

1

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-024344- -00006-0000

Fecha: 2012-12-06 16:43:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 14

Carlos R. Olarte
G. Moure

er Agudelo
os A. Parra
lpe Acosta
rés Rincón
ca Guevara
és Alvarado
Ella Ponce

Liliana Galindo
María Clara Calderón
Mauricio Ávila
Laura Escobar
José Jairo Dangond
Gina Cáceres

Medellín
María Clara Múnera

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. 09-024.344

Solicitud de patente de invención titulada: "BACTERINAS TRATADAS CON CALOR Y VACUNAS DE EMULSIÓN PREPARADAS A PARTIR DE ESTAS BACTERINAS TRATADAS CON CALOR"

Solicitante: PFIZER PRODUCTS INC

Nuestra Ref.: P2009/0000024

RESPUESTA AL OFICIO No. 13062, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 421

DE FECHA 27 DE JULIO DE 2012

(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado al momento de radicar la presente solicitud.

Así entonces, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto presenta los siguientes cambios:

- se eliminaron las Reivindicaciones 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 17 y 19 a 22;
- se combinaron las antiguas Reivindicaciones 1,3 y 5 en la nueva Reivindicación 1, la cual reclama ahora una vacuna y no una bacterina;
- se introducen las nuevas Reivindicaciones 2 a 4, las cuales encuentran soporte en la nueva Reivindicación 1;

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

- las nuevas Reivindicaciones 5, 6, 8, 7, 9, 10 y 11 corresponden a las antiguas Reivindicaciones 7, 9, 11, 13, 14, 16 y 18, respectivamente;
- se introducen las nuevas Reivindicaciones 12 a 16, las cuales encuentran soporte en las nuevas Reivindicaciones 1, 11 y 5.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

2. a- La Examinadora encuentra los siguientes problemas de claridad y concisión en las reivindicaciones:

- la Reivindicación 1 es una reivindicación de tipo “producto por proceso” que sólo es aceptable si el producto reclamado es novedoso e inventivo, y si no existen otras maneras de caracterizarlo más que el proceso;
- la actividad lipasa de la Reivindicación 1 es un resultado a alcanzar que no define estructuralmente la invención;
- las reivindicaciones son muy amplias, ya que el Capítulo Descriptivo sólo proporciona soporte para *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyposa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira Pomona*;
- el término “aproximadamente” que se encuentra en las reivindicaciones no es claro;
- el Capítulo Descriptivo no proporciona soporte para las temperaturas y el tiempo de las Reivindicaciones 1 a 6, 17 y 18, ya que dicho Capítulo sólo ilustra procesos en donde la temperatura está entre 60-70°C durante 9 a 10 horas o 65-70°C durante 5 a 8 horas;
- el Capítulo Descriptivo no ilustra combinaciones de bacterias como se reclama en las Reivindicaciones 7, 19 y 20, que contengan 5 especies de *Leptospira*;
- las emulsiones de las Reivindicaciones 8, 9, 11 y 12 no se encuentran caracterizadas de manera adecuado a través de sus componentes;
- las reivindicaciones no deben contener marcas comerciales como QuilA en las Reivindicaciones 10 y 16;
- las etapas de la Reivindicación 18 no corresponden a un proceso real para obtener el producto de la invención, sino a etapas de análisis, control o selección.

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

b- i) En primer lugar, llamo respetuosamente la atención de la Examinadora sobre las limitaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, de acuerdo con el punto 1 del presente memorial.

De acuerdo con las limitaciones realizadas, la presente invención reclama una vacuna en emulsión, caracterizada por dos componentes: una emulsión que comprende un aceite y uno o más emulsificantes, y una bacterina de *Leptospira* tratada con calor, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 10 horas o 65°C a 70°C durante una hora. Adicionalmente, se eliminó el término “aproximadamente” de las reivindicaciones, y las marcas comerciales, como QuilA, se retiraron del mismo.

ii) Ahora bien, en cuanto a la amplitud de los rangos de temperatura y tiempo, me permito llamar la atención de la Examinadora sobre el hecho que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad, como en el presente caso. Es decir, una reivindicación puede ser tan amplia como se requiera para así poder enmarcar la totalidad del concepto inventivo desarrollado y no solamente las modalidades preferidas o específicamente ejemplificadas en la solicitud.

iii) En cuanto a las etapas de la Reivindicación 11 (antigua Reivindicación 18), me permito señalar que como lo indica el Instructivo para el Examen de Solicitudes de Patentes de Invención y Modelos de Utilidad, las reivindicaciones de proceso sólo deben reclamar una secuencia de etapas. En el presente caso, las etapas de medir, calentar, medir, comparar y seleccionar, corresponde a la secuencia de etapas necesarias, novedosas e inventivas, para preparar la bacterina de *Leptospira* tratada con calor de la presente invención.

iv) Finalmente, y en cuanto al soporte de las vacunas que contienen las 5 especies de *Leptospira*, me permito llamar la atención sobre el Ejemplo 2, que se encuentra en el Capítulo Descriptivo, página 11, en el que se muestra una vacuna que contiene las especies *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyposa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira Pomona*.

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

v) En conclusión, y teniendo en cuenta lo anterior, considero respetuosamente que las objeciones han sido superadas en tanto la materia ahora reclamada en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto delimita de manera clara el alcance de la presente invención.

4. a- La Examinadora señala que los documentos “Effect of heat or chemical treatment on *Leptospiral* antigens¹” (D1) y “Characterization of *Leptospiral* lipase²”, y la patente WO2004/093904 (D3), afectan la novedad y el nivel inventivo de la presente invención.

i) La Examinadora argumenta que D1 divulga el calentamiento de bacterias (*Leptospira interrogans*, *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *grippotyposa*, *Leptospira hardjo*, y *Pomona*), a 50, 56 y 80°C por 30 minutos, el cual puede ser usado en la producción de vacunas. De otra parte, D2 divulga el calentamiento de una bacterina a 37°C y 56°C por 30 minutos, en donde adicionalmente, la lipasa de *Lepstospira* fue emulsionada en aceite de oliva y tributirina.

La Examinadora concluye que la materia reclamada en las Reivindicaciones 1 a 21 no es novedosa a la luz de D1. Adicionalmente, los procesos divulgados en D1 y D2 anticipan la materia reclamada en las Reivindicaciones 17 y 18.

ii) La Examinadora señala que D1 y D2 difieren de la materia reclamada en las Reivindicaciones 3 a 6, en particular por las temperaturas y tiempos usados. Sin embargo, D2 enseña que la actividad lipasa se ve afectada por las altas temperaturas. Así, cualquier persona medianamente versada en la materia con la tarea de modificar la actividad lipasa, habría evaluado diferentes temperaturas con el fin de encontrar aquella que produzca una actividad lipasa del 50% o menos.

Adicionalmente, D3 divulga vacunas de emulsión que contienen bacterinas, así como vacunas que comprenden virus vivos o muertos (BRSV3, PIV3, BVDV) y bacterinas (*Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira borggetersenii hardjo-prajitno*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira orpetersenuu hardjo-bois* and *Leptospira interrogans pomona*), y que además incluyen QuilA y colesterol. La Examinadora concluye que la Reivindicación 8 no tiene nivel inventivo a la luz de D1, D2 y D3.

¹ V Pope and R C Johnson. “Effect of heat or chemical treatment on leptospiral antigens.” J Clin Microbiol. 1987 February; 25(2): 255–258

² PATEL V, GOLDBERG HS, BLENDEN D. “CHARACTERIZATION OF LEPTOSPIRAL LIPASE.” J Bacteriol. 1964 Oct;88:877-84

b- i) En primer lugar, me permito llamar respetuosamente la atención de la Examinadora sobre el hecho que para fundamentar una afectación válida contra la novedad de una invención, el arte previo debe divulgar explícitamente todas y cada una de las características de la invención³. Es más, el Tribunal Andino de Justicia (TAJ) ha determinado que para establecer una objeción válida contra la novedad, la divulgación del arte previo debe ser lo suficientemente detallada para que una persona versada en la materia pueda usar dicha información para reproducir y explotar la invención⁴.

La presente invención, tal y como ahora se reclama en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, reclama una vacuna en emulsión, caracterizada por dos componentes: una emulsión que comprende un aceite y uno o más emulsificantes, y una bacterina de *Leptospira* tratada con calor, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 10 horas o 65°C a 70°C durante una hora. Así, nada en el arte previo citado por la Examinadora (D1 y D2) divulga dichas características técnicas, por lo que la materia reclamada en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto es novedosa.

ii) Ahora bien, en cuanto al nivel inventivo de la presente invención, me permito presentar adjunto al presente memorial, una copia la declaración juramentada del Doctor Michael J Huether, uno de los co-inventores de la solicitud (contraparte Europea EP07804880) en donde se explica que los experimentos realizados por él demostraron los efectos sorprendentes e inesperados de las emulsiones que contienen las bacterinas como aquí se reclama (estabilidad mejorada sin pérdida de la antigenicidad) a temperaturas de 63°C, 65°C y 67°C durante 6, 8, 10, 12, 16 y 24 horas.

Los experimentos realizados, cuyos resultados se encuentran en la Tabla 1 de dicha declaración (Anexo 1), miden la pérdida del título viral de las bacterinas tratadas como se indica en la tabla. Es generalmente aceptado que el umbral de pérdida del título viral este sobre 0.7 (0.7TCID₅₀/ml), como se describe en el Ejemplo 5. Los valores por encima de 0.7 demuestran que la pérdida del título viral es muy alta, y por lo tanto, que la bacterina no es satisfactoria. Los valores por debajo de 0.7 indican que la preparación no es virucida. Una disminución o pérdida del título viral indica disminución en la actividad lipasa, así, una actividad lipasa disminuida resulta en mejor

³ Manual Andino de Patentes. (2004). Sección 9.4. (disponible en <http://www.comunidadandina.org/public/patentes.pdf>).

⁴ Proceso 06-IP-89 (<http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Procesos/209-IP-2005.doc>); y Proceso 36-IP-2004 (<http://www.notinet.com.co/serverfiles/servicios/archivos/30jul04/ca36-04.htm>)

estabilidad de la emulsión. Todos los regímenes probados en la Tabla 1 del Anexo 1 corresponden a formulaciones no virucidas y más estables.

La Tabla de Anexo 1 demuestra que las bacterinas tratadas con calor conservan una actividad antigénica aceptable durante 6 meses, con una excepción: el tratamiento con calor a 65°C durante 24 horas redujo la actividad antigénica de *L. canicola*. Los datos de la Tabla 2 confirman la información divulgada el Capítulo Descriptivo, acerca de los regímenes de tratamiento. Los regímenes de calor son adecuados para la presente invención e incluyen temperaturas de aproximadamente 35 a aproximadamente 80°C, y en periodos de tiempo de aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 24 horas. El Capítulo Descriptivo enseña que a mayores temperaturas usadas, se requiere menor tiempo de incubación. Específicamente los tratamientos divulgados son de 60 a 70°C durante 9-10 horas; 65 a 70°C durante 5-8 horas, 65 a 70°C durante una hora, 55-65°C durante 5-8 horas.

Storage Temperature (12 hours)	4 °C	37 °C	45 °C	56 °C	65 °C	80 °C
Percent of Original Lipase Activity	100%	55.4%	32.5%	15.7%	10.8%	8.4%

El Capítulo Descriptivo divulga un tratamiento durante 10 horas a 65°C a aproximadamente 70°C. Los datos en las Tablas 1 y 2 del Anexo 1 confirman la viabilidad de dicho régimen: tratamiento a 67°C durante 10 horas o el a 65°C durante 16 horas da como resultado bacterinas que conservan una actividad antigénica adecuada y emulsiones más estables.

Los otros tratamientos son menos agresivos que el de 10 horas a 65°C hasta 70°C. Asimismo, si las bacterinas poseen una respuesta antigénica aceptable después de ser tratadas a 67°C durante 10 horas, tendrán una respuesta antigénica aceptable después de recibir tratamientos menos agresivos.

Así, las vacunas en emulsión de la presente invención, presentan estabilidad mejorada sin pérdida de la antigenicidad, lo que a todas luces es evidencia de su nivel inventivo. Adicionalmente, la persona medianamente versada en la materia no podría prever a partir de la materia divulgada en D1-D3 los anteriores resultados.

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

5. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por la Examinadora en su primer examen de fondo, han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexo:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado;
- Anexo 1: Copia simple de la Declaración Juramentada del Doctor Michael J Huether.

CAPITULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Primer Examen de Fondo)

1. Una vacuna en emulsión que comprende:
 - a. una emulsión que comprende un aceite y uno o más emulsificantes; y
 - b. una bacterina de *Leptospira* tratada con calor que comprende suspensión de bacterias muertas de *Leptospira* que tienen una actividad lipasa del 50% o menos que la actividad lipasa de la bacterina antes del tratamiento con calor, y que posee una actividad antigénica aceptable;en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 10 horas o 65°C a 70°C durante una hora.
2. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 8 horas o 60 a 70°C durante 9 a 10 horas.
3. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 65°C durante 5 a 8 horas o 65°C a 70°C durante 5 a 8 horas.
4. Una vacuna en emulsión de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 65°C durante 8 horas.
5. Una vacuna en emulsión de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde las bacterias muertas de *Leptospira* son una a cinco de las especies de *Leptospira* seleccionadas del grupo que consiste en *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyposa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira Pomona*.
6. Una vacuna en emulsión de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, que comprende además virus vivos.

7. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 6, en donde los virus vivos son uno a tres virus seleccionados del grupo que consiste en *virus de rinotraqueitis bovina* (IBR), *virus de parainfluenza 3* (PI3) y *virus respiratorio sincital bovino* (BRSV).
8. Una vacuna en emulsión de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, que comprende además virus muertos.
9. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 8, en donde los virus muertos son uno o dos virus seleccionados del grupo que consiste en *diarrea bovina viral tipo 1* (BVD) y *diarrea bovina viral tipo 2* (BVD).
10. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 1, que además comprende una preparación de lecitina, extracto de saponinas de quillaja y colesterol.
11. Un método para la preparación de la bacterina de *Leptospira* tratada con calor de la vacuna en emulsión de la Reivindicación 1, que comprende los pasos de:
 - a. medir la actividad lipasa de la bacterina;
 - b. calentar la bacterina a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 10 horas, a una temperatura de 60°C a 70°C durante 9 a 10 horas, a una temperatura de 65°C a 70°C durante 5 a 8 horas, a una temperatura de 65°C a 70°C por una hora, a una temperatura de 55° a 65°C durante 5 a 8 horas, a una temperatura de 55 a 70°C durante 5 a 8 horas, o a una temperatura de 65°C durante 8 horas;
 - c. medir la actividad lipasa de la bacterina después del tratamiento con calor;
 - d. comparar la actividad lipasa de la bacterina antes del calentamiento con la actividad lipasa de la bacterina después del calentamiento; y
 - e. seleccionar la bacterina tratada con calor, en donde la actividad lipasa después del tratamiento térmico sea del 50% o menos que la actividad lipasa de la bacterina antes del tratamiento térmico.
12. El método de acuerdo con la Reivindicación 11, en donde la bacterina es calentada a una temperatura de 55°C a 70°C durante 5 a 8 horas.
13. El método de acuerdo con la Reivindicación 11 o 12, en donde la bacterina es calentada a una temperatura de 65°C durante 8 horas.
14. El método de producción de una vacuna en emulsión de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10.

10

15. Una vacuna en emulsión de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde dicha bacterina de *Leptospira* tratada con calor se prepara mediante un método que comprende calentar la bacterina a una temperatura de 65°C por 8 horas.

16. Una vacuna en emulsión que comprende bacterinas tratadas con calor de *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyposa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae* y *Leptospira Pomona* obtenidas mediante calentamiento de las bacterinas a una temperatura de 65°C por 8 horas, y comprendiendo además AMPHIGEN®, adjuvantes, preservativos y buffers de dilución tal que la concentración de bacterinas es de 1200NU/5ml de dosis para todas las bacterinas de *Leptospira* excepto *Leptospira hardjo*, la cual es de 2400NU/5ml por dosis, en donde la vacuna en emulsión está homogenizada y microfluidizada y donde el pH es ajustado a un valor entre 7.0 y 7.3.

Declaration of Michael J Huether

Dear Sirs:

I, Michael J Huether, do declare as follows:

I am a Senior Director, Manufacturing Technical Support, at Pfizer Animal Health. My duties include supervision of process and analytical development for new and existing veterinary biological products. My areas of expertise are biological antigen process development, scale-up and facility design, formulation chemistry, antigen and final product stability, and analytical method development for potency release testing.

I am a co-inventor of European Application EP07804880. The application is drawn to a surprising discovery that heat treatment of bacterins, such as, for example, *Leptospira*, results in an improved stability of emulsions containing these bacterins without significantly affecting antigenic potency of the bacterins.

Experiments have been done by me or under my supervision, which demonstrate these effects (improved stability without loss of antigenicity) at temperatures 63°C, 65°C, and 67°C for 6, 8, 10, 12, 16, and 24 hours. The results of these experiments are shown in Table 1 below:

Table 1

Serial #	CTC	tsIBR	tsPI ₃	BRSV
L120105A	None	≥ 1.0	0.8	≥ 1.0
L121105B	63°C @ 6 hrs	0.1	0.3	0.5
L111405B	63°C@ 8 hrs	-0.2	0.5	0.5
L121105C	65°C@ 6 hrs	0.0	0.1	0.4
L111405A	65°C @ 8 hrs	0.1	0.0	0.4
L120105B*	65°C @ 8 hrs	0.5	0.0	0.0
L122005A	65°C @ 10 hrs	0.1	0.0	0.2

12

European Patent Application No. EP07804880
Attorney Docket PC33251A-EP

L122005B	65°C @ 16 hrs	0.1	0.1	0.5
L111405C	67°C @ 8 hrs	0.0	-0.2	0.4
L121105A	67°C @ 10 hrs	-0.2	0.0	0.4
L122005C	65°C @ 24 hrs	0.1	-0.2	0.2

[KEY to Table 1: CTC = Controlled Thermal Conditioning; tsIBR = temperature sensitive Infectious Bovine Rhinotracheitis; tsPI₃ = temperature sensitive Para-Influenza₃; BRSV = Bovine Respiratory Syncytial Virus]

These experiments measure viral titer loss of bacterins treated as disclosed in the table. It is generally accepted that the threshold of viral titer loss is at 0.7 (0.7 TCID₅₀/ml), as disclosed in Example 5, p. 14, ln 2. Numbers above 0.7 demonstrate that loss of viral titer is too high, and thus the bacterin is unsatisfactory. The numbers below 0.7 indicate that the preparation is non-virucidal. A decrease in viral titer loss indicates a decreased lipase activity. A decreased lipase activity results in increased emulsion stability. As one can observe from the table above, all tested regimens resulted in non-virucidal formulations and thus in more stable emulsions.

The next table (Table 2) demonstrates that the heat-treated bacterins retained acceptable antigenic activity after six months, with one exception: heat treatment at 65°C for 24 hours reduced antigenic activity against *L. canicola*.

Table 2

Lepto CTC Process Validation Serials - 6 Month Potency Results

Serial #	Antigen Content	CTC Temp	CTC Time (Hr)	Hamster Potency Results (Challenge Survivors/Total)				BCL Cattle MAT Hardjo
				Canicola	Ictero	Grippe	Pomona	
L121105C	BVD1/ BVD2/ L5	65°C	6	9/10	9/10	9/10	10/10	844
L111405A	BVD1/ BVD2/ L5	65°C	8	9/10	9/10	10/10	9/10	1,114
L120105B	BVD1/ BVD2/ L5 (75% L5 content)	65°C	8	9/10	8/10	9/10	9/10	2,229
L122005A	BVD1/ BVD2/ L5	65°C	10	9/10	9/10	9/10	9/10	735
L122005B	BVD1/ BVD2/ L5	65°C	16	17/20	10/10	8/10	9/10	422
L122005C	BVD1/ BVD2/ L5	65°C	24	5/10	10/10	9/10	8/10	735
L121105A	BVD1/ BVD2/ L5	67°C	10	17/20	10/10	10/10	16/20	735
64997-62	BVD1/ BVD2/ L5 (Small Scale)	65°C	8	10/10	10/10	10/10	10/10	844

13

[KEY to Table 2: CTC = Controlled Thermal Conditioning; Canicola = *L. canicola*; Ictero = *L. icterohaemorrhagiae*; Grippo = *L. grippotyposa*; Pomona = *L. Pomona*; Hardjo = *L. hardjo*;
BCL Cattle MAT = Biological Control Lab Cattle Microscopic agglutination test]

These data confirm the information disclosed in the application about the treatment regimens. Referring to the paragraph bridging p. 5 and p. 6 of the application, heat regimens suitable for the present invention include temperatures from about 35 to about 80 °C, and time ranges from about 20 minutes to about 24 hours. The specification further teaches that if higher temperatures are used, then shorter incubation time is needed. Specifically disclosed treatments are about 60-70°C for about 9-10 hours; about 65-70°C for about 5-8 hours; about 65-70°C for about 1 hour, about 55-65°C for about 5-8 hours.

It is my opinion that one of ordinary skill in the art of emulsion vaccine formulation could easily envision these results from the information provided in the application (see p. 10):

Storage Temperature (12 hours)	4 °C	37 °C	45 °C	56 °C	65 °C	80 °C
Percent of Original Lipase Activity	100%	55.4%	32.5%	15.7%	10.8%	8.4%

The specification discloses treatment for 10 hours at about 65°C to about 70°C. The data in Tables 1 and 2 in the present Declaration confirm the viability of this regimen: treatment at about 67°C for 10 hours or treatment at 65°C for 16 hours results in bacterins retaining a suitable antigenic activity and more stable emulsions.

The other treatments are less harsh than 10 hours at about 65°C to about 70°C. Therefore, if bacterins have an acceptable antigenic response after being heat treated at 67°C for 10 hours, bacterins will have an acceptable antigenic response after less harsh treatments. By the same token, it was postulated that decrease of lipase activity by 50% or more would result in improved emulsion stability. The data demonstrated decrease of lipase activity after incubation at 45°C for 12 hours and after incubation at 63°C for six hours. From this information, one would be able to extrapolate that incubation for five hours at 55°C or more would result in more than 50% reduction of lipase activity.

I further note that industrial processes are conducted in big volumes of liquids which do not necessarily hold an absolute uniform temperature and all points in time. For example, warmer liquid tends to rise to the surface of the reaction vessels and cooler liquid tends to be present at the bottom. Once the heat is turned on, not all liquid would immediately reach the target temperature. In layman's terms, if one heats his house to, say 23°C, the temperature in the attic

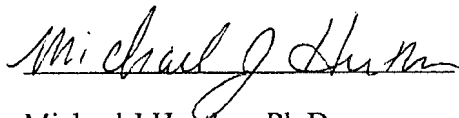
European Patent Application No. EP07804880
Attorney Docket PC33251A-EP

and in the basement of the home will not be 23°C. The temperature sensor turns on heater when temperature is below 23°C, e.g., 21°C or 22°C and turns off the heater when temperature is above 23°C, e.g., 24°C or 25°C. Further, accidents or incidents happen during industrial processes, which may render collection of bacterin after eight hours impossible or industrially impracticable. Accordingly, limiting the claims strictly to the temperature/time range of 65°C and to 8 hours would not provide suitable protection for the present invention which is in line with the application disclosure and the evidence now provided.

I hereby certify that all statements made of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true.

Respectfully submitted,

Date: 12 NOV 12



Michael J Huether, Ph.D.