

Nueva vacuna contra la brucelosis creada por investigadores argentinos reconocida con el Premio Margni

Dra. Amalia Beatriz Dellamea. Centro de Divulgación Científica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA). Tel. (54 11) 4964-8200, int. 8335. Correo e. cdc@ffyb.uba.ar

Investigadores de la Universidad de Buenos Aires, el Conicet, el Instituto Leloir y la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires desarrollaron una vacuna efectiva contra la brucelosis × La ensayaron en condiciones de laboratorio y obtuvieron resultados eficaces × Actualmente iniciaron las pruebas de campo × La brucelosis es una enfermedad endémica en la Argentina y otros países de América Latina, que afecta al ganado ovino, bovino, caprino y porcino × Provoca considerables pérdidas económicas × También las personas pueden infectarse × Ya existían vacunas pero no son cien por ciento eficaces y presentan desventajas

Un equipo de investigación integrado por miembros de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), el Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET-UBA), la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro, del Hospital de Clínicas (UBA) y del Instituto Leloir (CONICET-UBA) recibió el Premio en Inmunología "Ricardo Margni" 2005. La distinción es conferida por el CEDIQUIFA y se instituyó en conmemoración de la trayectoria científica del destacado inmunólogo argentino Ricardo Margni, muerto en diciembre de 2004. También se celebró el "Día del investigador", en conmemoración del nacimiento de Bernardo Houssay . En la oportunidad fueron entregados el Premio Bernardo Houssay 2005 y los premios y menciones del Concurso "Haydée De Luca" 2005.

El Premio en Inmunología "Ricardo Margni" 2005, que se entregó este año por primera vez, fue ganado por el trabajo "La inserción de un péptido de OMP31 al extremo amino terminal de la lumazina sintetasa de Brucella spp. mejora su capacidad protectora", presentado por un equipo de investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA, el Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET-UBA), el Laboratorio de Inmunogenética del Hospital de Clínicas, también de la UBA, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro, Tandil, y del Instituto Leloir (CONICET-UBA).

El premio fue conferido por el Centro de Estudios para el Desarrollo de la Industria Químico Farmacéutica Argentina (CEDIQUIFA) y fue entregado en un acto que se realizó en el Salón del Consejo de la Facultad de Medicina de la UBA.

Historia de los premios

CEDIQUIFA instituyó para 2005, el premio "Dr. Ricardo Margni", en recordación del destacado hombre de ciencia, quien fue Director del IDEHU- Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral- (CONICET-UBA), que tiene sede en la Facultad de Farmacia y Bioquímica, y resultó galardonado con el "Premio Bernardo A. Houssay" 2001, de CEDIQUIFA, y con el Premio "Bernardo Houssay" 2004, conferido a su trayectoria por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Nación.

Ricardo Aníbal Margni, muerto el 15 de diciembre de 2004, fue un investigador argentino que obtuvo un trascendente reconocimiento internacional en el campo de la Inmunología por su fructífera trayectoria en la investigación. En 1970, Margni

descubrió los anticuerpos IgG asimétricos, hallazgo de gran relevancia debido a que estos anticuerpos en vez de "dedicarse" a proteger al organismo de los ataques de agentes agresores, por el contrario, protegen a los agresores. En 1963, Margni creó la Cátedra de Inmunología en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA, constituyendo así el antecedente de la primera cátedra de la especialidad en América Latina. A lo largo de su carrera como docente e investigador desarrolló una fructífera labor en investigación, desarrollo y formación de recursos humanos.

El Premio "R. Margni" se entrega junto con el Premio anual en Investigación: "Bernardo A. Houssay". Este último premio fue instituido por el CEDIQUIFA y se otorga, desde 1989, en los actos de celebración del "Día del investigador", en conmemoración del nacimiento del Premio Nobel argentino de ciencias, doctor Bernardo Houssay, que ocurrió un 11 de noviembre. La distinción se confiere en reconocimiento a "la importante y continua acción que desarrolla la comunidad científica nacional en pos del conocimiento y el bien común".

El Premio Houssay 2005 fue conferido al doctor Norberto Ricardo Farías, director del Instituto de Química Biológica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT), e Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) CONICET - UNT, y su equipo de investigadores, en reconocimiento a su trayectoria y la relevancia de trabajos con relación al aislamiento de una cepa de Escherichia coli, a partir de la cual se desarrolló y purificó un antibiótico designado como microcina J25 (MccJ25), cuya posible futura utilización en terapéutica se estima como un avance científico tecnológico.

El equipo de investigadores que dirige el doctor Ricardo Norberto Farías está integrado por Bellomio, Augusto; Ciuchiolo, María José; Cristóbal, Ricardo Ezequiel; Delgado, Mónica Alejandra; Dupuy, Fernando Gabriel; Fernández de Arcuri, Beatriz Eugenia; López, Fabián Enrique; Pomares, María Fernanda; Morero, Roberto D.; Niklison Chirou, María Victoria; Rintoul, María Regina; Salomón, Raúl Armando; Socias, Sergio Benjamín, Solbiati, José Osvaldo, Vallejos, Alicia Cecilia, Vincent, Paula Andrea y Zenoff, Ana María.

También en la oportunidad de festejar el "Día del investigador" CEDIQUIFA se entregaron los premios y menciones especiales del Concurso "Haydée De Luca" 2005, sobre Estrategias para la Promoción de la Salud mediante la Educación.

"Para la brucelosis existen actualmente vacunas, pero no son cien por ciento efectivas. Además presentan desventajas, como la dificultad de efectuar el diagnóstico, esto es, que no resulta nada fácil distinguir entre un animal que ha sido vacunado y otro que está infectado con la bacteria causante de la enfermedad", explicó la doctora Juliana Cassataro, del Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET – UBA), con sede en la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, y del Laboratorio de Inmunogenética, del Hospital de Clínicas (UBA).

"Además, las vacunas en uso se producen con cepas de bacterias atenuadas, lo que equivale a decir que no son avirulentas y consecuentemente conservan potencialmente la capacidad de enfermar", señaló, por su parte, el doctor Guillermo H. Giambartolomei, también del Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral y del Laboratorio de Inmunogenética del Hospital de Clínicas.

Desde que se practica la pasteurización, la posibilidad de que las personas se infecten con la bacteria causante de brucelosis ha descendido notablemente. Sin embargo, se ha convertido en una enfermedad básicamente profesional que afecta a los trabajadores rurales y otros

operadores que aplican las vacunas a los animales, los veterinarios y el personal que trabaja en los mataderos y carnicerías, dado que están permanentemente expuestos al organismo agresor. También pueden infectarse las personas que consumen productos lácteos y derivados producidos sin los debidos controles sanitarios.

Brucelosis, síntomas y características

La brucelosis, también conocida como fiebre de Malta, es una enfermedad infecciosa que se presenta con episodios recurrentes de fiebre, debilidad, sudoración y dolores vagos.

Es provocada por una bacteria llamada Brucella, que está en la sangre, las secreciones y la leche de vacas, cerdos, ovejas y cabras.

Las personas pueden infectarse al ingerir leche de vaca, de oveja o de cabra o sus derivados (manteca, quesos) que contengan microorganismos viables, es decir productos que hayan sido fabricados con leche sin pasteurizar. También se adquiere por contacto directo con animales infectados o sus productos (manejo de sangre, orina, descargas vaginales, fetos abortados y placentas de animales infectados), razón por lo que se considera que es una enfermedad profesional de veterinarios, carniceros, granjeros y ganaderos.

El período de incubación de la brucelosis, esto es el tiempo en que no se presentan todavía los síntomas, se establece entre entre 5 días y varios meses (con un promedio de 2 semanas). Los síntomas y signos más típicos son: fiebre y escalofríos, con elevación de la fiebre por las tardes; dolores muy intensos de cabeza; dolores musculares y articulares; estreñimiento; pérdida del apetito; pérdida de peso y debilidad. También se registra un aumento de tamaño del bazo, el hígado y los ganglios linfáticos.

La fiebre intermitente persiste durante unas semanas, y luego los síntomas cesan durante unos días, para aparecer más tarde, generalmente con picos febriles repetidos y remisiones durante meses.

Agente causal de la brucelosis

El agente causal de la brucelosis es la bacteria Brucella spp. Se trata de un cocobacilo, aeróbico, Gram negativo. Infecta en forma primaria a los animales.

Se conocen 7 especies: Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella neotomae, Brucella ovis, Brucella canis y Brucella maris. Los reservorios naturales principales para las distintas especies son: vacunos (B. abortus), caprinos (B. melitensis), porcinos (B. suis), ovinos (B. ovis), caninos (B. canis), roedores (B. neotomae) y, además, la recientemente hallada en mamíferos marinos (B. maris).

De las especies de Brucella caracterizadas hasta el presente, cinco son patógenas para el hombre. Brucella melitensis es la más virulenta, en tanto que B. abortus y B. canis producen infecciones leves. B. suis exhibe una virulencia intermedia. Recientemente se han identificado dos casos de infección humana por B. maris.

En la Argentina, 10 a 20.000 personas adquieren la infección anualmente. La OMS comunica anualmente 500.000 nuevos casos humanos que, se estima, representarían sólo el 4% de los casos que realmente ocurren. Ello se debe a la existencia de formas subclínicas, a fallas en el diagnóstico y a subnotificación. Los programas de control y erradicación en animales implementados en los Estados Unidos de Norteamérica y en Europa han provocado una fuerte disminución de los índices de infección humana.

3

*Las áreas de nuestro país donde se registran la mayoría de los casos de infección humana están directamente relacionadas con el número y la distribución del ganado. En las provincias del Noroeste y la precordillera de los Andes, donde el ganado caprino es importante, prevalece *B. melitensis*. En la Mesopotamia y la Pampa Húmeda, donde se cría tanto el ganado bovino como el porcino, prevalecen *B. abortus* y *B. suis*.*

Se estima que en la Argentina se encuentran infectados el 18% de los bovinos, entre el 40 y el 95% del ganado caprino (según las regiones) y entre un 15 a un 20% del ganado porcino.

La brucelosis animal es la zoonosis mayor y más difundida en el mundo. Genera barreras en la comercialización de los animales y sus productos, hecho que puede afectar las posibilidades de desarrollo, especialmente de los pequeños ganaderos, el sector más vulnerable en muchas poblaciones rurales, principalmente de América Latina. Esta circunstancia condujo a que organismos internacionales, entre ellos la Organización Mundial de la Salud (OMS), establezcan planes de erradicación de la enfermedad en ovinos, caprinos y bovinos, tanto en Europa como en América Latina.

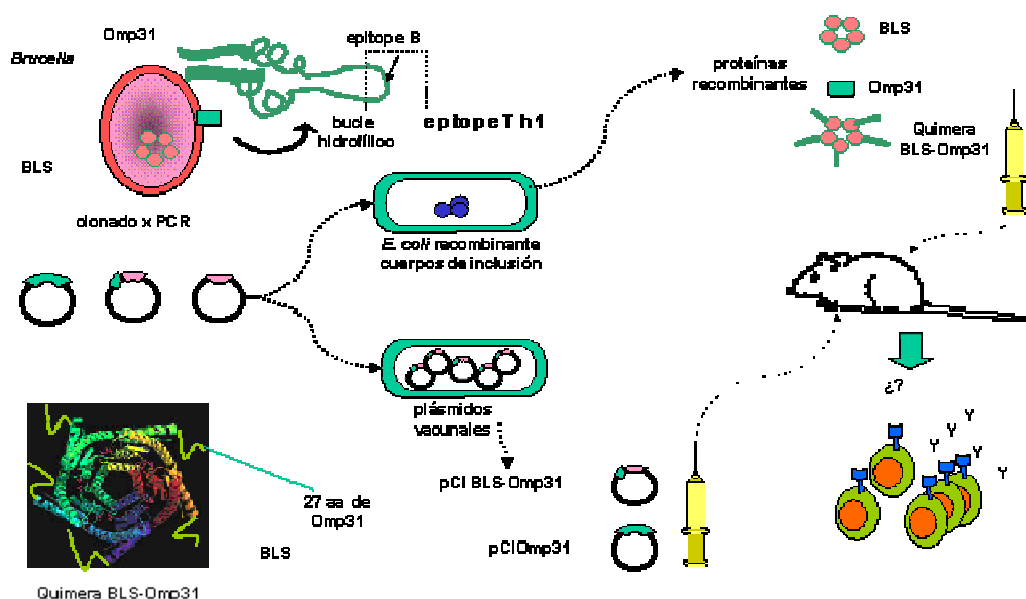
“En nuestro laboratorio trabajamos en el desarrollo de vacunas de subunidades, que consisten en utilizar determinados componentes de las bacterias causantes de brucelosis, por ejemplo, proteínas, pero nunca la bacteria entera. La ventaja de estas vacunas es que no entrañan riesgo de infección y que su producción es estandarizable”, agregó la investigadora. “Ensayamos vacunas utilizando proteínas recombinantes y también vacunas de ADN”, señaló, por su parte, Giambartolomei .

Vacunas de subunidades

Las vacunas de subunidades, llamadas también vacunas de componentes, contienen únicamente fragmentos particulares del microorganismo patógeno y no el organismo completo. Actualmente, gracias a los avances en técnicas de biología molecular, los investigadores, pueden utilizar estos componentes purificados (proteínas o péptidos o ADN) derivados de los microorganismos y se los fabrica en el laboratorio por técnicas de biología molecular.

Vacunas de ADN

Las vacunas de ADN introducen segmentos de ADN de la *Brucella* spp. en el organismo de los animales que se desea proteger. Se inyecta directamente al organismo fragmentos de ADN que contienen genes de la *Brucella* spp. Las células absorben ese ADN y lo usan para producir proteínas de la *Brucella*. Estas proteínas estimulan al organismo para que produzca una respuesta inmunitaria de defensa contra la enfermedad.



Vacunas de proteínas recombinantes y vacunas de ADN

Las vacunas actualmente en uso contra la brucelosis animal son del tipo denominado vacunas atenuadas, que se obtienen a partir de bacterias que han perdido parcialmente su virulencia como resultado de inoculaciones o siembras repetidas en medios de cultivo, pero que conservan su capacidad antigénica, es decir su potencial para despertar los sistemas de defensa.

"Pero, resulta que una de las desventajas de las vacunas actuales es que las bacterias enteras atenuadas que se utilizan no son totalmente avirulentas; conservan su capacidad de replicarse y, consecuentemente, pueden provocar la infección" señaló Cassataro.

La estrategia utilizada por los investigadores argentinos fue trabajar con proteínas recombinantes de Brucella spp. Las proteínas recombinantes son iguales a las proteínas que están normalmente en la bacteria agente de la brucelosis, pero obtenidas en el laboratorio mediante técnicas de biología molecular. Consiste en un truco tecnológico por el cual los investigadores transfieren un gen de la Brucella spp. a otra bacteria más amigable y suficientemente entrenada para trabajar en el laboratorio "en colaboración" con los investigadores. Esta bacteria amiga fue la Escherichia coli, que una vez que tiene inserto el gen "ajeno" comienza a producir la proteína de interés como si se tratara de la otra bacteria, la Brucella spp. De este modo los científicos obtienen la proteína que necesitan, la purifican y pueden efectuar los ensayos de laboratorio.

El equipo de investigadores que obtuvo el Premio Margni 2005 probó en ratones varias de esas proteínas, producidas mediante técnicas biomoleculares, y encontró que los candidatos que ofrecían mayor protección a los animales del estudio eran dos: las proteínas brucella lumazina sintetasa (BLS) y OMP 31.

Así fue que, basándose en la estructura de la BLS, le agregaron una parte de la OMP31. "Por inserción de un péptido de la OMP31 en la estructura de la BLS construimos una proteína que es quimérica entre las dos", explicó Giambartolomei.

"Los niveles de protección que logramos con esta vacuna fueron mayores contra *B. ovis* (brucelosis ovina) o similares contra *B. melitensis* (brucelosis caprina y humana) que los que se obtienen con las cepas de bacterias atenuadas utilizadas normalmente", relató la investigadora. Con estos resultados obtuvieron el Premio de Inmunología de CEDIQUIFA.

El otro tipo de vacuna que desarrollaron y ensayaron los investigadores argentinos es del tipo vacuna de ADN.

"La vacuna de ADN consiste en inocular en los animales que se desea proteger el gen de la bacteria *Brucella* spp que codifica para la proteína de interés. De esta manera se logra que el animal vacunado produzca por sí mismo la proteína", explicó Cassataro. Y concluyó: "Con esta estrategia hemos logrado resultados todavía más alentadores".

Actualmente los científicos argentinos, habiendo concluido los ensayos básicos, en laboratorio, iniciaron las pruebas en campo: están implementando la Fase I en inmunización de ovejas.

Ficha técnica del equipo galardonado



Equipo de investigadores. La colega de negro es Juliana Cassataro, primera autora del trabajo ganador. El colega de pelo blanco con corbata a rayas verdes, azules y rojas es Guillermo Gianbartolomei.

El equipo que se adjudicó el Premio Margni 2005 está integrado por los doctores:
Juliana Cassataro (Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET – UBA)
Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA – Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de
Clínicas. UBA).
Karina A. Pasquevich (Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET – UBA)
Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA – Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de
Clínicas. UBA).
Silvia Estein (Laboratorio de Inmunología. Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional del Centro, Tandil).
Astrid Zwerling (Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET – UBA)
Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA – Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de
Clínicas. UBA).
Carlos A. Fossati (Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET – UBA).
Fernando A. Goldbaum (Instituto Leloir, UBA CONICET).
Guillermo H. Giambartolomei (Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET
– UBA) Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA – Laboratorio de Inmunogenética.
Hospital de Clínicas. UBA).

Financiación de la investigación

Los estudios fueron financiados con fondos de la Agencia Nacional de Promoción Científica y la Fundación Antorchas.

Los integrantes del equipo son investigadores del CONICET y docentes de la Universidad de Buenos Aires y la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

Una enfermedad antigua y con diversos nombres

La brucelosis fue denominada inicialmente “fiebre ondulante” debido a que la temperatura de los afectados por la enfermedad ascendía, al atardecer, desde los niveles normales hasta superar los 40 °C.

Durante los siglos XVII y XIII se registraron numerosos informes en toda la zona mediterránea. La enfermedad fue recibiendo, también, muy diversos nombres: fiebre del Mediterráneo, fiebre del Peñón de Gibraltar, fiebre del Danubio, fiebre de Chipre, fiebre de Malta, entre otros.

En 1810, un médico de la Armada británica, Sir William Burnett, fue el primero en diferenciar varios tipos de fiebre que afectaban a los marinos destacados por entonces en el Mediterráneo.

Se estima que el nombre de fiebre de Malta perduró debido a que Malta se había convertido en un centro importante de estudio de la “fiebre ondulante” porque buena parte de la Armada británica se había asentado allí luego de la guerra de Crimea (1853-1856).

Un cirujano de la Armada británica, J. A. Marston, contrajo la fiebre y fue quien, por primera vez, describió en detalle cómo se desarrollaba la enfermedad, a partir de relatar sus propios padecimientos. Marston sufrió episodios de fiebre irregular entre 30 y 90 días, con síntomas gastrointestinales y dolores articulares y musculares.

7

El microorganismo causante de la enfermedad fue descubierto el 9 de julio de 1887 por Sir David Bruce, también médico de la Armada británica. Lo denominó *Micrococcus melitensis*, luego de aislarlo del bazo de un soldado británico muerto por la enfermedad.

Bruce halló que el microorganismo patógeno se desarrollaba mejor en altas temperaturas y especuló que este hecho podría explicar el incremento de casos que se registraba durante los meses de verano. Sus estudios permitieron comprender mejor la epidemiología de la enfermedad. Por ejemplo, Bruce encontró que los oficiales tenían tres veces más posibilidades de contraer la fiebre que los soldados, debido a que los oficiales accedían al consumo de mucha mayor cantidad de leche que la tropa.

En 1897, un médico y veterinario dinamarqués, Bernhard Bang, descubrió el microorganismo responsable de los casos de abortos que afectada al ganado vacuno en Dinamarca desde hacía por lo menos un siglo. Lo denominó *Bacterius abortus*. También encontró que ese microorganismo afectaba a caballos, ovejas y cabras. Por esa razón, la enfermedad en los animales fue inicialmente denominada "enfermedad de Bang".

La conexión entre la enfermedad animal y la humana fue descubierta en la década de 1920 por la bacterióloga estadounidense Alice Evans. Como la morfología del microorganismo y la patología que provocaba eran muy similares en la enfermedad de Bang y en la fiebre de Malta, Evans postuló que la *Bacterius abortus* de Bang, y el *Micrococcus melitensis* de Bruce eran el mismo organismo.

Con el transcurso del tiempo quedó establecido el nombre de *Brucella* para denominar a los organismos que provocan la fiebre, y de brucelosis, para designar la enfermedad, en honor a Sir David Bruce.

Fuente: "Brucellosis". The Center for Food Security & Public Health. Iowa University, 2004.