

## CONVENIO

En la ciudad de Montevideo, a los 29 días del mes de diciembre de dos mil catorce, comparecen: I) Por una parte: **VIRBAC URUGUAY S.A.**, RUT N° 210121720012, con domicilio en **Avda. Millán 4175** (en adelante VIRBAC) representada por **Dr. Eduardo Ottonelli**, II) Por otra parte: **CELSIUS S.A.**, RUT 210345980018, con domicilio en **Avda. Joaquín Suárez 3593, Montevideo, Uruguay** (en adelante CELSIUS) representada por **Cr. Marcelo Birenbaum** y III) Por otra parte: **UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA** – FACULTAD DE CIENCIAS, con domicilio en 18 de julio 1824, representada en este acto por el **Dr. Roberto Markarian**, (en adelante UDELAR); acuerdan constituir y otorgar el presente acuerdo (en adelante, el “**Convenio**”).

### PRIMERO. Antecedentes.

- 1.1 La ANII promueve la realización de proyectos que implican la articulación entre la academia y la empresa, en el entendido que propende a la construcción de capacidades de innovación en el país, generando encadenamientos desde y/o hacia otros sectores de la economía. En ese marco se crea el Programa Alianzas para la Innovación.
- 1.2 Las partes gestionaron ante la ANII en el marco del Programa de Alianzas para la Innovación, un financiamiento mediante la modalidad de Subsidio, para el proyecto **Número ALI\_2\_2013\_1\_4783** denominado “**Desarrollo de una nueva generación de vacunas contra la neumonía bovina mediante la adición de antígenos recombinantes y purificados**” (en adelante el “**Proyecto**”). En la propuesta las partes asumieron la obligación de formalizar un convenio a los efectos de establecer un vínculo jurídico para la ejecución del mencionado Proyecto.
- 1.3 Con fecha 10 de Setiembre de 2014, la solicitud de financiamiento para la ejecución del Proyecto fue aprobado por Resolución del Directorio de la ANII N° 1630/014. La empresa VIRBAC URUGUAY S.A. es un reconocido laboratorio nacional filial de la empresa VIRBAC de Francia, dedicado a la producción de especialidades farmacéuticas de uso veterinario. Desde hace muchos años VIRBAC ha invertido en el desarrollo de nuevos productos tanto en el área de farma como de biotecnología animal, que han contribuido no solamente a mejorar la sanidad del rodeo nacional sino también internacional, posicionando a la

empresa como uno de los referentes nacionales en la producción de especialidades veterinarias biotecnológicas.

- 1.4 CELSIUS es una empresa líder a nivel nacional en la industria farmacéutica de uso humano. Se dedica a la producción y comercialización de medicamentos de uso humano, cosmeceúticos y reactivos de diagnóstico. Desde el año 2013 posee una planta de producción de activos biotecnológicos, que cumple con los requerimientos de calidad a nivel internacional, en la que se desarrollan y producen proteínas recombinantes, kits de diagnóstico molecular e inmunológico con aplicación en salud humana y animal.
- 1.5 Un grupo de investigadores de la Sección Bioquímica de la Facultad de Ciencias, UDELAR, dirigida por la Dra. Mónica Marin, trabajará en alianza con ambas empresas aportando su experiencia académica en el diseño y la evaluación de los antígenos recombinantes. Este grupo tiene una larga trayectoria en el análisis de la expresión génica, la síntesis in vivo de proteínas y la caracterización de ácidos nucleicos y proteínas.
- 1.6 Las bases de la presente propuesta, y sus antecedentes más directos, surgen de una colaboración iniciada en el año 2012, entre VIRBAC, CELSIUS y UDELAR, con el objetivo de detectar y cuantificar Leucotoxina en los sobrenadantes de los cultivos de *M. haemolytica* empleados por VIRBAC para la elaboración de las vacunas.

#### **SEGUNDO. Objeto.**

VIRBAC, Celsius y UDELAR acuerdan que el objeto de este convenio es regular las relaciones internas de las mismas, así como su vinculación frente a la ANII y frente a terceros durante la ejecución del Proyecto (Anexo No. 1), el que suscrito por las partes forma parte integrante del presente convenio.

#### **TERCERO. Plazo.**

El plazo de duración del presente Convenio será 2 años, según el cronograma técnico que se presenta en el ANEXO 4, permaneciendo vigente siempre que subsistan obligaciones pendientes de ejecución.

#### **CUARTO. Obligaciones de las partes.**

Las partes UDELAR, CELSIUS y VIRBAC se obligan a:

- 1) Ejecutar el proyecto relacionado en la cláusula 1.2, en los términos y condiciones acordados con la ANII.
- 2) Poner a disposición todos los recursos humanos y materiales e infraestructura necesarios para la ejecución del proyecto.
- 3) Intercambiar toda la información y/o muestras e insumos necesarios para la ejecución del plan de actividades del proyecto.

En particular las empresas mencionadas asumen otras obligaciones específicas que se detallan a continuación:

CELSIUS S.A. se obliga a:

- 1) Destinar los recursos humanos, materiales y de infraestructura para la correcta ejecución de las etapas correspondientes a los objetivos que le competen dentro del proyecto.
- 2) Realizar la gestión administrativo-financiera del proyecto en tiempo y forma, no siendo responsables de los atrasos que pudieren existir en la ejecución del proyecto, relacionados con incumplimientos en los plazos de los aportes financieros atribuibles tanto a la ANII como a VIRBAC S.A.
- 3) Suscribir el contrato correspondiente con la ANII en representación de la Alianza a los efectos de la ejecución del proyecto.

VIRBAC S.A. se obliga a:

- 1) Poner a disposición los fondos de contrapartida necesarios para la ejecución del proyecto, correspondiente a un 30% del monto total del proyecto, en los plazos y condiciones establecidos en el Anexo 3 Cronograma Financiero, teniendo en cuenta lo establecido en las bases de llamado y en todas las normas relativas a los aportes de contrapartida dictadas por la ANII.
- 2) Destinar los recursos humanos, materiales y de infraestructura para la correcta ejecución de las etapas correspondientes a los objetivos que le competen dentro del proyecto

**QUINTO. Responsabilidad.**

Respecto de cualquier tipo de obligación que pueda surgir en la ejecución del Proyecto, las partes comparecientes responderán únicamente por las obligaciones que son puestas a su cargo y que asumen para la ejecución del Proyecto, reputándose dichas obligaciones divisibles.

**SEXTO. Vinculación con la ANII.**

Las Partes declaran conocer y aceptar que el vínculo establecido por el presente Convenio regula exclusivamente las relaciones jurídicas entre las Partes comparecientes, y que no existe en virtud del presente, vínculo o relación alguna entre ellas y la ANII, sin perjuicio del vínculo que mantienen las Empresas y la ANII conforme a la documentación suscrita en virtud de la ejecución Proyecto.

**SEPTIMO. Administración y coordinación.**

La administración financiera del Proyecto estará a cargo de CELSIUS, y la coordinación y seguimiento del mismo será ejercida por una Comisión de Seguimiento integrada por un representante de cada una de las Partes.

La Comisión de Seguimiento tendrá los siguientes cometidos:

- a) Coordinar las actividades para el mejor cumplimiento de los objetivos del Proyecto, entre las que se encuentra por ejemplo la aprobación y ejecución del cronograma de las actividades de investigación y desarrollo del proyecto, la aprobación y verificación de los resultados, la aprobación de los informes presentar a la ANII, etc.
- b) Asegurar la unidad de criterios;
- c) Dirimir los conflictos internos que pudieran surgir en la ejecución de las tareas y actividades propias del Proyecto y cumplir con el cronograma de ejecución del mismo, teniendo en todo caso como objetivo prioritario el más exacto cumplimiento del Proyecto y del contrato celebrado con la ANII.

Respecto a la deliberación en la citada Comisión, le corresponderá a cada integrante 1 voto. A los efectos de su convocatoria, uno cualquiera de los integrantes deberá citar por escrito o vía correo electrónico a los restantes, indicando las materias específicas sobre las que habrán de pronunciarse. Todas las resoluciones se adoptarán por mayoría simple de votos, no de presentes.

12  
BB

La participación y las votaciones podrán ser realizadas en forma personal o a distancia, esto es, por carta simple enviada por fax, escaneada en un archivo adjunto en correo electrónico, o bien vía correo ordinario.

Los integrantes de la Comisión tendrán un plazo de una semana para pronunciarse. Si no se manifiestan dentro del plazo estipulado su silencio se entenderá como aprobación.

**OCTAVO. Participación en los trabajos.**

De conformidad con lo que se establece en la cláusula Quinto, cada una de las Partes realizará las actividades y tareas que se establecen en el Proyecto que se adjunta como Anexo I del presente Convenio, y de conformidad a las pautas que allí se indican.

Las partes convienen que corresponderá:

- 1) A la UDELAR la suma que de U\$S 41.296.- (dólares americanos cuarenta y un mil doscientos noventa y seis) por concepto de apoyo económico para la ejecución del Proyecto. Dicha suma se integrará para la adquisición de equipos y reactivos y para la contratación de recursos humanos que se destinaran a la ejecución del proyecto conforme se establece en el propio proyecto y el cronograma de ejecución financiera acordado con la ANII.
- 2) A CELSIUS S.A. aportar los recursos humanos necesarios, equipos e infraestructura para el desarrollo del proyecto.
- 3) A VIRBAC S.A. aportar la contrapartida económica tanto en dinero como en especie necesaria para cubrir el presupuesto del proyecto conforme se establece en el propio proyecto y en el cronograma de ejecución financiera acordado con la ANII, además del personal, equipos e infraestructura que sean necesarios para las actividades previstas en el proyecto.

Sin perjuicio de ello, y sin que implique modificación de la distribución de tareas, servicios y suministros definidos en este Convenio, las partes podrán en cualquier momento renegociar entre sí los ajustes y modificaciones que entiendan pertinentes, siempre que hayan obtenido la previa aprobación de la ANII, y siempre y cuando no se afecte la continuidad de las actividades de ejecución del Proyecto ni la calidad de las prestaciones.

112

BB

Se deja expresa constancia que la distribución de tareas establecida en la presente cláusula queda subordinada a la obligación prioritaria de dar cumplimiento al Proyecto.

**NOVENO. Relaciones internas entre las Partes. Cumplimiento del Proyecto.**

Queda expresamente acordado que las partes se ajustarán en su actividad relacionada con el Proyecto a que refiere el presente Convenio, en forma estricta y en un todo de conformidad a sus disposiciones, a los requerimientos de las bases del llamado y al contenido de del proyecto presentado a la ANII por la partes así como a todas los reglamentos e instrucciones que ésta exija durante la ejecución, a la que darán cumplimiento con la máxima diligencia, profesionalidad y lealtad, procurando llevar a cabo las prestaciones, tareas y servicios en los plazos estipulados y con la más alta calidad.

**DÉCIMO. Propiedad de los bienes adquiridos en ocasión del proyecto.**

Los bienes adquiridos durante la ejecución del presente convenio serán puestos a disposición de la ejecución del proyecto y una vez finalizado el mismo, permanecerán en el laboratorio donde fueran instalados para la ejecución del proyecto y una vez terminado el proyecto serán propiedad de la parte solicitante de acuerdo al Anexo No. 2.

**DÉCIMO PRIMERO. Confidencialidad.**

Las partes se comprometen a no difundir, utilizar, ceder, transferir o de cualquier forma tornar disponible o accesible a terceros ajenos al presente convenio, bajo ningún concepto, las informaciones científicas o técnicas pertenecientes a la otra parte a las que haya podido tener acceso en el desarrollo del presente convenio definidas de acuerdo al párrafo siguiente (en adelante la "Información Confidencial").

Quedará comprendida en la presente obligación de confidencialidad, la información total o parcial de descubrimientos generados en el desarrollo y/o ejecución del Proyecto, siempre que la misma no sea de dominio público. Esto incluye no sólo el desarrollo científico en sí, sino también la información relacionada con el manejo financiero o comercial del mismo siempre que la misma no sea de dominio público y que sea identificada y entregada mediante mecanismos que aseguren la confidencialidad de la misma.

La obligación de confidencialidad regulada en esta cláusula se sujetará a las siguientes reglas, que se detallan a título meramente enunciativo:

1. Toda información suministrada por las partes en las condiciones antes indicadas, o desarrollada, obtenida, descubierta o modificada por éstas en la ejecución de un Proyecto siempre que no sea de dominio público, está declarada Información Confidencial.

2. Una parte no podrán comercializar, publicar, divulgar o de cualquier forma utilizar los resultados confidenciales parciales o finales, en todo o en parte del proyecto, sin la autorización previa y por escrito de los dos titulares de los resultados.

Cuando la UDELAR desee utilizar los resultados parciales o finales, en parte o en su totalidad para una publicación deberá solicitar la conformidad de las titulares de los resultados por escrito, mediante carta certificada o telegrama colacionado.

Las titulares deberán responder en un plazo máximo de treinta días, comunicando su autorización, sus reservas o su disconformidad sobre la información contenida en el artículo o conferencia por el mismo procedimiento. Transcurrido dicho plazo sin obtener respuesta, se entenderá que el silencio es la tácita autorización para su uso o difusión.

En ningún caso las obligaciones establecidas en este convenio impedirán a las partes el desarrollo de futuras investigaciones.

3. La obligación de confidencialidad alcanzará a los dependientes de las partes así como a los técnicos intervinientes sean o no dependientes de las partes, excepto en la medida en que fuera necesaria dicha divulgación para la prestación de los servicios contratados.

4. Lo anterior es sin perjuicio de las normas legales aplicables al secreto comercial e industrial, y cualquier revelación de la Información Confidencial a la que se tenga acceso, podrá constituir un ilícito de naturaleza penal, de acuerdo a lo que establece el Código Penal, sujetándose en consecuencia a las sanciones que prevén sus disposiciones.

5. Sin perjuicio de lo señalado precedentemente, se considera que no existirá responsabilidad por una divulgación siempre que se pruebe que la información ya se encontraba en el dominio público al momento de conocerse, producirse o utilizarse, o entró luego en el dominio público por vía ajena a los abajo firmantes.

6. Las obligación de confidencialidad se mantendrá vigente, aún luego de finalizado el plazo del presente contrato y durante 10 (diez) años posteriores a la finalización.

**DÉCIMO SEGUNDO. Titularidad y Explotación de los resultados.**

12.1 Cada Parte conservará la propiedad de los conocimientos y los resultados producidos por su propia investigación y desarrollo, ya sea patentada o no, y de su know-how adquirido a la entrada en vigencia del presente acuerdo.

12.2 Las Partes acuerdan que "Resultados" se entenderán todos los datos, información, fórmulas, productos, know-how, cualquier informe que incluya los informes provisionales y el informe final, muestras, prototipos, bases de datos, dibujos, logotipos, en cualquier forma o medio, desarrollado en el marco del proyecto.

12.3 Las Partes acuerdan que la titularidad de los derechos de propiedad intelectual sobre los resultados obtenidos del proyecto así como de los procesos utilizados por las Partes en relación con el Proyecto, independientemente de si son o no protegibles a través de instrumentos de propiedad intelectual, corresponderá en partes iguales a CELSIUS S.A. y VIRBAC S.A. en régimen de condominio.

12.4 Asimismo, las partes acuerdan que los resultados económicos derivados de la eventual cesión o licencia en relación a terceros corresponderá en partes iguales a CELSIUS S.A. y VIRBAC S.A. tanto dentro del territorio nacional como en el extranjero.

12.5 Sin perjuicio de lo establecido en el numeral anterior, las partes acordarán el alcance y condiciones en que CELSIUS explotará comercialmente los resultados alcanzados y el derecho de prioridad de VIRBAC S.A. para adquirir, utilizar y explotar los antígenos recombinantes o fragmentos de LKT que se produjesen por CELSIUS (a partir de los resultados obtenidos en el presente convenio) en el área de producción de especialidades de uso veterinario.

12.6 CELSIUS S.A. y VIRBAC S.A. tendrán derecho a registrar para sí y en partes iguales los derechos de propiedad intelectual a que dieron lugar los resultados del proyecto.



**DÉCIMO TERCERO. Rescisión.**

Este presente contrato se resolverá de pleno derecho y sin responsabilidad, en caso de que por razones ajenas a la voluntad de las partes, éstas no puedan cumplir con el objeto del mismo.

Asimismo, las partes acuerdan que este contrato podrá ser rescindido de común acuerdo de las partes y que el incumplimiento de cualquiera de las partes a las obligaciones asumidas en este convenio o en su anexo, dará derecho a las otras partes a solicitar la rescisión de este contrato más los daños y perjuicios si correspondieren.

**DÉCIMO CUARTO. Legislación y jurisdicción.**

Las partes acuerdan que la legislación aplicable al presente será la de la República Oriental del Uruguay y que los jueces competentes para la interpretación y ejecución de las disposiciones del presente Convenio de Vinculación serán los jueces de Montevideo. Asimismo establecen que toda notificación que deban practicarse se verificará mediante telegrama colacionado o cualquier otro medio de comunicación fehaciente, dirigido a los domicilios constituidos en este Convenio de Vinculación.

**DÉCIMO QUINTO. Domicilios.**

Las partes constituyen domicilios a los efectos del presente Convenio en los declarados como suyos en la comparecencia.

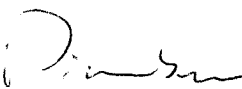
Y para constancia se otorgan tres ejemplares de un mismo tenor en los lugares y fechas indicados en la comparecencia.

**VIRBAC URUGUAY S.A.**

Firma: 

Aclaración: *EDUARDO OTTAVELLI*

**CELSIUS S.A.**

Firma: 

Aclaración: *Marcelo Birenbaum*

**UDELAR**

Firma:

  
**Dr. ROBERTO MARKARIAN**  
**RECTOR**

Aclaración:

ANEXO 1  
PROYECTO

Se presenta en archivo (.pdf) adjunto.

141

AP

# Datos del Proyecto



**Código del Proyecto:** ALI\_2\_2013\_1\_4783

**Título del Proyecto:** Desarrollo de una nueva generación de vacunas contra la neumonía bovina mediante la adición de antígenos recombinantes y purificados

**Tipo de Proyecto:** Alianzas para la Innovación

**Convocatoria:** Alianzas para la Innovación - 2013

**Sector:** Salud Humana y Animal (incluye Farmacéutica)

**Área Tecnológica:** Biotecnología

**Departamento donde se va a desarrollar el proyecto:** Montevideo

**Modalidad:** Modalidad II: Innovación

**Tipo de Alianza:** Público - Privado

**Fecha prevista de inicio:** 7/2014

**Duración del proyecto (en meses):** 24

**Costo total U\$S:** 339.422,00

**Costo con cargo al proyecto U\$S:** 198.583,00

**Otros aportes U\$S:** 140.839,00

**Responsable del Proyecto:** Tucci, Paula

**Documento:** C.Identidad 26042278

**Empresa/Institución:** Laboratorios Celsius

**Cargo:** Jefe de Desarrollo de Biotecnología

**Dirección:** Avenida Italia 6201 Edificio Los Tilos

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** MONTEVIDEO

**Código postal:** 11500

**Teléfono:** 26006001

**Correo electrónico:** paula.tucci@celsius.com.uy

# Instituciones participantes

**Institución: Laboratorios Celsius (Celsius S.A.)**

**Tipo de Institución:** Privada

**País de la Institución:** Uruguay

**Rol de la Institución:** Empresa Proponente

**Denominación comercial y sigla:** Laboratorios Celsius (Celsius S.A.)

**RUT:** 210345980018

**Razón social:** Laboratorios Celsius S.A.

**Giro de la Empresa:** Laboratorio de Especialidades Farmacéuticas

**Sector:** 24

**Sub-sector:** 2423

**Naturaleza jurídica:** S.A. cerrada

**Año de constitución:** 1936

**Dirección:** Suarez 3593

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** Montevideo

**Código postal:** 11700

**Página web:** [www.celsius.com.uy](http://www.celsius.com.uy)

**Correo electrónico:** [paula.tucci@celsius.com.uy](mailto:paula.tucci@celsius.com.uy)

**Institución: Laboratorios Santa Elena (SESA)**

**Tipo de Institución:** Privada

**País de la Institución:** Uruguay

**Rol de la Institución:** Empresa Proponente

**Denominación comercial y sigla:** Laboratorios Santa Elena (SESA)

**RUT:** 210121720012

**Razón social:** Santa Elena S.A.

**Giro de la Empresa:** Elaboración y venta de productos zoterápicos

**Sector:** 24

**Sub-sector:** 2423

**Naturaleza jurídica:** Sociedad Anónima

**Año de constitución:** 1957

**Dirección:** Av. Millan 4175

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** Montevideo

**Código postal:** 12900

**Página web:** <http://www.santaelena.com.uy/>

**Correo electrónico:** [reolon@santaelena.com.uy](mailto:reolon@santaelena.com.uy)

# Instituciones participantes



**Institución:** Sección Bioquímica

**Tipo de Institución:** Pública

**País de la Institución:** Uruguay

**Rol de la Institución:** Institución Proponente

**Institución:** Universidad de la República

**Institución nivel 2:** Facultad de Ciencias - UDeLaR

**Institución nivel 3:** Sección Bioquímica

**RUT:** 214478920019

**Dirección:** Igua 4225

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** Montevideo

**Código postal:** 11400

**Página web:** [www.fcien.edu.uy](http://www.fcien.edu.uy)

**Correo electrónico:** [marin@fcien.edu.uy](mailto:marin@fcien.edu.uy)

# Resumen Publicable



El Complejo de Enfermedades Respiratorias Bovinas es causado por varios agentes etiológicos entre los que se incluyen tanto bacterias como virus. Constituyen una de las principales patologías que afectan al ganado bovino y causan importantes pérdidas económicas en la producción en nuestro país. Al ser una enfermedad multifactorial ha resultado difícil el desarrollo de estrategias de control efectivas, haciendo necesaria la búsqueda de mejores sistemas de prevención. Las vacunas que actualmente comercializa Laboratorios Santa Elena son preparadas en base a cultivos inactivados de los principales agentes etiológicos involucrados. Se ha descrito que la incorporación de algunas proteínas fuertemente inmunogénicas en la formulación de estas vacunas podría mejorar la eficacia de las mismas, incrementando los niveles de protección y disminuyendo la sintomatología y el daño pulmonar asociado a la infección en el ganado afectado. En base a estas observaciones Santa Elena se plantea generar una nueva vacuna combinando la tecnología clásica, basada en cultivos inactivados, con la incorporación de antígenos recombinantes para elevar la eficacia del producto y su competitividad en el mercado. La alianza estratégica con la Sección Bioquímica de la Facultad de Ciencias y el Laboratorio de Desarrollo de Biotecnológicos de Laboratorios Celsius capitalizará la experiencia académica y las plataformas de fabricación disponibles, para el diseño y la producción a escala industrial del antígeno recombinante a incluir en la vacuna. La reconocida trayectoria de Laboratorios Santa Elena S.A. en la fabricación nacional de vacunas veterinarias le permitirá trasladar el desarrollo a la elaboración de un producto final de comprobada calidad, eficacia y seguridad. Esto redundará en beneficios para los productores agropecuarios que contarán con una vacuna más eficaz, desarrollada y fabricada completamente en el país, incorporando y afianzando la experiencia biotecnológica nacional.

# Especificación de la Alianza



## Descripción del Problema y Pertinencia de la Asociación

El Complejo de Enfermedades Respiratorias Bovinas (BRD) y el Síndrome de Diarrea Neonatal Bovina representan los mayores problemas sanitarios, tanto en los rodeos de carne como en los lecheros.

Constituyen las principales causas de enfermedad y muerte en bovinos a nivel nacional y a nivel mundial, provocando importantes pérdidas económicas en las explotaciones bovinas por su elevada incidencia y su alta morbilidad y mortalidad. Las enfermedades respiratorias son particularmente importantes en los sistemas de engorde intensivo. La alta tasa de contacto que implica este tipo de sistemas de producción ganadera hace imprescindible el diseño y desarrollo de vacunas eficaces contra los principales agentes infecciosos de especial incidencia en la región, para lograr un control eficiente de estos síndromes. Particularmente, las neumonías son las patologías que presentan mayor impacto, siendo responsables de alrededor de un 75% de las enfermedades detectadas en terneros y la causa de un 45-55% de las muertes. La mortalidad por estas enfermedades así como los gastos médicos y la mano de obra necesaria para su tratamiento implican un importante costo (necesario para asegurar el bienestar de los animales), al tiempo que el rendimiento del feedlot y el mérito de la carcasa se ven afectados negativamente, elevando así sus consecuencias económicas.

El Complejo de Enfermedad Respiratoria bovina es causado por varios agentes etiológicos entre los que se incluyen tanto bacterias como virus. Las vacunas disponibles contra esta enfermedad no son completamente eficientes, por lo que hay una tendencia en el mercado hacia la mejora de las mismas buscando incrementar los niveles de protección y eficacia y reducir el riesgo de toxicidad. Aún las vacunas más modernas tienen una eficacia en la prevención de las

enfermedades respiratorias bovinas entre 50 y 70%, por lo tanto se vuelve necesario el diseño racional de vacunas más eficaces, que contribuyan a disminuir las *pérdidas económicas al productor rural*.

Laboratorios Santa Elena (SESA) produce vacunas contra las BRD formuladas en base a cultivos inactivados de sus principales agentes etiológicos. En este contexto, y con el fin de mejorar la eficacia de las vacunas que actualmente comercializa SESA, así como aumentar la competitividad en el mercado, se plantea la incorporación de al menos un antígeno recombinante en la formulación. Como se describe en la sección Descripción del Proyecto, este antígeno candidato (Leucotoxina de *M. haemolytica*) ha demostrado incrementar los niveles de protección (menor número de animales enfermos), y a la vez reducir la sintomatología y el daño pulmonar asociado a la infección en el ganado afectado. El proyecto que se plantea implica realizar en una primera instancia el diseño del o los antígeno(s) a producir de forma recombinante, así como su expresión, purificación y caracterización in vitro, para luego incorporar en la vacuna y evaluar la eficacia y seguridad de la nueva formulación. Además nos proponemos diseñar un protocolo industrial de purificación de antígenos nativos que puedan ser incorporados a la vacuna para potenciar su actividad protectora.

Dado que Laboratorios Santa Elena no cuenta con la infraestructura ni el know-how para la producción de proteínas recombinantes, la alianza con el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias y el Departamento de Desarrollo de Biotecnológicos de Laboratorios Celsius S.A. le permitirá racionalizar el diseño, síntesis y escalado de la producción del antígeno recombinante. El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias posee una amplia experiencia en el diseño y expresión de proteínas recombinantes a escala de laboratorio, y el Departamento de Desarrollo de Biotecnológicos de Celsius cuenta con la

# Especificación de la Alianza



infraestructura y el conocimiento que permitirán el escalado de la producción de la(s) proteína(s) recombinante(s) seleccionadas. La validación del producto desarrollado, el diseño y las etapas experimentales de evaluación de la potencia y seguridad de la vacuna la llevará adelante Laboratorios Santa Elena, en su campo experimental Macondo (Florida), manteniendo un feedback continuo con los otros actores para optimizar cantidades de antígenos a incorporar, pureza de la preparación, etc. Cabe mencionar que SESA integra el Registro Nacional de Instituciones avaladas ante la Comisión Nacional de Experimentación Animal. La vasta trayectoria de Santa Elena en el desarrollo y comercialización de vacunas de uso veterinario, así como su liderazgo en el mercado nacional de biológicos, constituyen el impulso para emprender el camino de la producción de biotecnológicos de aplicación veterinaria.

## Antecedentes del Equipo de Trabajo

En esta sección se describen con mayor profundidad los antecedentes de los 3 integrantes de esta Alianza, tanto lo relacionado con áreas de trabajo y proyectos técnicos, como los aspectos formales solicitados por el Comité de Seguimiento y Evaluación de Articulación.

Laboratorios Celsius es una empresa de capital enteramente uruguayo, que se dedica a la fabricación y comercialización de especialidades farmacéuticas y cosmeceúticas. Actualmente ocupa el tercer lugar en el mercado uruguayo, siendo el principal laboratorio de capital nacional. Cuenta también con un área de innovación dedicada al desarrollo y producción de kits de diagnóstico y productos biotecnológicos, el cual mantiene un sólido relacionamiento con la academia para el desarrollo de proyectos innovadores, varios de los cuales han recibido financiación a partir de fondos concursables nacionales (PDT, ANII, etc). Entre los resultados de esta área destacan la habilitación por el Ministerio de Salud Pública (MSP), en 2010,

de su planta de producción de sistemas de inmunodiagnóstico para enfermedades de alto impacto, en la que se han desarrollado varios productos de comercialización internacional, lográndose una patente de invención mundial. Asimismo, es relevante la formación y capacitación de un equipo de trabajo abocado al desarrollo y escalado de productos biotecnológicos, que desde el año 2007 tiene como objetivo producir proteínas recombinantes de uso industrial. Este grupo ha puesto a punto varios procesos y técnicas que implican la expresión, purificación, caracterización fisicoquímica y determinación de la actividad biológica de proteínas recombinantes de uso biofarmacéutico, así como también proteínas de uso en diagnóstico. En el año 2013 Laboratorios Celsius invirtió en la instalación de una planta de 300m<sup>2</sup>, en la cual se desarrollarán y producirán bajo certificación GMP proteínas recombinantes, kits de diagnóstico molecular e inmunodiagnóstico con aplicación en salud humana y animal. Esta nueva planta ha sido habilitada por el MSP y certificada según la norma ISO 13485 (Medical devices. Quality management systems). También está en vías de certificación en Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Médicos por parte del MSP. Estos antecedentes, únicos en el país, lo posicionan como un laboratorio de referencia para el desarrollo de proteínas recombinantes que contemplen estándares de calidad adecuados para su uso industrial. La realización del presente proyecto optimizará la utilización de la capacidad de producción instalada, así como capitalizará el conocimiento disponible a nivel nacional de desarrollo, escalado y producción de proteínas recombinantes.

Santa Elena fue fundada en Noviembre de 1957, por técnicos y empresarios nacionales, con el objetivo de elaborar y vender productos veterinarios. Laboratorios Santa Elena es una empresa líder nacional en innovación biotecnológica aplicada a la salud animal, reconocida en la región por el valor técnico en la propuesta de sus productos. Este hecho hace que sea proveedora de las vacunas veterinarias de mayor complejidad donde se requiere combinar antígenos bacterianos, virales y



# Especificación de la Alianza



toxoides en formulaciones que estimulen el sistema inmune tanto por la vía humoral como celular. Por otra parte, sus estrechos vínculos con las áreas académicas le permiten conocer la situación epidemiológica y las herramientas de última generación para el diagnóstico y control de las enfermedades. Los elementos inmunógenos que se seleccionan para la formulación de sus productos son los apropiados para los mercados regionales constituyendo un diferencial fundamental a la hora de comparar con los productos de competencia generados en otros países.

En el año 2010 Santa Elena fue reconocida y seleccionada por el importante Laboratorio francés VIRBAC, que con fecha 5 de enero de 2010 compró el 30% de sus acciones, con el objetivo de lograr una estrategia proactiva y beneficiosa para ambas partes. Con fecha 12 de setiembre de 2013, VIRBAC adquirió otro 69.175% del paquete accionario, transformándose en el accionista mayoritario con un 99.175% de participación. VIRBAC fue fundada en 1968 por un veterinario francés y a partir de 1985 cotiza en la bolsa de París. Ocupa el primer lugar mundial como laboratorio dedicado exclusivamente a la salud animal. Presente en más de 100 países, el grupo ofrece una gama completa de productos y servicios para veterinarios, criadores y dueños de mascotas. VIRBAC tiene una historia que lo vincula fundamentalmente al mercado de animales de compañía y se proyecta crecer en grandes animales. En ese marco surge la adquisición de Santa Elena, que se pretende convertir en la base mundial para la elaboración de productos para grandes animales. Esta situación es propicia para que los productos de Santa Elena sean exportados en el futuro a mercados del exterior a través de la red comercial de VIRBAC. Esto permitirá dar una proyección internacional a los productos desarrollados durante el proyecto.

En base a lo expresado anteriormente, Laboratorios Celsius y Laboratorios Santa

Elena se han aliado para desarrollar y poner en el mercado productos biotecnológicos innovadores de aplicación en salud animal. De un análisis de los productos que Santa Elena ha desarrollado a lo largo de su historia, se ve una marcada focalización en vacunas para el ganado bovino. Esto nos ha enfocado en la generación de vacunas e inmunostimulantes basados en tecnología del ADN recombinante para enfermedades bovinas de alto impacto para el sector agropecuario. Estos productos de tercera generación lograrían una alta eficacia protectora con una estimulación específica, evitando potenciales reacciones adversas. Este desafío nos ha impulsado a trabajar en conjunto para lograr el objetivo, buscando generar a nivel nacional un grupo de trabajo en biotecnología de aplicación veterinaria.

Esta propuesta toma en cuenta el fundamental apoyo de la Sección Bioquímica de la Facultad de Ciencias, la que trabajará en alianza con ambas empresas aportando su experiencia académica en el diseño y la evaluación de los antígenos recombinantes. La Sección Bioquímica de la Facultad de Ciencias, dirigida por la Dra. Mónica Marín, tiene una larga trayectoria en el análisis de la expresión génica, la síntesis in vivo de proteínas y la caracterización de ácidos nucleicos y proteínas. Asimismo, en esta sección se han producido numerosas proteínas recombinantes a escala de laboratorio, empleando diferentes sistemas de expresión, fundamentalmente *Escherichia coli* y *Pichia pastoris*, con diferentes aplicaciones en investigación básica y aplicada. La identificación, cuantificación y el análisis funcional de proteínas forman parte de los métodos utilizados habitualmente en este laboratorio. Los resultados de estos trabajos han sido publicados en varias revistas internacionales arbitradas.

Las bases de la presente propuesta, y sus antecedentes más directos, surgen de una colaboración iniciada en el año 2012, entre Laboratorios Santa Elena,

**Desarrollo de una nueva generación de vacunas contra la neumonía bovina mediante la adició... (ALI\_2\_2013\_1\_4783)**

# Especificación de la Alianza



Laboratorios Celsius y el laboratorio de la Dra. Mónica Marin, con el objetivo de detectar y cuantificar Leucotoxina en los sobrenadantes de los cultivos de *M. haemolytica* empleados por Santa Elena para la elaboración de las vacunas. En este sentido, actualmente se está llevando adelante el proyecto "Cuantificación y caracterización de Leucotoxina (LKT) en cultivos de *Mannheimia haemolytica*" financiado por Santa Elena, y apoyado técnicamente por el grupo de Desarrollo de Biotecnológicos de Laboratorios Celsius.

*Handwritten signatures or initials, possibly 'LB'.*

# Especificación del Proyecto



## Análisis de la situación actual

El Complejo de Enfermedades Respiratorias Bovinas o neumonías, es una de las principales causas de enfermedad y muerte en terneros durante las primeras semanas de vida y en la primera etapa de la recría. Son causadas por una variedad de factores, que en determinadas condiciones propician la colonización microbiana del pulmón y causan dificultad respiratoria grave, provocando elevada morbo-mortalidad del ganado con las consecuentes pérdidas en la producción. Los animales enfermos manifiestan depresión, fiebre, lomo arqueado, tos, dificultad respiratoria, arrojamiento nasal, babeo, lagrimeo y en casos severos se produce la muerte. La fiebre del transporte es una variante de este complejo que puede presentarse en animales de cualquier edad sometidos a viajes, arreos o movimientos con alto nivel de estrés (Snowder et al. 2006).

El origen de las neumonías es variado y se han identificado un gran número de agentes bacterianos y virales asociados a estos complejos respiratorios en forma individual o conjunta. Entre ellos, se encuentran con frecuencia las bacterias *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus* y *Mycoplasma sp.*, junto con los virus Parainfluenza-3 (PI-3), Herpes virus bovino (HVB-1); virus de la Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBRV), virus Respiratorio Sincitial bovino (BRSV) y virus de la Diarrea Bovina (BDV). Los virus son considerados agentes primarios que predisponen y/o facilitan la infección de otros agentes infecciosos, como las bacterias, que luego actúan como agentes secundarios exacerbando los síntomas clínicos. Los síntomas de la enfermedad son semejantes en cada caso, independientemente del agente que esté actuando. Por eso es importante lograr identificar él o los agentes etiológicos mediante técnicas diagnósticas, para poder emplear el tratamiento con antibióticos adecuados (Singh et al. 2011).

*Mannheimia haemolytica* es reconocida como el principal agente etiológico de esta

enfermedad, e independientemente del factor causal, su presencia está asociada a complicaciones y agravamiento de la enfermedad (Zecchinon et al. 2005). La bacteria pertenece a la flora bacteriana usual del ganado sano, pero frente a diversas fuentes de estrés tales como el destete, el descornado, el hacinamiento y estrés del transporte, las fluctuaciones de temperatura y la co-infección por parte de otros agentes virales o bacterianos, se promueve la virulencia de la bacteria de la región nasofaríngea, que al ser inhalada pasa a los alveolos pulmonares provocando una infección pulmonar y los síntomas típicos de la neumonía (Narayanan et al. 2002). El transporte es un importante factor que predispone a la enfermedad, motivo por el que a la Mannheimiosis es conocida también como shipping fever o "fiebre del transporte". La enfermedad respiratoria es también particularmente importante en los sistemas de engorde intensivo del tipo feedlot (Duff G. et al 2007).

A pesar de que actualmente se cuenta con un mayor conocimiento y mejor entendimiento de la BRD y sus agentes causales, la misma continúa causando pérdidas económicas sustanciales. Las vacunas han sido utilizadas como medida profiláctica durante muchas décadas (Rice et al 2007). Existe en el mercado una variedad de vacunas para prevenir las neumonías que tienen en su composición agentes bacterianos, virales (IBR, DVB y PI-3) o la combinación de ambos. Es de suma importancia vacunar a los animales antes del ingreso a los sistemas de producción intensivos (feedlot, recrias, invernada) y previo a situaciones de estrés (destete, ingreso a recría, transporte, exposiciones, ferias), siendo éstos los momentos de mayor vulnerabilidad y predisposición a contraer la enfermedad. Las vacunas disponibles actualmente en el mercado muestran protección parcial en el entorno de 50-70% frente a la infección (Rice et al 2007, Guzmán-Brambila et al. 2012). Las bacterinas tradicionales no han demostrado consistentemente conferir protección y muchas veces su uso intensificó la enfermedad en animales vacunados. Vacunas más modernas emplean el sobrenadante del medio de cultivo

# Especificación del Proyecto



de *M. haemolytica* (el cual contiene antígenos solubles) o extractos bacterianos, tanto solos como en combinación con bacterinas. Además se ha reportado resistencia a antibióticos en varias cepas de *M. haemolytica* (Kehrenberg et al. 2001), a la vez que se han identificado virus emergentes o re-emergentes, y nuevas cepas bacterianas virulentas (Fulton 2009). Esto hace necesario el desarrollo de nuevas vacunas que sean más eficientes y seguras en la prevención de la enfermedad.

Laboratorios Santa Elena S.A. cuenta con vacunas de la línea Neumosán, contra el complejo BRD, formuladas en base a cultivos inactivados de los principales agentes causantes de neumonía, las bacterias *Mannhaemia haemolytica* y *Pasteurella multocida*, junto con *E. coli* K99 y *Salmonella dublin*, causantes de diarrea en bovinos. Algunas presentaciones tienen además virus inactivados de PI-3, HVB-1 y 5, IBRV y/o BRSV, causantes de síndromes respiratorios o diarreas a los animales que predisponen o agravan los síntomas de la neumonía ([http://www.santaelena.com.uy/catproductos\\_4\\_1.html](http://www.santaelena.com.uy/catproductos_4_1.html)).

Con la intención de incrementar el efecto protector de estas vacunas frente al desarrollo de estas enfermedades, así como disminuir los síntomas clínicos y el daño pulmonar asociado a la infección bacteriana, se han realizado estudios para identificar los principales factores de virulencia que presenta *Mannhaemia haemolytica*. Estos incluyen, la Leucotoxina (LKT), neuraminidasa, lipopolisacárido, polisacárido capsular y proteínas de la membrana externa reguladas por hierro (OMPs), entre otras.

La LKT es una toxina secretada por la bacteria en fase de crecimiento exponencial, que a altas concentraciones provoca la lisis de los leucocitos bovinos, y a bajas concentraciones la activación de neutrófilos, la liberación de citoquinas proinflamatorias y la disminución de la linfoblastogénesis (Confer 1997). La patente que describe el clonado de la LKT de *M. haemolytica* así como su secuencia tiene fecha de prioridad del 26/11/1986 (US 5055400).

Se la considera el principal factor de virulencia de la bacteria y por tanto es el más estudiado. En este sentido se han formulado vacunas con LKT nativa parcialmente purificada, o LKT recombinante sola o asociada a extractos o sobrenadantes de cultivos de *Mannhaemia haemolytica*, así como en combinación con otros factores de virulencia como las OMPs (Conlon et al. 1991, Confer et al. 1997, 2003, 2006, 2009, Guzmán-Brambila et al. 2012). De estos trabajos se desprende que si bien LKT y/o la proteína de superficie PIPe (*Pasteurella lipoprotein E*) no inducen por sí solas protección frente a la infección por *M. haemolytica*, al ser incorporadas en una vacuna junto con un cultivo inactivado o el sobrenadante del cultivo, generan mayores niveles de protección que la vacuna que contiene únicamente el cultivo bacteriano (Conlon et al. 1991, Confer et al. 2003, 2009).

Recientemente ha salido al mercado la primer vacuna contra las enfermedades respiratorias bovinas que contiene la LKT recombinante, en combinación con OMPs parcialmente purificadas (Nuplura PH, Novartis, [http://www.nuylura.com/PDF/NUYLURA\\_PH\\_Catalog\\_Sheet.pdf](http://www.nuylura.com/PDF/NUYLURA_PH_Catalog_Sheet.pdf)). Esta vacuna tiene la ventaja de que no incluye células, lo que disminuye los riesgos de toxicidad y niveles de endotoxinas, además de contener cantidades consistentes de LKT en cada dosis, volviéndola más homogénea lote a lote. Este antecedente y el resto de los datos planteados, sustentan el análisis de la viabilidad técnica y comercial de desarrollar una vacuna con estas características, constituyendo la primera experiencia nacional de incorporación de un antígeno recombinante en una vacuna de uso en sanidad animal.

## Referencias

- Confer AW, Clinkenbeard KD, Gatewood DM, Driskel BA, Montelongo M. Serum antibody responses of cattle vaccinated with partially purified native *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. *Vaccine* 1997; 15(12-13):1423-9.
- Confer AW, Ayalew S, Panciera RJ, Montelongo M, Whitworth LC, Hammer JD.

# Especificación del Proyecto



Immunogenicity of recombinant *Mannheimia haemolytica* serotype 1 outer membrane protein PlpE and augmentation of a commercial vaccine. *Vaccine* 2003; 21(21-22):2821-9.

Confer AW, Ayalew S, Panciera RJ, Montelongo M, Wray JH. Recombinant *Mannheimia haemolytica* serotype 1 outer membrane protein PlpE enhances commercial *M. haemolytica* vaccine-induced resistance against serotype 6 challenge. *Vaccine* 2006; 24(13):2248-55.

Confer AW, Ayalew S, Montelongo M, Step DL, Wray JH, Hansen RD, Panciera RJ. Immunity of cattle following vaccination with a *Mannheimia haemolytica* chimeric PlpE-LKT (SAC89) protein. *Vaccine* 2009; 27 (11), 1771-1776.

Conlon JA, Shewen PE, Lo RY. Efficacy of recombinant leukotoxin in protection against pneumonic challenge with live *Pasteurella haemolytica* A1. *Infect Immun* 1991; 59: 587-591.

Duff GC, Galylean ML. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J Anim Sci* 2007; 85: 823-840.

Guzmán-Brambila C, Quintero-Fabián S, González-Castillo C, Fernández del Valle B, Flores-Samaniego B, de la Mora G, Rojas-Mayorquín AE, Ortuño-Sahagún D. LKTA and PlpE small fragments fusion protein protect against *Mannheimia haemolytica* challenge. *Res Vet Sci.* 2012; 93(3):1293-300.

Kehrenberg C, Salmon SA, Watts JL, Schwarz S J. Tetracycline resistance genes in isolates of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida* and *Mannheimia varigena* from bovine and swine respiratory disease: intergeneric spread of the tet(H) plasmid pMHT1. *Antimicrob hemother* 2001; 48(5):631-40.

Narayanan SK, Nagaraja TG, Chengappa MM, Stewart GC. Leukotoxins of gram-negative bacteria. *Vet Microbiol* 2002; 84: 337-356.

Rice JA, Carrasco-Medina L, Hodgins DC, Shewen PE. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews* 2007; 8: 117-128.

Robert W. Fulton. Bovine respiratory disease research (1983?2009). *Anim Health*

*Res Rev* 2009; 10(2); 131-139.

Snowder GD, Van Vleck LD, Cundiff LV, Bennett GL. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic *J ANIM SCI* 2006; 84:1999-2008.

Singh K, Ritchey JW, Confer AW. *Mannheimia haemolytica*: bacterial-host interactions in bovine pneumonia. *Vet Pathol.* 2011; 48(2):338-48

US 5055400 (A). Leukotoxine gene of *pasteurella haemolytica*. Inventor(s): Lo R., Schewen P., Strathdee C. 26/11/1986.

Zecchinon L, Fett T, Desmecht D. How *Mannheimia haemolytica* defeats host defense through a kiss of death mechanism. *Veterinary Research* 2005; 36: 133-156.

# Descripción del Proyecto



## Descripción del Proyecto de Innovación

El análisis de la situación actual y los antecedentes del grupo de trabajo que constituye la alianza, nos indican que es factible desarrollar y comercializar una vacuna que incorpore materia prima biotecnológica, lo que constituirá el primer antecedente nacional de utilización de una proteína recombinante en una vacuna de uso veterinario. Los principales desafíos de la innovación planteada están dados por lograr el nivel de protección esperado en bovinos, a un costo razonable para su uso en grandes volúmenes de producción. Esto será estudiado y priorizado desde un primer momento para lograr la aplicación industrial a gran escala del producto desarrollado.

Este desarrollo implica una apertura a nuevas tecnologías al servicio de la producción y control de calidad de biotecnológicos de uso sanitario. Esto constituye un hito, no sólo en Santa Elena y Celsius, sino para Uruguay, ya que se desarrollarán y estandarizan nuevos procesos de producción y control de calidad, que cumplan con la normativa Code of Federal Regulations, FDA.

Con respecto a las estrategias de protección industrial a aplicar, tenemos prevista una consultoría en propiedad intelectual, para asesorarnos tanto sobre los aspectos relacionados con la libertad de operación como sobre las potenciales estrategias de patentamiento. En principio, de la revisión actual surge que el producto génico y la secuencia se encuentran patentados con fecha de prioridad del año 1986. El tiempo transcurrido desde la presentación de esta patente apoyaría nuestra libertad de acción para trabajar en el tema. De nuestro análisis preliminar, el producto a desarrollar no constituiría, en principio, una innovación de carácter global. Sin embargo, constituye una innovación a nivel de las empresas participantes, de las empresas del sector, a nivel nacional y también regional. No se descarta que el proceso de fabricación pueda ser sujeto de estrategias de protección intelectual. Como base de esta alianza se acordará que la propiedad intelectual de los

productos generados durante el proyecto se protegerá por la vía del secreto industrial.

El valor del conocimiento generado durante este desarrollo, sus estrategias de patentamiento y sus posibles transferencias, estarán regulados por los acuerdos que las empresas firmarán, en los que se pautarán expresamente los criterios de confidencialidad, licenciamiento y exclusividad.

# Objetivos



## Objetivo general

Con el propósito de mejorar la eficiencia y la competitividad de las vacunas actualmente comercializadas por Laboratorios Santa Elena, el objetivo general de este proyecto es desarrollar una nueva línea de vacunas Neumosan contra el Complejo de Enfermedades Respiratorias Bovinas. Se propone el desarrollo de vacunas que contengan la Leucotoxina (LKT) recombinante, o fragmentos de la LKT, sin excluir la incorporación de otros antígenos con el fin de mejorar la protección alcanzada.

# Objetivos



## Objetivos Específicos

### Nro. Descripción Objetivo

- 1 Diseño y clonado de la LKT de M.haemolytica en un vector adecuado para la expresión en E.coli.
- 2 Escalado del protocolo de producción recombinante de la LKT.
- 3 Puesta a punto de un ensayo in vitro para cuantificar la LKT.
- 4 Puesta a punto de un protocolo de extracción de proteínas de superficie
- 5 Obtención de anticuerpos específicos
- 6 Puesta a punto de las técnicas para evaluación de la respuesta inmunológica
- 7 Evaluación de nueva(s) formulación(es)

*Handwritten signature/initials*



# Metodología



Se realizará una revisión general de la bibliografía técnica y las patentes relacionadas con la producción de proteínas recombinantes de Mannheimia haemolytica y con la purificación de proteínas a partir de cultivos de esta bacteria, para su incorporación en vacunas veterinarias. Esto se complementará con un asesoramiento de consultores nacionales y/o internacionales de patentes para definir libertad de operación y posibles estrategias de patentamiento.

La proteína recombinante o fragmento a incorporar a la formulación de las vacunas se producirá en E. coli. Para la expresión se seleccionarán regiones de la LKT descritas como altamente inmunogénicas, o eventualmente la proteína completa. Se utilizarán herramientas informáticas de predicción de solubilidad e inmunogenicidad para el diseño de los fragmentos a expresar. Se empleará un vector que permita sintetizar la proteína conjugada a una cola de afinidad para facilitar la purificación. Se optimizarán las condiciones de cultivo e inducción para maximizar los niveles de expresión de las proteínas solubles, así como los protocolos de purificación para garantizar altos rendimientos sin comprometer la pureza de la proteína obtenida. Con la LKT recombinante purificada se inmunizarán conejos para obtener sueros inmunes que se utilizarán en las siguientes etapas del proyecto.

Se evaluarán diferentes protocolos para el enriquecimiento o purificación de proteínas de superficie de M. haemolytica basados en la extracción de proteínas de membrana con detergentes o agentes caotrópicos a partir de células intactas y/o de células lisadas (químicamente o con disruptor). Se caracterizarán los extractos de proteínas de superficie por medio de electroforesis y espectrometría de masas. La inmunogenicidad de las proteínas obtenidas se evaluará mediante western blot con sueros de bovinos con enfermedad respiratoria, o vacunados con alguna de las preparaciones que actualmente comercializa Santa Elena.

Se pondrá a punto un ensayo in vitro para cuantificar la Leucotoxina. Este podrá consistir en un ELISA de captura o en un ensayo de determinación de la actividad leucotóxica. Para la puesta a punto de estos ensayos se debe contar con un control positivo, como por ejemplo la Leucotoxina nativa purificada o la LKT recombinante.

Se diseñarán distintas formulaciones (con los antígenos recombinantes producidos, solos o en combinación con extractos de M. haemolytica enriquecidos en antígenos de superficie) con las que se inmunizarán animales de experimentación. Se evaluará la respuesta de anticuerpos generada mediante la técnica de ELISA. En base a los resultados obtenidos se seleccionará la formulación que muestre los mejores resultados.

# Resultados Esperados



Productos y/o Resultados esperados	Indicador verificable de cumplimiento	Medio de Verificación	Objetivo específico asociado
1 Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión	Contar con al menos 1 clon de la LKT con secuencia verificada.	Compras. Informes de desarrollo. Resultados de secuenciación	Diseño y clonado de la LKT de M.haemolytica en un vector adecuado para la expresión en E.coli.
2 Protocolo de producción industrial de la LKT recombinante	Número de lotes producidos	Ordenes de fabricación. Registros de producción	Escalado del protocolo de producción recombinante de la LKT.
3 Ensayo de cuantificación de la Leucotoxina	Número de lotes analizados	Informes de desarrollo. Registros de ensayos	Puesta a punto de un ensayo in vitro para cuantificar la LKT.
4 Proteínas candidatas de superficie identificadas.	Número de proteínas identificadas.	Informes de desarrollo. Resultados de análisis.	Puesta a punto de un protocolo de extracción de proteínas de superficie
5 Anticuerpos específicos purificados	Por lo menos 1 anticuerpo específico producido y purificado.	Informes de desarrollo.	Obtención de anticuerpos específicos
6 Técnicas para la evaluación de la respuesta inmune	Número de muestras analizadas.	Informes de análisis.	Puesta a punto de las técnicas para evaluación de la respuesta inmunológica
7 Nuevas formulaciones desarrolladas y evaluadas	Número de formulaciones ensayadas.	Informes de análisis. Reportes.	Evaluación de nueva(s) formulación(es)
8 Formulación seleccionada.	Al menos 1 nueva formulación seleccionada.	Informe de análisis. Reportes.	Evaluación de nueva(s) formulación(es)

# Hitos del Proyecto



Nro. Hito	Mes del Cumplimiento del Hito	Productos y/o Resultados Esperados Asociados
1	6	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión
2	12	Protocolo de producción industrial de la LKT recombinante, Ensayo de cuantificación de la Leucotoxina, Proteínas candidatas de superficie identificadas.
3	18	Anticuerpos específicos purificados, Técnicas para la evaluación de la respuesta inmune
4	24	Nuevas formulaciones desarrolladas y evaluadas, Formulación seleccionada.

# Plan de Trabajo



## Cronograma de ejecución de actividades mensuales: Año 1

Nro.	Actividad	Producto y/o resultado esperado asociado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Responsable por la Actividad
1	Revisión de la bibliografía y las patentes asociadas	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión	x	x											Paula Tucci
2	Consulta a expertos en patentes nacionales y/o internacionales	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión	x	x											Eduardo Reolon
3	Compra de insumos	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión		x	x										Paula Tucci
4	Selección y obtención del vector y cepa de expresión	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión			x	x									Paula Tucci
5	Selección y obtención de la secuencia génica a expresar	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión			x	x									Paula Tucci
6	Clonado y confirmación de la secuencia	Leukotoxina recombinante clonada en vector de expresión					x	x							Paula Tucci
7	Optimización de la producción de la proteína recombinante purificada a partir de extractos de E.coli	Protocolo de producción industrial de la LKT recombinante							x	x					Paula Tucci

*Handwritten signatures and initials:*  
 [Signature] [Initials]

# Plan de Trabajo



## Cronograma de ejecución de actividades mensuales: Año 1

Nro.	Actividad	Producto y/o resultado esperado asociado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Responsable por la Actividad
8	Escalado de la producción	Protocolo de producción industrial de la LKT recombinante								x	x	x	x	x	Paula Tucci
9	Puesta a punto del ensayo con controles positivos y negativos	Ensayo de cuantificación de la Leucotoxina							x	x	x				Paula Tucci - Mónica Marin
10	Análisis de diferentes muestras: sobrenadantes de cultivo, LKT recombinante, etc.	Ensayo de cuantificación de la Leucotoxina										x	x	x	Paula Tucci - Mónica Marin
11	Definición de la metodología a aplicar para obtener proteínas relevantes en la inmunidad protectora a partir de cultivos de M. haemolytica	Proteínas candidatas de superficie identificadas.			x	x									Monica Marin
12	Caracterización de las proteína presentes y evaluación de su inmunogenicidad	Proteínas candidatas de superficie identificadas.					x	x	x						Monica Marin
13	Evaluación de la escalabilidad del proceso de purificación de proteínas de superficie	Proteínas candidatas de superficie identificadas.							x	x	x	x	x	x	Eduardo Reolon

# Plan de Trabajo



## Cronograma de ejecución de actividades mensuales: Año 1

Nro.	Actividad	Producto y/o resultado esperado asociado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Responsable por la Actividad
14	Inmunización de conejos con la proteína recombinante purificada, para obtener sueros inmunes	Anticuerpos específicos purificados												x	Eduardo Reolon

*[Handwritten signatures]*

# Plan de Trabajo



## Cronograma de ejecución de actividades mensuales: Año 2

Nro.	Actividad	Producto y/o resultado esperado asociado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Responsable por la Actividad
14	Inmunización de conejos con la proteína recombinante purificada, para obtener sueros inmunes	Anticuerpos específicos purificados	x	x	x										Eduardo Reolon
15	Purificación y evaluación de los anticuerpos	Anticuerpos específicos purificados			x	x	x								Paula Tucci
16	Puesta a punto de ELISA para cuantificar la respuesta inmune	Técnicas para la evaluación de la respuesta inmune	x	x	x										Paula Tucci - Monica Marin
17	Cuantificación de los títulos de anticuerpos generados en los animales inmunizados con los antígenos seleccionados	Técnicas para la evaluación de la respuesta inmune				x	x	x							Paula Tucci - Monica Marin
18	Desarrollo de vacunas experimentales basadas en la LKT recombinante y/o los extractos de proteínas de superficie	Nuevas formulaciones desarrolladas y evaluadas							x	x					Paula Tucci
19	Inmunización de animales	Nuevas formulaciones desarrolladas y evaluadas								x	x	x			Eduardo Reolon
20	Evaluación del a respuesta inmunológica de los animales inmunizados	Nuevas formulaciones desarrolladas y evaluadas										x	x		Paula Tucci

# Plan de Trabajo



## Cronograma de ejecución de actividades mensuales: Año 2

Nro.	Actividad	Producto y/o resultado esperado asociado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Responsable por la Actividad
21	Selección de la vacuna experimental que muestre los mejores resultados	Formulación seleccionada.											x	x	Eduardo Reolon



# Recursos Humanos



**Técnico a contratar: Licenciado en Bioquímica, Biología, Consultor a contratar: Consultor en estadística o formación similar**

**Dedicación al proyecto (Hs. por semana): 30**

**Descripción de las tareas a desarrollar en el proyecto:** Participación en el diseño y realización de las actividades experimentales relacionadas la producción y purificación de leucotoxina recombinante y evaluación de la respuesta inmune.

Análisis de los resultados obtenidos.

Elaboración de informes.

El técnico trabajará en Laboratorios Celsius, bajo la supervisión de Paula Tucci, y en coordinación con investigadores de Facultad de Ciencias.

**Dedicación al proyecto (Hs. por semana): 12**

**Descripción de las tareas a desarrollar en el proyecto:** Análisis de los resultados estadísticos relacionados con las pruebas en animales.

# Recursos Humanos



## Investigador: Cabrera, Florencia

**Documento:** C.Identidad 3867019-6

**País de residencia:** Uruguay

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** Montevideo

**Dirección particular:** Igua 4225

**Código postal:** 11400

**Teléfono:** 25252095

**Correo electrónico:** florenciacabreracabrera@gmail.com

## Lugar donde trabaja

**Tipo de institución:** Pública

**País de la Institución:** Uruguay

**Institución:** Universidad de la República

**Institución nivel 2:** Facultad de Ciencias - UDeLaR

**Institución nivel 3:** Sección Bioquímica

**Cargo actual:** Ayudante (Grado 1)

**Carga horaria del trabajo (Semanal):** 35

**Dedicación horaria al Proyecto (Hs. Semanales):** 35

**Descripción de las tareas a desarrollar en el Proyecto:** Participación en el diseño y realización de las actividades experimentales relacionadas con el análisis y purificación de proteínas nativas, control de calidad de

## Co-Responsable Técnico-Científico: Marin, Monica

**Documento:** C.Identidad 1398076-8

**País de residencia:** Uruguay

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** MONTEVIDEO

**Dirección particular:** Igua 4225

**Código postal:** 11400

**Teléfono:** 25222095

**Correo electrónico:** marin@fcien.edu.uy

## Lugar donde trabaja

**Tipo de institución:** Pública

**País de la Institución:** Uruguay

**Institución:** Universidad de la República

**Institución nivel 2:** Facultad de Ciencias - UDeLaR

**Institución nivel 3:** Sección Bioquímica

**Cargo actual:** Profesor Agregado de Bioquímica

**Carga horaria del trabajo (Semanal):** 40

**Dedicación horaria al Proyecto (Hs. Semanales):** 4

**Descripción de las tareas a desarrollar en el Proyecto:** Participación en el diseño de actividades experimentales, asesoramiento, seguimiento y evaluación de los resultados del proyecto.

# Recursos Humanos



leucotoxina y evaluación de la respuesta inmune.  
Análisis de los resultados obtenidos.  
Elaboración de informes.  
Trabaja en Facultad de Ciencias, bajo la supervisión de Mónica Marin, y en coordinación con RR.HH. de Laboratorios Celsius.

Seguimiento y planificación de las actividades a realizar por personal técnico asignado de Facultad de Ciencias.  
Participación en reuniones de seguimiento técnico, junto a las otras instituciones participantes.

# Recursos Humanos



## Co-Responsable Técnico-Científico: Reolon, Eduardo

**Documento:** C.Identidad 2018156-7

**País de residencia:** Uruguay

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** MONTEVIDEO

**Dirección particular:** Avda. Millán 4175

**Código postal:** 12900

**Teléfono:** 23075757

**Correo electrónico:** reolon@santaelena.com.uy

### Lugar donde trabaja

**Tipo de institución:** Privada

**Institución:** Laboratorios Santa Elena

**RUT:** 210121720012

**Cargo actual:** Gerente de Innovación y Desarrollo

**Carga horaria del trabajo (Semanal):** 45

**Dedicación horaria al Proyecto (Hs. Semanales):** 4

**Descripción de las tareas a desarrollar en el Proyecto:** Coordinación técnica de los trabajos y evaluaciones a realizar en Laboratorios Santa Elena.

Participación en reuniones de seguimiento técnico con el resto de las instituciones participantes.

Coordinación entre las instituciones y los distintos grupos de trabajo.

## Responsable por la Ejecución: Tucci, Paula

**Documento:** C.Identidad 2604227-8

**País de residencia:** Uruguay

**Departamento:** Montevideo

**Ciudad:** MONTEVIDEO

**Dirección particular:** Nancy 4315

**Código postal:** 11400

**Teléfono:** 26006001

**Correo electrónico:** paula.tucci@celsius.com.uy

### Lugar donde trabaja

**Tipo de institución:** Privada

**Institución:** Laboratorios Celsius

**RUT:** 210345980018

**Cargo actual:** Jefe de Desarrollo de Biotecnología

**Carga horaria del trabajo (Semanal):** 30

**Dedicación horaria al Proyecto (Hs. Semanales):** 12

**Descripción de las tareas a desarrollar en el Proyecto:** Participación en el diseño de actividades experimentales, seguimiento y evaluación de los resultados del proyecto.

Coordinación y ejecución de las actividades técnicas relacionadas con la producción, purificación y control de calidad de proteínas (nativas y recombinantes).

# Recursos Humanos



Participación en reuniones de seguimiento técnico con el resto de las instituciones participantes.

Dirección y seguimiento de las actividades del personal técnico asignado al proyecto, contratado por Laboratorios Celsius.

Responsable ante la ANII del seguimiento técnico y administrativo del proyecto

# Recursos Humanos



## Otros recursos

Instalaciones de Laboratorios Santa Elena S.A.:

Está dotada del más moderno equipamiento industrial dedicado a la producción de cultivos bacterianos, respaldados con calidad GMP. Cuenta con un campo experimental a 130 Km. de la planta central (Agropecuaria Macondo, paraje Talita, Florida) de 850 hectáreas, en el cual se realizan los controles de inocuidad y eficacia de sus productos en todas las especies de interés (ovino, bovino, equino). Santa Elena cuenta con un departamento de I+D que se ha caracterizado por colaborar en numerosas ocasiones con contrapartes académicas para el desarrollo o mejora de sus productos o procesos. Además, con una inversión que alcanza los U\$S 500.000, Laboratorios Santa Elena concluyó recientemente la instalación de nuevos laboratorios que permiten incrementar la capacidad de investigación, desarrollo y control de calidad. Se destacan los nuevos laboratorios de biología molecular, controles biológicos in vitro, microbiología y físico-química.

Instalaciones del Laboratorio de Desarrollo de Biotecnológicos de Celsius:

Se cuenta con laboratorio de 300m<sup>2</sup> con áreas segregadas para realización de procesos de producción, purificación, formulación y control de calidad de proteínas recombinantes.

En relación al equipamiento se cuenta con Cabina de Flujo Laminar, Fermentador de 40 Litros, Disruptor celular, Centrifuga de piso refrigerada, Cromatógrafo preparativo FPLC, Cromatógrafo analítico HPLC, Sistemas de electroforesis de proteínas y ADN, Estufa de cultivo con CO<sub>2</sub>, Agitador orbital termostatzado, Microscopio óptico, Microscopio de contraste de fases, Baño termostatzado, Sistema de concentración de proteínas por ultrafiltración, Espectrofotómetro, Balanza preparativa, Balanza analítica, pH-metro, Agitadores magnéticos, Bloque calentador, Minicentrifuga, Vortex, Micropipetas de varios volúmenes y multicanal

automática, Tanques de almacenamiento de nitrógeno líquido, Freezer -80°C, Freezer vertical -20°C, Heladeras con freezer.

Sección Bioquímica Facultad de Ciencias:

Una parte principal del proyecto se llevará a cabo en las instalaciones de la Sección Bioquímica, que ocupa aproximadamente 200 metros cuadrados en el anexo norte de la Facultad de Ciencias. En esta sección contamos con el equipamiento completo para biología molecular (centrifugas, equipos para electroforesis de ácidos nucleicos, de proteínas y para documentación de los geles, termocicladores, espectrofotómetro, cámaras de flujo laminar dedicadas a microbiología, estufas, incubadoras con agitación orbital, acceso a agua de calidad MilliQ, refrigeradores y congeladores que en conjunto cubren el rango de -70 C a +4 C, áreas de lavado y preparación de material con autoclaves y estufas, etc.). Contamos con un cromatógrafo FPLC y además, tenemos acceso al equipamiento común del Instituto de Química Biológica, en particular, HPLC y Akta Express, así como lector de ELISA.

# Presupuesto - Equipamiento de Laboratorio



## Equipamiento de Laboratorio

Descripción detallada de los equipos	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Incubador orbital - Shaker. Este equipo permite la incubación termostatazada y bajo agitación de cultivos de bacterias para la producción de proteínas recombinantes.	10.000	0	10.000
Fermentador de escala piloto. Este equipo se utilizará para ajustar y optimizar las condiciones del proceso desarrollado.	35.000	0	35.000
Electrodo de pH.	600	0	600
Electrodo para el pH-metro del fermentador.	600	0	600
Espectrofotómetro de gota. Este equipo se utilizará para el control del proceso y el control de calidad de las proteínas producidas.	12.000	0	12.000
Repuestos disruptor. En Laboratorios Celsius se cuenta con un disruptor de alta presión, de calidad farmacéutica. Se prevee la compra de repuestos para dicho equipo.	2.000	0	2.000
<b>Total</b>	<b>U\$S 60.200</b>	<b>U\$S 0</b>	<b>U\$S 60.200</b>

# Presupuesto - Materiales e Insumos



## Materiales e Insumos

Descripción	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Vectores y cepas de expresión	3.000	0	3.000
Reactivos de biología molecular	4.000	0	4.000
Medios de cultivo	3.500	0	3.500
Columnas para purificación de proteínas	8.000	0	8.000
Anticuerpos	1.500	0	1.500
Reactivos generales	3.000	0	3.000
Insumos generales	6.500	0	6.500
<b>Total</b>	<b>U\$S 29.500</b>	<b>U\$S 0</b>	<b>U\$S 29.500</b>



# Presupuesto - Consultores



## Consultores

Nombre	Hs. semanales	Meses	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Consultor a contratar - Consultor en estadística	12	1	2.000	0	2.000
<b>Total</b>			<b>U\$S 2.000</b>	<b>U\$S 0</b>	<b>U\$S 2.000</b>

*Handwritten signatures and initials*

# Presupuesto - Servicios



## Servicios

Descripción del Servicio a contratar y justificación	Nombre del proveedor	Fecha Inicio	Duración (semanas)	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Caracterización de proteínas por espectrometría de masas, 2D, etc. Esto se usará para identificar proteínas en sobrenadantes de cultivo y como control de calidad en el caso de proteínas recombinantes.	Institut Pasteur Montevideo	01/09/2014	0	1.500	0	1.500
Servicios de secuenciación de ácidos nucleicos. Este servicio se contratará para confirmar la secuencia de los genes clonados.		01/10/2014	0	300	0	300
Mantenimiento preventivo - Fermentador. Este servicio se realizará para dejar en perfecto funcionamiento el equipamiento que se utilizará para la producción de las proteínas recombinantes.		n/a	0	3.500	0	3.500
Mantenimiento preventivo cromatógrafo FPLC. Este servicio se realizará para dejar en perfecto funcionamiento el equipamiento que se utilizará para la producción de las proteínas recombinantes.		n/a	0	3.000	0	3.000
Servicios generales de calificación y mantenimiento de equipos. Esto se realizará para dejar en perfecto funcionamiento el equipamiento que se utilizará para la producción y el control de calidad de las proteínas recombinantes.		n/a	0	10.000	0	10.000
Servicio de bioterio para pruebas en animales		n/a	0	7.000	0	7.000

Desarrollo de una nueva generación de vacunas contra la neumonía bovina mediante la adició... (ALI\_2\_2013\_1\_4783)

# Presupuesto - Servicios



## Servicios

Descripción del Servicio a contratar y justificación	Nombre del proveedor	Fecha Inicio	Duración (semanas)	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
<b>Total</b>				<b>U\$S 25.300</b>	<b>U\$S 0</b>	<b>U\$S 25.300</b>

# Presupuesto - Propiedad Intelectual



## Propiedad Intelectual

### Descripción

Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
300	0	300
3.000	0	3.000
<b>U\$S 3.300</b>	<b>U\$S 0</b>	<b>U\$S 3.300</b>

Revisión nacional de patentes relacionadas

Revisión internacional e informe sobre patentes relacionadas

**Total**

# Presupuesto - Personal Técnico



## Personal Técnico

Nombre	Hs. semanales	Meses	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Técnico a contratar - Licenciado en Bioquímica, Biología, o formación similar	30	24	41.987	4.912	46.899
Cabrera, Florencia	35	24	25.742	3.316	29.058
Marin, Monica	4	24	0	10.219	10.219
Reolon, Eduardo	4	24	0	9.083	9.083
Tucci, Paula	12	24	0	37.567	37.567
<b>Total</b>			<b>U\$S 67.729</b>	<b>U\$S 65.097</b>	<b>U\$S 132.826</b>

# Presupuesto - Promoción y Difusión



## Promoción y Difusión

### Descripción

Participación en congresos regionales, difusión, publicación de resultados.

### Total

Costo con  
cargo al  
Proyecto

1.800

**U\$S 1.800**

Otros  
Aportes

0

**U\$S 0**

Costo Total

1.800

**U\$S 1.800**

# Presupuesto - Otros Costos



## Otros Costos

Descripción	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
Gastos de administración Facultad de Ciencias. (No se cuantificaron los costos indirectos ni el uso de equipamiento e instalaciones en Facultad de Ciencias).	3.754	0	3.754
Amortización del equipamiento.	0	24.482	24.482
Amortización inversión planta	0	18.507	18.507
Costos indirectos ponderados: consumos, gastos comunes, etc.	0	16.273	16.273
Gastos administrativos asociados al proyecto	0	16.480	16.480
<b>Total</b>	<b>U\$S 3.754</b>	<b>U\$S 75.742</b>	<b>U\$S 79.496</b>

# Presupuesto - Imprevistos



## Imprevistos

### Descripción

Costo con  
cargo al  
Proyecto

Otros Aportes

Costo Total

Compra de materiales o insumos imprevistos, cambios en el tipo de cambio, rotura y reparación de equipamiento necesario, otros servicios analíticos no cotizados.

5.000

0

5.000

### Total

**U\$S 5.000**

**U\$S 0**

**U\$S 5.000**



# Presupuesto - Resumen de las Inversiones



Rubro	Costo con cargo al Proyecto	Otros Aportes	Costo Total
01 - Adecuación Edilicia	0,00	0,00	0,00
02 - Equipamiento de Laboratorio	U\$S 60.200	0,00	U\$S 60.200
03 - Otros Equipos	0,00	0,00	0,00
04 - Material Bibliográfico	0,00	0,00	0,00
05 - Materiales e Insumos	U\$S 29.500	0,00	U\$S 29.500
06 - Software y Licencias	0,00	0,00	0,00
07 - Consultores	U\$S 2.000	0,00	U\$S 2.000
08 - Capacitación	0,00	0,00	0,00
09 - Servicios	U\$S 25.300	0,00	U\$S 25.300
10 - Viáticos y Estadías	0,00	0,00	0,00
11 - Pasajes	0,00	0,00	0,00
12 - Protección Propiedad Intelectual	U\$S 3.300	0,00	U\$S 3.300
13 - Personal Técnico	U\$S 67.729	U\$S 65.097	U\$S 132.826
14 - Promoción y Difusión	U\$S 1.800	0,00	U\$S 1.800
15 - Otros Costos	U\$S 3.754	U\$S 75.742	U\$S 79.496
16 - Imprevistos	U\$S 5.000	0,00	U\$S 5.000
<b>Total</b>	<b>U\$S 198.583</b>	<b>U\$S 140.839</b>	<b>U\$S 339.422</b>

*[Handwritten signatures]*

# Presupuesto - Resumen de las Inversiones



## Otras fuentes de financiamiento (total o parcial) con que cuenta este proyecto

Los otros aportes de este proyecto serán financiados por las 3 instituciones participantes y incluyen los gastos en los recursos humanos propios de las instituciones, los costos de amortización del equipamiento ya instalado y de las instalaciones y los costos de funcionamiento.

Este proyecto de innovación forma parte de un Proyecto Macro del Programa de Desarrollo de Proveedores previsto en el Decreto de Promoción de la Biotecnología. Dicho proyecto fue presentado por Laboratorios Santa Elena, para el desarrollo del área biotecnológica de Laboratorios Celsius.

# Presupuesto - Cronograma de Ejecución Financiera



Rubro	Mes de cumplimiento Hito 1 (mes 6)	Mes de cumplimiento Hito 2 (mes 12)	Mes de cumplimiento Hito 3 (mes 18)	Mes de cumplimiento Hito 4 (mes 24)	Costo con cargo al Proyecto
Equipamiento Laboratorio	10.000	50.200	0	0	60.200
Materiales e Insumos	13.500	8.500	7.500	0	29.500
Personal Técnico	12.891	17.622	17.622	19.594	67.729
Consultores	0	0	0	2.000	2.000
Servicios	4.200	11.100	3.000	7.000	25.300
Protección Propiedad Intelectual	3.300	0	0	0	3.300
Otros Costos	1.475	776	716	787	3.754
Imprevistos	1.250	1.250	1.250	1.250	5.000
Promoción y Difusión	0	0	0	1.800	1.800
<b>Total</b>	<b>U\$S 46.616</b>	<b>U\$S 89.448</b>	<b>U\$S 30.088</b>	<b>U\$S 32.431</b>	<b>U\$S 198.583</b>

# Presupuesto - Impactos Esperados del Proyecto



## Impactos Esperados del Proyecto

Impacto	Indicador verificable de cumplimiento	Medio de verificación	Observaciones
Oferta de un producto de mayor valor agregado.	Eficacia de protección	Informes de resultados de los ensayos de validación	<p>La vacuna planteada ofrecerá protección contra los principales agentes respiratorios y será diseñada para que técnico y productor tengan herramientas más eficaces y específicas de prevención. Se pretende generar un beneficio real al productor, al disminuir las pérdidas económicas asociadas a la alta incidencia de estas enfermedades.</p> <p>Se medirá la eficacia de protección en el campo experimental de Santa Elena</p>
Registro y venta de una vacuna veterinaria que incorpore una materia prima biotecnológica	Registro Ventas	Dossier de registro Reporte de ventas	<p>La vacuna será comercializada por Santa Elena.</p> <p>Se prevé que esta vacuna se comience a vender en el segundo semestre del año 2017.</p>
Venta del antígeno recombinante para incorporar en la vacuna	Ventas	Reporte de ventas	El antígeno será comercializado por Laboratorios Celsius.

# Presupuesto - Impactos Esperados del Proyecto



## Impactos Esperados del Proyecto

Impacto	Indicador verificable de cumplimiento	Medio de verificación	Observaciones
Consolidación del área de biotecnológicos de Laboratorios Celsius	Recursos humanos incorporados, generación y mantenimiento de empleo.	Encuesta de actividades de innovación de Laboratorios Celsius.	<p>El desarrollo de la Leucotoxina recombinante, le permitirá a Celsius optimizar sus protocolos de producción para obtener rendimientos que permitan su uso en la formulación de vacunas según los requerimientos de producción de Santa Elena. Se ha evaluado que como consecuencia del presente proyecto, al finalizar el tercer año de ventas se producirán 150 gramos de proteína recombinante, lo que representa una escala 100 veces superior a la escala de rutina actual de producción actual del área de biotecnológicos de Laboratorios Celsius.</p> <p>Esto permitirá a Laboratorios Celsius expandir su incipiente área biotecnológica y acceder a nuevos mercados con productos de alto valor agregado, así como también consolidar un equipo de trabajo capaz de trasladar este conocimiento a futuros desarrollos biofarmacéuticos, basados en el uso de proteínas recombinantes con aplicación en salud animal y humana.</p>
Participación de jóvenes docentes en la resolución de un tema de importancia productiva	Formación de recursos humanos, generación de empleo	Tesis de grado/posgrado Recibos de sueldo.	<p>Con la ejecución de este proyecto en la Sección Bioquímica de la Facultad de Ciencias se pondrán a punto diferentes técnicas de proteómica y biología molecular, contribuyendo a la formación científica de estudiantes, a la contratación de investigadores y a la generación de antecedentes de vinculación empresa-academia.</p>

*[Handwritten signatures]*

# Presupuesto - Impactos Esperados del Proyecto



## Impacto ambiental

El Proyecto NO está comprendido en la Ley 16.466 ni en el Decreto 349/005

## Riesgos

Identificamos como principales riesgos:

1) Lograr nivel de expresión y rendimiento adecuado para uso industrial. Se trabajará en esto desde el inicio de forma conjunta por las 3 instituciones. Se deberán ensayar distintas construcciones de expresión de la proteína recombinante para lograr las condiciones óptimas de expresión y rendimiento.

2) Lograr el nivel de protección adecuado, utilizando una cantidad de proteína que implique un costo que sea factible de incorporar al producto final. Se ensayarán diferentes construcciones, protocolos de producción y purificación, así como distintas estrategias y protocolos de inmunización de los animales de experimentación.

## Estrategia de Sustentabilidad Post-Proyecto

Como se mencionó anteriormente este proyecto de innovación forma parte de un Proyecto Macro del Programa de Desarrollo de Proveedores Biotecnológicos que involucra a Santa Elena y Celsius. Este programa financiará las etapas necesarias para que el proyecto planteado continúe en las etapas siguientes de validación, registro y comercialización del producto desarrollado.

Este Programa tiene una línea de tiempo que se extiende hasta el año 2021, por lo que la vinculación entre Santa Elena y Celsius se mantendrá, así como las acciones conjuntas en relación a esta innovación y también en relación a futuros proyectos. De la misma manera se pretende que la Sección Bioquímica de Facultad de

Ciencias, así como el personal contratado por el Proyecto continúe trabajando a futuro en nuevos proyectos de innovación.

Asimismo, la obtención de buenos resultados en este proyecto de innovación garantizará la inversión por parte de las empresas participantes, ambas empresas consolidadas en su rubro, en futuros proyectos que profundicen la utilización de biotecnologías en productos de uso en salud animal o humana.

# Viabilidad Comercial y Económica del Proyecto



## Análisis de la Demanda

El producto al que está destinado el presente desarrollo estará sujeto a los mercados donde se desempeña Santa Elena, con principal foco en la exportación a los países del Hemisferio Sur. Se prevé el diseño de una vacuna que pueda ampliar su comercialización en los países del Hemisferio Sur, aplicando a los estándares europeos, lo cual conlleva a una gran demanda de certificación en el diseño, desarrollo y producción.

Santa Elena ha desarrollado una red comercial en todo el país, colocando su línea de productos en los principales comercios veterinarios nacionales. Con el permanente cambio tecnológico de sus productos, control de calidad, adecuada presentación, servicio de atención al cliente en venta y post venta, estricto cumplimiento en las condiciones de entrega y seriedad de cobranza, es referencia principal de clientes y competidores.

En la actualidad (ventas al mes de setiembre 2013) ocupa el segundo lugar en el ranking del mercado local de empresas del sector.

Santa Elena mejora su consideración en el ranking industrial pues fabrica con marcas propias a varios de los laboratorios con los cuales compite comercialmente, caso de Laboratorios Calier, Grappiolo, Laboratorio Uruguay y Merilex en la actualidad.

Por otra parte si consideramos sólo el mercado de productos biológicos, Santa Elena ocupa el primer lugar de participación.

Desde comienzos de la década del 90 coloca sus productos en el exterior, habiendo logrado que las exportaciones signifiquen más del 30 % de sus ventas totales, con una participación creciente. Los mercados exteriores incluyen países como Brasil, México, Argentina, Paraguay, Bolivia, Ecuador, Colombia, Medio Oriente. La alianza con VIRBAC ampliará en gran medida este espectro.

SESA ha localizado en cada país que exporta un representante idóneo que atiende

en forma directa a todos sus clientes, y brinda asesoramiento y respaldo técnico directo a cada uno de los distribuidores del país o del exterior.

Los objetivos de expansión regional llevaron a que se pusiera su foco en el mercado brasileño y allí desarrolló varias estrategias de negocios para penetrar dicho mercado, manteniendo actualmente comerciales con tres empresas CEVA, VIRBAC y VALLEE con la particularidad de que los registros son con fabricación de Santa Elena, lo que asegura la exclusividad de aprovisionamiento.

En el archivo adjunto (Anexo Mercado Santa Elena) se muestra los clientes, destinos y exportaciones del año 2013.

## Análisis de la Oferta

El desarrollo de esta nueva vacuna le permitirá a Santa Elena ampliar el portafolio que actualmente ofrece a sus clientes, a la vez que contará con un producto de mejor calidad, que otorgue mayores niveles de protección contra el contagio de enfermedades respiratorias del ganado, minimizando la cantidad de dosis a aplicar sobre el animal. Esto favorecerá tanto al Laboratorio Santa Elena, mejorando la competitividad de sus vacunas, como al productor, al disminuir las pérdidas económicas asociadas a la alta incidencia de estas enfermedades bajo un manejo sanitario efectivo y eficaz.

Asimismo, es posible minimizar el uso de antibióticos en bovinos destinados a faena, por lo que se contribuye a la reducción de residuos en carne, aumentando nuestro estatus sanitario.

Para mostrar el panorama competitivo en el nicho que se pretende actuar, se ha diseñado el cuadro que se muestra en el archivo adjunto (Anexo Análisis de la Oferta). Como se muestra en el cuadro hay 9 vacunas principales que contienen como inmunógeno a *M. haemolytica*. Algunas incluyen únicamente la bacterina, otras un extracto de la bacteria y las más modernas incluyen también el sobrenadante de cultivo incluyendo la leucotoxina (nativa) y/u otras proteínas de

# Viabilidad Comercial y Económica del Proyecto



membrana externa (OMPs). Algunas de ellas (Boehringer y MSD) son multivalentes, incluyendo en su formulación virus atenuados o inactivados. Como competidor potencial más directo se identifica la vacuna de Novartis que contiene la LKT recombinante, en combinación con OMPs parcialmente purificadas. Esta vacuna fue lanzada al mercado en el año 2011. La ventaja competitiva que pretendemos para nuestra vacuna es que además de contener el principal inmunógeno de *M. haemolytica*, obtenido de forma recombinante, su diseño es multivalente, brindando una protección completa contra los distintos agentes causantes virales y bacterianos de las enfermedades respiratorias bovinas.

## **Análisis de la Estrategia de Comercialización, Promoción y Publicidad**

El antígeno recombinante será producido en Laboratorios Celsius y se establecerá un acuerdo con Santa Elena para proveer estos antígenos, los que serán utilizados como materia prima en la elaboración de una o más vacunas.

La vacuna desarrollada durante este proyecto será producida y comercializada por Laboratorios Santa Elena.

En varios países del Hemisferio Sur, las ventas de Santa Elena se realizan a través de distribuidores, los cuales manejan su propia estrategia, objetivos y, a veces la forma de los contratos con las principales compañías de vacunas.

La experiencia y la imagen de Santa Elena le permiten ser reconocido en los mercados a donde se destina el producto.

La curva de valor de Santa Elena refleja la performance en varios factores que son importantes para el mercado nacional de productos biológicos con destino veterinario.

La Empresa en su estrategia comercial ha reducido su publicidad en los medios. Si bien los productores son un eslabón definitivo en la cadena, Santa Elena considera a los médicos veterinarios y/o distribuidores como sus clientes directos. Son ellos

luego quienes asesoran a los productores y encargados de los establecimientos. Esto también refleja una filosofía de vender productos basados en el conocimiento técnico.

La Empresa tiene como característica histórica, una prevalencia de temas técnicos a temas estrictamente comerciales. Históricamente, desde su fundación, Santa Elena ha priorizado Proyectos que presenten desafíos tecnológicos, que generen conocimiento o que aporten a la innovación tecnológica del país frente a Proyectos que solo presenten un buen margen. Si bien Santa Elena es una Empresa que genera recursos propios y que ha sabido permanecer en el tiempo a lo largo de sus 55 años de vida, tiene una marcada preferencia sobre los productos biotecnológicos frente a otros, tales como los farmacéuticos, que son más lucrativas, al menos en el corto plazo, debido a un ciclo más corto de desarrollo del producto.

Las soluciones a medida son una importante característica de la Empresa, esto está muy relacionado con su vinculación a la Academia, y la plena conciencia de que el diseño de vacunas específicas para los problemas sanitarios de la región implica el estudio del problema, la caracterización de las cepas y luego el desarrollo de una vacuna propia para encarar la problemática local. La confianza en la eficacia de los productos que se tiene por parte del mercado es alta en relación a nuestros competidores, lo que justifica el hecho de que los productores estén dispuestos a invertir en nuestros productos.

## **Viabilidad económica del proyecto**

Los supuestos utilizados para alcanzar lo proyectado y que soportan las expectativas de venta son los siguientes:

- Las vacunas respiratorias son el segundo mayor contribuyente a las vacunas de ganado después de la fiebre aftosa.
- Los productos biofarmacéuticos se pronostican como el segmento de mayor crecimiento en el mercado sanitario ganadero para los próximos 5 años.



# Viabilidad Comercial y Económica del Proyecto



- Se mantiene y mantendrá una tendencia por la profilaxis frente al tratamiento, en la lucha contra los patógenos que contiene la citada vacuna.
- La enfermedad respiratoria continúa causando pérdidas sustanciales a pesar de mejorar la comprensión de las enfermedades y el desarrollo de nuevas vacunas.
- Las lesiones respiratorias están presentes en más de 50% de los animales que van a matadero, así como también corresponde a una de las principales enfermedades en los sistemas intensivos actuales de producción.
- *M. haemolytica*, es el patógeno bacteriano más importante de las enfermedades respiratorias en el ganado y la principal causa de morbilidad y mortalidad.
- El ganado inmediatamente antes de una situación de estrés (envío, el destete, la entrada a un corral de engorde) necesita un inicio rápido de la inmunidad.
- Actualmente hay pocas vacunas eficaces para la protección del ganado contra las cepas contenidas en la vacuna a desarrollar.

## ANEXO 2

## UBICACIÓN Y PROPIEDAD DE LOS BIENES ADQUIRIDOS DURANTE EL PROYECTO

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LOS EQUIPOS	COSTO CON CARGO AL PROYECTO (USD)	UBICACIÓN DURANTE EL PROYECTO	PROPIEDAD
Incubador orbital - Shaker	10.000	UDELAR	UDELAR
Fermentador de escala piloto	35.000	CELSIUS	CELSIUS
Electrodo pH-metro	600	CELSIUS	CELSIUS
Electrodo para el pH-metro del fermentador	600	CELSIUS	CELSIUS
Espectrofotómetro de gota	12.000	CELSIUS	CELSIUS
Repuestos disruptor	2.000	CELSIUS	CELSIUS

178  
18

ANEXO 3  
CRONOGRAMA FINANCIERO

Cronograma de ejecución financiera - Proyecto ALI\_2\_2013\_1\_4783  
Comienzo: 01/11/2014

	Hito 1 (Abril 2015)	Hito 2 (Octubre 2015)	Hito 3 (Abril 2016)	Hito 4 (Octubre 2016)	Costo con cargo al proyecto
Equipamiento Laboratorio	22.000	38.200	0	0	60.200
Materiales e Insumos	13.500	8.500	7.500	0	29.500
Personal Técnico	12.891	17.622	17.622	19.594	67.729
Consultores	0	0	0	2.000	2.000
Servicios	4.200	11.100	3.000	7.000	25.300
Protección Propiedad Intelectual	3.300	0	0	0	3.300
Otros Costos	1.475	776	716	787	3.754
Imprevistos	1.250	1.250	1.250	1.250	5.000
Promoción y difusión	0	0	0	1.800	1.800
<b>Total</b>	<b>58.616</b>	<b>77.448</b>	<b>30.088</b>	<b>32.431</b>	<b>198.583</b>

 143

## ANEXO 4 CRONOGRAMA TÉCNICO

Cronograma de ejecución técnica - Proyecto ALI\_2\_2013\_1\_4783  
Comienzo: 01/11/2014

		Hito 1	Hito 2	Hito 3	Hito 4	MESES								
		Trimestre 1	Trimestre 2	Trimestre 3	Trimestre 4	Trimestre 5	Trimestre 6	Trimestre 7	Trimestre 8	Trimestre 9	Trimestre 10	Trimestre 11	Trimestre 12	
1. Diseño y clonado de la LKT de M. haemolytica en un vector adecuado para la expresión en E. coli	1. Revisión bibliográfica y de patentes asociadas	X	X											Paula Tucci
	2. Consulta a expertos en patentes nacionales y/o internacionales	X	X											Eduardo Reolon
	3. Compra de insumos	X	X											Paula Tucci
	4. Selección y obtención del vector y la cepa de expresión		X	X										Paula Tucci
	5. Selección y obtención de la secuencia génica a expresar		X	X										Paula Tucci
	6. Clonado y confirmación de la secuencia			X	X									Paula Tucci
2. Escalado del protocolo de producción de LKT recombinante	7. Optimización de la producción y purificación de la proteína recombinante			X	X									Paula Tucci
	8. Escalado de la producción			X	X	X	X	X						Paula Tucci
3. Puesta a punto de ensayo in vitro para cuantificar LKT	9. Puesta a punto del ensayo con controles positivos y negativos			X	X	X								Paula Tucci - Mónica Marín
	10. Análisis de muestras: sobrenadantes de cultivo, Lkt recombinante, etc.				X	X	X							Paula Tucci - Mónica Marín
4. Puesta a punto de protocolo de extracción de proteínas de superficie	11. Definición de la metodología para obtener proteínas relevantes en la inmunidad protectora contra M. haemolytica		X	X	X									Mónica Marín
	12. Caracterización de las proteínas presentes en los extractos y evaluación de inmunogenicidad			X	X	X	X							Mónica Marín
	13. Evaluación de la escalabilidad del proceso de purificación de proteínas de superficie			X	X	X	X	X	X					Eduardo Reolon
5. Obtención de Anticuerpos específicos	14. Inmunización de conejos con la proteína recombinante purificada					X	X	X	X					Eduardo Reolon
	15. Purificación y evaluación de anticuerpos						X	X	X					Paula Tucci
6. Puesta a punto de técnicas para evaluación de la respuesta inmunológica	16. Puesta a punto de ELISA para evaluación de la respuesta inmunológica					X	X	X						Paula Tucci - Mónica Marín
	17. Cuantificación de títulos de anticuerpos generados en los animales inmunizados con los antígenos seleccionados						X	X	X					Paula Tucci - Mónica Marín
7. Evaluación de nueva(s) formulacion(es)	18. Diseño y desarrollo de vacunas experimentales y protocolos de inmunización							X	X					Eduardo Reolon - Paula Tucci
	19. Inmunización de animales							X	X	X				Eduardo Reolon
	20. Evaluación de la respuesta inmunológica de los animales inmunizados									X	X			Paula Tucci
	21. Selección de vacuna experimental que muestre mejores resultados									X	X			Eduardo Reolon