



CONVENIO ESPECÍFICO  
entre  
LA UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA-FACULTAD DE CIENCIAS, URUGUAY  
y  
LABORATORIOS VIRBAC MÉXICO S.A. DE C.V., ARGENTINA

Exp.: 240011-000198-14

Por una parte, la **Universidad de la República-Facultad de Ciencias** (en adelante la **Facultad**), representada por su Rector, Dr. Rodrigo AROCENA y el Decano de la Facultad de Ciencias Dr. Juan CRISTINA, con domicilio en Av. 18 de julio 1968 de la ciudad de Montevideo; y por otra parte, **Laboratorios VIRBAC México S.A. de C.V., Sucursal Argentina**, representado en este acto por el Dr. Thierry David GOZLAN, DNI 94542917, según certificado notarial expedido por el Esc. Mario Humberto TORRES VERDÍN, con domicilio en Juan José Díaz N° 629 San Isidro, Provincia de Buenos Aires (en adelante el **Laboratorio**), acuerdan en celebrar el presente convenio:

**PRIMERO: ANTECEDENTES**

- be
1. A. Laboratorios VIRBAC México S.A. de C.V., Sucursal Argentina está afiliado a Virbac S.A. Es un Laboratorio farmacéutico dedicado a la Salud Animal con sede en Carros, Francia, con presencia en más de cien países, ofrece una gama de productos y servicios para los veterinarios, criadores y dueños de mascotas, quien ha manifestado su interés en colaborar en el "Proyecto" descrito en anejo.
- B. El Laboratorio ha mantenido un fluido relacionamiento con la Universidad de la República con la que celebrado un convenio marco en el cual se establece que se realizarían planes de trabajo al respecto y el Laboratorio financiaría algunas actividades, debiendo firmarse un acuerdo específico a tales efectos.
- C. La Facultad de Ciencias tiene experiencia en la producción, purificación, control de calidad de proteínas antigénicas, con utilización en vacunas y métodos directos e indirectos de diagnóstico serológico, molecular y otros aplicables a medicina humana y animal.

**SEGUNDO: OBJETO**

El objeto de este convenio es la participación conjunta en el proyecto científico nombrado "Proyecto" en el Anexo 1, el cual suscrito por las Partes, forma parte integrante de este convenio.

El "Proyecto" incluye contribución del Laboratorio y de la Facultad, descriptos a seguir en el párrafo Tercero.

**TERCERO: OBLIGACIONES DE LA FACULTAD**

Por el presente Convenio, la Facultad, por intermedio de la Facultad de Ciencias se obliga a:

1. Producción y provisión de antígeno LAP en calidad y cantidad suficiente para la preparación de formulaciones vacunales experimentales, con alto grado de pureza, identificada y liberada por método validado de control de calidad, cantidad que puede permitir también la conducción de pruebas de estabilidad *in vitro* e *in vivo*, en animales de laboratorio, pruebas de control microbiológico y otras a ser establecida entre las partes.



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



2. Realizar la cuantificación de anticuerpos anti-LAP en sueros de los animales experimentales, incluyéndose bovinos y eventualmente ratones.
3. Auxiliar en el diagnóstico de animales experimentales naturalmente infectados a través de la conducción de exámenes coprológicos para presencia de antígeno fecal de *Fasciola hepática*.
4. Conducir estudios de estabilidad de formulaciones experimentales vacunales a través de cinética de anticuerpos y seroconversión de ratones vacunados.
5. Realizar reuniones periódicas con el Laboratorio, a los efectos de informar los avances y coordinar la realización de tareas conjuntas conducentes al logro de los objetivos del proyecto.
6. La realización de un informe final que incluya los resultados y conclusiones del proyecto de manera detallada.

#### **CUARTO: OBLIGACIONES DEL LABORATORIO**

1. Financiar la realización de las tareas a realizar por la Facultad descritas en el artículo tercero y en el Anexo 1, por un monto de U\$S 8.800 (dólares estadounidenses ocho mil ochocientos), a abonar en dos pagos de acuerdo al párrafo quinto.
2. Realizar las tareas complementarias necesarias para llevar adelante el proyecto, como obtención de los animales experimentales bovinos, obtener los adyuvantes y otros componentes vacunales que no el antígeno, formular las vacunas experimentales, coordinar toda la etapa animal bovina en el campo incluso el adecuado sitio de estudio donde se mantendrá a los animales bovinos durante todo experimento, obtener las muestras biológicas de sangre y heces, conducir la vacunación y seguimiento clínico de los animales bovinos, sin excluir otras actividades necesarias para el logro de los objetivos del proyecto.
3. Suministrar la información técnica disponible en la empresa que pueda contribuir a la ejecución del proyecto, así como proveer de asesoría a través de sus técnicos e investigadores.

#### **QUINTO: PRECIO**

El Laboratorio se compromete a abonar a la Facultad por la realización de estas tareas, la suma de U\$S 8.800, (dólares estadounidenses ocho mil ochocientos), la cual se hará efectiva de la siguiente manera:

- a. una primera entrega de U\$S 4.800 (dólares estadounidenses cuatro mil ochocientos), inmediatamente después de firmarse el presente convenio;
- b. una última entrega de U\$S 4.000 (dólares estadounidenses cuatro mil) luego de recibidos los informes finales objeto de este convenio.

#### **SEXTO: CONFIDENCIALIDAD Y PUBLICACIÓN**

Cada una de las partes y terceros involucrados, se comprometen a no difundir, 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, siempre que esas informaciones no sean de dominio público.



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



Los datos e informes relativos al proceso objeto del presente convenio, tendrán carácter confidencial. A tales efectos las partes garantizan dicha confidencialidad respecto del personal que trabaje para la misma en oportunidad del presente convenio.

Ninguna publicación o presentación o comunicación de cualquier tipo con relación a los resultados del "Proyecto", tanto de manera escrita como oral, se hará por la Universidad de la República o Facultad sin el consentimiento previo por escrito de VIRBAC durante la vigencia del convenio y los cinco (5) años siguientes a su expiración o terminación.

#### **SÉPTIMO: PROPIEDAD INTELECTUAL**

Para el caso de que en cualquiera de las fases a que se refiere este convenio se produjera un descubrimiento o resultase una invención que pudiera dar lugar a una patente de invención, a un modelo o diseño industrial o una patente de modelo de utilidad, la titularidad corresponderá a ambas partes en régimen de condominio. El régimen de condominio implica que ninguna de las partes contratantes puede utilizar la patente sin el consentimiento de la otra. Oportunamente se acordará la participación que cada parte tendrá en los gastos devengados por el trámite de patente así como en los resultados económicos que se obtengan de la explotación de los derechos de propiedad intelectual.

Todos los aspectos relacionados con la propiedad, transferencia y gestión de los derechos de la propiedad intelectual inherentes o vinculados a la creación o producción científica o tecnológica de la Universidad de la República se regirán de acuerdo a lo establecido en la Ordenanza de los Derechos de la Propiedad Intelectual de la Universidad de la República.

#### **OCTAVO: MODIFICACIONES**

De común acuerdo entre las partes, se podrá introducir modificaciones por escrito al presente convenio, incluso con respecto a su objetivo y duración, con la debida autorización de las partes firmantes.

#### **NOVENO: PLAZO**

El presente convenio regirá a partir de la fecha de su firma, por el plazo de **dos** años, pudiendo alguna de las partes suspender la ejecución del programa dando aviso a la otra por cualquier medio idóneo, de su voluntad contraria, con una antelación no menor sesenta (60) días.

#### **DÉCIMO: COMISIÓN DE SEGUIMIENTO**

Se nombrará una Comisión de Seguimiento, que estará integrada por un representante de cada parte, que tendrá como cometidos los siguientes:

- Proponer a sus respectivas autoridades, soluciones a las eventuales situaciones imprevistas que pudieren surgir en la ejecución del presente convenio.
- Vigilar la observancia de las obligaciones asumidas por las partes.
- Realizar informe de evaluación de todas las etapas.

#### **DÉCIMO PRIMERO: RESCISIÓN**

El presente convenio se resolverá de pleno derecho por el incumplimiento de alguna de las partes de las obligaciones respectivamente asumidas.

Las eventuales disputas judiciales se resolverán ante las autoridades del Uruguay.



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



Para constancia y como prueba de conformidad, las partes firman dos (2) ejemplares del mismo tenor en el lugar y fecha indicados.

  
**Dr. Rodrigo AROCENA**  
Rector  
Universidad de la República

  
**Dr. Thierry David GOZLAN**  
Sucursal Argentina  
Laboratorios VIRBAC México S.A. de C.V.

  
**Dr. Juan CRISTINA**  
Decano  
Facultad de Ciencias

Montevideo,

San Isidro, Buenos Aires,

13/02/2014

Laboratorios VIRBAC México S.A. de C.V.  
Sucursal Argentina

## PROTOCOLO DE ESTUDIO DE EFICACIA

**Título del Estudio:**

**Evaluación comparativa de la respuesta de anticuerpos IgG anti-*Fasciola* en bovinos vacunados con diferentes vacunas experimentales contra *Fasciola hepatica***

**Redactado por:**

Andre A. Cutolo  
fecha: 13/Feb/14

**Revisado por:**

Carlos Carmona  
fecha: 13/Feb/14

Eduardo Reolon  
fecha: 13/Feb/14

Gustave Decuadro  
fecha: 13/Feb/14



**1 TÍTULO:**

*Evaluación comparativa de la respuesta de anticuerpos IgG anti-Fasciola em bovinos vacunados con diferentes vacunas experimentales contra Fasciola hepatica.*

**2 CONTACTOS:****2.1 Representante del patrocinador:**

Andre A. Cutolo, DVM.  
Southern Hemisphere Innovation Project Manager  
Email: [andre.cutolo@virbac.com.br](mailto:andre.cutolo@virbac.com.br)

**2.2 Investigador Principal:**

Carlos Carmona García, DM  
Profesor de la Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica  
Email: [ccarmona@higiene.edu.uy](mailto:ccarmona@higiene.edu.uy)

**2.3 Investigadores Asistentes:**

Eduardo Reolon, Lic  
Gerente de Investigación y Desarrollo  
Email: [reolon@santaelena.com.uy](mailto:reolon@santaelena.com.uy)

Gustave Decuadro, DVM  
Corporate Marketing Southern Hemisphere Ruminants  
Email: [gustave.decuadro@virbac.com.mx](mailto:gustave.decuadro@virbac.com.mx)

**2.4 Monitor:**

Adriana Drocco, DVM.  
Asistente Técnica  
Email: [drocco@santaelena.com.uy](mailto:drocco@santaelena.com.uy)

Laboratorios VIRBAC México S.A de C.V. Sucursal Argentina  
Juan José Díaz 629, San Isidro, CP 1642  
Buenos Aires, Capital Federal, Argentina.  
Tel: +54(11) 4707-0131/4742-0950/4732-3436

**3 LOCAL DEL ESTUDIO:**

Los animales serán mantenidos y manejados en el Rancho Macondo (Rancho Experimental de Laboratorios Santa Elena), ubicado en Florida, Uruguay.

## 4 OBJETIVO:

### 4.1 Objetivo:

El objetivo principal del ensayo es evaluar a través de un método Elisa *in house*, la respuesta de anticuerpos IgG anti-LAP IgG (antígeno leucina aminopeptidasa) de *Fasciola hepatica* de bovinos vacunados con diferentes formulaciones experimentales que contienen adyuvantes diferentes. En segundo lugar busca evaluar el efecto inmunomodulador de dos formulaciones Ultracorn.

### 4.2 Resumen:

Treinta bovinos hembras europeos o mestizos, entre seis y ocho meses de edad, libres de infección por *Fasciola hepatica*, serán seleccionados de un grupo de 54 animales para el estudio.

Se formarán seis grupos de cinco animales cada uno de un modo equilibrado, basado en el peso vivo en el Día Cero.

En el día cero, día 30 y en el día 150 los animales del grupo 1 recibirán la vacuna formulada con antígeno y Adjuvac 50 (Santa Elena adyuvante), Grupo 2 recibirá la vacuna formulada con antígeno y Montanide ISA 50V2 (Seppic), Grupo 3 recibirá la vacuna con antígeno formulado con Alhydrogel 2 % (InvivoGen), Grupo 4 recibirá la vacuna formulada con antígeno Alhydrogel 2 % (InvivoGen) más Ultracorn (UC3) a una dosis de 0,5 mL/100Kg y el grupo 5 recibirá la vacuna formulada con Alhydrogel 2 % (InvivoGen) más el producto comercial Ultracorn (UC1) en una dosis de 2,0 mL/100Kg. Todas las vacunas (Adjuvac, MONTANIDE y Alhydrogel) contienen 1 mg de antígeno LAP por dosis. El Grupo 6 no recibirá ningún tratamiento quedando como un grupo testigo control negativo.

Los animales se sangraron en los Días Zero previo al tratamiento, y a los Días 15, 30, 60, 90, 120, 150, 165 y 180 con el fin de tener la mensuración de la cantidad de anticuerpos contra antígenos LAP en el suero, medidos a través de una prueba ELISA. El promedio de los títulos de anticuerpos serán comparados para cada grupo en los diferentes momentos de muestreo y serán considerados diferentes si  $p < 0,05$ .

**5 CRONOGRAMA:**

Inicio fase animal:  
Diciembre/13.

Final de la fase animal:  
Agosto/14.

**5.1 Descripción del Cronograma:**

Fecha Estudio	Muestreo Fecal	Tratamiento Triclabendazole	Muestreo de Sangre	Pesaje	Selección Animales y Randomización	Vacunación	Inspección visual del sitio de inyección
D-80	•						
D-60		•					
D-20	•						
DZero			•	•	•	•	•
D+1 to +3							•
D+15			•				
D+30			•			•	•
D+31 to D+33							•
D+60			•				•
D+90			•				•
D+120			•				•
D+150			•			•	•
D+165			•				•
D+180			•				•

**6 ANIMALES DEL ESTUDIO:****6.1 Descripción de los animales:****Especie:**

*Bos taurus* and/or crossbred individuals.

**Número de animales:**

30 animales

**Origen:**

Rancho Macondo y alrededores, ubicado en la ciudad de Florida, Uruguay.

**Status Sanitario:**

Animales sanos en buenas condiciones generales

**6.2 Metodo de identificacion:**

Caravanas individuales y exclusivas en las orejas.

**6.3 Aclimatación:**

Se incluirá solamente animales que están a más de 45 días en el rancho sitio del estudio.

**7 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y REMOCIÓN:****7.1 Criterio de Inclusión****Edad:**

6 a 8 meses.

**Sexo:**

Hembras

**Raza:**

Bovinos europeos o mestizos

**Rango de peso vivo:**

150 a 300 kg.

**Status Sanitario:**

Animales sanos en buenas condiciones corporales y sin parásitos internos

**Status de infección por *Fasciola hepatica*:**

Animales libres de huevos de *Fasciola hepatica* en análisis fecales y sin antígenos detectados en las materias fecales examinadas seis semanas después del tratamiento con Triclabendazole.

**Tratamientos Previos:**

Los animales deberán ser vermifugados con Triclabendazole por lo menos 6 semanas antes de la inclusión en el estudio.



## 7.2 Vía de Administración:

Los productos se van a inyectar por vía subcutánea en los animales de estudio.

Para los grupos 3, 4 y 5, los productos Ultracorn (UC1 y UC3) se inyectan por separado de las vacunas anti-Fluke.

En tales casos, cada animal recibirá simultáneamente una inyección de vacuna anti-Fluke y otra con UC1 o UC3 en un sitio de inyección diferente, según abajo:

**Ultracorn (UC1 or UC3):** lado izquierdo del cuello

**Vacuna LAP de Fasciola hepatica:** lado derecho del cuello

Grupo	# Animales	Tratamiento			Vacuna LAP & Dosis de Ultracorn por Animal
		Producto Test	Via	Tratamiento	
1	5	LAP + Adjuvac 50	SC	Vaccine at DZero, D+30 and Day+150	3mL shot per animal
2	5	LAP + Montanide ISA50 V2	SC	Vaccine at DZero, D+30 and Day+150	3mL shot per animal
3	5	LAP + Alhydrogel 2%	SC	Vaccine at DZero, D+30 and Day+150	3mL shot per
4	5	LAP + Alhydrogel 2% + UC3	SC	Vaccine at DZero, D+30 and Day+150	3mL shot per animal + 0,5mL/100 kg (**) (i.e. 10mg/100kg)
5	5	LAP + Alhydrogel 2% + UC1	SC	Vaccine at DZero, D+30 and Day+150	3mL shot per animal + 2mL/100Kg (*) (i.e. 10mg/100kg)
6	5	Controle Negativo	-	-	-

## 8 EVALUACIÓN DE EFICACIA:

### 8.1 Muestras de Sangre

Se tomarán cinco mililitros de sangre en tubo estéril vacutainer por animal por punto de tiempo. La sangre se transportará en condiciones de refrigeración (2 a 8 ° C) en cajas de espuma isotérmicas al laboratorio donde se centrifugará bajo 3.000 rpm.

El suero se obtendrá y se transferirá a microtubos plásticos estériles, debidamente identificados, y se congelarán bajo -20oC de temperatura hasta su procesamiento. Cada suero será dividido en al menos dos alícuotas diferentes de muestra en microtubos estériles y será almacenada congelada con el fin de tener material de copia de seguridad en caso de que se necesite un nuevo análisis.

### 8.2 Evaluación cualitativa y cuantitativa de la respuesta de anticuerpos:

#### Procedimiento para la cuantificación de anticuerpos anti-LAP:

Las respuestas de anticuerpos se analizarán por ELISA.

Los pocillos de microplacas de poliestireno (Nunc , Roskilde, Dinamarca) serán recubiertos con una solución 3- $\mu\text{g}/\text{ml}$  de LAP purificada en PBS y se incubará durante la noche a 4 ° C. Los sitios de unión restantes se bloquearán con una solución que consiste en leche en polvo al 5 % en PBS durante 1 h a 37 ° C , y los pocillos de la placa se lavarán tres veces, durante 3 minutos cada uno, en solución de lavado ( 0,05 % de Tween 20 en PBS ) .

Los sueros serán diluidos 1:200 en tampón de dilución (leche en polvo 2,5 % y 0,05 % de Tween 20 en PBS ) y se añadirá a los pocillos ( 100 l por pocillo ) .

Después de una incubación de 1 hora a 37 ° C , las placas se lavarán como se ha descrito anteriormente , y el anticuerpo unido será detectado con un conjugado inmunoglobulina G (IgG ) anti conejo con peroxidasa ( 1:7000 en tampón de dilución ) y los sustratos o-fenilendiamina y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( Sigma Chemical Co. , St. Louis, MO ) .

La reacción enzimática se detendrá después de 15 min mediante la adición de HCl al 10% ( 50 l / pocillo ) y las densidades ópticas serán determinadas a 492 nm ( OD<sub>492</sub> ) .

Las inmunoglobulinas IgG total, IgG1 e IgG2 se medirán en cada tiempo de muestreo de sangre.

## **9 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA:**

### **9.1 Diferencias en los títulos de anticuerpos:**

Se comparará el OD promedio de los títulos de anticuerpos entre los diferentes grupos en los diferentes momentos de sangrado y será utilizado un método estadístico para tanto, considerándose las diferencias significativas con el valor de  $p < 0,05$ .

## **10 BIENESTAR ANIMAL:**

Durante la conducción del estudio será implementado un sistema de vigilancia y gestión adecuados con el objetivo de evitar cualquier estrese innecesario entre los animales del estudio, incluidos allí los procedimientos de restricción física, la administración y la inyección de productos de prueba, muestreo biológico, la alimentación, la vivienda y la evaluación clínica de los bovinos.

Se adjunta en este documento el Código de Cuidado Animal de Virbac se adjunta al presente documento como Anexo.

## **11 REPORTE FINAL DEL ESTUDIO:**

### **11.1 Reporte de las fases animal y laboratorial:**

El investigador principal es responsable por la preparación del informe final incluyendo el material y métodos, procedimientos y resultados de la prueba. El informe final será emitido dentro de los 30 días de la última evaluación serológica.

## Anexo

# Virbac code of animal care

## A GLOBAL COMPANY DEDICATED TO ANIMAL HEALTH

For over 40 years, Virbac's mission has been to prevent and treat animal diseases including those with potential zoonotic impact. To that end, the organisation has made the moral and legal commitment to provide safe and efficacious products intended for all animal species.

In order to comply with regulations and to provide safe and efficacious products, Virbac as with all pharmaceutical companies, is required to conduct animal testing in very specific cases: when necessary and where there is no approved alternative method. Virbac favours the use of alternative methods wherever possible and encourages initiatives which aim to replace, reduce or refine animal testing.

To ensure the implementation of these principles, Virbac has developed and adopted the following code which applies to all Virbac employees and external partners.

## CODE

1. Regulations as well as scientific and ethical frames of reference relating to animal testing must be applied.
2. The international 3Rs principles (Reduce, Refine, Replace) - Reduce the number of animals, Refine accommodation and usage conditions, Replace with alternative tests - must always be followed.
3. The best standards of animal care and testing must be followed.
4. Tests must be designed with the aim of minimising the impact on the animals and all measures must be taken to reduce the discomfort, distress and suffering of the animal.
5. All tests must be reviewed for ethical assessment prior to implementation.
6. All animals must come from sources approved by the authorities and be transported according to regulations in force.
7. The skills, qualifications and ethical training of all staff involved in animal testing must be documented.
8. Whenever possible, development of new alternative methods or implementation of existing alternative methods must be favored.
9. When tests are carried out in veterinary clinics on domestic animals or livestock, appropriate standards of animal welfare must be complied with.
10. This code applies to all Group staff and external partners including specific subcontractors, research bodies and suppliers. These external partners must comply with the spirit and the letter of this code when providing services to Virbac.