



TRIANA, URIBE & MICHELSEN

SEÑOR DIRECTOR
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Referencia: RAD. : NC2017/0005389

Asunto: Respuesta al **Oficio 6392** del examen de fondo a la solicitud de **Patente de Invención** titulada **“VACUNA SUBUNITARIA, POLIVALENTE ALTAMENTE INMUNOGÉNICA CONTRA MASTITIS EN MAMÍFEROS”**.

Solicitante: UNIVERSIDAD DE CHILE-.

FERNANDO TRIANA SOTO, mayor de edad, domiciliado en la ciudad de Bogotá D.C., República de Colombia, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado y en representación de la sociedad **UNIVERSIDAD DE CHILE**, conformada bajo las leyes de la República de Chile, atentamente manifiesto que estando dentro del término de ley y por orden expresa de mi representada, como resultado del examen de fondo realizado con fundamento al artículo 45 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina, me permito presentar respuesta al Oficio de la referencia, bajo los siguientes argumentos:

1. TITULO

El señor examinador solicita eliminar el término altamente del título. En respuesta, eliminando dicha palabra requerida, el título debe quedar así:

“VACUNA SUBUNITARIA, POLIVALENTE INMUNOGÉNICA CONTRA MASTITIS EN MAMÍFEROS”

2. DE LA SOLICITUD DE PATENTE

- 2.1 El señor examinador se refiere a que el capítulo reivindicatorio no es claro. La reivindicación 1 no se encuentra sustentada en la descripción ya que se refiere a una vacuna polivalente contra la mastitis en mamíferos que comprende pared celular, fragmentos de membranas celulares y liposomas obtenidos de tres especies de bacterias, y se define mediante la expresión “donde dichos (...) ADN, entre otras moléculas inmunoestimulantes (...)” la cual, además de contener errores



tipográficos, parece referir al material genético de las bacterias o a las proteínas citoplasmáticas de estas, sin embargo, en los ejemplos divulgados no se caracterizan los componentes estructurales de la vacuna, en su lugar se refiere a su proceso de obtención a partir del cual se evidencia que las biomoléculas purificadas pertenecen a las fracciones celulares insolubles bacterianas, por lo que no es posible, de acuerdo con los métodos descritos que la vacuna reivindicada comprenda ADN, ni proteínas solubles, ya que esta se desarrolla a partir de las fracciones celulares insolubles, por lo que únicamente podría comprender lípidos, proteínas de membrana y polisacáridos de cápside (Pág. 13-15) y sugiere al solicitante restringir la reivindicación a una razonable generalización de los tipos de biomoléculas componentes de la vacuna reivindicada de manera que se encuentren debidamente soportados de acuerdo al capítulo descriptivo. En respuesta a lo requerido, se presenta un nuevo pliego corregido con base en lo requerido.

- 2.2 Adicionalmente el examinador requiere que la reivindicación 1 no es clara ya que se refiere a un producto de tipo vacuna polivalente que no se encuentra definido por su estructura precisa, ya que no se pueden establecer los componentes moleculares de dicha vacuna de acuerdo a lo reivindicado, así como tampoco se incluyen las proporciones de los principios activos u otros agentes. La reivindicación 4 no es clara ya que se refiere a un procedimiento para preparar una vacuna pero este incluye dentro de sus pasos esenciales la expresión: “purificar sin denaturar (...)” que se considera un resultado a alcanzar y no define al método ya que en su lugar deben referirse las condiciones que evitan la denaturación, como los son los agentes químicos, las soluciones tampón, la temperatura y/o pH mediante los cuales se lleva a cabo la purificación, así mismo se incluyen varios pasos y/o condiciones en solo dos pasos. Se sugiere al solicitante incluir las condiciones y/o detallar los demás pasos esenciales para permitir una reproducción fiel del método reivindicado por cualquier persona del campo técnico. En respuesta a lo requerido, se presenta un nuevo pliego corregido con base en lo requerido.
- 2.3 Es importante notar que las figuras 2 y 3 corresponden a la caracterización de la formulación (nanovesículas) que en su interior poseen proteínas y DNA. También es importante notar que la invención no se trata de fracciones celulares insolubles ya que el protocolo descrito en la solicitud se refiere a la solubilización en DOC y las estructuras que se obtienen son vesículas, ver sección: Preparación de los liposomas de membranas y fragmentos de pared y membrana celular.
- 2.4 Es de aclarar que las nuevas reivindicaciones corregidas con base en lo solicitado no amplían la materia inicialmente radicada, sino que hacen referencia a aclarar la presente invención conforme lo recomendado por el señor examinador.



- 2.5 Con lo anterior, esperamos haber cumplido con los requerimientos de forma exigidos por este Despacho y solicitamos continúe el proceso de trámite conforme la Decisión 486 de la Comunidad Andina, con base en el nuevo capítulo reivindicatorio anexo a la presente.

3. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

- 3.1 El examinador define que la solicitud comprende el siguiente estado del arte basado en D1: **WO2011018858 de 2011** y el documento **D2: Trends In Therapeutic and Prevention Strategies for Management of Bovine Mastitis: An Overview**. Con base en dichos documentos, hace comparaciones mediante tablas y al final concluye que los dos documentos afectan el nivel inventivo de la reivindicación 1.
- 3.2 D1 por su parte divulga una nueva vacuna contra la mastitis. específicamente, se describe una nueva vacuna contra la mastitis, que puede inducir eficazmente respuestas inmunitarias transmucosales humorales o celulares que incluyen principalmente la producción de anticuerpos IgA. Se usa un liposoma que contiene un lípido fusionado a la membrana (poliglicidol modificado con metilglutarilo) como vehículo de vacuna. La vacuna de mastitis comprende un vehículo de vacuna que comprende un liposoma que contiene poliglicidol modificado con metilglutarilo y un inmunógeno contenido en el vehículo de vacuna.
- 3.3 D2 es un artículo que define los agentes etiológicos predominantes de la mastitis bovina que incluyen Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli y Streptococcus agalactiae, así como los factores que afectan la susceptibilidad a la mastitis y estado actual de las terapias basadas en antibióticos, prototipos de vacunas candidatas disponibles comercialmente contra la mastitis bovina y algunas estrategias preventivas de la enfermedad.
- 3.4 Es importante notar que la presente invención no busca principalmente la producción de anticuerpos IgA ni usa un liposoma que contiene un lípido fusionado a la membrana (poliglicidol modificado con metilglutarilo) como vehículo de vacuna. En la presente invención, IgA es una inmunoglobulina sin relevancia (en mastitis). Además en D1 la inmunización se realiza por vía mucosal o nasal con el lípido modificado lo que permite la adhesión transmucosal de la formulación. En la presente invención en tanto se genera una respuesta inmunológica sistémica y no mucosal, ver Figuras 3, 4, 5 y 6. Asimismo en D1 se usa un liposoma que contiene un lípido fusionado a la membrana (poliglicidol modificado con metilglutarilo) como vehículo de vacuna. Este es un liposoma sintético formulado a partir de poliglicerol y metilglutarato y que puede ser cargado con antígenos recombinantes



de diferentes bacterias. En la presente invención en cambio el liposoma está formado a partir de los fosfolípidos de la membrana bacteriana que son disueltos en DOC y reestructurados mediante la sustracción de detergente con Biobeads, por lo tanto estos no están cargados con antígenos artificiales porque en su estructura poseen insertados, los antígenos propios de la bacteria y su membrana (ver Figs. 1, 2 y 3). Del mismo modo, D1 describe la habilidad de mGluPG para funcionar como “carrier” de un liposoma y exhibir las propiedades inmunogénicas en mucosas del animal.

- 3.5 La diferencia principal según la presente invención es que la vacuna subunitaria definida por los inventores, se relaciona con una vacuna subunitaria “**polivalente**” contra mastitis. En cambio, D1 y D2 se refieren a vacunas “**monovalentes**” contra mastitis, resaltando que D2 comprende la necesidad del desarrollo de vacunas de amplio espectro y reactividad cruzada. Al respecto, el examinador define que a partir de D2 en combinación con la vacuna de D1, sería obvio llegar a la invención dado que D2 define vacunas contra la mastitis (Pág. 4, Col. Der., línea 18), como por ejemplo vacunas contra *Staphylococcus aureus* que incluyen vacunas polivalentes de proteínas conjugadas a polisacáridos capsulares (Pág. 4, Col. Der., líneas 34-40), vacunas contra bacterias coliformes como *E. coli* (Pág. 5, Col. Izq., línea 17) y vacunas contra *Streptococcus uberis* que comprenden bacterinas o activadores de plasminogenos de este organismo (Pág. 5, Col. Izq., líneas 38-47). Esto con base en que D2 en la página 4 columna derecha tercer párrafo, por ejemplo, agrega la problemática de vacunas contra *Staphylococcus aureus*. Estos incluyen vacunas de organismo completo, vacuna de ADN que codifica el factor de agrupamiento A, atenuadas vivas (AroA) *S. aureus*, vacunas de conjugado de proteínas polisacáridas capsulares (CPS) y enterotoxina mutada *S. aureus* recombinante tipo C. No obstante, es una conclusión errónea dado que una persona versada en la materia no buscará en D1 o D2, formulaciones monovalentes si su estudio está basado en una solución polivalente, dado que el arte anterior no la define concretamente para que sea objeto de comparación con la presente invención. Según la Solicitante, la invención está definida en una mezcla de fragmentos de pared celular, fragmentos de membranas celulares y liposomas de tamaño menor a 1 um que comprenden proteínas de membrana, lipopolisacáridos, peptidoglicanos, exopolisacáridos, ADN, entre otras moléculas originados de la membrana celular de los patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus uberis* sin presencia de patógenos y ningunos de los documentos anteriores lo define en esas condiciones. En este sentido, cabe destacar que los liposomas de la presente invención, son generados a partir de los fosfolípidos y proteínas de la membrana plasmática de la bacteria, donde además quedan retenidos moléculas antigénicas e inmunoestimulantes como DNA, ácido lipoteicoico, porinas, etc. Por tanto, como



una persona versada en la materia puede buscar soluciones en anterioridades que no abarcan la misma problemática.

- 3.6 En ese sentido, una persona versada en la materia no podría llegar evidentemente a dicha mezcla a partir de D2 con la vacuna de D1, esto porque D2 define vacunas contra la mastitis pero no ilustra una mezcla de fragmentos de pared celular, fragmentos de membranas celulares y liposomas de tamaño menor a 1 μm tal y como aquella referenciada en la cláusula 1. De hecho la diferencia de la invención radica en que comprende una vacuna subunitaria, polivalente contra mastitis en mamíferos que comprende 15 μg de proteoliposomas, medido como proteína total, de antígenos contra tres microorganismos patógenos seleccionados del grupo de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus uberis* para 45 μg totales, que incluye la mezcla de fragmentos de pared celular, fragmentos de membranas celulares y liposomas de tamaño menor a 1 μm originados desde la membrana celular de cada patógeno. Además, es importante mencionar que D1 se refiere a un liposoma sintético conjugado con metilgutarilo, el cual puede aumentar la inmunogenicidad mucosal mediante una vía de administración transdermal
- 3.7 Los estudios una vez se proceso la formulación propuesta, arrojo resultados satisfactorios, de manera que el tratamiento es adecuado y corresponde con el objeto de la invención. Se observa en la Tabla 1 y Figuras 4 y 5, que en todos los casos y para todos los patógenos inoculados, en las hembras que fueron vacunadas con la vacuna experimental polivalente, el recuento bacteriano disminuyó en aproximadamente 2,5 unidades logarítmicas (2,5 log10) UFC en comparación con el grupo control inyectado con placebo. Esta disminución en el recuento bacteriano, significa inhibición de la proliferación de bacterias inoculadas directamente en la glándula mamaria, con un producto de respuesta inmune que estimula a vacunación. Por tanto, la invención si comprende actividad inventiva frente a las anterioridades D1 y D2.
- 3.8 Según la presente invención, es importante considerar la formulación de los proteoliposomas, dado que son formulados a partir de fosfolípidos de la membrana plasmática del patógeno incorporando antígenos proteicos, fragmentos de pared, DNA, etc. Al considerar la formulación de los proteoliposomas, que son la base de la presente invención, estos son los liposomas generados a partir de los fosfolípidos de pared en el proceso de solubilización con DOC (Deoxicolato de sodio) y posteriormente el ensamblaje de los liposomas por el retiro del DOC (Deoxicolato de sodio) mediante Biobeads. Estos liposomas generados a partir de la membrana del patógeno, mantienen restos de pared, DNA y otras moléculas que son antigénicas e inmunoestimulantes, contrario a lo que se afirma en el oficio, donde se



expresa que la formulación está basada solamente fragmentos insolubles de una lisis bacteriana. Por tanto, el nuevo pliego ha sido definido más claramente la invención basándose en la formulación donde los proteoliposomas, son formulados a partir de fosfolípidos de la membrana plasmática del patógeno incorporando antígenos proteicos, fragmentos de pared, DNA.

- 3.9 Para definir y diferenciar la invención, ahora entonces se establece en la reivindicación 1, los parámetros concretos de la invención y sus proteoliposomas conforme lo recomendado.
- 3.10 Por todo lo anterior, me permito en conclusión solicitar sea de nuevo revisada la presente solicitud y verificar las diferencias aquí expuestas y en consecuencia sea concedida la presente en los términos y el tenor de las nuevas cláusulas del capítulo reivindicatorio aquí modificadas. Esperamos haber cumplido con los requerimientos exigidos por este despacho y solicitamos se practique un nuevo examen de fondo conforme el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina y en consecuencia sea concedida la presente conforme el nuevo capítulo reivindicatorio anexo a la presente.

4. FUNDAMENTO DE DERECHO

Fundamento esta remisión en las normas legales siguientes:

- 4.1 Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena.
- 4.2 En las demás normas concordantes.

5. ANEXOS

Un nuevo capítulo reivindicatorio.

6. NOTIFICACIONES

Para efectos de notificaciones que por disposición debe hacer su Despacho, informo que mi representada y la suscrita recibiremos notificaciones en la Secretaría de su Despacho o en mis oficinas de abogado situadas en la Calle 93B No. 12-48 P.4 de esta ciudad de Bogotá.



Señor Director,

Fernando Triana S.
FERNANDO TRIANA SOTO

C.C. No. 79.154.036 de Bogotá D.C.
T.P.A. 45.265 del C.S. de la J.

5732133042139/aml
Colo 7820 0301 76972