la infección de IBV particular en una bandada o la reducción en la gravedad

de los signos clínicos causados por o asociados con la infección de IBV en particular. Por lo tanto, el término “tratamiento y/o prevención” también se refiere a la reducción del número de sujetos en una bandada que se infectan con el IBV en particular (= disminución de la incidencia de la infección de IBV particular) o a la reducción de la gravedad de los signos clínicos normalmente asociados o causados por una infección por el IBV o la reducción del desprendimiento de virus después de la infección con el IBV particular o la prevención o disminución de la caída de huevos en gallinas ponedoras después de la infección con el IBV particular en un grupo de sujetos los cuales han recibido una cantidad efectiva de tal composición inmunogénica proporcionada en el presente documento en comparación con un grupo de sujetos que no hayan recibido tal composición inmunogénica.

[00214] El “tratamiento y/o la prevención” implica generalmente la administración de una cantidad efectiva de la composición inmunogénica de la presente invención a un sujeto o a una bandada de sujetos que necesitan o que podrían beneficiarse de tal tratamiento/prevención. El término “tratamiento” se refiere a la administración de una cantidad efectiva de la composición inmunogénica una vez que el sujeto o al menos algunos sujetos de la bandada están ya infectados con tal IBV y en los que dichos sujetos ya presentan algunos signos clínicos causados o asociados con tal infección por IBV. El término “prevención” se refiere a la administración a un sujeto antes de cualquier infección de dicho sujeto con IBV o, al menos cuando dicho sujeto o ninguno de los sujetos en un grupo de sujetos no muestran signos clínicos causados por o asociados con la infección por tal IBV. Los términos “prevención” y “prevención” se usan intercambiables en la presente solicitud.

[00215] El término “una cantidad efectiva” tal como se usa en la presente memoria descriptiva, significa, pero sin limitarse a una cantidad del antígeno, que provoca o es capaz de provocar una respuesta inmune en un sujeto. Dicha cantidad efectiva es capaz de disminuir la incidencia de la infección de IBV particular en una bandada o de reducir la gravedad de los signos clínicos de la infección de IBV en particular.

[00216] Con preferencia, se reduce la incidencia o gravedad de los signos clínicos al menos 10%, con más preferencia en al menos 20%, aún con más preferencia en al menos 30%, incluso con más preferencia en al menos 40%, aún con más preferencia en al menos 50%, incluso con más preferencia en al menos 60%, aún con más preferencia en al menos 70%, incluso con más preferencia en al menos 80%, aún con más preferencia en al menos 90%, aún con más preferencia en al menos 95% y con máxima preferencia en 100% en comparación con los sujetos que no se tratan o se

tratan con una composición inmunogénica que estaba disponible antes de la presente invención pero infectados posteriormente con el IBV particular.

[00217] El término “signos clínicos” como se usa en la presente se refiere a signos de infección de un sujeto a partir de IBV. Los signos clínicos de infección dependen del patógeno seleccionado. Los ejemplos de tales signos clínicos incluyen, entre otros, dificultad respiratoria, nefritis, salpingitis, producción de huevo anormal, plumas rizadas, depresión, tasas de crecimiento reducidas y apetito reducido. Los signos de dificultad respiratoria abarcan signos respiratorios que incluyen jadeos, tos, estornudos, estertores traqueales, descarga nasal y ocular, lesiones traqueales y ciliostasis en la tráquea. Los signos de nefritis incluyen lesiones renales y diarrea acuosa. Los signos de producción anormal de huevos abarcan la caída de postura, huevos de menor tamaño, cáscara inferior, calidad de huevo interna reducida, huevos con albúmina fina y ciliostasis en el oviducto. Sin embargo, los signos clínicos también incluyen, entre otros, signos clínicos que son directamente observables de un animal vivo. Los ejemplos de signos clínicos directamente observables en un animal vivo incluyen la descarga nasal y ocular, tos, jadeos, estornudos, estertores traqueales, plumas rizadas, conjuntivitis, pérdida de peso, tasas de crecimiento reducidas, reducción del apetito, deshidratación, diarrea acuosa, renguera, letargo, debilitamiento y mal estado y similares.

[00218] Con preferencia, los signos clínicos reducidos en cuanto a incidencia o gravedad en un sujeto tratado en comparación con sujetos no tratados o tratados con una composición inmunogénica que estaba disponible antes de la presente invención pero posteriormente infectados por el IBV particular se refieren a una reducción de ciliostasis, una reducción de estertores, una reducción de la caída de postura, una reducción de las lesiones renales, una reducción de diarrea acuosa, una reducción de la pérdida de peso, menor carga viral, reducción de eliminación viral o combinaciones de estos.

[00219] El término “que necesita” o “de necesidad”, como se usa en la presente, significa que la administración / tratamiento está asociado con el refuerzo o mejora en la salud o los signos clínicos o cualquier otro efecto medicinal positivo sobre la salud de los sujetos que reciben la composición inmunogénica de acuerdo con la presente invención.

[00220] El término “reductor” o “reducido” o “reducción” o “reducir” se usan en forma intercambiable en esta solicitud. El término “reducción” significa que el signo clínico se reduce en al menos 10%, con más preferencia en al menos 20%, aún con más

preferencia en al menos 30%, incluso con más preferencia en al menos 40%, aún con más preferencia en al menos 50%, incluso con más preferencia en al menos 60%, aún con más preferencia en al menos 70%, incluso con más preferencia en al menos 80%, incluso con más preferencia en al menos 90%, aún con más preferencia en al menos 95% con máxima preferencia en 100% en comparación con los sujetos que no están tratados (no inmunizados), pero posteriormente infectados con el IBV particular.

[00221] Además, la presente invención proporciona un método para reducir la ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición inmunogénica como se describe en la presente.

[00222] Como se muestra en los Ejemplos, se ha demostrado que la composición inmunogénica proporcionada en la presente es eficaz para reducir la ciliostasis.

[00223] El término “ciliostasis” se refiere a un movimiento reducido de los cilios en la tráquea. Por lo tanto, la ciliostasis se puede determinar mediante el examen del revestimiento interior de los anillos traqueales para el movimiento de los cilios. Es de conocimiento general para una persona experta en la técnica cómo determinar el movimiento de los cilios en la tráquea.

[00224] Con preferencia, el movimiento de los cilios no se reduce desde el día 10 después de la estimulación o infección, con más preferencia desde el día 5 después de la estimulación o infección, con más preferencia desde el día 4 después de la estimulación o infección, con más preferencia desde el día 3 después de la estimulación o infección y con máxima preferencia desde el día 1 o 2 después de la estimulación o infección con el IBV en comparación con un sujeto de un grupo control no inmunizado de la misma especie.

[00225] El término “reducción de la ciliostasis” significa que la ciliostasis se reduce en al menos 10%, con preferencia en al menos 20%, con más preferencia en al menos 30%, incluso con más preferencia en al menos 40%, incluso con más preferencia en al menos 50%, incluso con más preferencia en al menos 60%, incluso con más preferencia en al menos 70%, incluso con más preferencia en al menos 80%, incluso con más preferencia en al menos 90%, incluso con más preferencia en al menos 95% y con máxima preferencia en 100% en comparación con un sujeto de un grupo control no inmunizado de la misma especie. Es del conocimiento general de un experto en la técnica cómo medie la reducción de la ciliostasis.

[00226] En un aspecto de la presente invención dicho sujeto es aviar.

[00227] El término “aviar” es bien conocido por los expertos en la técnica. El término “aviar” abarca todas las aves que incluyen aves de corral.

[00228] En un aspecto de la presente invención dicho sujeto es ave de corral.

[00229] El término “aves de corral” es bien conocido por los expertos en la técnica. El término “aves de corral” abarca pollos, pavos, codornices, faisanes, gallina de guinea, gansos y patos. Además, el término “pollo” incluye pollos de engorde, gallinas ponedoras y poblaciones reproductoras para ambos, también denominados como criadores.

[00230] En un aspecto de la presente invención dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00231] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica se administra una vez.

[00232] Se entiende que una dosis única se administra solo una vez. Como se muestra en los Ejemplos se ha comprobado que la composición inmunogénica proporcionada en la presente es eficaz después de la administración de una dosis única a un sujeto que la necesita.

[00233] El volumen de dosis por ave de corral depende de la vía de vacunación y la edad del ave de corral.

[00234] Normalmente, las vacunas de gota oftálmica se administran en un volumen de 1 a 100 µl por dosis a cualquier edad. Con preferencia, la dosis única para vacunas de gota oftálmica tiene un volumen total entre aproximadamente 5 µl y 70 µl y con más preferencia entre aproximadamente 20 µl y 50 µl, con una dosis única preferida de 20 µl, 25 µl, 30 µl, 35µl, 40 µl, 45 µl o 50 µl. La dosis única de máxima preferencia para las vacunas de gota oftálmica tiene un volumen total entre aproximadamente 30 µl y 50 µl, con una dosis única preferida de 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl o 50 µl.

[00235] Las vacunas de pulverización pueden contener la dosis en un volumen de 25 a 1000 µl para aves de corral de un día. Con preferencia, la dosis única para vacunas de pulverización tiene un volumen total entre aproximadamente 50 µl y 5000 µl, con más preferencia entre aproximadamente 75 µl y 2000 µl, con más preferencia entre aproximadamente 100 µl y 1000 µl, incluso con más preferencia entre aproximadamente 200 µl y 900 µl, incluso con más preferencia entre aproximadamente 300 µl y 800 µl y incluso con más preferencia entre aproximadamente 400 µl y 700 µl con una dosis única preferida de 400 µl, 425 µl, 450 µl, 475 µl, 500 µl, 525 µl, 550 µl, 575 µl, 600 µl, 625 µl, 650µl, 675 µl o 700 µl. La dosis única de máxima preferencia tiene un volumen total de 400 µl, 450 µl 500 µl, 550 µl, 600 µl, 650 µl o 700 µl.

[00236] La vacuna para la vacunación *in ovo* puede contener la dosis en un volumen de 50 a 100 µl, con preferencia 50 µl. Con preferencia, la dosis única para las vacunas *in ovo* tiene un volumen total entre aproximadamente 10 µl y 250 µl, con más preferencia entre aproximadamente 15 µl y 200 µl, incluso con más preferencia entre aproximadamente 20 µl y 150 µl, incluso con más preferencia entre aproximadamente 30 µl y 100 µl, incluso con más preferencia entre aproximadamente 30 µl y 75 µl y con una dosis única preferida de 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl, 50 µl, 55 µl, 60 µl, 65 µl, 70 µl o 75 µl. La dosis única de máxima preferencia tiene un volumen total de 40 µl, 45 µl, 50 µl, 55 µl o 60 µl.

[00237] La vacuna para la vacunación intramuscular o subcutánea o una dosis de una vacuna en agua de bebida puede contener la dosis en un volumen de 30 µl a 1000 µl. Con preferencia, la dosis única tiene un volumen total entre aproximadamente 30 µl y 1000 µl, con más preferencia entre aproximadamente 50 µl y 500 µl, con más preferencia entre aproximadamente 75 µl y 250 µl y incluso con más preferencia entre aproximadamente 100 µl y 200 µl con una dosis única de máxima preferencia de 100 µl, 110 µl, 120 µl, 125 µl, 130 µl, 135 µl, 140 µl, 145 µl, 150 µl, 160 µl, 170 µl, 175 µl, 180 µl, 190 µl, 155 µl, o 200 µl.

[00238] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00239] Sin embargo, la composición inmunogénica se puede administrar en dos o más dosis, una primera dosis se administra antes de la administración de una segunda dosis (refuerzo).

[00240] En un aspecto preferido del régimen de administración de dos veces, la primera y segunda dosis de la composición inmunogénica se administran en la misma cantidad. Con preferencia, cada dosis está en las cantidades preferidas especificadas anteriormente. Además del régimen de primera y segunda dosis, una forma de realización alternativa comprende dosis posteriores adicionales. Por ejemplo, se puede administrar una tercera, cuarta o quinta dosis en estos aspectos. Con preferencia, los posteriores regímenes de tercera, cuarta y quinta dosis se administran en la misma cantidad que la primera dosis, el marco de tiempo entre las dosis es compatible con el tiempo ente la primera y segunda dosis mencionada anteriormente.

[00241] Con preferencia, la primera administración de la vacuna se realiza dentro de las primeras tres semanas de edad, con más preferencia dentro de la primera semana de edad y de máxima preferencia a un día de edad por métodos descriptos a continuación. Una segunda administración se puede realizar dentro de las primeras 20

semanas de edad, con preferencia dentro de 16-18 semanas de edad, con más preferencia entre 6-12 semanas de edad. A modo de ejemplo, la vacunación inicial (primera) se realiza a 1-10 días de edad y la segunda vacunación (refuerzo) se realiza con una vacuna viva o inactivada a 6-12 o 16-18 semanas de edad. Con más preferencia, la vacunación inicial (primera) se realiza a un día de edad y la segunda vacunación (refuerzo) se realiza con una vacuna viva o inactivada a 6-12 o 16-18 semanas de edad.

[00242] En el caso de usar la vacunación in ovo, con preferencia la primera administración se realiza cuando los embriones tienen entre 15 a 19 días, con preferencia en el día 17, 18 o 19, con máxima preferencia en el día 18 de edad. Una segunda administración se puede realizar dentro de las primeras tres semanas de edad, con preferencia dentro de los primeros 10 días de edad.

[00243] En un aspecto de la presente invención dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por medio de pulverización, por medio de agua de bebida o por gota oftálmica.

[00244] La composición inmunogénica, con preferencia, se administra en forma tópica o sistémica. Las vías de administración convencionales usadas convencionalmente son la administración oral o parenteral, tal como intranasal, intravenosa, intradérmica, transdérmica, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, así como la inhalación, in ovo, por medio de pulverización, por medio de agua potable o por medio de gotas oftálmicas. Sin embargo, de acuerdo con la naturaleza y modo de acción de un compuesto, la composición inmunogénica también se puede administrar por otras vías. Por ejemplo, tales otras vías incluyen vía intracutánea, intravenosa, intravascular, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intratraqueal, intracutánea, intracardíaca, intralobal, intralobar, intramedular, intrapulmonar, intrarrectal, e intravaginal. Sin embargo, la composición inmunogénica de máxima preferencia se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por medio de pulverización, por medio de agua potable o por medio de gotas oftálmicas.

[00245] Las vacunas vivas de IBV con preferencia se administran individualmente en forma de gotas oftálmicas, intranasal, intramuscular o subcutánea.

[00246] Con más preferencia, se utilizan métodos de aplicación en masa, que incluyen vacunación en agua de bebida y pulverización en aerosol. También se prefiere el uso de vacunas como vacunas embrionarias (denominadas vacunas in ovo) como se describe más adelante.

[00247] Por ejemplo, pollos de engorde se pueden vacunar a un día de edad o a 1-3

semanas de edad, en particular para los pollos de engorde con altos niveles de MDA. La población de ponedoras o población de reproducción se puede vacunar inicialmente a 1-10 días de edad y reforzar con la vacuna a 7-12 o 16-18 semanas de edad.

Administración in ovo

[00248] Como se describió anteriormente, la presente invención también proporciona una vacuna de IBV que se puede administrar de forma segura por medio de la vía in ovo y al mismo tiempo es capaz de inducir una respuesta inmune protectora. Las administraciones in ovo son bien conocidas por los expertos en la técnica y ellos pueden realizar la administración in ovo sin más dilación. La administración in ovo de la vacuna implica la administración de la vacuna a un embrión aviar mientras está contenido en el huevo (para una revisión sobre la vacunación in ovo véase Ricks et al., Advances in Vet. Med. 495-515, 1999). La vacuna se puede administrar a cualquier compartimiento adecuado del huevo (por ejemplo, fluido alantoide, saco vitelino, amnio, celda de aire o en el embrión) como se describe en la técnica (Sharma, Am. J. Vet Res. 45 1619-1623, 1984). Con preferencia la vacuna se administra por debajo de la membrana de la cáscara (celda de aire) y la membrana corioalantoica.

[00249] Con preferencia, la vacuna se inyecta en huevos embrionados durante las últimas etapas de la embrionación, generalmente durante el último trimestre del período de incubación, con preferencia 3-4 días antes de la eclosión. Con preferencia, la administración se lleva a cabo cuando los embriones tienen entre 15 y 19 días de edad, con preferencia a los días 17, 18 o 19, con máxima preferencia a los 18 días de edad. Posteriormente, los huevos embrionados vacunados se transfieren a una incubadora para la eclosión. El proceso de administración in ovo se puede automatizar usando un proceso de inyección robótica como se describe en la técnica anterior.

[00250] Normalmente, las vacunas convencionales para la vacunación después de la eclosión de aves de corral no se pueden usar para la vacunación in ovo, porque los embriones de etapa tardía son altamente susceptibles a la infección con la mayoría de los virus de vacuna examinados. Sin embargo, la solicitud de patente internacional WO 01/64244 describe que las vacunas para IBV se pueden usar para administración in ovo siempre que se aplique a dosis muy bajas. Además, Wakenell et al. 1986 (Am. J. Vet. Res., 47 933-938) describe que el paso de un virus de vacuna IB en cultivo de tejidos volvió al virus apatogénico para los embriones.

[00251] En un aspecto de la presente invención dicha composición inmunogénica se administra por medio de gotas oftálmicas.

[00252] Normalmente, la vacuna viva para la administración pos-eclosión comprende

el IBV atenuado en una concentración de 10^1 a 10^8 EID_{50} (50% de dosis infectiva de huevo) por dosis unitaria, con preferencia en una concentración de 10^2 a 10^5 EID_{50} por dosis unitaria y, con más preferencia, en una concentración de 10^2 a 10^4 EID_{50} por dosis unitaria y, incluso con más preferencia, en una concentración de 10^2 a 10^3 EID_{50} por dosis unitaria.

[00253] La vacuna viva para administración in ovo normalmente comprende una cantidad del IBV atenuado de 10^2 a 10^7 EID_{50} /embrión, con preferencia 10^2 a 10^3 EID_{50} /embrión en un volumen de 50 a 100 µl, con preferencia 50 µl.

[00254] Con preferencia, la composición inmunogénica de la presente invención comprende el IVB de la presente invención en cantidades de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 $\log_{10}$ EID (dosis infectiva de huevo)$_{50}$/ml por dosis, con preferencia aproximadamente 2 a aproximadamente 8 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis, con preferencia in una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis, con más preferencia in una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis, incluso con más preferencia in una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis, incluso con más preferencia in una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis, con máxima preferencia en una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis. Con más preferencia, la composición inmunogénica de la presente invención comprende el IVB de la presente invención en cantidades de aproximadamente 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5 o $\log_{10}$ EID_{50}/ml por dosis.

[00255] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50}/ml del IBV.

[00256] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50}/ml del IBV.

[00257] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50}/ml del IBV.

[00258] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro de los primeros tres días de edad, dentro de los primeros dos días de edad, o dentro del primer día de edad.

[00259] Con preferencia, el sujeto para inmunizar tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 días de edad. Con más preferencia, dicho sujeto para inmunizar tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días de edad. Con máxima preferencia, dicho sujeto para inmunizar tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días de edad.

[00260] Sin embargo, se debe entender que después de la vacunación del sujeto que tiene pocos días de edad, se necesitan varios días para que el sistema inmune de las aves de corral construya inmunidad contra una infección por IBV. Por lo tanto, con preferencia, los sujetos se inmunizan dentro de las primeras 24 h de edad.

[00261] En un aspecto de la presente invención la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de los primeros días de edad. Como se muestra en los Ejemplos se ha comprobado que la composición inmunogénica proporcionada en la presente es segura y eficaz cuando se administra a aves de corral de 1 día.

[00262] En un aspecto de la presente invención, dicho método produce una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de postura de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de la diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una reducción de la eliminación viral o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo control no inmunizado de la misma especie.

[00263] Los términos “tratamiento y / o prevención” se han definido en otra parte, donde los términos “prevención” y “prevenir” o “prevención” se usan en forma intercambiable en esta solicitud. Además, el término “eliminación” se ha definido también en otra parte.

[00264] El término “reducir”, “reducido”, “reducción” o “menor” significa, que el parámetro de eficacia (ciliostasis, estertores, caída de postura, lesiones renales, diarrea acuosa, pérdida de peso, carga viral, eliminación viral) se reduce en al menos 10%, con preferencia en al menos 20%, con más preferencia en al menos 30%, incluso con más preferencia en al menos 40%, incluso con más preferencia en al menos 50%, incluso con más preferencia en al menos 60%, incluso con más preferencia en al menos 70%, incluso con más preferencia en al menos 80%, incluso con más preferencia en al menos 90%, incluso con más preferencia en al menos 95% y con máxima preferencia en 100% en comparación con un sujeto de un grupo control no inmunizado de la misma especie. Es del conocimiento general para un experto en la técnica cómo medir la mejoría en los parámetros de eficacia.

[00265] La expresión “carga viral” es bien conocida por el experto en la técnica. El término carga viral en la presente se usa de forma intercambiable con el término título viral. La carga viral o el título del virus es una medición de la gravedad de una infección viral activa, y se puede determinar por métodos conocidos por el experto en la técnica. La determinación se puede basar en la detección de proteínas virales tales como la unión de anticuerpo a las proteínas virales y la detección adicional o, alternativamente,

mediante la detección de ARN viral por métodos de amplificación tales como RT-PCR. El control del ARN viral asociado al virión en el plasma mediante métodos de amplificación de ácidos nucleicos es un parámetro ampliamente utilizado para evaluar el estado y la progresión de la enfermedad retroviral y para evaluar la efectividad de las intervenciones profilácticas y terapéuticas. A modo de ejemplo, la carga de virus o título de virus se puede calcular mediante la estimación de la cantidad de virus vivo en un fluido corporal implicado tal como un número de copias de ARN por mililitro de plasma sanguíneo.

[00266] El término “ciliostasis” es bien conocido por el experto en la técnica. La superficie de la tráquea está cubierta con células epiteliales especializadas, que están revestidas con numerosas estructuras móviles parecidas a cabellos llamadas cilios. El término “ciliostasis” abarca la reducción o pérdida de cilios y / o pérdida o pérdida parcial de la actividad ciliar. La ciliostasia puede ser determinada sin dilación por el experto en la técnica.

[00267] El término “estertores” es bien conocido por el experto en la técnica. Sin embargo, el término “estertores” abarca estertores traqueales y se refiere a sonidos que emanan de los bronquios. Los estertores pueden ser determinados sin dilación por el experto en la técnica.

[00268] El término “caída de postura” es bien conocido por el experto en la técnica. El término “caída de postura” abarca una disminución de la producción de huevos.

[00269] En un aspecto de la presente invención el tratamiento o prevención produce una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con los sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00270] En un aspecto de la presente invención el tratamiento o prevención produce una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con los sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00271] En un aspecto de la presente invención el tratamiento o prevención produce una prevención o reducción de la caída de postura en comparación con los sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00272] La presente invención además proporciona un IBV o una composición inmunogénica como se describe en la presente para uso terapéutico.

[00273] La presente invención además proporciona un IBV o una composición inmunogénica como se describe en la presente para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00274] La presente invención además proporciona un IBV o una composición

inmunogénica como se describe en la presente para usar como un medicamento.

[00275] La presente invención además proporciona el uso del IBV o composición inmunogénica como se describe en la presente para la fabricación de un medicamento.

[00276] La presente invención además proporciona el uso del IBV o composición inmunogénica como se describe en la presente para el tratamiento y/o prevención de las infecciones de IBV en un sujeto.

[00277] Además, se debe entender que una inactivación única de ORF 3a o una inactivación única de ORF 3b o una inactivación única de ORF 5a o una inactivación única de ORF 5b también lleva a la atenuación del IBV. Por lo tanto, se puede usar un IBV que tenga una inactivación única de ORF 3a o una inactivación única de ORF 3b o una inactivación única de ORF 5a o una inactivación única de ORF 5b para preparar una composición inmunogénica. Además, dicha composición inmunogénica tiene el efecto descripto en la presente (tal como protección contra la infección por exposición a IBV).

[00278] Además, cuando se genera tal inactivación única (ORF 3a u ORF 3b u ORF 5a u ORF 5b) se debe entender que una secuencia que comprende codones de detención se puede insertar corriente abajo de un ORF para asegurar la detención de dicha traducción de dicho ORF. Esto puede ser necesario cuando dos ORF se superponen y la inactivación de un ORF puede inactivar el codón de detención del otro ORF.

Formas de realización

Las siguientes cláusulas también se describen en la presente:

[00279] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00280] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados; o
- el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados; o
- el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00281] 3. El IBV de acuerdo con la cláusula 1 o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 2, en donde dicha inactivación de ORF 3a y ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3c y/o tampoco la actividad de la proteína E.

[00282] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación de ORF 3a y ORF 3b no afecta la expresión

de ORF S y/o tampoco la actividad de la proteína S.

[00283] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde dicha inactivación de ORF 5a y ORF 5b no afecta la expresión de ORF N y/o tampoco la actividad de la proteína N.

[00284] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde dicha inactivación es una eliminación completa o parcial del ORF 3a y una eliminación parcial del ORF 3b y/o una eliminación completa o parcial del ORF 5a y una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación completa o parcial del ORF 3a y una truncación parcial del ORF 3b y/o una truncación completa o parcial del ORF 5a y una truncación parcial del ORF 5b, una inversión completa o parcial del ORF 3a y una inversión parcial del ORF 3b y/o una inversión completa o parcial del ORF 5a y una inversión parcial del ORF 5b, una relocación completa o parcial del ORF 3a y una relocación parcial del ORF 3b y/o una relocación completa o parcial del ORF 5a y una relocación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y el ORF 3b y/o el ORF 5a y el ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y el ORF 3b y/o el ORF 5a y el ORF 5b.

[00285] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el ORF 3a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente y en donde el ORF 3b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00286] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el ORF 5a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente y en donde el ORF 5b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00287] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde el ORF 3a y el ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten completa o parcialmente y en donde el ORF 3b y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten parcialmente.

[00288] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 9, en donde el ORF 3a se elimina completa o parcialmente y el ORF 3b se elimina parcialmente.

[00289] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 5a se elimina completa o parcialmente y el ORF 5b se elimina parcialmente.

[00290] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el ORF 3a y el ORF 5a se eliminan completa o parcialmente y el ORF 3b y el ORF 5b se eliminan parcialmente.

[00291] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde el codón de inicio de ORF 3a y el codón de inicio de ORF 3b están inactivados.

[00292] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde el codón de inicio de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) y el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) están inactivados.

[00293] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 13 o la cláusula 14, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 3a y ORF 3b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00294] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde el codón de inicio de ORF 5a y el codón de inicio de ORF 5b están inactivados.

[00295] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde el codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y el codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5b están inactivados.

[00296] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 16 o la cláusula 17, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 5a y ORF 5b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00297] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a y ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1).

[00298] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a y ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1).

[00299] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00300] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde A, U o G del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y ORF 5b (AUG,

nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00301] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG) de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) y el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) y en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y el codón de inicio ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00302] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00303] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan,

sustituyen o invierten.

[00304] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00305] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00306] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 27, en donde entre 1 y 173 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00307] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 28, en donde entre 1 y 173 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 172 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 171 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten y en donde entre 1 y 175 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 174 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 173 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00308] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 29, en donde entre 1 y 194 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y en donde entre 1 y 191 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00309] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 30, en donde entre 1 y 194 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 193 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 192 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 190 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 189 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00310] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 31, en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00311] 33. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 32, en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al

menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00312] 34. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 33, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00313] 35. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 34, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00314] 36. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 35, en donde entre 174 y 200 nucleótidos o entre 174 y 300 nucleótidos o entre 174 y 348 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00315] 37. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde entre 174 y 348 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 173 y 347 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 172 y 346 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00316] 38. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 37, en donde entre 195 y 250 nucleótidos o entre 195 y 300 nucleótidos o entre 195 y 350 o entre 195 y 385 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00317] 39. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 38, en donde entre 195 y 385 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 194 y 384 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 193 y 383 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00318] 40. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 39, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00319] 41. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 40, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00320] 42. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 41, en donde entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00321] 43. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 42, en donde entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00322] 44. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43, en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00323] 45. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 44, en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00324] 46. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 45, en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00325] 47. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 46, en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00326] 48. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 47, en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00327] 49. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 48, en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00328] 50. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 49, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos

350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00329] 51. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 50, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00330] 52. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51, en donde el ORF 3a y el ORF 3b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00331] 53. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 52, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00332] 54. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 53, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00333] 55. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 54, en donde el ORF 5a y el ORF 5b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00334] 56. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 55, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00335] 57. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 56, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como

se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00336] 58. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 57, en donde el IBV está atenuado.

[00337] 59. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 58, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00338] 60. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 59, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00339] 61. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 60, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00340] 62. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 61, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00341] 63. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00342] 64. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00343] 65. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00344] 66. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00345] 67. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00346] 68. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 62, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00347] 69. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 68, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00348] 70. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 69, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00349] 71. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 70, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00350] 72. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 71, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00351] 73. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 72, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00352] 74. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 73, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00353] 75. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 74, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00354] 76. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 75, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00355] 77. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 76, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00356] 78. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 77, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00357] 79. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 78, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00358] 80. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo

con cualquiera de las cláusulas 1 a 79.

[00359] 81. El kit de acuerdo con la cláusula 80, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves.

[00360] 82. El kit de acuerdo con la cláusula 81, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00361] 83. El kit de acuerdo con la cláusula 82, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00362] 84. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79.

[00363] 85. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79.

[00364] 86. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79.

[00365] 87. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00366] 88. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00367] 89. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 79 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00368] 90. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 89, en donde dicho sujeto es un ave.

[00369] 91. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 90, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00370] 92. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 91, en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00371] 93. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 92, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00372] 94. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 92, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00373] 95. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 94, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00374] 96. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 95, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00375] 97. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 96, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00376] 98. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 97, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00377] 99. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 98, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00378] 100. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 99, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00379] 101. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 100, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00380] 102. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 101, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00381] 103. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 102, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00382] 104. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 103, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00383] 105. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 84 a 104, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00384] 106. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79 para uso terapéutico.

[00385] 107. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00386] 108. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79 para usar como un medicamento.

[00387] 109. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79 para la fabricación de un medicamento.

[00388] 110. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

Además, también se describen las siguientes cláusulas en la presente:

[00389] 1. Un método de propagación y modificación genómica de IBV que comprende:

a) transfectar el ARN viral de un IBV en células;

b) cotransfectar las células de la etapa a) con un primer ARN viral de IBV parcial, en donde dicho primer ARN viral de IBV parcial codifica una proteína de superficie de un coronavirus diferente;

c) seleccionar clones de IBV infecciosos quiméricos positivos para dicha proteína de superficie de los diferentes coronavirus de dicho ARN viral de IBV parcial;

d) transfectar un segundo ARN viral de IBV parcial en una línea celular positiva para un clon de IBV infeccioso quimérico de la etapa c), en donde dicho segundo ARN viral de IBV parcial codifica una proteína de superficie de un IBV, y en donde dicho segundo ARN viral de IBV parcial lleva otras modificaciones;

e) inocular las células de la etapa d) en los huevos de ave embrionados;

f) seleccionar genómicamente el IBV modificado de los huevos de ave embrionados de la etapa e), en donde el IBV genómicamente modificado tiene la proteína de superficie de un IBV y, en donde el IBV genómicamente modificado lleva dichas modificaciones adicionales.

[00390] 2. El método de acuerdo con la cláusula 1, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00391] 3. El método de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120 correct?), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00392] 4. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde la transfección es microinyección.

[00393] 5. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde la transfección es electroporación.

[00394] 6. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde la transfección en la etapa a) de acuerdo con la cláusula 1 y la cotransfección en la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 se llevan a cabo de modo simultáneo.

[00395] 7. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde las células tienen un origen mamífero, aviar o vertebrado.

[00396] 8. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde las células se seleccionan del grupo que consiste en: BHK (riñón de hámster bebé)-21, Vero (células epiteliales de riñón de mono verde africano), Cos-7 (células de riñón de tipo fibroblasto de mono verde africano Cercopitecus aetiops), CK (riñón de pollo), CEF (fibroblastos de embrión de pollo), células de hígado de embrión de pollo (CELC), células dérmicas de embrión de pollo (CED), células Vero y células 293T.

[00397] 9. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde las células se cocultivan con un segundo tipo de células, en donde el segundo tipo de células se origina de la misma especie que la especificidad de especie es de dicho coronavirus diferente.

[00398] 10. El método de acuerdo con la cláusula 9, en donde el segundo tipo de células para cocultivo son células originadas de ratón, gato, cerdo, humano o pavo.

[00399] 11. El método de acuerdo con la cláusula 9 o 10, en donde el segundo tipo de células para cocultivo es LR7 de ratón, L2R de ratón, L2 de ratón, mTAL de ratón (extremidad ascendente gruesa medular del ratón), FCWF felino (feto entero de Felis catus), ST (testículos de cerdos) o LLC-PK (células epitelial de riñón de cerdo).

[00400] 12. El método de acuerdo con la cláusula 9 o 10, en donde el segundo tipo de células para cocultivo es LR7 de ratón.

[00401] 13. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde la etapa de cotransfección en la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 también comprende la cocotransfección de un ARN que codifica una proteína de nucleocápside de coronavirus (proteína N).

[00402] 14. El método de acuerdo con la cláusula 13, en donde el ARN que codifica un gen de coronavirus N es un ARN que codifica la proteína N de IBV, la proteína N de MHV, la proteína N de FIPV o la proteína N de SDCV.

[00403] 15. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde la proteína de superficie es una proteína de unión con el receptor o una de sus partes.

[00404] 16. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde la proteína de superficie es una proteína spike o una de sus partes.

[00405] 17. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde la proteína de superficie es el ectodominio de la proteína spike o una de sus partes.

[00406] 18. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde la proteína de superficie de un coronavirus diferente de la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 es una proteína de superficie de MHV, FIPV, PEDV o SDCV o una de sus partes.

[00407] 19. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde la proteína de superficie de un diferente coronavirus de la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 es una proteína de unión con el receptor de MHV, FIPV, PEDV o SDCV o una de sus partes.

[00408] 20. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde la proteína de superficie de un diferente coronavirus de la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 es una proteína spike de MHV, FIPV, PEDV o SDCV o una de sus partes.

[00409] 21. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde la proteína de superficie de un diferente coronavirus de la etapa b) de acuerdo con la cláusula 1 es un ectodominio de una proteína spike de MHV, FIPV, PEDV o SDCV o

una de sus partes.

[00410] 22. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde dicha proteína de superficie de un diferente coronavirus es de un coronavirus distinto de IBV.

[00411] 23. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde dicha proteína de superficie de un diferente coronavirus es una proteína spike de MHV o una de sus partes.

[00412] 24. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde dicha proteína de superficie de un diferente coronavirus es el ectodominio de la proteína spike de MHV o una de sus partes.

[00413] 25. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde dicho clon de IBV infeccioso quimérico comprende una proteína spike o una de sus partes de MHV, FIPV, PEDV o SDCV.

[00414] 26. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde dicho clon de IBV infeccioso quimérico comprende el ectodominio de a proteína spike o una de sus partes de MHV, FIPV, PEDV o SDCV.

[00415] 27. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde dicho clon de IBV infeccioso quimérico comprende una proteína spike de MHV o una de sus partes.

[00416] 28. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 27, en donde dicho clon de IBV infeccioso quimérico comprende el ectodominio de la proteína spike de MHV o una de sus partes.

[00417] 29. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 28, en donde dicho huevo de ave embrionario es de pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00418] 30. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 29, en donde dicho huevo de ave embrionario es un huevo de gallina.

[00419] 31. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 30, en donde la selección de clones de IBV infeccioso comprende un método seleccionado del grupo que consiste en: RT-PCR, RT-PCR en tiempo real, Northern Blots, Western Blots, radioinmunoensayo, ensayo ELISA, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, hibridación in situ.

[00420] 32. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 31, en donde dicho ARN viral de IBV parcial es un ARN viral recombinante.

[00421] 33. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 32, en donde dicho ARN viral de IBV parcial es un ARN viral sintético.

[00422] 34. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 33, en donde dicho segundo ARN viral de IBV parcial de acuerdo con la cláusula 1 codifica una proteína spike de IBV o una de sus partes.

[00423] 35. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 34, en donde dicho segundo ARN viral de IBV parcial de acuerdo con la cláusula 1 codifica el ectodominio de una proteína spike de IBV o una de sus partes.

[00424] 36. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 35, en donde dicha modificación en dicho segundo ARN viral de IBV parcial se selecciona del grupo que consiste en: una eliminación completa de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una eliminación parcial de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una truncación de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una inversión de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una relocación de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una inserción de ácidos nucleicos dentro de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora, una sustitución de ácidos nucleicos dentro de un gen, ORF, promotor o cualquier secuencia no codificadora.

[00425] 37. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde dicha modificación en dicho segundo ARN viral de IBV parcial es una eliminación completa o parcial del ORF 3a y una eliminación parcial del ORF 3b y/o una eliminación completa o parcial del ORF 5a y una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación completa o parcial del ORF 3a y una eliminación parcial del ORF 3b y/o una truncación completa o parcial del ORF 5a y una eliminación parcial del ORF 5b, una inversión completa o parcial del ORF 3a y una inversión parcial del ORF 3b y/o una inversión completa o parcial del ORF 5a y una inversión parcial del ORF 5b, una relocación completa o parcial del ORF 3a y una relocación parcial del ORF 3b y/o una relocación completa o parcial del ORF 5a y una relocación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y el ORF 3b y/o el ORF 5a y el ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y el ORF 3b y/o el ORF 5a y el ORF 5b.

[00426] 38. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde dicha modificación en dicho segundo ARN viral de IBV parcial es una eliminación, sustitución o inversión completa o parcial del ORF 3a y una eliminación, sustitución o inversión parcial del ORF 3b y/o una eliminación, sustitución o inversión completa o parcial del ORF 5a y una eliminación, sustitución o inversión parcial del ORF 5b.

[00427] 39. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde

dicha modificación en dicho segundo ARN viral de IBV parcial es una truncación del ORF 3a y el ORF 3b y/o el ORF 5a y el ORF 5b.

[00428] 40. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 39, en donde la selección de IBV genómicamente modificado de huevos de gallina embrionados comprende un método seleccionado del grupo que consiste en RT-PCR, RT-PCR en tiempo real, Northern Blots, Western Blots, radioinmunoensayo, ensayo ELISA, inmunofluorescencia inmunohistoquímica, hibridación in situ, dilución de punto final.

[00429] 41. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 40, en donde dicho IBV genómicamente modificado es un IBV recombinante.

[00430] 42. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 41, en donde dicho IBV genómicamente modificado está atenuado.

[00431] 43. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 42, en donde la selección de dicho coronavirus genómicamente modificado en huevos de gallina embrionados se lleva a cabo por dilución limitada.

[00432] 44. Un método de preparación de una vacuna de IBV atenuado que comprende el método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00433] 45. El método de acuerdo con la cláusula 44 que comprende la mezcla del IBV atenuado con un portador farmacéuticamente aceptable.

[00434] 46. Una célula que comprende un IBV de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00435] 47. Un huevo de ave embrionado que comprende un IBV de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00436] 48. Un huevo de gallina embrionado que comprende un IBV de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 42.

[00437] 49. Un IBV atenuado obtenido por el método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 42.

[00438] Además, en la presente también se describen las siguientes cláusulas relacionadas con una inactivación de ORF 3a:

[00439] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a está inactivado.

[00440] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3a está inactivado.

[00441] 3. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde dicha inactivación de ORF 3a no afecta la expresión de ORF S y/o no la actividad de la proteína S.

[00442] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación de ORF 3a no afecta la expresión de ORF 3b y/o no la actividad de la proteína 3b.

[00443] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde dicha inactivación es una eliminación completa o parcial del ORF 3a, una truncación completa o parcial del ORF 3a, una inversión completa o parcial del ORF 3a, una relocación completa o parcial del ORF 3a, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a.

[00444] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde el ORF 3a se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00445] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el ORF 3a se elimina parcialmente.

[00446] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el codón de inicio de ORF 3a está inactivado.

[00447] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde el codón de inicio de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) está inactivado.

[00448] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 8 o la cláusula 9, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 3a es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00449] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 3a está truncado desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a.

[00450] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el ORF 3a está truncado de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a.

[00451] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00452] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3

nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00453] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde entre 1 y 173 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00454] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde entre 1 y 173 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 172 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 171 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00455] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00456] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00457] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde el ORF 3a desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 173 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00458] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:33 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a.

[00459] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos

el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:33 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a.

[00460] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde el IBV está atenuado.

[00461] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00462] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00463] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00464] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00465] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00466] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00467] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00468] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en

donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00469] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00470] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00471] 33. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 32, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00472] 34. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 33, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00473] 35. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00474] 36. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 35, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00475] 37. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 36, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00476] 38. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 37, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00477] 39. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 38, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00478] 40. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 39, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00479] 41. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 40, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00480] 42. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 41, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00481] 43. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas

2 a 42, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 log_{10} EID_{50} del IBV.

[00482] 44. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00483] 45. El kit de acuerdo con la cláusula 44, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves.

[00484] 46. El kit de acuerdo con la cláusula 45, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00485] 47. El kit de acuerdo con las cláusulas 46, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00486] 48. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00487] 49. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00488] 50. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00489] 51. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00490] 52. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00491] 53. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00492] 54. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 53, en donde dicho sujeto es un ave.

[00493] 55. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 54, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00494] 56. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 55, en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00495] 57. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00496] 58. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00497] 59. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 58, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00498] 60. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 59, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00499] 61. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 60, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00500] 62. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 61, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00501] 63. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 62, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00502] 64. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 63, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00503] 65. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 64, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00504] 66. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 65, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus

combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00505] 67. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 66, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00506] 68. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 67, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00507] 69. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 68, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00508] 70. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para uso terapéutico.

[00509] 71. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00510] 72. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un medicamento.

[00511] 73. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para la fabricación de un medicamento.

[00512] 74. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

[00513] Las siguientes cláusulas referentes a una inactivación de ORF 3b también se describen en la presente:

[00514] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b está inactivado.

[00515] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 3b está inactivado.

[00516] 3. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde dicha inactivación de ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3a y/o no la actividad de la proteína 3a.

[00517] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación de ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3c y/o no la actividad de la proteína E.

[00518] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde dicha inactivación es una eliminación parcial del ORF 3b, una truncación parcial del ORF 3b, una inversión parcial del ORF 3b, una relocación parcial del ORF 3b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3b.

[00519] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde el ORF 3b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00520] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el ORF 3b se elimina parcialmente.

[00521] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el codón de inicio de ORF 3b está inactivado.

[00522] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) está inactivado.

[00523] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 8 o la cláusula 9, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 3b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00524] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 3b está truncado desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3b.

[00525] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el ORF 3b está truncado de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3b.

[00526] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00527] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos

50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00528] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde entre 1 y 175 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00529] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde entre 1 y 175 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 174 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 173 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00530] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00531] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00532] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde el ORF 3b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b al nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00533] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:34 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3b.

[00534] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde una **secuencia de ARN** que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos

el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:34 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3b.

[00535] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde el IBV está atenuado.

[00536] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00537] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00538] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00539] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00540] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00541] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00542] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00543] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00544] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00545] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00546] 33. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 32, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00547] 34. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 33, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00548] 35. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00549] 36. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 35, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00550] 37. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 36, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00551] 38. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 37, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00552] 39. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 38, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00553] 40. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 39, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00554] 41. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 40, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00555] 42. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 41, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00556] 43. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 42, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00557] 44. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo

con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00558] 45. El kit de acuerdo con la cláusula 44, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves.

[00559] 46. El kit de acuerdo con la cláusula 45, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00560] 47. El kit de acuerdo con las cláusulas 46, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00561] 48. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00562] 49. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00563] 50. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00564] 51. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00565] 52. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00566] 53. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00567] 54. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 53, en donde dicho sujeto es un ave.

[00568] 55. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 54, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00569] 56. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 55, en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00570] 57. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00571] 58. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00572] 59. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 58, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00573] 60. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 59, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00574] 61. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 60, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00575] 62. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 61, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00576] 63. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 62, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00577] 64. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 63, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00578] 65. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 64, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00579] 66. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 65, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00580] 67. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 66, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00581] 68. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 67, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00582] 69. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 68, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00583] 70. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para uso terapéutico.

[00584] 71. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00585] 72. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un medicamento.

[00586] 73. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para la fabricación de un medicamento.

[00587] 74. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

Las siguientes cláusulas referidas a la inactivación de ORF 5a también se describen en la presente:

[00588] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a está inactivado.

[00589] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5a está inactivado.

[00590] 3. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde dicha inactivación de ORF 5a no afecta la expresión de ORF 5b y/o no la actividad de la proteína 5b.

[00591] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación es una eliminación completa o parcial del ORF 5a, una truncación completa o parcial del ORF 5a, una inversión completa o parcial del ORF 5a, una relocación completa o parcial del ORF 5a, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 5a, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 5a.

[00592] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde el ORF 5a se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00593] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde el ORF 5a se elimina parcialmente.

[00594] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el codón de inicio de ORF 5a está inactivado.

[00595] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) está inactivado.

[00596] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 7 o la cláusula 8, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 5a es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00597] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 7 a 9, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 5a es una eliminación.

[00598] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 5a está truncado desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2).

[00599] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el ORF 5a está truncado de A, U o G del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2).

[00600] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00601] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190

nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00602] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde entre 1 y 194 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00603] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde entre 1 y 194 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 193 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 192 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00604] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00605] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00606] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde el ORF 5a desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 194 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00607] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:35 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a.

[00608] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde una **secuencia de ARN** que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:35 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a.

[00609] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde el IBV está atenuado.

[00610] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00611] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00612] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00613] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00614] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00615] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00616] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00617] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00618] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 26, en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-

02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00619] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00620] 33. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 32, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00621] 34. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 33, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00622] 35. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00623] 36. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 35, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00624] 37. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 36, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00625] 38. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 37, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00626] 39. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 38, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00627] 40. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 39, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00628] 41. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 40, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00629] 42. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 41, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00630] 43. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 42, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00631] 44. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43.

[00632] 45. El kit de acuerdo con la cláusula 44, en donde el kit también comprende

una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves.

[00633] 46. El kit de acuerdo con la cláusula 45, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00634] 47. El kit de acuerdo con las cláusulas 46, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00635] 48. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00636] 49. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00637] 50. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43.

[00638] 51. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00639] 52. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00640] 53. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00641] 54. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 53, en donde dicho sujeto es un ave.

[00642] 55. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 54, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00643] 56. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 55, en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00644] 57. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00645] 58. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 56, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00646] 59. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 58, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00647] 60. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 59, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00648] 61. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 60, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00649] 62. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 61, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00650] 63. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 62, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00651] 64. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 63, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00652] 65. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 64, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00653] 66. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 65, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00654] 67. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 66, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis

en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00655] 68. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 67, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00656] 69. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 48 a 68, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00657] 70. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para uso terapéutico.

[00658] 71. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00659] 72. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para usar como un medicamento.

[00660] 73. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para la fabricación de un medicamento.

[00661] 74. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

Las siguientes cláusulas relativas a una inactivación de ORF 5b también se describen en la presente:

[00662] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5b está inactivado.

[00663] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde el ORF 5b está inactivado.

[00664] 3. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde dicha inactivación de ORF 5b no afecta la expresión de ORF N y/o no la actividad de la proteína N.

[00665] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación de ORF 5b no afecta la expresión de ORF 5a y/o no la actividad de la proteína 5a.

[00666] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde dicha inactivación es una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación parcial del ORF 5b, una inversión parcial del ORF 5b, una relocación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 5b, una sustitución de

ácidos nucleicos dentro del ORF 5b.

[00667] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde el ORF 5b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00668] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde el ORF 5b se elimina parcialmente.

[00669] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el codón de inicio de ORF 5b está inactivado.

[00670] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde el codón de inicio de ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) está inactivado.

[00671] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 8 o la cláusula 9, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 5b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00672] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 5b está truncado desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00673] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el ORF 5b está truncado de A, U o G del codón de inicio de ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00674] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00675] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00676] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 14, en donde entre 1 y 90 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00677] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde entre 1 y 191 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00678] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde entre 1 y 90 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 89 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 88 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00679] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde entre 1 y 191 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 190 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 189 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00680] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00681] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde entre 1 y 90 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00682] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00683] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 21, en donde el ORF 5b desde el término 5' del codón de inicio (AUG,

nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b al nucleótido 284 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00684] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:36 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5b.

[00685] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde una **secuencia de ARN** que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:36 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5b.

[00686] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde una TRS (secuencia de regulación de la transcripción) se inserta 5' del ORF N.

[00687] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 25, en donde dicha TRS tiene la secuencia CUUAACAA.

[00688] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con las cláusulas 25 o 26, en donde dicha TRS (secuencia de regulación de la transcripción) se inserta para no afectar la expresión de ORF N y/o no la actividad de la proteína N.

[00689] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 27, en donde una secuencia que comprende codones de parada se inserta 5' de la TRS del ORF N.

[00690] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 28, en donde dicha secuencia que comprende codones de parada tiene una secuencia como se establece en la SEQ ID NO:37.

[00691] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 29, en donde el IBV está atenuado.

[00692] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 30, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00693] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 31, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00694] 33. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 32, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207,

D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00695] 34. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 33, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00696] 35. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00697] 36. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00698] 37. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00699] 38. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34, en donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00700] 39. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 34 en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00701] 40. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 39, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00702] 41. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 40, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00703] 42. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 41, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00704] 43. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 42, en donde el

portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00705] 44. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 43, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00706] 45. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 44, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00707] 46. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 45, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00708] 47. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 46, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00709] 48. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 47, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00710] 49. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 48, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00711] 50. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 49, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00712] 51. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 50, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00713] 52. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51.

[00714] 53. El kit de acuerdo con la cláusula 52, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves.

[00715] 54. El kit de acuerdo con la cláusula 53, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00716] 55. El kit de acuerdo con las cláusulas 54, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00717] 56. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51.

[00718] 57. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51.

[00719] 58. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51.

[00720] 59. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00721] 60. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00722] 61. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 51 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00723] 62. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 61, en donde dicho sujeto es un ave.

[00724] 63. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 62, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00725] 64. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 63, en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00726] 65. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 64, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00727] 66. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 65, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00728] 67. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 66, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00729] 68. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 67, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00730] 69. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 68, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00731] 70. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 69, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00732] 71. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 70, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00733] 72. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 71, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00734] 73. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 72, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00735] 74. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 73, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00736] 75. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 74, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00737] 76. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 75, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00738] 77. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 56 a 76, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00739] 78. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 51 para uso terapéutico.

[00740] 79. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00741] 80. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51 para usar como un medicamento.

[00742] 81. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51 para la fabricación de un medicamento.

[00743] 82. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

Las siguientes cláusulas también se describen en la presente:

[00744] 1. Un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o
- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado.

[00745] 2. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa), en donde:

- el ORF 3a; y/o
- el ORF 3b; y/o
- el ORF 5a; y/o
- el ORF 5b está inactivado.

[00746] 3. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 1 o 2, en donde dicha inactivación de ORF 3a no afecta la expresión de ORF S y/o no afecta la actividad de la proteína S.

[00747] 4. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde dicha inactivación de ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3c y/o no afecta la actividad de la proteína E.

[00748] 5. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde dicha inactivación de ORF 5b no afecta la expresión de ORF N y/o no afecta la actividad de la proteína N.

[00749] 6. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde dicha inactivación es una eliminación completa o parcial del ORF 3a y/o una eliminación parcial del ORF 3b y/o una eliminación completa o parcial del ORF 5a y/o una eliminación parcial del ORF 5b, una truncación completa o parcial

del ORF 3a y/o una truncación parcial del ORF 3b y/o una truncación completa o parcial del ORF 5a y/o una truncación parcial del ORF 5b, una inversión completa o parcial del ORF 3a y/o una inversión parcial del ORF 3b y/o una inversión completa o parcial del ORF 5a y/o una inversión parcial del ORF 5b, una relocación completa o parcial del ORF 3a y/o una relocación parcial del ORF 3b y/o una relocación completa o parcial del ORF 5a y/o una relocación parcial del ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00750] 7. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde dicha inactivación es una eliminación parcial del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una truncación parcial del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una inversión parcial del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una relocación parcial del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una inserción de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b, una sustitución de ácidos nucleicos dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00751] 8. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde el codón de inicio de ORF 3a y/o el ORF 3b y/o el ORF 5a y/o el ORF 5b está inactivado.

[00752] 9. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 8, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00753] 10. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 8, en donde el ORF 3a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente.

[00754] 11. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde el ORF 3a se elimina completa o parcialmente.

[00755] 12. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde el codón de inicio de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) está inactivado.

[00756] 13. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 12, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00757] 14. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 12, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación.

[00758] 15. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 14, en donde dicha inactivación de ORF 3a no afecta la expresión de ORF S y/o no afecta la actividad de la proteína S.

[00759] 16. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15, en donde el ORF 3a está truncado desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a.

[00760] 17. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 16, en donde el ORF 3a está truncado de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a.

[00761] 18. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 17, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00762] 19. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 18, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00763] 20. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 19, en donde entre 1 y 173 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00764] 21. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 20, en donde entre 1 y 173 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 172 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 171 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00765] 22. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 21, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00766] 23. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00767] 24. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 23, en donde el ORF 3a desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 173 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00768] 25. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:33 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a.

[00769] 26. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:33 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a.

[00770] 27. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 26, en donde el ORF 3b se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente.

[00771] 28. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 27, en donde el ORF 3b se elimina completa o parcialmente.

[00772] 29. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 28, en donde el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) está inactivado.

[00773] 30. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 29, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00774] 31. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 29, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una

inversión.

[00775] 32. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 31, en donde dicha inactivación de ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3c y/o no afecta la actividad de la proteína E.

[00776] 33. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 32, en donde el ORF 3b está truncado desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3b.

[00777] 34. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 33, en donde el ORF 3b está truncado de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3b.

[00778] 35. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 34, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00779] 36. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 35, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00780] 37. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde entre 1 y 175 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00781] 38. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 37, en donde entre 1 y 175 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 174 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 173 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se

eliminan, sustituyen o invierten.

[00782] 39. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 38, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00783] 40. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 39, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00784] 41. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 40, en donde el ORF 3b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b al nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00785] 42. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 41, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:34 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3b.

[00786] 43. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 42, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:34 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3b.

[00787] 44. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 43, en donde el ORF 5a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente.

[00788] 45. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 44, en donde el ORF 5a se elimina completa o parcialmente.

[00789] 46. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 45, en donde el codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) está inactivado.

[00790] 47. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 46, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00791] 48. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 46, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación.

[00792] 49. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 48, en donde el ORF 5a está truncado desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2).

[00793] 50. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 49, en donde el ORF 5a está truncado de A, U o G del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2).

[00794] 51. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 50, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00795] 52. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 51, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00796] 53. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 52, en donde entre 1 y 194 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00797] 54. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 53, en donde entre 1 y 194 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 193 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 192 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00798] 55. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 54, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00799] 56. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 55, en donde entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00800] 57. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 56, en donde el ORF 5a desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 194 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00801] 58. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 57, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:35 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a.

[00802] 59. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 58, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:35 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a.

[00803] 60. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 59, en donde el ORF 5b se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente.

[00804] 61. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 60, en donde el ORF 5b se elimina completa o parcialmente.

[00805] 62. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 61, en donde el codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5b está inactivado.

[00806] 63. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00807] 64. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 62, en donde dicha inactivación del codón de inicio es una eliminación.

[00808] 65. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 64, en donde dicha inactivación de ORF 5b no afecta la expresión de ORF N y/o no afecta la actividad de la proteína N.

[00809] 66. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 65, en donde el ORF 5b está truncado desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00810] 67. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 66, en donde el ORF 5b está truncado de A, U o G del codón de inicio de ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00811] 68. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 67, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00812] 69. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 68, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00813] 70. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 69, en donde entre 1 y 90 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00814] 71. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 70, en donde entre 1 y 191 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00815] 72. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 71, en donde entre 1 y 90 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG,

nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 89 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 88 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00816] 73. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 72, en donde entre 1 y 191 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 190 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 189 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00817] 74. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 73, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 90 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00818] 75. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 74, en donde entre 1 y 90 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00819] 76. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 75, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00820] 77. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 76, en donde el ORF 5b desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b al nucleótido 284 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00821] 78. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 77, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:36 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5b.

[00822] 79. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 78, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como

se establece en la SEQ ID NO:36 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5b.

[00823] 80. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 79, en donde una TRS (secuencia de regulación de la transcripción) se inserta 5' del ORF N.

[00824] 81. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 80, en donde dicha TRS tiene la secuencia CUUAACAA.

[00825] 82. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con las cláusulas 80 o 81, en donde dicha TRS (secuencia de regulación de la transcripción) se inserta para no afectar la expresión de ORF N y/o no la actividad de la proteína N.

[00826] 83. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 82, en donde una secuencia que comprende codones de parada se inserta 5' de la TRS del ORF N.

[00827] 84. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 83, en donde dicha secuencia que comprende codones de parada tiene una secuencia como se establece en la SEQ ID NO:37.

[00828] 85. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 84, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00829] 86. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 85, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00830] 87. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 86, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00831] 88. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 87, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00832] 89. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 88, en donde entre 1 y 348 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00833] 90. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 89, en donde entre 1 y 348 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 347 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 346 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00834] 91. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 90, en donde entre 1 y 385 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00835] 92. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 91, en donde entre 1 y 385 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 384 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 383 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten.

[00836] 93. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 92, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b.

[00837] 94. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 93, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b.

[00838] 95. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 94, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro

del ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00839] 96. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 95, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00840] 97. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 96, en donde entre 1 y 348 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b.

[00841] 98. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 97, en donde entre 1 y 348 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 347 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 346 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y/o el ORF 3b.

[00842] 99. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 98, en donde entre 1 y 385 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00843] 100. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 99, en donde entre 1 y 385 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 384 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 383 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y/o el ORF 5b.

[00844] 101. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 100, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos,

al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00845] 102. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 101, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00846] 103. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 102, en donde entre 1 y 348 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00847] 104. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 103, en donde entre 1 y 385 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00848] 105. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 104, en donde entre 1 y 348 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5’ del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00849] 106. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 105, en donde entre 1 y 348 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00850] 107. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 106, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125

nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00851] 108. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 107, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y/o el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00852] 109. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 108, en donde entre 1 y 385 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00853] 110. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 109, en donde entre 1 y 385 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00854] 111. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 110, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00855] 112. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 111, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y/o el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00856] 113. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 112, en donde la inactivación de ORF 3a y ORF 3b no afecta la expresión de ORF 3c y/o no afecta la actividad de la proteína E.

[00857] 114. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 113, en donde la inactivación de ORF 3a y ORF 3b no afecta la expresión de ORF S y/o no afecta la actividad de la proteína S.

[00858] 115. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 114, en donde la inactivación de ORF 5a y ORF 5b no afecta la expresión de ORF N y/o no afecta la actividad de la proteína N.

[00859] 116. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 115, en donde el ORF 3a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente y en donde el ORF 3b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00860] 117. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 116, en donde el ORF 5a se elimina, sustituye o invierte completa o parcialmente y en donde el ORF 5b se elimina, sustituye o invierte parcialmente.

[00861] 118. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 117, en donde el ORF 3a y el ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten completa o parcialmente y en donde el ORF 3b y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten parcialmente.

[00862] 119. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 118, en donde el ORF 3a se elimina completa o parcialmente y el ORF 3b se elimina parcialmente.

[00863] 120. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 119, en donde el ORF 5a se elimina completa o parcialmente y el ORF 5b

se elimina parcialmente.

[00864] 121. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 120, en donde el ORF 3a y el ORF 5a se eliminan completa o parcialmente y el ORF 3b y el ORF 5b se eliminan parcialmente.

[00865] 122. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 121, en donde el codón de inicio de ORF 3a y el codón de inicio de ORF 3b están inactivados.

[00866] 123. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 122, en donde el codón de inicio de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) y el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) están inactivados.

[00867] 124. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 122 o la cláusula 123, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 3a y ORF 3b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00868] 125. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 124, en donde el codón de inicio de ORF 5a y el codón de inicio de ORF 5b están inactivados.

[00869] 126. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 125, en donde el codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y el codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5b están inactivados.

[00870] 127. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 125 o la cláusula 126, en donde dicha inactivación del codón de inicio (AUG) de ORF 5a y ORF 5b es una eliminación, una sustitución o una inversión.

[00871] 128. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 127, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a y ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1).

[00872] 129. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 128, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a y ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1).

[00873] 130. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 129, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5’ del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y ORF 5b

(AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00874] 131. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 130, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde A, U o G del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00875] 132. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 131, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están truncados desde el término 5' del codón de inicio (AUG) de ORF 3a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) y el codón de inicio de ORF 3b (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) y en donde el ORF 5a y el ORF 5b están truncados desde el término 5' del codón de inicio de ORF 5a (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) y el codón de inicio ORF 5b (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2).

[00876] 133. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 132, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00877] 134. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 133, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos,

al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00878] 135. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 134, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00879] 136. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 135, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00880] 137. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 136, en donde entre 1 y 173 nucleótidos desde el término 5' del codón de

inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 174-176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00881] 138. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 137, en donde entre 1 y 173 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 172 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 171 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten y en donde entre 1 y 175 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 174 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 174 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 175 de la SEQ ID NO:1) o entre 1 y 173 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 176 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00882] 139. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 138, en donde entre 1 y 194 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten y en donde entre 1 y 191 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 195-197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00883] 140. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 139, en donde entre 1 y 194 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 193 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 192 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 195 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 190 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 196 de la SEQ ID NO:2) o entre 1 y 189 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 197 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00884] 141. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 140, en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos desde el término 5' del

codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00885] 142. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 141, en donde al menos 174 nucleótidos, al menos 175 nucleótidos, al menos 176 nucleótidos, al menos 180, nucleótidos, al menos 190 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00886] 143. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 142, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00887] 144. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 143, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 196 nucleótidos, al menos 197 nucleótidos, al menos 200, nucleótidos, al menos 210 nucleótidos, al menos 220 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos de A, U o G del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) de ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00888] 145. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 144, en donde entre 174 y 200 nucleótidos o entre 174 y 300 nucleótidos o entre 174 y 348 nucleótidos desde el término 5’ del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00889] 146. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 145, en donde entre 174 y 348 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:1) o entre 173 y 347 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:1) o entre 172 y 346 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:1) de ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00890] 147. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 146, en donde entre 195 y 250 nucleótidos o entre 195 y 300 nucleótidos o entre 195 y 350 o entre 195 y 385 nucleótidos desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00891] 148. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 147, en donde entre 195 y 385 nucleótidos de A del codón de inicio (A de AUG, nucleótido 1 de la SEQ ID NO:2) o entre 194 y 384 nucleótidos de U del codón de inicio (U de AUG, nucleótido 2 de la SEQ ID NO:2) o entre 193 y 383 nucleótidos de G del codón de inicio (G de AUG, nucleótido 3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00892] 149. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 148, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00893] 150. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 149, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde al menos 1 nucleótido, al menos 2 nucleótidos, al menos 3 nucleótidos, al menos 4 nucleótidos, al menos 5 nucleótidos, al menos 10 nucleótidos, al menos 15 nucleótidos, al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50, nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 170 nucleótidos, al menos 190 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00894] 151. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 150, en donde entre 1 y 173 nucleótidos del ORF 3a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 175 nucleótidos del ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00895] 152. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 151, en donde entre 1 y 194 nucleótidos del ORF 5a se eliminan, sustituyen o invierten, y, en donde entre 1 y 191 nucleótidos del ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten.

[00896] 153. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 152, en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00897] 154. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 153, en donde entre 176 y 348 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00898] 155. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 154, en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 3a y el codón de inicio del ORF 3c.

[00899] 156. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 155, en donde al menos 176 nucleótidos, al menos 180 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225, nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 340 nucleótidos del ORF 3a y el ORF 3b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1.

[00900] 157. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 156, en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00901] 158. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 157, en donde entre 195 y 385 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG,

nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00902] 159. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 158, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio del ORF 5a y el codón de inicio del ORF N.

[00903] 160. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 159, en donde al menos 195 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250, nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 380 nucleótidos del ORF 5a y el ORF 5b se eliminan, sustituyen o invierten dentro del término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2.

[00904] 161. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 160, en donde el ORF 3a y el ORF 3b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:1) del ORF 3a en el nucleótido 348 de la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte.

[00905] 162. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 161, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00906] 163. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 162, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:1 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 3a y el ORF 3b.

[00907] 164. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 163, en donde el ORF 5a y el ORF 5b desde el término 5' del codón de inicio (AUG, nucleótidos 1-3 de la SEQ ID NO:2) del ORF 5a al nucleótido 385 de la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte.

[00908] 165. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 164, en donde la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00909] 166. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 165, en donde una secuencia de ARN que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad con la secuencia de ARN como se establece en la SEQ ID NO:2 se elimina, sustituye o invierte dentro del ORF 5a y el ORF 5b.

[00910] 167. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 166, en donde la proteína E tiene una secuencia de aminoácidos del genotipo QX, Beaudette, H120 o H52 o una secuencia que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos uno de los genotipos antes mencionados.

[00911] 168. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 167, en donde la proteína E tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para KM586818 (QX), AJ311317 (Beaudette), FJ807652 (H120) o SEQ ID NO: 38 (H52) o una secuencia que tiene al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos una de las secuencias antes mencionadas.

[00912] 169. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 168, en donde el IBV está atenuado.

[00913] 170. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 169, en donde el IBV está genéticamente manipulado por ingeniería.

[00914] 171. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 170, en donde el IBV es un IBV recombinante.

[00915] 172. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 171, en donde el IBV tiene un genotipo seleccionado de una lista de cepas que contienen: Arkansas (tal como Arkansas 99), California (tal como California 1734/04, California 99), Connecticut, Delaware (tal como Delaware 98), Dutch (tal como D207, D212, D274, D3128, D3896, D8880, D1466), Florida, Georgia (tal como Georgia GA-O8, GA-12, GA-13), Gray, Holte, Iowa (tal como Iowa 97 y Iowa 69), Italy (tal como Italy 02), JMK, Maine (tal como Maine 209), Massachusetts (tal como M41, Beaudette, 246 G, D 580, H52, H120), Pennsylvania (tal como Pennsylvania 1220/98, Pennsylvania

Wolg/98), Qu, (tal como Qu-mv), QX (tal como GB341/96), Q1, SE 17, Variant 2 (tal como IS/1494/06) y 4/91 (793B).

[00916] 173. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 172, en donde el IBV es de genotipo QX, Massachusetts, 4/91, Q1 o Italy 02.

[00917] 174. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 173, en donde el genotipo QX se selecciona de una lista que contiene: FR-L1450T-05, FR-L1450L-05, NL-L1449T-04, NL-L1449K-04, IBV/Ck/SP/170/09, IBV/Ck/SP/79/08, IBV/Ck/SP/248/09, HBN, IBVQX, LX4, BJQ, CK/CH/LGD/03, GB341/96.

[00918] 175. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 173, en donde el genotipo Massachusetts se selecciona de una lista que contiene: H120, H52, Spain/98/308, IBMA5-1, SD/97/01, Beaudette, Spain/96/334, M41-M21883.

[00919] 176. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 173, en donde el genotipo 4/91 se selecciona de una lista que contiene: Spain/98/328, Spain/92/35, IR-3654-VM, FR-CR88061-88, FR-85131-85, UK-1233-95, UK/3/91, Spain/00/336, UK/7/91, 4/91 patogénico, 4/91 atenuado, IB4-91.

[00920] 177. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 173, en donde el genotipo Q1 se selecciona de una lista que contiene: CK/CH/LDL/98I, CK/CH/LSD/08-10, J2, Q1, AR08ER22, AR08BA21, Chile-295-10.

[00921] 178. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 173, en donde el genotipo Italy 02 se selecciona de una lista que contiene: Spain/99/316, Italy-02, UK-L633-04, It-497-02, Spain/05/866, Spain/04/221, Spain/00/337, Spain/155/09, Spain/03/08.

[00922] 179. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 178, en donde el IBV es del genotipo Massachusetts cepa H52.

[00923] 180. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 179, en donde el genotipo H52 es H52U.

[00924] 181. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 180, en donde el H52 tiene una secuencia de nucleótidos como se muestra para EU817497 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00925] 182. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 181, en donde la cepa de H52 tiene una proteína spike (S1) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF352315 o una secuencia que tiene

al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00926] 183. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 182, en donde la cepa de H52 tiene una proteína de nucleocápside (N) tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AY044185 o AF352310 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con al menos una de las secuencias antes mencionadas.

[00927] 184. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 183, en donde la cepa de H52 tiene una proteína de envoltura (E) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF317210 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00928] 185. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 184, en donde la cepa de H52 tiene una proteína de glucoproteína de membrana (M) que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra para AF286185 o una secuencia que tiene al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o al menos el 99,5% de identidad de secuencia con ella.

[00929] 186. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 185, en donde el IBV no es N1/88, Q3/88, V18/91 o V6/92.

[00930] 187. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 186, en donde la composición inmunogénica es una vacuna.

[00931] 188. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 187, en donde la composición inmunogénica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

[00932] 189. La composición inmunogénica de acuerdo con la cláusula 188, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato.

[00933] 190. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 189, en donde la composición inmunogénica es efectiva en el tratamiento y/o la prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita.

[00934] 191. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 190, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación homóloga.

[00935] 192. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas

2 a 191, en donde la composición inmunogénica protege contra una estimulación con M41.

[00936] 193. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 192, en donde dicha composición inmunogénica se formula para una administración de dosis simple.

[00937] 194. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 193, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00938] 195. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 194, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00939] 196. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 195, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00940] 197. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 196, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00941] 198. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a está inactivado.

[00942] 199. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3b está inactivado.

[00943] 200. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 5a está inactivado.

[00944] 201. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 5b está inactivado.

[00945] 202. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 3b está inactivado.

[00946] 203. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 5a está inactivado.

[00947] 204. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 5b está inactivado.

[00948] 205. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3b y el ORF 5a está inactivado.

[00949] 206. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3b y el ORF 5b está inactivado

[00950] 207. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 5a y el ORF 5b está inactivado.

[00951] 208. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las

cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a está inactivado.

[00952] 209. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5b está inactivado.

[00953] 210. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 5a y el ORF 5b y ORF 3a está inactivado.

[00954] 211. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 5a y el ORF 5b y ORF 3b está inactivado.

[00955] 212. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 197, en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b está inactivado.

[00956] 213. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 3a está inactivado.

[00957] 214. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 3b está inactivado.

[00958] 215. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 5a está inactivado.

[00959] 216. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 5b está inactivado.

[00960] 217. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 3a y el ORF 3b están inactivados.

[00961] 218. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00962] 219. Una composición inmunogénica que comprende un IBV (virus de bronquitis infecciosa) de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 212, en donde el ORF 3a y el ORF 3b y el ORF 5a y el ORF 5b están inactivados.

[00963] 220. Un kit que comprende el IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219.

[00964] 221. El kit de acuerdo con la cláusula 220, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de

aves.

[00965] 222. El kit de acuerdo con la cláusula 221, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de aves de corral.

[00966] 223. El kit de acuerdo con la cláusula 222, en donde el kit también comprende una carta de instrucciones para el tratamiento y/o la prevención de IB.

[00967] 224. Un método para inmunizar a un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219.

[00968] 225. Un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219.

[00969] 226. Un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219.

[00970] 227. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219 para usar en un método de inmunización de un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00971] 228. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219 para usar en un método de tratamiento o de prevención de signos clínicos causados por IBV en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00972] 229. La composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 a 219 para usar en un método de reducción de ciliostasis en un sujeto que lo necesita, en comparación con un sujeto de un grupo de control no inmunizado de la misma especie, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición inmunogénica.

[00973] 230. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 229, en donde dicho sujeto es un ave.

[00974] 231. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 230, en donde dicho sujeto es un ave de corral.

[00975] 232. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 231,

en donde dicho sujeto se selecciona de la lista que consiste en pollo, pavo, codorniz o faisán.

[00976] 233. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 232, en donde la composición inmunogénica se administra una vez.

[00977] 234. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 232, en donde la composición inmunogénica se administra en dos o más dosis.

[00978] 235. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 234, en donde dicha composición inmunogénica se administra por vía subcutánea, intramuscular, oral, in ovo, por pulverización, por agua potable o por gota oftálmica.

[00979] 236. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 235, en donde dicha composición inmunogénica se administra por gota oftálmica.

[00980] 237. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 236, en donde la composición inmunogénica comprende 1 a 10 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00981] 238. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 237, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 5 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00982] 239. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 238, en donde la composición inmunogénica comprende 2 a 4 $\log_{10}$ EID_{50} del IBV.

[00983] 240. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 239, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro de la primera semana de edad, dentro del primer al tercer día de edad, dentro de los dos primeros días de edad o dentro del primer día de edad.

[00984] 241. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 240, en donde la composición inmunogénica se administra a sujetos dentro del primer día de edad.

[00985] 242. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 241, en donde dicho método resulta en una mejora en un parámetro de eficacia seleccionado del grupo que consiste en: prevención o reducción de ciliostasis, prevención o reducción de estertores, prevención o reducción de caída de huevos, prevención o reducción de lesiones renales, prevención o reducción de diarrea acuosa, prevención o reducción de la pérdida de peso, una menor carga viral, una dispersión viral reducida o sus combinaciones, en comparación con un sujeto de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00986] 243. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 242, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de ciliostasis en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma

especie.

[00987] 244. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 243, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de lesiones renales en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00988] 245. El método o el uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 224 a 244, en donde el tratamiento o la prevención resulta en una prevención o reducción de caída de huevos en comparación con sujetos de un grupo de control no tratado de la misma especie.

[00989] 246. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219 para uso terapéutico.

[00990] 247. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219 para usar como un inmunógeno o vacuna.

[00991] 248. El IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219 para usar como un medicamento.

[00992] 249. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219 para la fabricación de un medicamento.

[00993] 250. Uso del IBV o la composición inmunogénica de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 219 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por IBV en un sujeto.

EJEMPLOS

[00994] Los siguientes ejemplos están establecidos más abajo para ilustrar las realizaciones específicas de la presente invención. Estos ejemplos son meramente ilustrativos y se entiende que no limitan el alcance de los principios subyacentes de la presente revelación.

EJEMPLO 1:

CONSTRUCCIÓN DE PLÁSMIDOS

Construcción de un plásmido

[00995] Se utilizó la cepa IBV-H52 (Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania). El diseño de los plásmidos donantes fue seguido principalmente por Kuo et al. 2000 (J. Virol., 74: 1393-1406). El plásmido donante p-IBV se construyó a partir de la ligadura subsiguiente de cinco subplásmidos: p-IBV-5, p-IBV-1b, p-IBV-S, p-IBV-SIR y p-IBV-3T (Tabla 1).

Tabla 1 - Visión general de los subplásmidos

Plásmido	**Genes**	**Coordinadas**	**Longitud (nt)**	**3'-extremo RES[a]**
p-IBV-5	IBV 5'-UTR	1-497	497	BstBI
p-IBV-1b	IBV 3'-end 1b, S (ss)	19610-20379	770	XhoI
p-IBV-S	IBV S (ec)	20379-23590	3211	StyI
p-IBV-SIR	IBV S (tm, en), 3a, 3b, E, M	23591-25318	1728	EcoRI
p-IBV-3T	IBV 5a, 5b, N, 3'-UTR	25319-27640	2322	MssI, PacI
p-MHV-S	MHV S (ec)	n.a.	3757	StyI

(ss) = Secuencia de señal; (ec) = ectodominio; (tm) = dominio transmembrana; (en) = endodominio; n.a = no aplicable; a: BstBI está presente en el gen 1b, pero no está completamente presente en la 5'-UTR; XhoI fue introducido en silencio.

El plásmido IBV-5 comprende la región 5' no traducida (UTR) cercana de longitud completa. El plásmido IBV-1b comprende los últimos 754 nt del gen pol 1b, incluyendo el solapamiento de 50 nt con el gen spike, y el primer 66 nt del gen spike, incluyendo la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia señal de la proteína spike. El plásmido IBV-S contiene el ectodominio de longitud completa del gen spike, 3211 nt de longitud. El plásmido IBV-SIR comprende los últimos 212 nt del gen spike (el transmembrana y el endodominio), el gen accesorio 3, el gen de la envoltura, el gen de la membrana y la mitad de la región intergénica (IR). El Plásmido IBV-3T comprende la región 3' terminal del genoma de IBV, incluyendo la segunda mitad del IR, el gen accesorio 5, el gen de la nucleocápside, el 3'-UTR y una secuencia poli-A de 100 nt.

[00996] Todas las uniones de plásmido son sitios de escisión de enzimas de restricción

naturalmente existentes (RES), excepto para el sitio XhoI que conecta p-IBV-1b y p-IBV-S, el que se introdujo silenciosamente. Los sitios RES se hicieron únicos mediante la eliminación en silencio de estos RES de otras partes del genoma viral incluido en el donante plásmido (Tabla 2).

Tabla 2 - mutaciones silenciosas introducidas en rIBV

Gen	Ubicación	Secuencia de peso	Secuencia Rec	RE	Función
1b	20247.20252	TTGAAA	cTtAAg	AflII	n.a.
1b	20283.20290	TTAATTAA	TTgATaAA	PacI	Eliminado
S	20379.20384	CAGTAG	ctcgAG	XhoI	Intercambio S
S	21356.21361	TCAATTG	agtATTG	MfeI	Eliminado
S	21636.21641	CCAAGG	CCAgGG	StyI	Eliminado
S	21995.22000	TCAATTG	agtATTG	MfeI	Eliminado
S	22018.22023	CAATTG	CAgTTa	MfeI	Eliminado
S	22114.22119	ACGCGT	ACtCGg	MluI	Eliminado
S	22480.22485	CTTAAG	CTgAAa	AflII	Eliminado
S	22564.22569	ACTAGT	ACaAGc	SpeI	Eliminado
S	23604.23609	GTTAGC	GcTAGC	NheI	Supresión 3ab
3a	23817.23822	ACGTCC	ACtagt	SpeI	n.a.
3a	23888.23893	AGCGCT	tGCcCT	AfeI	Eliminado
3b	24002.24007	ACTGGT	ACcGGT	AgeI	n.a.
E	24200.24205	AGCGCT	gGCaCT	AfeI	Eliminado
E	24299.24304	TACATG	cACgTG	PmlI	Supresión 3ab
M	24574.24579	ACAAGA	ACgcGt	MluI	n.a.
IR	25467.25472	AGCGCT	n.a.	AfeI	Supresión 5ab
5a	25500.25505	ACTAGT	n.a.	SpeI	n.a.
5a	25595.25600	ACGCGT	gCGaGT	MluI	Eliminado
5b	25825.25830	CCAAGG	tCAgGG	StyI	Eliminado
N	25969.25974	GCATCT	GCtagc	NheI	Supresión 5ab
N	26792.26797	CACGTG	CtaGgG	PmlI	Eliminado
N	26857.26862	ACGCGT	ACtCGg	MluI	Eliminado
N	27053.27058	CCAAGG	CgAAaG	StyI	Eliminado

Además, los RES semi-únicos fueron introducidos por mutaciones silenciosas dentro de 200 nt corriente arriba y corriente abajo de los genes accesorios 3 y 5, lo que permite su manipulación. Por último, los RES MssI y PacI únicos se incluyeron después de la secuencia poli-A, lo cual permite la linealización del plásmido por una única división de enzimas de restricción. Todos los plásmidos fueron generados por GenScript (Piscataway, NJ, EEUU) y proporcionaron en el plásmido pUC57-simple, un plásmido de clonación estándar con el poliligador eliminado.

[0997] Todos los fragmentos genómicos se ligaron paso a paso en p-IBV-5 usando las enzimas de restricción especificadas en la tabla 1 y posteriormente se transformaron usando células competentes HB101. El plásmido final consistía en p-IBV-5-1b-S-SIR-3T, ahora denominado p-IBV. La composición de los plásmidos se controló en cada

etapa por PCR, digestión de enzimas de restricción y secuenciación de los insertos (Macrogen, Seúl, Corea del Sur).

Construcción del plásmido del donante de mIBV

[0998] Se amplificó el ectodominio del gen que codifica Spìke de MHV de Vennema et al., 1996 (EMBO J. 15: 2020-2028) a partir de pTUG/pTUMS mediante PCR usando cebadores con un saliente XhoI (Tabla 3) y se ligó en pJet1. 2 resultando en p-MHV-S. Se utilizó mutagénesis dirigida al sitio (SDM) con el kit SDM Q5 (New England Biolabs, Ipswich, EE. UU.) para eliminar en silencio un EcoRI y un XhoI RES interfiriendo con los pasos subsiguientes de clonación (Tabla 3)

Tabla 3: Secuencias de cebador para clonar y SDM

Cebador	**Secuencia (5' → 3')[a]**	**Función**
XhoI-t-MHV-S.F01	*CTCGAG***T**TATATTGGTGATTTTAGATGTATCCAG (SEC ID NO:3)	Clonación MHV S
MHV-S-StyI-XhoI.R01	*CTCGAG*CCAAGGCCATTTCACATACATTTC (SEC ID NO:4)	Clonación MHV S
pMHV-S-SDM414.F02	AGCTTGTGAACTCAAACGGTG (SEC ID NO:5)	SDM EcoRI
pMHV-S-SDM414.R02	GGATACATCTAAAATCACCAATATAAC (SEC ID NO:6)	SDM EcoRI
pMHV-S-SDM2823.F03	TTACTATAAGTTCGAGACTGCC (SEC ID NO:7)	SDM XhoI
pMHV-S-SDM2823.R03	CACCCTGCATTAATGCAC (SEC ID NO:8)	SDM XhoI
IBV-H52_N_ATG_FW	ACCATGGCGAGCGGTAAGA (SEC ID NO:9)	Transcripto-N
IBV-M41-#2-IR-RV	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTGCTCTAACTCTATACTAG (SEC ID NO:10)	Transcripto-N

A: Los sitios de enzimas de restricción XhoI en los cebadores XhoI-t-MHV-S.F01 y MHV-S-StyI-XhoI.R01 están en itálica; Un residuo de timina adicional para mantener la secuencia de ectodominio del gen spike MHV en el marco con la secuencia del ectodominio del gen spike IBV está en negrita.

El ectodominio spike de MHV se ligó en p-IBV-5-1b, seguido en etapas de clonación subsecuentes por los fragmentos de IBV SIR y 3T, resultando en p-IBV-5-1b-mhvS-SIR-3T, ahora denominado p-mIBV.

Construcción de los plásmidos delta con supresión doble y cuádruple de los genes que codifican para 3ab y 5ab

[0999] Los genes accesorios 3 y 5 se suprimieron. El diseño in silico del fragmento delta 3ab (Δ3ab) fue tal que la superposición de 1 nt entre el codón de parada del gen spike y el codón ATG del gen 3a se reemplazó por un solapamiento entre el codón de parada

de spike y el codón ATG del gen de la envoltura. La superposición ahora no codificante de 20 nt entre el extremo 3' del gen 3b y el gen de la envoltura permaneció por tanto presente. Se espera que la TRS (secuencia reguladora de la transcripción) localizada en el extremo 3' del gen spike para formar el ARN subgenómico comenzando con el gen 3a permanezca funcional, pero ahora comienza con el gen de la envoltura. El diseño del fragmento delta 5ab (Δ5ab) fue tal que el codón ATG del gen 5a es ahora el codón ATG del gen de la nucleocápside. El solapamiento ahora no codificante de 58 nt entre el extremo 3' del gen 5b y el gen de la nucleocápside permanecen por tanto presente. El TRS situado en el extremo 3' del gen 5b para formar el ARN subgenómico que comprende el gen de la nucleocápside fue eliminado junto con el gen 5b; pero se espera que el TRS en el extremo 3' del IR permanezca funcional, siendo ahora usado para formar un ARN subgenómico comenzando con el gen de la nucleocápside.

[01000] Se generaron fragmentos de ADN que se extienden desde la RES semi-única que rodea los genes accesorios 3 y 5, con las supresiones diseñadas como se ha descrito anteriormente (Δ3ab y Δ5ab), y se ligaron en pUC57-simple mediante Genscript. Delta3ab se ligó en p-IBV-5-1b-S-SIR después de la doble digestión de NheI-PmlI para eliminar el gen 3ab, seguido por la región 3T para formar p-IBV-5-1b-S-SIRΔ3ab-3T, ahora llamado P-IBV-\Delta 3ab. Delta5ab se ligó en p-IBV-3T después de la doble digestión de AfeI-NheI para eliminar el gen 5ab. El fragmento 3TΔ5ab fue subsiguientemente ligado después de p-IBV-5-1b-S-SIR o p-IBV-5-1b-S-SIRΔ3ab para formar p-IBV-5-1b-S-SIR-3TΔ5ab y p-IBV-5-1b-S-SIRΔ3ab-3TΔ5ab, respectivamente, ahora denominados p-IBV-Δ5ab y p-IBV-Δ3ab5ab.

Construcción de un plásmido N transcripto

[01001] Un plásmido de transcripción de ARN que contiene el gen de la nucleocápside y la secuencia 3'-UTR de la cepa IBV H52 se generó por RT-PCR amplificando la región respectiva utilizando los cebadores IBV-H52.N.ATG.FW e IBV-M41.#2.IR.RV Tabla 3). El amplicón se ligó en pJet1.2, dando como resultado p-IBV-N, que se verificó mediante secuenciación.

EJEMPLO 2:

GENERACIÓN DE IBV ATENUADA

Transcripción *in vitro*

[01002] Se sintetizaron transcriptos de donante run-off tapados, a partir de p-IBV, p-mIBV y p-IBV-N utilizando el kit de mMessage mMachine T7 (Ambion de la Thermo Fisher Scientific). En resumen, el p-mIBV fue PacI-linealizado, y p-IBV y p-IBV-N fueron

MssI-linealizados. El ADN del plásmido linealizado se precipitó con etanol. Las reacciones de transcripción se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando 1,5 y 0,5 µg de ADN linealizado por 10 µl de reacción para p-(m) IBV y p-IBV-N, respectivamente. Después de 1 hora de incubación a 37º C, la producción de ARN se probó analizando 1 µl del volumen de reacción usando electroforesis en gel. Después de un total de 2 horas de incubación, la reacción se detuvo transfiriendo los tubos de reacción sobre hielo.

Recombinación de ARN dirigida y el rescate de mIBV

[01003] El gen spike de IBV se reemplazó por un gen spike quimérico de MHV-IBV en el genoma de IBV mediante la recombinación de ARN dirigida entre el ARN del donante generado por p-mIBV y el ARN de virus receptor (IBV), tal como lo describió esencialmente anteriormente Kuo et al. 2000 (J. Virol. : 1393 - 1406). Dado que la infección de la mayor parte del IBV no es posible en líneas celulares continuas, el ARN del virus del IBV se transfectó en su lugar en células BHK-21, una línea celular conocida para apoyar la replicación de la cepa Beaudette del IBV adaptada al cultivo celular. Se transfectaron veinte microlitros de ARN viral de IBV-H52 junto con 10 µl de mezclas de reacción del transcripto de p-mIBV y p-IBV-N fueron transfectados en células BHK-21 por electroporación usando dos pulsos a 850 V y 25 µF en un aparato de electroporación Gene Pulser (Bio-Rad). Se sembraron células BHK-21 transfectadas sobre monocapas de células LR7 y se incubaron a 37ºC.

[01004] A 2 días después de la transfección, cuando se observaron sincitios en la monocapa LR7, se recogió el sobrenadante y se purificaron los virus mediante dos rondas de purificación de placas en células LR7. La caracterización del último tercio del genoma de los recombinantes candidatos se realizó mediante RT-PCR y la secuenciación de Sanger, usando los conjuntos de los cebadores especificados en la Tabla 4. Se cultivaron y titularon en las células LR7 los stocks de la cepa murinizada IBV (m) IBV # 1B3-IIA.

Recombinación de ARN dirigida y el rescate del IBV recombinante

[01005] Se generó IBV recombinante (rIBV-peso) introduciendo el ectodominio spike de IBV de nuevo en el genoma de mIBV mediante la recombinación del ARN dirigida entre el ARN donante generado por p-IBV y el virus receptor mIBV. Las células LR7 se infectaron con mIBV a una MOI (multiplicidad de infección) de 0,4 durante 4 horas. Los transcriptos del donante run-off tapados procedentes de p-IBV se transfectaron en las

células LR7 infectadas con mIBV usando dos impulsos a 850 V y 50 µF. Las células LR7 electroporadas se diluyeron a 2 ml en DMEM caliente y se prepararon diluciones diez veces de 10^0 a 10^{-3}. Doscientos microlitros de suspensiones de células LR7 se inyectaron intra-alantoicamente en huevos de pollo embrionados SPF de 10 días de edad, 5 huevos por dilución. Los huevos fueron calcinados dos veces al día y anotada su muerte embrionaria. Después de la muerte, o después de 7 días, los huevos se transfirieron a 4ºC, y 16-24 horas más tarde la AF se recogió asépticamente para RT-qPCR, y la membrana corioalantoide (CAM) de cada huevo se fijó en formalina al 10% de IHC. La AF de los huevos inoculados con la mayor dilución de células LR7 electroporadas, en las que el virus fue detectado por RT-qPCR e IHC, se sometió a dos rondas adicionales de dilución de punto final en ECE de 8 días de edad. La caracterización genética de los recombinantes candidatos se realizó mediante RT-PCR y por secuenciación de Sanger, utilizando los conjuntos de los cebadores especificados en la Tabla 4.

Tabla 4 - Secuencias de los cebadores

Conjunto de cebadores	**Objetivo**	**Cebador**	**Secuencia (5' → 3')[a]**	**Amplicón (bp)[b]**
A	IBV 1a - IBV 1a	IBV.F02	GGTGTAACACCAGAGATAAATG (SEC ID NO:11)	1416
		IBV.R02	ATTTACGACGTCAAGAGCGTC (SEC ID NO:12)	
B	MHV 1b - MHV S	1173	GACTTAGTCCTCTCCTTGATTG (SEC ID NO:13)	2479
		1127	CCAGTAAGCAATAATGTGG (SEC ID NO:14)	
C	IBV 1b - IBV S	IBV.F73	TCAGCATGGACGTGTGGTTA (SEC ID NO:15)	992
		IBV.R73	CCCCATGTAAATGCCAACCA (SEC ID NO:16)	
D	IBV S - IBV S	IBV.F14	TAAATGGTGATCTTGTTT (SEC ID NO:17)	708
		IBV.R13	CGCTCTTAGTAACATAAAC (SEC ID NO:18)	
E	IBV S - IBV M	IBV.F15	TGCTGCTTCCTTTAATAAG (SEC ID NO:19)	1994 (1646)
		IBV.R15	CTGCGACAAGACCTCCTG (SEC ID NO:20)	
F	IBV 1b - MHV S	mIBV.F47	TCAGCATGGACGTGTGGTTA (SEC ID NO:21)	1035
		mIBV.R47	CCCAGGCCTTGTGAAACTTC (SEC ID NO:22)	
G	MHV S - MHV S	MHV.F05	ACCCTCCGCTACTACGTTTT (SEC ID NO:23)	966
		MHV.R05	AGGCAGGTATCATGTGACCA (SEC ID NO:24)	

Conjunto de cebadores	Objetivo	Cebador	Secuencia (5' → 3')[a]	Amplicón (bp)[b]
H	MHV S - IBV M	MHV.F08	GGATGGGTTTGATGCAACCA (SEC ID NO:25)	2129
		IBV.R37	GAGAAAGCACCATTGGCACA (SEC ID NO:26)	
I	IBV IR - IBV N	IBV.F28	TGTTGTAGGTTGTGGTCCCA (SEC ID NO:27)	1633 (1248)
		IBV.R16	CTGAGGTCAATGCCTTATC (SEC ID NO:28)	

a. Las secuencias de los cebadores IBV.F73 y mIBV.F47 son idénticas. b. Para las longitudes de los conjuntos de cebadores [E] e [I] del amplicón para las variantes del delta del rIBV en las que se suprimen los genes 3 y/o 5 se indican entre paréntesis.

Inmunofluorescencia de doble tinción de IBV, mIBV y MHV

[01006] La caracterización biológica de la naturaleza quimérica del mIBV se realizó por tinción doble de inmunofluorescencia para IBV y MHV. Las células BHK-21 y LR7 se propagaron sobre la platina y se inocularon con IBV Beaudette y MHV A59 y mIBV # 1B3-IIA, respectivamente, a una MOI de 1,0. Las células se fijaron con PBS paraformaldehído al 4% (Aurion, Wageningen, Países Bajos) durante 20 minutos a la TA después de 8, 5¼ y 10 hpi para IBV, MHV y mIBV, respectivamente, durante la primera ronda de infección. Las células se permeabilizaron con PBS que contenía 0,1% de Triton X-100, se incubaron con suero de cabra normal (NGS), y se incubaron durante 45-60 minutos con una combinación de dos anticuerpos primarios en NGS: poli-suero de conejo anti-MHV k134 [Rottier et al. 1981, J. Virol. 38: 20 - 26] diluido a 1:400 y suero de pollo anti-IBV-H120 diluido 1:400, o de ratón MAb Ch/IBV 26,1 [Thermo Fisher Scientific] diluido 1:200. El suero anti-IBV-H120 de pollo se obtuvo después de inmunizaciones repetidas de pollo SPF con la cepa IBVstra H120. Las células se lavaron tres veces con PBS 0,05 % Tween-20 y se incubaron en la oscuridad durante 45 minutos con una combinación de dos anticuerpos secundarios marcados con fluorcromo diluidos 1:200 en NGS: Alexa Fluor 488 Cabra anti-Pollo IgY y Alexa Fluor 568 Cabra Anti-IgG de conejo o Alexa Fluor 488 IgG anti-ratón de cabra y Alexa Fluor 568 IgG de cabra anti-conejo [Invitrogen como parte de Thermo Fisher Scientific]. Las células fueron lavadas tres veces y los núcleos fueron teñidos con 300 nM DAPI en PBS durante 5-10 minutos en la oscuridad. Las células se lavaron una vez con miliQ y se montaron con Fluorsave (Calbiochem de Merck Millipore, Billerica, MA, EE. UU.). Las diapositivas se visualizaron utilizando un microscopio Olympus BX60 con filtros I3, A y N2.1 con un CCD de color Leica DFC425C y el software LEICA LAS-AF (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

Curvas de crecimiento de las variables IBV recombinantes *in ovo*

[01007] Se inocularon ECE de ocho días de edad con 10^3 ELD_{50} de IBV-H52, IBV recombinante de tipo salvaje (las secuencias de aminoácidos de este virus rIBV-peso son idénticas a la secuencia de aminoácidos del IBV H52, pero la secuencia de nucleótidos difiere debido a lo denominado mutaciones silenciosas en la secuencia genómica), rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab o rIBV-Δ3ab5ab. Los huevos fueron calcinados dos veces al día y después de 0, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas de incubación, se transfirieron cinco huevos predeterminados por cepa de virus a 4ºC durante 16-24 horas, y la AF se cosechó ascéticamente y se almacenó a -80 ° C. Si uno o más embriones por cepa de virus murieron 12 horas antes del punto de tiempo predeterminado de recolección, ese punto de tiempo se excluyó de un análisis adicional. Las muestras de líquido alanotoico se diluyeron 10 veces en PBS sin Ca y Mg, y los ácidos nucleicos se extrajeron con el kit QIAamp DNA Blood Mini (Qiagen) y la adición del ARN portador usando el robot de pipeta Hamilton Starlet (Reno, Nevada, EE. UU.). Los ácidos nucleicos extraídos se analizaron mediante RT-qPCR para la cantidad de ARN de IBV con un protocolo adaptado de Callison et al. 2006 (J. Virol. Methods 138: 60-65). En resumen, se aplicaron los mismos cebadores y sondas y se adaptó el perfil térmico para el uso de la mezcla maestra ABI TaqMan Fast Virus 1-Step (Applied Biosystems de Thermo Fisher Scientific) y de Roche el 480 LightCycler. Todas las muestras de ácido nucleico fueron ejecutadas y analizadas en triplicado usando una serie de dilución de 10 veces de IBV-H52 como referencia.

EJEMPLO 3:

Preparación de la Vacuna y del virus probad:

[01008] Para los experimentos en animales se ensayaron cinco IBV, el IBV-H52 de tipo salvaje, rIBV-peso, rIBV-A3ab, rIBV-A5ab y rIBV-A3ab5ab. Todos los virus se han propagado en huevos de FPS embrionados de 8 días de edad (GD, Deventer, Países Bajos). El líquido alonatoico se recogió, se alicuotó y se almacenó a -80 ° C hasta su uso posterior. La titulación del virus se determinó utilizando una solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS) de 10 veces el virus diluido. Se inocularon cinco huevos para cada dilución con 100 µl en la cavidad alantoidea de huevos FPS embrionados de ocho días de edad, se sellaron los huevos y se incubaron a 37ºC. Los embrionarios muertos dentro de las primeras 24 horas después de la inoculación fueron considerados inespecíficos. Los huevos fueron calcinados diariamente hasta el séptimo día después de la inoculación. Se consideraron positivos los embriones y los embriones muertos que presentaban signos específicos para el IBV (el rizado y el enanismo de los

embriones, los embriones ahusados, rojos o hemorrágicos y posiblemente depósitos blancos de uratos en los riñones). La dosis infecciosa de huevo 50% (EID_{50}) se calculó siguiendo el método de Reed y Muench [Reed, L.J., y H. Muench (1938). Un método simple de estimar puntos finales del cincuenta por ciento. Am J Epidemiol 27: 493 - 497]. Para la vacunación, los virus se diluyeron en PBS estéril para obtener un título de 10^3 EID_{50}/0,1 ml. El virus probado M41 del serotipo de Massachussetts (obtenido de GD Deventer, Deventer, Países Bajos) se propagó en huevos SPF embrionados de 11 días de edad (VALO BioMedia GmbH, Osterholz-Scharmbeck, Alemania). El líquido alantoico se recogió 24 horas después de la inoculación, se dividió en alícuotas y se almacenó a -80º C hasta su uso posterior. La titulación del virus se determinó como se ha descripto anteriormente con la excepción de que se utilizaron huevos SPF embrionados durante 11 días. Para la infección provocada, la cepa M41 de IBV se diluyó en PBS estéril para obtener un título objetivo de 103 EID_{50}/0,1 ml.

EJEMPLO 4

DATOS DE EFICACIA DE LA VACUNA 1 PARA Δ3ab, Δ5ab, Δ3ab5ab

[01009] **Material y métodos**: Los pollos utilizados para este estudio se incubaron a partir de huevos de SPF (GD, Deventer, Países Bajos). Los pollos se dividieron en siete grupos. Los grupos 1-6 contenían 15 pollos mientras que diez pollos fueron asignados al grupo 7. En un día de edad, los pollos fueron transferidos a aisladores con suministro filtrado con HEPA y aire de escape con humedad regulada (40-70%) y temperatura (20-21° C). Los animales se mantuvieron bajo condiciones de vivienda de acuerdo con los requisitos locales y nacionales para las recomendaciones de bienestar animal. El régimen de luz se ajustó a 12 horas de obscuridad y 12 horas de luz por día. La alimentación y el agua se proporcionaron *ad libitum*. Después de la transferencia a los aisladores, los pollos de los grupos 1-5 fueron vacunados al día con 0,1 ml de las vacunas diluidas (10^3 EID_{50}/0,1 ml) a través de la vía ocular (0,05 ml/ojo). El factor de dilución se determinó basándose en la titulación obtenida después de la titulación del virus. Los pollos del grupo 1 fueron vacunados con IBV-H52 mientras que los pollos de los grupos 2-5 fueron vacunados con rIBV-peso (grupo 2), rIBV-Δ3ab (grupo 3), rIBV-Δ5ab (grupo 4), rIBV-Δ3ab5ab). Los pollos del grupo 6 no fueron vacunados y sirvieron como control de la prueba. Los pollos del grupo 7 sirvieron como control negativo estricto (SNC), y no fueron vacunados ni probados. A los siete días después de la vacunación se eliminaron 5 pollos de los grupos 1-6, se sacrificaron y se tomó la tráquea de cada pollo. Los pollos de los grupos 1-6 se probaron al día 21 después de la vacunación con 10^3-EID_{50}/0,1 ml del virus probado M41 a través de la vía ocular como se describe

anteriormente. A los siete días después de la exposición, todos los pollos fueron eutanasiados y las tráqueas fueron retiradas. Las tráqueas recuperadas del día siete después de la vacunación y la infección después de la prueba del día siete se cortaron en diez secciones transversales. La tráquea se cortó en tres secciones transversales de la parte superior, cuatro secciones transversales de la parte media y tres secciones transversales de la parte inferior. Las secciones se enjuagaron con PBS precalentado y se examinaron no más tarde de 2 horas después del muestreo por microscopía de baja ampliación para la actividad ciliar. Para una sección traqueal dada, la actividad ciliar se considera normal cuando al menos el 50% del anillo interno muestra un movimiento ciliar vigoroso. Un pollo se considera no afectado por el virus utilizado para la vacunación al día siete después de la vacunación o no afectado por el virus probado, por lo tanto protegido de la prueba a los siete días después de la infección provocada si no menos de 9 de cada 10 anillos muestran una actividad ciliar normal.

Resultados: Se observaron los pollos de cada grupo para los signos clínicos después de la vacunación y después de la infección por la prueba. Después de la vacunación, ninguno de los pollos mostraba signos de enfermedad que pudiera estar asociada con la vacunación. Un ave del grupo 3 fue hallada muerta dos días después de la vacunación. La necropsia realizada reveló la infección del saco vitelino. Después de la infección por la prueba no se observaron signos clínicos en los grupos 1 - 5 vacunados, ni en el grupo SNC 7. Se debe mencionar que del grupo 1 (IBV - H52) se retiró un ave y se sacrificó un día después de la infección por la prueba. Sin embargo, esta ave ya estaba deprimida a partir del día 18 después de la vacunación, que es tres días antes de la infección por la prueba. La necropsia reveló pequeñas observaciones digestivas y un cultivo sobrecargado que indica un trastorno digestivo. En contraste, cuatro aves del grupo no vacunado desafiado mostraron signos respiratorios típicos de la bronquitis infecciosa entre dos y tres días después de la infección de la prueba.

La patogenicidad de cada virus se evaluó mediante el análisis de los puntajes de ciliar. La actividad ciliar se define como no afectada para una sección traqueal dada cuando $\geq$50% de los anillos internos muestra un movimiento ciliar vigoroso, que es una puntaje de 2. El puntaje se encuentra en una escala de 0-4, siendo que 0 es un cien por ciento ciliar en movimiento. El puntaje de 1 significa aproximadamente el 75% del movimiento de la muestra traqueal ciliar. Cincuenta, 25 y <25% del movimiento ciliar resultan en una puntaje de 2, 3 y 4, respectivamente. El puntaje de lesión traqueal más alta es 40, que es la suma de diez secciones traqueales con un puntaje de 4. La suma de cada puntaje por pollo se promedió y se analizaron las diferencias. Los puntajes medios de lesión

traqueal de los diferentes grupos se enumeran en la Tabla 5. Los resultados de este estudio demostraron que cada uno de los tres ítems de prueba recombinante de IBV (rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab y rIBV-ΔabΔ5ab) se puede administrar de forma segura. Esto es, puesto que el puntaje medio de ciliostasis a los 7 días después de la administración de una dosis de los mutantes de supresión (rIBV- Δ3ab, rIBV-Δ5ab y rIBV-Δ3abΔ5ab) fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el puntaje medio de la lesión traqueal a 7 Días después de la administración del virus parental recombinante (rIBV-peso) cuando se administra a pollos de capa SPF de un día. Se observó un efecto similar cuando se compararon los mutantes de supresión (rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab y rIBV-Δ3abΔ5ab) con IBV-H52. Además, ninguno de los pollos mostró signos clínicos notables de IB o murió de causas atribuibles a los elementos de prueba después de la administración de uno de los tres ítems de ensayo que contenían supresiones en el genoma viral. En conjunto, los tres ítems de prueba de IBV recombinante (rIBV- Δ3ab, rIBV-Δ5ab y rIBV-Δ3abΔ5ab) eran más seguros que los controles (rIBV-peso o IBV-H52) que no contenían una supresión en el IBV mutante por la supresión anteriormente mencionada.

Tabla 5. Puntaje medio de la lesión traqueal de los diferentes grupos a 7 días después de la vacunación

Grupo	**Vacuna**	**Puntaje promedio**
1	IBV-H52	26
2	rIBV-peso	40
3	rIBV-Δ3ab	8
4	rIBV-Δ5ab	19
5	rIBV-Δ3abΔ5ab	8
6	NV*	2

*no vacunados

Además, se analizó si las supresiones que contenían IBV recombinante en el genoma (rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab y rIBV-Δ3abΔ5ab) eran capaces de inducir protección contra una infección de la prueba utilizando la cepa virulenta de IBV M41. La dosis de la prueba dirigida fue 10^3 EID_{50}/pollo aplicada en 100 µl de virus diluido con 50 µl en cada ojo por el método de gotas para ojos. La titulación posterior del virus probado reveló que la dosis de la prueba era de 103,78 EID_{50}/100 µl, siendo casi 10 veces superior según lo previsto.

Tabla 6. Protección y puntaje medio de la lesión traqueal de los diferentes grupos a 7 días de la infección posterior a la prueba

Grupo	**Vacuna**	**Animales protegidos/animales totales (Puntaje promedio)**
1	IBV-H52	21

Grupo	Vacuna	Animales protegidos/animales totales (Puntaje promedio)
2	rIBV-peso	12
3	rIBV-Δ3ab	17
4	rIBV-Δ5ab	6
5	rIBV-Δ3abΔ5ab	19
6	NV*	40
7	NV/NC**	0

*no vacunados

** no vacunados/no probados

El test cumplía con todos los criterios de validez según la Farmacopea Europea EP 0442 ya que todos los pollos controlados probados presentaban una pérdida extrema de vigor de la actividad ciliar indicada con un puntaje promedio de 40. Además, durante el período de observación entre la vacunación y la prueba no más del 10 por ciento de los pollos vacunados o de control mostraron signos clínicos anormales o murieron por causas no atribuibles a las vacunas ensayadas. Los resultados de este estudio demostraron la eficacia de cada uno de los tres ensayos de recombinación IBV que contenían supresión en el genoma viral (rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab, y rIBV-Δ3abΔ5ab) ya que ninguna de las aves vacunadas mostraba signos clínicos o murió después de la prueba con la cepa M41 de IBV.

Para el ítem de ensayo rIBV-Δab, 6 de 9 aves (67%) cumplieron con el test después de la prueba con respecto a la eficacia como se indica en el documento EP 0442 (9 de 10 anillos traqueales muestran actividad ciliar normal). Para el ítem de ensayo rIBV-Δ5ab, 10 de cada 10 aves (100%), y para el ítem de ensayo rIBV-Δ3ab-Δ5ab, 3 de 10 aves (30%) estaban protegidas contra la infección por la prueba. Curiosamente después de la vacunación con el virus de tipo salvaje IBV-H52 4 de 9 aves (44%) estuvieron protegidas, mientras que 7 de cada 10 aves (70%) estuvieron protegidas de la infección de la prueba después de la vacunación con rIBV-peso. La inesperada baja tasa de protección podría ser causada por la titulación bastante alta del virus probado utilizado, ya que incluso el IBV-H52 no pudo inducir una protección $\geq$ 90%. En conjunto, los tres ítems de prueba de IBV recombinante (rIBV-Δ3ab, rIBV-Δ5ab, y rIBV-Δ3abΔ5ab) se pueden administrar más seguros como los controles (rIBV-peso o IBV-H52), sin embargo, todos los mutantes son al menos tan eficaces como los controles.

EJEMPLO 5

DATOS DE EFICACIA DE LA VACUNA 2 PARA Δ3ab, Δ5ab, Δ3ab5ab

Materiales y método: Con el fin de validar los resultados experimentales, los experimentos anteriores (Ejemplos 1 a 4) se repitieron desde el principio para tener un

segundo conjunto de datos independientes. Las construcciones se generaron una segunda vez de acuerdo con los métodos ya descriptos anteriormente. El experimento de vacunación y la prueba se realizó usando virus que contenían las mismas supresiones de los genes (Δ3ab, Δ5ab, Δ3ab5ab) y los virus no modificados (IBV-H52, rIBV-PESO) como controles. El experimento se diseñó como se describe en el Ejemplo 4. Para mayor claridad, los pollos del grupo 1 se vacunaron con IBV-H52, mientras que los pollos de los grupos 2-5 fueron vacunados con rIBV-peso (grupo 2), rIBV- Δ3ab (grupo 3), rIBV - Δ5ab (grupo 4), y rIBV-A3ab5ab (grupo 5). Los pollos del grupo 6 no fueron vacunados y probados y sirvieron como control de la prueba. Los pollos del grupo 7 sirvieron como control negativo estricto (SNC), y no fueron vacunados ni probados. Los pollos fueron vacunados al primer día de vida con 10^3 EID_{50}/pollos y probados a los 21 días después de la vacunación con 10^3 EID_{50}/pollos con las cepas virulentas IBV M41. Ambas inoculaciones de virus se realizaron por medio de colirio. Para analizar la seguridad de los virus se investigó la actividad ciliar de la tráquea como se describe en el Ejemplo 4 a los 7 días después de la vacunación en 5 pollos cada uno de los grupos 1-5 y 5 pollos del grupo 7 (SNC). Para investigar la capacidad de los virus para proteger contra el daño traqueal después de la infección provocada las tráqueas de los pollos restantes se analizaron para su actividad ciliar al día 7 después de la infección por la prueba. La actividad ciliar de la tráquea se investigó como se describe en el Ejemplo 4. Durante el transcurso del experimento todos los pollos se observaron diariamente para detectar signos clínicos.

Resultados: Las observaciones clínicas relacionadas con la administración de la vacuna no se informaron ni después de la vacunación ni después de la infección por la prueba en ninguno de los grupos. El puntaje de la lesión traqueal se investigó como se describe en el Ejemplo 4 con una excepción. Al día 7 después de la vacunación se utilizaron 5 aves del SNC como control negativo para el puntaje de la lesión en los cilios traqueales debido a razones de bienestar del animal. En resumen, el puntaje más alto de una tráquea fue 40, lo que indica el mayor daño posible a los cilios traqueales. En la tabla 7 se muestran los puntajes medios de lesiones de 5 aves por grupo 1 a los 7 días después de la vacunación. Los tres ítems de prueba de IBV recombinante (rIBV- Δ3ab, rIBV- Δ5ab y rIBV- Δ3ab Δ5ab) se pueden administrar más seguros como los controles (rIBV-peso o IBV-H52) según lo indicado por los puntajes medios de lesión (Tabla 7). Por lo tanto, los resultados antes mencionados fueron validados. Los tres ítems de prueba de IBV recombinante (rIBV- Δ3ab, rIBV- Δ5ab y rIBV-Δ3abΔ5ab) fueron más seguros cuando se compararon con IBV-H52 y rIBV-peso.

Tabla 7. Puntaje medio de la lesión traqueal en los diferentes grupos a los 7 días después de la vacunación

Grupo	Vacuna	Puntaje Promedio
1	IBV-H52	26
2	rIBV-peso	19
3	rIBV-Δ3ab	5
4	rIBV-□Δ5ab	15
5	rIBV-□Δ□abΔ5ab	11
7	SNC*	5

* control negativo estricto

Además, se probó si el IBV recombinante que contenía supresiones del genoma (rIBV-Δ3ab, rIBV- Δ5ab y rIBV- Δ3ab Δ5ab) fueron capaces de inducir la protección contra una infección de la prueba utilizando la cepa virulenta de IBV M41. La dosis de la prueba dirigida fue 10^3 EID_{50}/pollo aplicada en 100\µl de virus diluido con 50\µl en cada ojo por el método de gotas para ojos. La titulación posterior del virus de la prueba reveló que la dosis de la prueba de 10^3,36 EID_{50}/100µl, que era del rango esperado.

La infección de la prueba fue válida ya que todos los pollos de control no vacunados probados (grupo 6) mostraron pérdida extrema de vigor de la actividad ciliar, como se indicó con un puntaje promedio de 39 (Tabla 8) a los 7 días después de la infección por la prueba. Además, durante el período de observación entre la vacunación y la prueba no se observaron signos clínicos atribuibles a la aplicación de la vacuna en los pollos.

En conjunto, los tres ítems de prueba recombinante de IBV (rIBV- Δ3ab, rIBV- Δ5ab y rIBV- Δ3ab Δ5ab) son más seguros después de la aplicación como vacuna que los controles (rIBV-peso o IBV-H52), sin embargo, todos los mutantes son menos eficaces que los controles.

Tabla 8. Protección y puntaje medio de la lesión traqueal en los diferentes grupos a los 7 días después de la infección por la prueba

Grupo	Vacuna	Animales protegidos/total de animales (Puntaje Promedio)
1	IBV-H52	15
2	rIBV-peso	12
3	rIBV-Δ3ab	14
4	rIBV-Δ5ab	11
5	rIBV-Δ3abΔ5ab	12
6	NV*	39
7	SNC (NV/NC)**	5

*no vacunados

** control negativo estricto (no vacunados/no probados)

EJEMPLO 6

GENERACIÓN Y PRUEBA DE LOS MUTANTES DE SUPRESIÓN UNICA

Δ3a, Δ3b, Δ5a, Δ5b

Material y metódos:

Construcción de plásmidos con supresión de cualquier gen 3a, 3b, 5a, o 5b. Con el fin de analizar si las proteínas individuales 3a, 3b, 5a o 5b tienen un impacto sobre la virulencia de IBV, la expresión de las proteínas se inactivó mediante mutantes de supresión simple. Con este fin, los fragmentos de ADNc que contenían la supresión de 3a, 3b, 5a o 5b se generaron sintéticamente y se ligaron en pUC57-simple mediante Genscript (pUC57-Δ3a, pUC57-Δ3b, pUC57-Δ5a, pUC57- Δ5b). El plásmido pUC57-Δ3a se escindió con las enzimas de restricción NheI y PmlI y las secuencias de ADNc específicas de IBV apropiadas se ligaron en el plásmido escindido por NheI/PmlI p-IBV-5-1b-S-SIR (véase también la tabla 1) para obtener p-IBV-5-1b-S-SIR-Δ3a. En una etapa siguiente, el plásmido p-IBV-3T (véase también la tabla 1) se escindió con EcoRI y el fragmento de cADN se ligó en el p-IBV-5-1b-S-SIR-Δ3a escindido con EcoRI para obtener p-IBV -5-lb-S-SIRΔ3a-3T, ahora denominado p-IBV-Δ3a. La misma estrategia se empleó para la generación de p-IBV-Δ3b, excepto que se usó el fragmento del plásmido pUC57-Δ3b. Para la generación de plásmidos que contienen la supresión de 5a o 5b, se eligió un procedimiento de clonación diferente. Para ello, el plásmido pUC57-Δ5a se escindió con dos enzimas de restricción (AfeI, NheI) y el fragmento de cADN eluido se ligó al p-IBV-3T clivado apropiadamente para obtener p-IBV-Δ5a-3T. El plásmido p-IBV-Δ5a-3T se escindió con EcoRI y el fragmento de cDNA eluido se ligó en el p-IBV-5-1b-S-SIR escindido con EcoRI para obtener el plásmido diana p-IBV-5-lb- S-SIRΔ5a-3T, ahora denominado p-IBV-Δ5a. Se usó la misma estrategia para la generación de p-IBV-Δ5b excepto que se usó el plásmido pUC57-Δ5b.

Generación de IBV recombinante con supresiones únicas en las proteínas accesorias 3a, 3b, 5a y 5b. Las supresiones que contienen IBV en regiones codificantes de 3a, 3b, 5a o 5b se generaron como se ha descripto anteriormente. En resumen, los transcriptos run-off del plásmido linealizado p-IBV-N y el plásmido p-IBV-Δ3a, p-IBV-Δ3b, p-IBV-Δ5a o p-IBV-Δ5b se generaron como se describe en el Ejemplo 2. La generación del IBV recombinante se realizó como se describe en el Ejemplo 2, utilizando células LR7 infectadas con mIBV y subsecuentemente la transfección con cRNA de cuatro combinaciones (cRNA-IBV-N, cRNA-IBV-Δ3a, cRNA-IBV N, cRNA - IBV - 3b, cRNA - IBV - N, ARNc - IBV - 5a, cRNA - IBV - N, cRNA - IBV - 5b). Los virus recombinantes (rIBV-Δ3a, rIBV-Δ3b, rIBV-Δ5a, rIBV-Δ5b) se rescataron posteriormente como se describe en el Ejemplo 2 y se propagaron como se describe en el Ejemplo 3.

La titulación de virus en EID_{50} de las reservas de virus finales se determinó en huevos de SPF embrionados de 8 días de edad usando 5 huevos por dilución usando Reed y Muench [Reed, LJ, y H. Muench (1938). Un método simple de estimar puntos finales del cincuenta por ciento. Am J Epidemiol 27: 493 - 497].

Experimentos con animales: Los experimentos con animales se realizaron como se describe en el Ejemplo 4. Se vacunaron quince pollos SPF por grupo con 10^3 EID_{50}/pollo en 100\µl de IBV - H52 (grupo 1), rIBV -peso (grupo 2), rIBV - 3a (grupo 3), rIBV-Δ3b (grupo 4), rIBV-Δ5a (grupo 5) o rIBV-Δ5b (grupo 6) a través de la vía ocular. Diez pollos del grupo 7 y grupo 8 no fueron vacunados. Los pollos del grupo 8 sirvieron como control negativo estricto (SNC) los que no se vacunaron ni se probaron. Todas las aves se mantuvieron en aisladores para omitir la transmisión del virus entre los grupos. A los 7 días después de la vacunación, se retiraron cinco aves de los grupos 1-6 y cinco aves del grupo 8 para la evaluación de la actividad ciliar de la tráquea, como se describe en el Ejemplo 4. La infección por la prueba se realizó con pollos de los grupos 1-7 al día 21 posterior a la vacunación utilizando 10^3 EID_{50}/pollo en 100 µl de la cepa virulenta de IBV M41, mientras que los pollos del grupo 8 se dejaron sin estimular. Los pollos restantes de todos los grupos fueron sacrificados y la tráquea se retiró para el análisis de la actividad ciliar de la tráquea como se describe en el Ejemplo 4 a los 7 días después de la infección por la prueba.

En la tabla 9 se muestran los promedios de los puntajes traqueales de la actividad ciliar al día 7 después de la vacunación. El análisis estadístico reveló que los puntajes de lesiones de los grupos experimentales 3-6 (rIBV-Δ3a, rIBV-Δ3b, rIBV-Δ5a, rIBV-Δ5) fueron estadísticamente inferiores ($p < 0,05$) de los puntajes del grupo 2 (rIBV-peso). Se observó un efecto similar cuando se compararon los mutantes de supresión (rIBV-Δ3a, rIBV-Δ3b, rIBV-Δ5a, rIBV-Δ5) con IBV-H52.

Tabla 9. Puntajes medios de la lesión traqueal de los diferentes grupos a los 7 días después de la vacunación

Grupo	**Vacuna**	**Puntaje Promedio**
1	IBV-H52	25
2	rIBV-peso	36
3	rIBV- Δ 3a	18
4	rIBV- Δ3b	18
5	rIBV- Δ5a	16
6	rIBV- Δ5b	23
8	SNC*	4

*control negativo estricto

La infección por la prueba fue válida ya que todos los pollos de control probados (grupo

7) mostraron una pérdida extrema de vigor de la actividad ciliar, como se indicó con un puntaje medio de 36 (Tabla 10) a los 7 días después de la infección por la prueba.
Los pollos vacunados, ya sea vacunados con IBV de control (IBV-H52, rIBV-peso) o los mutantes de supresión (rIBV-Δ3a, rIBV-Δ3b, rIBV-Δ5a y rIBV-Δ5b) fueron protegidos de la Infección por la prueba ya que el puntaje de la lesión promedio de la actividad ciliar fue sustancialmente menor que el puntaje de la lesión de los pollos no vacunados pero probados (grupo 7). En conjunto, las supresiones que contienen IBV en cualquiera de los genes 3a, 3b, 5a o 5b se atenúan en pollos jóvenes pero pueden inducir una protección significativa comparable a su cepa parental (IBV-H52) y parental recombinante (rIBV-peso) cuando se prueban con un IBV virulento del serotipo Massachusetts (aquí la cepa M41).
Tabla 10. Puntaje medio de lesión traqueal de los diferentes grupos a los 7 días post vacunación

Grupo	Vacuna	Puntaje Promedio
1	IBV-H52	1
2	rIBV-peso	2
3	rIBV- Δ3a	9
4	rIBV- Δ3b	5
5	rIBV- Δ5a	11
6	rIBV- Δ5b	8
7	NV*	36
8	SNC (NV/NC)**	0

*no vacunado

** control negativo estricto (no vacunado/no probado)

[01010] Todas las composiciones y métodos descriptos y reivindicados en la presente invención pueden hacerse y ejecutarse sin la experimentación indebida a la luz de la presente descripción. Aunque las composiciones y métodos de esta invención se han descripto en términos de realizaciones preferidas, será evidente para los expertos en la técnica que se pueden aplicar variaciones a las composiciones y métodos y en las etapas o en la secuencia de las etapas de la invención descriptas en el presente documento sin apartarse del concepto, espíritu y alcance de la invención. Más específicamente, será evidente que ciertos agentes que están tanto relacionados químicamente como fisiológicamente pueden ser sustituidos por los agentes descriptos en la presente memoria mientras que se conseguirían los mismos resultados o similares. Todos estos sustitutos similares y modificaciones evidentes para los expertos en la técnica se consideran dentro del espíritu, alcance y concepto de la invención como se define en las siguientes reivindicaciones.