

JOSE LLORED CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-027823- -00009-0000

Fecha: 2013-02-11 16:33:30

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 15

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: PI.-**SYSMEX CORPORATION**.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "**EQUIPO DE REACTIVOS PARA MEDICIÓN DE BASÓFILOS Y/O ERITROCITOS NUCLEADOS**".-Clase **G01N 33/49**.- Expediente número **10-027.823**.-

1. Me refiero al Oficio No. **17373** dictado por ese Despacho mediante fijación en lista de 2 de Octubre de 2012.

2. Con el fin de responder a las objeciones expuestas por el señor Examinador con respecto a la Claridad y Concisión del capítulo reivindicatorio, la Unidad de Invención, la Novedad y el Nivel Inventivo de la presente solicitud, me permito presentar las siguientes modificaciones en el capítulo reivindicatorio de la solicitud de patente en cuestión y los siguientes argumentos técnicos, por medio de los cuales se superan completamente dichas objeciones.

3. **MODIFICACIONES EN EL CAPITULO REIVINDICATORIO**

Tomando en consideración los diferentes señalamientos realizados por el señor Examinador en el Oficio antes referenciado, me permito manifestar que es deseo del solicitante **modificar el capítulo reivindicatorio actualmente presentado** con el propósito de limitar la materia reclamada por la presente invención a sus realizaciones más preferidas e identificar con mayor claridad y concisión sus características técnicas novedosas.

Respecto a estas modificaciones, me permito resaltar que no implican de ninguna manera una ampliación al alcance de la solicitud, tal como fue originalmente presentada, toda vez que se está limitando el alcance de la solicitud de conformidad con las realizaciones preferidas de la invención, como se presenta a continuación:

- **Reivindicación 1:** Tiene como base las reivindicaciones 1 y 2 actualmente presentadas, en la cual se ha limitado la definición de los reactivos que conforman el kit de reactivos en concordancia con las revelaciones de las páginas 13 (líneas 3 a 13), 14 (líneas 5 a 15), 17 (líneas 8 a 13), 22 (líneas 10 a 15), 26 (19 a 25), 27 y 28 (líneas 1 a 21).

- **Reivindicaciones 2 y 3:** corresponden a las reivindicaciones 3 y 4 respectivamente actualmente presentadas cuya dependencia se ha ajustado a la nueva numeración.

- **Reivindicaciones 4 a 12:** corresponden a las reivindicaciones 8 a 12 respectivamente actualmente presentadas cuya dependencia se ha ajustado a la nueva numeración.

Finalmente me permito señalar que las reivindicaciones 5-7 y 17-19 actualmente presentadas han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio ahora modificado.

En vista de lo anterior, el capítulo reivindicatorio modificado que se adjunta a este memorial queda constituido por **12 reivindicaciones** que reclaman el objeto de la presente solicitud de manera clara y concisa a través de las características técnicas esenciales de sus realizaciones más preferidas.

4. **CLARIDAD Y CONCISIÓN DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**

Con respecto al capítulo reivindicatorio actualmente presentado, el señor Examinador indica que la definición de los reactivos que conforman el kit de reactivos reclamado por la presente solicitud sería demasiado amplia y por lo tanto no permite limitar la extensión de la materia objeto que se desea proteger.

En respuesta a este señalamiento, me permito manifestar que se ha restringido la definición de los reactivos que conforman el kit de reactivos reclamado por la presente solicitud tal como se lee a continuación:

- El agente tensioactivo catiónico es un tipo de una sal de amonio cuaternario de fórmula general (III) o una sal de piridinio de fórmula general (IV);
- El agente tensioactivo no iónico es seleccionado del grupo que consiste de un polioxietilen-alquil-éter, un polioxietilen-polioxipropilen-alquil-éter, un aceite de ricino polioxietilenado, un aceite de ricino hidrogenado

polioxietilenado, un esteroil polioxietilenado o un esteroil hidrogenado polioxietilenado;

- El ácido carboxílico aromático es seleccionado del grupo que consiste en ácido salicílico, ácido ftálico, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido aminobenzoico y sales de los mismos;
- El tinte fluorescente es seleccionado de cualquiera de los compuestos de las fórmulas estructurales generales (I) y (II);
- El grupo alquilo se ha limitado a un número de átomos de carbono comprendido entre 1 y 20;
- El anión en las estructuras (I), (III) y (IV) es seleccionado del grupo que consiste en F^- , Cl^- , Br^- , I^- , $CF_3SO_3^-$, BF_4^- y ClO_4^- ;
- El grupo ácido es seleccionado del grupo que consiste en un grupo carboxilo, un grupo sulfónico y un grupo fosfórico;
- El grupo alquilo que contiene opcionalmente un grupo ácido corresponde a un alquilo C_{1-20} que contiene grupo ácido seleccionado de un grupo carboxilo, un grupo sulfónico o un grupo fosfórico;
- La sal de amonio cuaternario corresponde al compuesto de fórmula general (III);
- La sal de piridinio corresponde al compuesto de la fórmula estructural (IV); y
- El agente amortiguador es seleccionado del grupo que consiste de ácido málico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido diglicólico, ácido malónico y ácido succínico

En éste sentido me permito resaltar que el kit de reactivos reclamado por la presente solicitud está inequívocamente caracterizado por los reactivos que lo conforman, por lo cual queda superada la objeción que en este sentido fue presentada por el señor Examinador.

Adicionalmente, el señor Examinador manifiesta que el kit de reactivos reclamado por las reivindicaciones 17 a 19 son definidas por medio de resultados a alcanzar.

En respuesta a esta objeción me permito manifestar que las reivindicaciones 17 a 19 actualmente presentadas han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio ahora modificado, superando así la objeción que en este sentido fue presentada por el señor Examinador.

Finalmente el señor examinador que la expresión "equipo de reactivos" no es adecuada para referirse a la materia objeto de la presente solicitud.

Acatando este señalamiento me permito resaltar que dicho término ha sido remplazado por la expresión "kit de reactivos".

Visto lo anterior me permito manifestar que el capítulo reivindicatorio modificado de la presente solicitud de patente en cuestión cumple a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 30 de la decisión 486 de 2000, toda vez que es claro, conciso y presenta pleno sustento en la descripción de la solicitud.

5. UNIDAD DE INVENCION

De otra parte, el Señor Examinador señala que la solicitud en estudio carecería de unidad de invención, toda vez que está dirigida a cuatro grupos inventivos: el kit de reactivos para medir basófilos y/o eritrocitos nucleados, el kit de reactivos para medir leucocitos y eritrocitos nucleados, el kit de reactivos para medir basófilos y leucocitos diferentes a basófilos, y el kit de reactivos para medir basófilos, leucocitos diferentes a basófilos, eritrocitos nucleados y leucocitos.

A este respecto me permito resaltar que en virtud de las modificaciones realizadas sobre el capítulo reivindicatorio, expuestas anteriormente en el presente memorial, la reclamación se centra únicamente en el kit de reactivos para medir basófilos y eritrocitos nucleados, y las reivindicaciones referidas los demás kits de reactivos (reivindicaciones 17, 18 y 19), han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio.

Consecuentemente, las reivindicaciones modificadas se refieren a materia que se encuentra cobijada por el mismo concepto inventivo, y por lo tanto el mencionado capítulo reivindicatorio modificado se ajusta completamente a las exigencias del Artículo 25 de la Decisión Andina 486 de 2000.

6. NOVEDAD

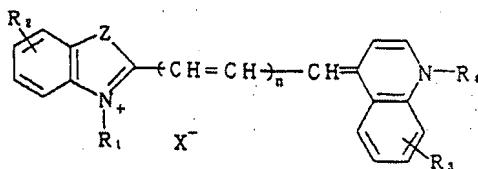
De otra parte, el señor Examinador asegura que la reivindicación 1 actualmente presentada sería anticipada por las enseñanzas del documento **EP0882983 (D1)**.

A este respecto, el señor examinador indica que todas las características esenciales del kit de reactivos reclamado por la reivindicación 1 de la presente solicitud estarían reveladas en dicho documento.

Sobre este particular me permito resaltar que **en virtud de las modificaciones de capítulo reivindicatorio presentado junto con este memorial**, existen diferencias significativas entre las revelaciones de D1 y el kit de reactivos reclamado en la nueva reivindicación 1 de la presente invención, que hacen que la invención no pueda ser de ninguna manera anticipada por el arte previo, tal como se expone a continuación.

En primer lugar, el documento D1 revela un kit de reactivos para la clasificación y el recuento de leucocitos conformado por:

- a) Un agente hemolítico por medio del cual se lleva a cabo la lisis de los eritrocitos presentes en una muestra de sangre, y
- b) Un tinte fluorescente que tiene la propiedad de aumentar notablemente su intensidad de fluorescencia mediante la unión a ARN, el cual está representado la fórmula estructural:

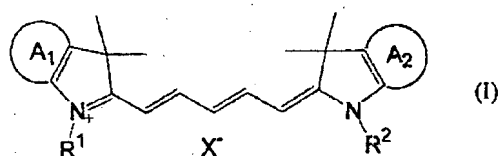


Fórmula estructural del tinte revelado por D1.

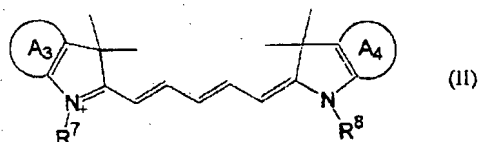
Donde dicho agente hemolítico de D1, es una solución acuosa de pH 4,5 a 11,0, preferiblemente de 5,0 a 10,0, que contiene al menos un tensoactivo catiónico, al menos un tensoactivo no iónico, y un buffer para mantener el pH de dicho agente hemolítico constante (páginas 3 y 4 de D1).

De otro lado, la nueva reivindicación 1 de la presente solicitud reclama un kit de reactivos para el recuento de basófilos y eritrocitos nucleados que comprende:

- a) Un primer reactivo que contiene un agente tensoactivo catiónico, un agente tensoactivo no iónico y un ácido carboxílico aromático, por medio del cual se lleva a cabo la lisis de eritrocitos en una muestra de sangre, y adicionalmente se deteriora la membrana celular de los leucocitos de modo tal que se pueda permear a través de dicha membrana un tinte fluorescente; y
- b) Un segundo reactivo que contiene un tinte fluorescente capaz de teñir ácidos nucleicos, el cual puede ser seleccionado de cualquiera de las fórmulas generales (I) ó (II):



Fórmula general (I) del tinte fluorescente de la presente invención



Fórmula general (II) del tinte fluorescente de la presente invención

De esta forma, si bien el documento D1 revela un kit de reactivos compuesto por un agente hemolítico que contiene un tensoactivo catiónico y un tensoactivo no iónico por medio del cual se lleva a cabo la lisis de eritrocitos en una muestra y un tinte fluorescente capaz de teñir ácidos nucleicos entre los que se encuentra el ARN dicho documento no revela de manera particular ninguna de las estructuras (I) y (II) de los tintes reclamados por la nueva reivindicación 1 de la presente solicitud.

Consecuentemente, resulta evidente que el kit de reactivos que es objeto de la nueva reivindicación 1 de la presente solicitud no puede de ninguna manera ser anticipado por las enseñanzas del documento D1, y por lo tanto es innegable el carácter novedoso dela presente solicitud.

7. **NIVEL INVENTIVO**

Sobre este particular, el señor Examinador considera que la reivindicación 2 actualmente presentada carece de nivel inventivo a la luz de las enseñanzas de los documentos **D1, US6004536 (D2) y US6027709 (D3)**.

En éste sentido, con relación al documento D1 el señor examinador señala que la diferencia entre kit de reactivos revelado por dicha anterioridad y la invención reclamada en la reivindicación 2 de la presente solicitud es la estructura del tinte fluorescente.

Por otro lado con respecto al documento D2 el señor Examinador manifiesta que la estructura del tinte fluorescente reclamado por la reivindicación 2 de la presente solicitud habría sido anticipada por la estructura del tinte fluorescente utilizado en D2 para teñir estructuras lipofílicas.

Del mismo modo, el señor Examinador sostiene que la estructura del tinte fluorescente reclamado por la reivindicación 2 de la presente solicitud habría sido anticipada por la estructura del tinte fluorescente utilizado en D3 para teñir oligonucleótidos y biomoléculas.

En consecuencia, el señor examinador afirma que la persona del oficio medianamente versada en la materia incluiría los tintes fluorescentes de los documentos D2 y D3 en el kit de reactivos de D1 para así obtener la materia objeto de la reivindicación 2 actualmente presentada.

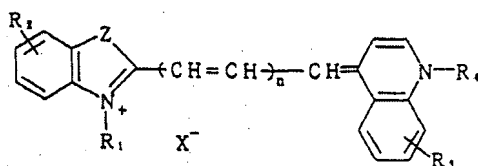
En conexión con lo anterior, el Señor Examinador concluye que los documentos D1, D2 y D3 también afectan el nivel inventivo de las reivindicaciones 3-16 de la presente solicitud.

Ahora bien, en respuesta a éstos señalamientos me permito dirigir la atención de esa Oficina a las siguientes consideraciones y argumentos técnicos por medio de los cuales se pone de manifiesto que las enseñanzas de los documentos citados no permitirían por sí mismos ni en combinación que la persona versada en la materia pudiera deducir de forma obvia el kit de reactivos reclamado por la presente invención, razón por la cual la solicitud en estudio sí goza de nivel inventivo.

7.1. Nivel inventivo de la solicitud frente a las enseñanzas del Documento EP0882983 (D1).

En primer lugar, me permito señalar que el documento D1 revela un kit de reactivos para la clasificación y el recuento de leucocitos conformado por:

- Un agente hemolítico por medio del cual se lleva a cabo la lisis de los eritrocitos presentes en una muestra de sangre, y
- Un tinte fluorescente que tiene la propiedad de aumentar notablemente su intensidad de fluorescencia mediante la unión a ARN, el cual está representado la fórmula estructural:



Fórmula estructural del tinte revelado por D1.

Donde dicho agente hemolítico de D1, es una solución acuosa de pH 4,5 a 11,0, preferiblemente de 5,0 a 10,0, que contiene al menos un tensoactivo catiónico, al menos un tensoactivo no iónico, y un buffer para mantener el pH de dicho agente hemolítico constante (páginas 3 y 4 de D1).

En dicho kit de reactivos revelado en D1, el tinte fluorescente que conforma el segundo reactivo aumenta notablemente su intensidad de fluorescencia mediante la unión a ARN, lo cual permite llevar a cabo el recuento y clasificación de 5 especies de leucocitos normales simultáneamente con la clasificación y recuento de células anormales, ya que como es bien sabido por la persona versada en la materia la mayoría de las células anormales, tales como leucocitos inmaduros o leucocitos anormales son ricos en ARN en comparación con los leucocitos normales (páginas 3 y 6 de D1).

Sin embargo a pesar de las características del tinte fluorescente antes mencionadas me permito resaltar que la clasificación simultánea de basófilos en una muestra de sangre es un efecto inesperado del uso de dicho tinte de D1, tal y como se evidencia en la página 5 y en la figura 2 de dicha anterioridad, donde no se evidencian agrupaciones de basófilos.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Adicionalmente me permito señalar que la presencia de células anormales tales como eritrocitos nucleados en una muestra sanguínea puede ocasionar falsos positivos respecto al recuento de leucocitos en la misma, toda vez que los núcleos de dichas células permanecen en la muestra aún después de que se ha llevado a cabo la lisis de los eritrocitos presentes.

Así las cosas, para la persona versada en la materia será claro que la clasificación y recuento de leucocitos en muestras que contiene células anormales con núcleo puede generar falsos positivos respecto al recuento de leucocitos en la misma.

De otro lado, me permito señalar que el agente hemolítico revelado en D1 para llevar a cabo la lisis de los eritrocitos tiene un pH preferido comprendido en un rango entre 5 a 10, tal y como se evidencia en los ejemplos 3 y 4 de D1, en los cuales se lleva a cabo la clasificación y el conteo de leucocitos y células anormales en un medio con pH 7.

A este respecto, me permito dirigir la atención de ese Despacho al hecho que un pH demasiado bajo en una muestra que contiene leucocitos no permite la separación adecuada de eosinófilos y basófilos, por lo que solamente se puede llevar a cabo la clasificación y el recuento de leucocitos normales de 3 tipos (linfocitos, monocitos y granulocitos) y de células anormales como leucocitos inmaduros y leucocitos anormales (página 4 de D1) en pH demasiado ácidos.

Por otro lado, a diferencia del procedimiento revelado en D1, **la presente invención presenta un kit de reactivos para la determinación de basófilos y eritrocitos nucleados en condiciones ácidas, tal y como se evidencia en los ejemplos 1 a 8, donde la clasificación y el conteo de dichas células se lleva a cabo en una muestra con un pH de 3.**

En éste sentido me permito resaltar que **el uso en la presente invención de los tintes fluorescentes con fórmulas (I) y (II) en un medio ácido permite una alta diferenciación de los basófilos respecto a los demás leucocitos presentes en la misma muestra,** tal y como se muestra en la figura 2, en donde la agrupación de basófilos aparece en una región cuya intensidad de luz dispersada lateral e intensidad dispersada directa es mayor que aquella presentada por los demás leucocitos.

Adicionalmente, utilizando dicho kit de reactivos reclamado por la nueva reivindicación 1 de la presente solicitud se puede llevar a cabo una discriminación clara de eritrocitos nucleados en una muestra sanguínea que contiene leucocitos sin generar falsos positivos, tal y como se observa en la figura 1 de la presente solicitud, en donde la agrupación de eritrocitos nucleados aparece en la región cuya intensidad fluorescente es menor que aquella de los leucocitos. Además en esta misma figura se puede observar que la agrupación de basófilos aparece en la región cuyo tamaño es más grande con lo cual se pueden diferenciar dichas células de los demás leucocitos presentes en la muestra.

En vista de lo anterior, **dado que D1 revela un kit de reactivos en el cual se lleva a cabo la caracterización y el recuento simultaneo de los 5 tipos de leucocitos normales y células anormales a un pH neutro, la persona versada en la materia no encontraría en D1 alguna indicación o sugerencia que la condujera a diseñar un kit de reactivos para el recuento exclusivo de basófilos y eritrocitos nucleados en una muestra sanguínea utilizando un medio ácido, y mucho menos a partir de las enseñanzas de D1 la persona versada en la materia podría tener algún indicio de los sorprendentes resultados obtenidos para caracterizar dichas células en un pH inferior a 4,5.**

En vista de lo anterior, queda claramente establecido que la presente invención tal y como se reclama en la nueva reivindicación 1 es inventiva frente a las enseñanzas de D1, toda vez que a partir de las revelaciones de dicha referencia para la persona versada en la materia no resultaría de ninguna manera obvio diseñar un kit de reactivos para el recuento de basófilos y eritrocitos nucleados en una muestra con un pH inferior a 4,5, y mucho menos sería evidente para dicha persona la sorprendente caracterización de dichas células.

Consecuentemente, las reivindicaciones 2 a 12 del capítulo reivindicatorio ahora modificado de la presente solicitud también gozan de nivel inventivo frente a las enseñanzas de D1, toda vez que son reivindicaciones dependientes de la reivindicación 1 la cual conlleva nivel inventivo frente a las revelaciones de D1 como se discutió anteriormente.

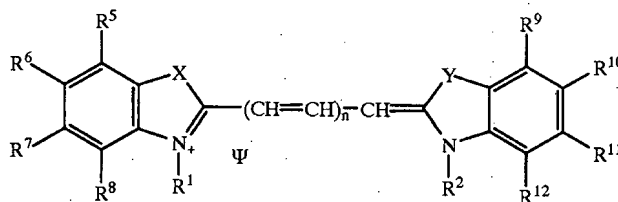
7.2. Nivel inventivo de la solicitud frente a las enseñanzas del documento US6004536 (D2).

Por otro lado, el documento D2 revela tintes de cianina, útiles para teñir estructuras lipofílicas tales como membranas celulares, liposomas, lipoproteínas y

JOSE LLORED A CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

polímeros los cuales pueden agruparse en la siguiente fórmula general:



Fórmula general de los tintes revelados por D2

Dicho tinte de cianina revelado en D2 es utilizado para etiquetar líneas de células B linfoides humanas por medio de un procedimiento que consiste en mezclar una suspensión de dichas células con una solución de etiquetado que contiene una concentración de tinte comprendida entre 2 y 20µM, la cual posteriormente es incubada a 37°C por el tiempo suficiente para obtener una tinción detectable.

En este sentido me permito dirigir la atención de ese Despacho al hecho que los tintes revelados en D2 son utilizados exclusivamente para detectar las células que han sido etiquetadas, razón por la cual dichas células pueden ser utilizadas en un ensayos posteriores, tal y como se observa en el ejemplo 36 de D2 en donde las membranas celulares de las células marcadas son permeabilizadas en un medio con acetona a -20°C para llevar a cabo ensayos tales como la detección de la actividad enzimática con sustratos cromogénicos o fluorogénicos.

Adicionalmente, me permito resaltar que la células etiquetadas en D2, son líneas celulares derivadas de linfocitos de sangre periférica, las cuales son transformadas por medio del virus Epstein-Barr (VEB) (ejemplo 2 de D2).

Contrario a las revelaciones de D2, el tinte fluorescente que hace parte del kit de reactivos reclamado por la presente solicitud permite la cuantificación y caracterización específica de basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre por medio de la tinción de los ácidos nucleicos de dichas células, tal y como se evidencia en las figuras 1 y 2 de la presente solicitud en donde los basófilos y los eritrocitos nucleados presentan agrupaciones que permiten ser caracterizadas y cuantificadas por medio de citometría de flujo

Además, me permito señalar el hecho que el tinte fluorescente que hace parte de kit de reactivos reclamado por la presente solicitud no necesita incubación para teñir los ácidos nucleicos presentes en la muestra de sangre, lo cual hace más viable la aplicación industrial de dicho kit, toda vez que no es necesario incubar las muestras para teñir los basófilos y los eritrocitos nucleados presentes en ella, lo que ese traduce en costos más bajos de capital y de operación.

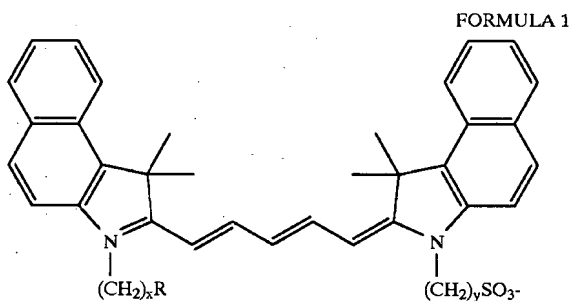
En vista de lo anterior me permito señalar que la persona versada en la materia no encontraría en el documento D2 ninguna sugerencia que le diera una expectativa razonable de que el uso de dicho tinte le permitiría teñir ácidos nucleicos, ni a partir de sus enseñanzas la persona versada en la materia podría encontrar una sugerencia que lo llevara de manera obvia a incluir los tintes revelados en dicha anterioridad en un kit de reactivos para cuantificar los basófilos y eritrocitos nucleados presentes en un muestra de sangre.

En vista de lo anterior queda claramente establecido, que la presente invención tal como se reclama en la nueva reivindicación 1 es inventiva frente a las enseñanzas de D2.

Adicionalmente, las nuevas reivindicaciones 2 a 12 de la presente solicitud también gozan de nivel inventivo frente a las enseñanzas de D2, toda vez que son reivindicaciones que son dependientes de la reivindicación 1 la cual conlleva nivel inventivo frente a D2 como se discutió anteriormente.

7.3. Nivel inventivo de la solicitud frente a las enseñanzas del documento US6027709 (D3).

Ahora bien, con respecto al documento D3 me permito señalar que dicha anterioridad revela el uso de tintes de cianina útiles para etiquetar biomoléculas, los cuales pueden agruparse en la fórmula general (I):



Donde R puede ser -OH, -CO₂H, NH₂, o -NCS.

Dicho tinte de D3 se enlaza por medio de la química de la fosforamidita a biomoléculas tales como ADN y ARN cuando el grupo reactivo R corresponde a un grupo hidroxilo. El uso de la fosforamidita permite etiquetar dichas biomoléculas durante el proceso de síntesis de las mismas, toda vez que el nucleótido protegido es marcado mientras que está unido a un soporte en fase sólida y posteriormente el extremo 5'-OH libre se hace reaccionar con la fosforamidita y un tetrazol activador para formar un enlace fosfito que posteriormente se oxida a fosfato. Finalmente la biomolécula de ADN o ARN marcada se separa de la fase sólida utilizando amoníaco u otro procedimiento estandarizado (columnas 4 y 5 de D3).

Así las cosas, para la persona versada en la materia será claro que la estructura del tinte revelado en D3 debe presentar un grupo reactivo hidroxilo para etiquetar moléculas tales como ADN y ARN.

Por otro lado, es sabido por la persona versada en la materia que las fosforamiditas se utilizan en medios anhidros, tales como acetonitrilo anhidro. A este respecto, me permito dirigir la atención de ese Despacho al hecho que los tintes de D3 son utilizados para marcar moléculas de AND que pueden ser utilizadas como iniciadores, tal y como se observa en el ejemplo 1 de D3, en donde dichas moléculas de ADN etiquetadas pueden ser utilizadas como iniciadores en el método de Sanger de secuenciación de ADN, un iniciador de cola para genotipificación o como sonda de hibridación.

Por otro lado, a diferencia del tinte revelado en D3, **los tintes fluorescentes de las fórmulas (I) y (II) que hacen parte del kit de reactivos reclamado por la presente invención son utilizados para cuantificar y caracterizar específicamente basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre.**

En éste sentido me permito resaltar que, **ninguna de las moléculas reclamadas por la presente invención presentan un grupo reactivo hidroxilo, tal y como se evidencia en la definición de los sustituyentes R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ y R¹⁷ y los anillos A₁, A₂, A₃ y A₄ incluida en la nueva reivindicación 1.**

Adicionalmente me permito resaltar que los basófilos y eritrocitos nucleados presentes en la muestra analizada con el kit de reactivos reclamado por la presente invención son teñidos en una solución acuosa.

En vista de lo anterior, **dado que D3 revela el uso de tintes de cianina útiles para etiquetar moléculas de ADN que sirven como iniciadores en métodos de secuenciación de ADN, la persona versada en la materia no encontraría en D3 alguna indicación o sugerencia que la condujera incluir dichos tintes en un kit de reactivos para cuantificar los basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre, y mucho menos a partir de las enseñanzas de D3 la persona versada en la materia podría tener algún indicio de los sorprendentes resultados de la caracterización de dichas células en la muestra analizada.**

En vista de lo anterior, queda claramente establecido que la presente invención tal y como se reclama en la nueva reivindicación 1 es inventiva frente a las enseñanzas de D3, toda vez que a partir de las revelaciones de dicha referencia para la persona versada en la materia no resultaría de ninguna manera obvia la inclusión de un tinte de cianina como el de la fórmula (I) para llevar a cabo la cuantificación de basófilos y eritrocitos nucleados en una muestra de sangre, y mucho menos sería evidente para dicha persona la sorprendente caracterización de dicha células en la muestra analizada.

Consecuentemente, las reivindicaciones 2 a 12 del capítulo reivindicatorio ahora modificado de la presente solicitud también gozan de nivel inventivo frente a las enseñanzas de D3, toda vez que son reivindicaciones dependientes de la nueva reivindicación 1 la cual conlleva nivel inventivo frente a las revelaciones de D3 como se discutió anteriormente.

7.4. Nivel inventivo de la solicitud frente a la combinación de las enseñanzas de los documentos D1, D2 y D3.

Ahora bien, con respecto a la combinación de las enseñanzas de los documentos D1, D2 y D3 el señor examinador asegura que:

"la persona del oficio medianamente versada en la materia habría inferido sin mucho esfuerzo de su parte, incluir los tintes fluorescentes de los documentos D2 o D3 en el equipo de reactivos de D1 para obtener más equipos de reactivos con la capacidad de análisis de la muestra" (SIC).

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

En respuesta a éste señalamiento me permito manifestar que a partir de la combinación de enseñanzas de los documentos D1, D2 y D3 la persona versada en la materia no podría llegar de manera obvia al objeto de la solicitud en vista de las siguientes razones:

Para comenzar me permito señalar que D2 revela el uso de tintes de cianina para teñir las estructuras lipofílicas de líneas celulares derivadas de linfocitos de sangre periférica.

Adicionalmente, me permito manifestar que D3, revela el uso de tintes de cianina útiles para marcar moléculas de ADN útiles como iniciadores en métodos de secuenciación de ADN.

Por otro lado, el Problema Técnico objetivo que pretende resolver la presente invención es proporcionar un kit de reactivos que permita determinar la cantidad de basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre.

Dicho problema es resuelto por el kit de reactivos definido en la nueva reivindicación 1 de la presente solicitud, con el cual se obtienen agrupaciones de basófilos y eritrocitos nucleados que pueden ser caracterizadas y cuantificadas por medio de citometría de flujo. (Figuras 1 y 2).

En cambio, ni el documento D1 ni los documentos D3 y D4 están dirigidos a resolver éste problema y la solución provista por la presente solicitud tampoco es mencionada ni sugerida en D1, D2 o D3.

En éste sentido, **me permito manifestar que a partir de los documentos D2 y D3 la persona versada en la materia no encontraría una motivación para caracterizar y cuantificar basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre** utilizando un tinte para teñir los ácidos nucleicos de dichas células, toda vez que los tintes de cianina revelados en dichas anterioridades no son utilizados para cuantificar las moléculas que colorean.

Adicionalmente a partir de las enseñanzas de tales documentos del estado del arte la persona versada en la materia no podría tener una expectativa razonable de que al introducir dichos tintes en el kit de reactivos de D1 le permitiría caracterizar y cuantificar los basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre, toda vez que el tinte revelado por D2 es utilizado para teñir la membrana celular de células derivadas de linfocitos periféricos de la sangre y el tinte revelado en D3 es

utilizado para marcar moléculas de ADN útiles en procesos de secuenciación de ADN de tales como el método de Sanger.

En vista de lo anterior, la persona versada en la materia reconocerá que al incorporar los tintes de cianina revelados en D2 y D3 en el kit de reactivos de D1, no permite llegar al objeto de la presente solicitud que es un kit de reactivos para clasificar y cuantificar los basófilos y eritrocitos nucleados presentes en una muestra de sangre, por lo tanto **la persona versada en la materia reconocerá que la solicitud en cuestión no puede ser obvia o evidente a partir de las enseñanzas de los documentos D1, D2 y D3 por lo tanto goza de nivel inventivo.**

Adicionalmente, las reivindicaciones 2 a 12 del capítulo reivindicatorio ahora modificado también son inventivas frente a las enseñanzas de los documentos D1, D2 y D3 toda vez que son dependientes de la inventiva reivindicación 1 ahora modificada.

8. **CONCLUSIÓN**

Para finalizar me permito indicar que en virtud de las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio, la reclamación es totalmente clara y concisa, refiriéndose únicamente a materia que comparte el mismo concepto inventivo cumpliendo así con lo exigido por la Decisión Andina 486 de 2000.

Por otro lado, en virtud de los argumentos discutidos con respecto a los documentos citados, se estableció de manera incontrovertible que el kit de reactivos reclamado por la presente invención goza de novedad y nivel inventivo frente a las enseñanzas del arte previo.

9. Anexo me permito presentar:

- (i) Recibo número 13-0011057, expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de la tasa que causan las reivindicaciones **11 y 12** presentadas junto con este memorial; y
- (ii) Copia de las páginas 80-84 que corresponden al **nuevo capítulo reivindicatorio**, descrito dentro del presente memorial, constituido por **12** reivindicaciones.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

10. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T. P. 53.215

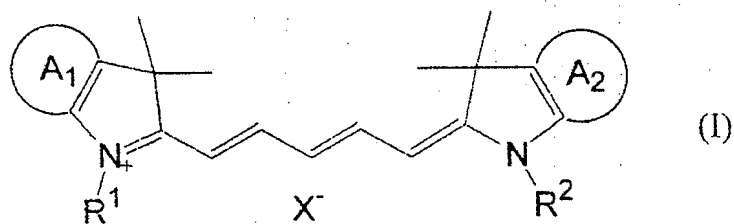
Febrero 5 de 2013 - 09:44:57

REIVINDICACIONES

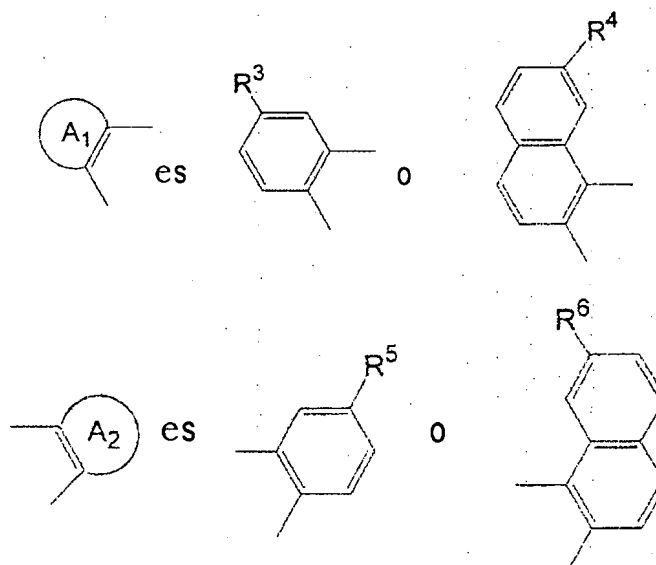
1. Un kit de reactivos para analizar una muestra para medir basófilos y eritrocitos nucleados en la muestra, que comprende:

un primer reactivo que contiene un agente tensoactivo catiónico, un agente tensoactivo no iónico y un ácido carboxílico aromático, que puede lisar eritrocitos y puede dañar la membrana celular de los leucocitos de modo que se pueda permear a través de la misma un tinte fluorescente, y

un segundo reactivo que contiene el tinte fluorescente capaz de teñir ácido nucleico, en donde dicho tinte fluorescente es seleccionado del grupo que consiste de un tinte fluorescente que tiene la fórmula general (I):

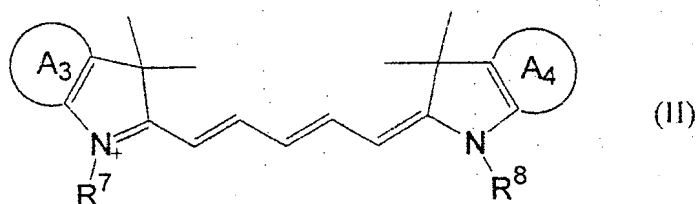


en donde: R^1 y R^2 son, los mismos o diferentes entre sí, a un grupo alquilo C_{1-20} ;

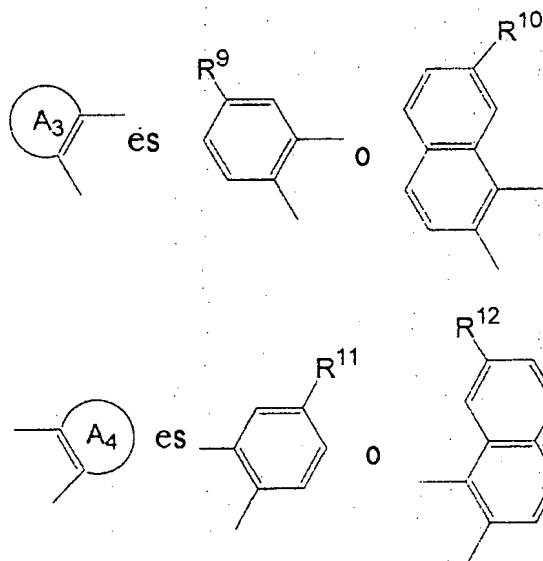


R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son, los mismos o diferentes entre sí, un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-20} ; y X^- es un anión seleccionado de F^- , Cl^- , Br^- , I^- , $CF_3SO_3^-$, BF_4^- y ClO_4^- ; y

un tinte fluorescente que tiene la fórmula general (II):

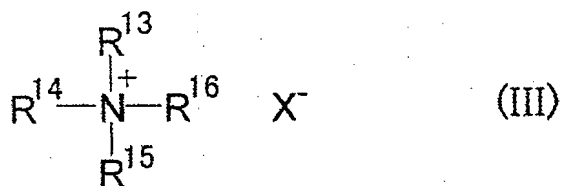


en donde: R^7 y R^8 son, los mismos o diferentes entre sí, un grupo alquilo C_{1-20} que contiene opcionalmente un grupo ácido seleccionado de un grupo carboxilo, un grupo sulfónico y un grupo fosfórico;



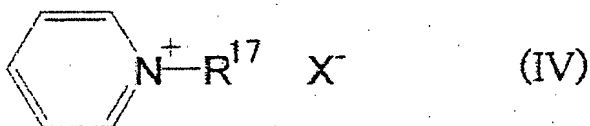
y R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} son, los mismos o diferentes entre sí, un átomo de hidrógeno o un grupo ácido seleccionado de un grupo carboxilo, un grupo sulfónico y un grupo fosfórico, con la condición que cualquiera de R^7 a R^{12} sea/tenga un grupo ácido; y el grupo ácido que puede presentarse en R^7 a R^{12} puede formar una sal, con la condición que cualquiera de los grupos ácidos que pueda presentarse en R^7 a R^{12} es un grupo del cual se ha liberado un protón;

en donde dicho agente tensoactivo catiónico es seleccionado del grupo que consiste en un tensoactivo del tipo de sal de amonio cuaternario que tiene la siguiente fórmula general (III):



En donde, R^{13} , R^{14} y R^{15} pueden ser los mismos o diferentes, y son un átomo de hidrógeno, un grupo C_{1-8} alquilo o un grupo C_{6-8} aralquilo; R^{16} es un grupo C_{8-18} alquilo, un grupo C_{8-18} alquenilo o un grupo C_{6-18} aralquilo. X^- es un anión seleccionado de F^- , Cl^- , Br^- , I^- , CF_3SO_3^- , BF_4^- y ClO_4^- ; y

un agente tensioactivo del tipo de sal de piridinio que tiene la siguiente fórmula (IV):



En donde, R^{17} es un grupo C_{8-18} alquilo; y X^- es un anión seleccionado de F^- , Cl^- , Br^- , I^- , CF_3SO_3^- , BF_4^- , ClO_4^- ;

En donde dicho agente tensoactivo no iónico es seleccionado del grupo que consiste de un polioxietilenalquiléter, un polioxietilen-polioxipropilenalquiléter, un aceite de ricino polioxietilenado, un aceite de ricino hidrogenado polioxietilenado, un esteroil polioxietilenado o un esteroil hidrogenado polioxietilenado; y

En donde dicho ácido carboxílico aromático es seleccionado del grupo que consiste en ácido salicílico,

ácido ftálico, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido aminobenzoico y sales de los mismos.

2. El Kit de reactivos según la reivindicación 1, en donde el grupo ácido que puede presentarse en R^7 a R^{12} en la fórmula general (II) es un grupo sulfónico.

3. El Kit de reactivos según la reivindicación 2, en donde el grupo ácido que forma la sal que puede presentarse en R^7 a R^{12} en la fórmula general (II) es un grupo de una sal de metal alcalino.

4. El Kit de reactivos según la reivindicación 1, en donde el pH del primer reactivo es un ácido.

5. El Kit de reactivos según la reivindicación 1, en donde el primer reactivo comprende un agente amortiguador que tiene una pKa en el intervalo de pH 2.0 a 4.5.

6. El Kit de reactivos según la reivindicación 5, en donde el agente amortiguador es seleccionado del grupo que consiste de ácido málico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido diglicólico, ácido malónico y ácido succínico.

7. Un método para analizar una muestra que comprende los siguientes pasos: lisar eritrocitos en la muestra y dañar la membrana celular de células sanguíneas de modo que pueda permear a través de las mismas un tinte fluorescente, en virtud del primer reactivo de acuerdo a la reivindicación 1, y teñir las células dañadas en virtud del segundo reactivo de acuerdo a la reivindicación 1; aplicar luz a las células teñidas para obtener información de la luz dispersada e información fluorescente, y clasificar y contar los basófilos y/o

eritrocitos nucleados en la muestra en base a la información de luz dispersada y la información fluorescente.

8. El método según la reivindicación 7, en donde la información de luz dispersada es información de luz dispersada directa, y los eritrocitos nucleados en la muestra se cuentan en base a la información de luz dispersada directa y la información fluorescente en el paso de clasificación y conteo.

9. El método según la reivindicación 7, en donde la información de luz dispersada es información de luz dispersada directa, y los basófilos en la muestra se cuentan en base a la información de luz dispersada directa y la información fluorescente en el paso de clasificación y conteo.

10. El método según la reivindicación 7, en donde la información de luz dispersada es información de luz dispersada directa e información de luz dispersada lateral, y los basófilos en la muestra se cuentan en base a la información de luz dispersada directa y la información de luz dispersada lateral en el paso de clasificación y conteo.

11. El método según la reivindicación 7, en donde los leucocitos en la muestra se clasifican adicionalmente y se cuentan en base a la información de luz dispersada y la información fluorescente en el paso de clasificación y conteo.

12. El método según la reivindicación 11, en donde la información de luz dispersada es información de luz dispersada directa, y los leucocitos en la muestra se clasifican y cuentan en base a la información de luz dispersada directa y la información fluorescente en el paso de clasificación y conteo.