

Señora Directora

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2019/0002955

Asunto: Solicitud de patente para: COMPOSICIONES DE VACUNA NEUMOCÓCICA MULTIVALENTE QUE COMPRENDEN CONJUGADOS DE POLISACÁRIDOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y LAS PROTEÍNAS PORTADORAS PSAA Y CRM₁₉₇

Solicitante: BIOLOGICAL E LIMITED

Fecha de solicitud: 27 de marzo de 2019

RESPUESTA AL PRIMER EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Yo, ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio **1229** notificado el 04 de febrero de 2021.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aportó un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por **38** reivindicaciones, en donde se realizaron las siguientes modificaciones:

- se han eliminado las antiguas reivindicaciones 38 a 45;
- se ha incluido la actual reivindicación 28 que se refiere a la modalidad preferente determinada por la preposición “o” de la antigua reivindicación 27;
- se ha reemplazado en la reivindicación 1 el término “*dos o más*” por “*de dos a veinticinco*”, esta modificación encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, por ejemplo, en la página 45, líneas 4-20, donde se ha descrito una composición de vacuna neumocócica 25 valente específica;
- se ha incluido en la actual reivindicación 1 la frase “*en donde al menos dos serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares están conjugados con PsaA*”, esta modificación encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, por ejemplo, en la página 20, línea 6 que

INNOVACIÓN PARA LOS NEGOCIOS

BOGOTÁ DC, 110221 - COLOMBIA - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72A - 35 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650

MEDELLÍN, COLOMBIA - Teléfono: (57) 313 7601050

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

expresa que *“al menos los serotipos 3, y 6A están conjugados con PsaA”*, donde los dos serotipos son 3 y 6A;

- se ha reemplazado en las reivindicaciones 5 y 27 el término *“además porque adicionalmente”* por el conector *“porque”*;
- se ha reemplazado en la reivindicación 23 el término *“de dos o más”* por *“de dos a trece”*, esta modificación encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, por ejemplo, en la página 68, líneas 14 a 23;
- se ha reemplazado en la reivindicación 24 el término *“de dos o más”* por *“de dos a veintitrés”* esta modificación encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, por ejemplo, en la página 33, línea 4;
- se ha eliminado de la reivindicación 25 el término *“está formulada en”*;
- se ha eliminado de todas las reivindicaciones el término *“alrededor de”*;
- se ha reemplazado en la antigua reivindicación 27 el término *“y/o”* por *“y”*;
- se ha reemplazado en la actual reivindicación 29 el término *“se suministra como”* por *“comprende”*;
- se ha incluido en la totalidad de las actuales reivindicaciones la denominación *“multivalente”*, esta modificación encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, por ejemplo, en la página 1, línea 5;
- se ha modificado la escritura de las actuales reivindicaciones 30 a 38 reemplazando la frase *“la composición de vacuna neumocócica es una dosis sencilla de 0.5 mL que”* por *“0.5 mL de la composición de vacuna neumocócica (...) comprenden”* que representa de forma más clara el objeto de esta reivindicación;
- todas las reivindicaciones, así como sus relaciones de dependencia, fueron reenumeradas de acuerdo con los cambios anteriormente mencionados.

Estas modificaciones se ajustan al Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000, ya que no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

II. EN CUANTO AL TÍTULO

El Examinador ha considerado que el título de la presente invención no se relacionaba con el objeto de la solicitud. Teniendo en cuenta las amables sugerencias del Examinador, el título de la invención ha sido modificado de tal forma que ahora se lee:

“COMPOSICIONES DE VACUNA NEUMOCÓCICA MULTIVALENTE QUE COMPRENDEN CONJUGADOS DE POLISACÁRIDOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y LAS PROTEÍNAS PORTADORAS PSAA Y CRM₁₉₇”.

Por consiguiente, considero superada cualquier objeción relacionada con el título de la presente invención. Esta modificación se ajusta al Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000, ya que no constituye una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

III. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD O SUSTENTO DE LAS REIVINDICACIONES

- El Examinador ha considerado que la antigua reivindicación 1 no era clara ni estaba sustentada en el Capítulo Descriptivo por usar el término “*dos o más*”. Llamo respetuosamente la atención del Examinador al Capítulo Reivindicatorio modificado donde el objeto de la actual reivindicación 1 fue limitado y esta reivindicación ahora se refiere a que la composición comprende “*de dos a veinticinco serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares*”.

La materia que ahora se reivindica está enteramente sustentada en el Capítulo Descriptivo de la presente solicitud, por ejemplo, en la página 45, líneas 4-20, en donde se ha descrito una composición de vacuna neumocócica 25 valente específica. Además, el proceso de preparación de los conjugados de polisacárido-proteína se ha demostrado suficientemente en los ejemplos 1 y 2 para que la persona versada en la materia ponga en práctica la invención.

Adicionalmente, el Capítulo Descriptivo también menciona la conjugación de los serotipos seleccionados de 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 y 45 con PsaA o una combinación de PsaA y CRM197 (Página 14, líneas 6-23).

Así, es claro que la persona versada en la materia puede obtener la composición de vacuna neumocócica siguiendo las enseñanzas reveladas por la presente solicitud y el conocimiento común que existía a la fecha de prioridad de esta solicitud sobre formulaciones de vacuna; esto, independientemente de cuáles sean los serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares o el adyuvante.

Igualmente, quisiera señalar respetuosamente que no existe ningún requisito legal que haga obligatoria la presentación de datos experimentales o ejemplos puntuales para reivindicar la materia de la presente solicitud, pues esta última cumple con los requisitos del artículo 30 de la Decisión Andina 486, siempre que la materia de las actuales reivindicaciones tiene el debido sustento en el Capítulo Descriptivo. Por lo tanto, confío en el excelente conocimiento que el Examinador tiene en la materia y dé esta objeción por superada con las modificaciones y argumentos dados.

- En la generosa opinión del Examinador, las antiguas reivindicaciones 2, 3 y 6 a 37 no eran claras y carecían de sustento porque reclamaban un sinnúmero de combinaciones de serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares que no habían sido contemplados ni explorados en la solicitud.

En respuesta, llamo cordialmente la atención del Examinador al Capítulo Reivindicatorio modificado donde las actuales reivindicaciones 23 y 24 limitan la materia que reclaman a *“de dos a trece serotipos”* en la reivindicación 23 y con *“de dos a veintitrés serotipos”* en la reivindicación 24. Adicionalmente, las actuales reivindicaciones 14 a 19, 21, 34 a 36 (antiguas 33 a 35) y 38 (antigua 37) ya mencionaban, como también ahora, una composición de vacuna de valencia específica; por lo tanto, en sintonía con la amable sugerencia del Examinador, ya limitan el objeto reivindicado a una razonable generalización de los serotipos del Capítulo Descriptivo. Igualmente, las actuales reivindicaciones 3 y 30 (antigua reivindicación 29), dado que estas son reivindicaciones dependientes, las limitaciones a las reivindicaciones independientes son por ende aplicables a ellas, a saber, las reivindicaciones independientes se han limitado con números de serotipos específicos.

De esta manera y conforme con los argumentos brindados en el punto anterior del numeral actual de este memorial, considero respetuosamente que esta objeción se entiende como superada.

- El Examinador afirma que las antiguas reivindicaciones 3, 5 a 12, 14 a 19, 21, 23, 24, 26, 27, 29 y 30 a 37 no eran claras debido a que usaban los términos *“al menos”*, *“además porque adicionalmente”*, *“uno o más”*, *“es alrededor de”* e *“y/o”*, los cuales son imprecisos. En respuesta, llamo cordialmente la atención del Examinador al Capítulo Reivindicatorio modificado donde los siguientes términos fueron eliminados: *“además porque adicionalmente”*, *“uno o más”*, *“y/o”* y *“alrededor de”*.

No obstante, en lo que se refiere al supuesto término impreciso “*al menos*”, disiento de la valiosa opinión del Examinador, pues, en primer lugar, este término es normalmente usado y aceptado en el lenguaje en materia de patentes; y, en segundo lugar, es un término que establece los requisitos mínimos que la invención debe satisfacer para ser reproducida. Por lo tanto, este término es claro para la persona versada en la materia.

Más allá de esto, en el presente caso, es claro que este término define que, de una lista finita, la composición de vacuna comprende mínimamente un número específico de serotipos. Así, por ejemplo, la actual reivindicación 6 define una lista de selección con los siguientes 40 serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 y 45; e indica que la composición de vacuna comprende *al menos* 10 seleccionados de dicha lista.

Por otro lado, al Solicitante le asiste el derecho a reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado, que, en el presente caso, se relaciona con distintas realizaciones en donde la cantidad límite de serotipos está dada por la lista de selección o la dependencia recitada en cada reivindicación, pues estas dependen de reivindicaciones que presentan una lista de selección; y, esto es perfectamente comprensible para la persona versada en la materia.

- Respecto a la objeción en que la antigua reivindicación 25 no era clara debido a la expresión “*es está*” y, en la generosa opinión del Examinador, se refería a un método de tratamiento, llamo respetuosamente la opinión del Examinador al Capítulo Reivindicatorio modificado donde el término “*está formulada en*” ha sido eliminado.

Con esto, la actual reivindicación 25 se refiere a que *la composición de vacuna neumocócica es una unidad de dosificación*, en donde, “*unidad de dosificación*” es un término genérico ampliamente conocido en el campo técnico de la presente invención que significa “*forma farmacéutica*”.

- En respuesta a la objeción en que las antiguas reivindicaciones 28 y 29 no eran claras debido a que se referían a materia relacionada con un método de tratamiento, quisiera señalar que las actuales reivindicaciones 29 y 30 (antiguas reivindicaciones 28 y 29) han sido modificadas y ya no se refieren a que la unidad de dosificación “*se suministra*

como” ni hacen referencia a “dosis”. Así, habiendo seguido las amables sugerencias del Examinador, esta objeción habría de considerarse como superada.

Con base en todo lo anterior, considero que el Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto cumple con todos los requisitos de claridad ajustándose así a los lineamientos del Artículo 30 de la Decisión 486, ya que cualquier persona del oficio normalmente versada en la materia está en completa capacidad de reproducir la invención sin ambigüedad alguna.

IV. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE SUFICIENCIA DEL CAPÍTULO DESCRIPTIVO

El Examinador afirma que el Capítulo Descriptivo no define de forma suficiente la invención para que la persona versada en la materia pueda reproducirla. En particular, afirma que *“la composición de vacuna neumocócica que presenta sustento en el capítulo descriptivo se refiere a vacunas 15 valentes por lo que aquellas 10, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 22,23, 24 o 25 valentes carecen de sustento en la descripción”*.

En respuesta, quisiera reiterar que el objeto reivindicado está totalmente sustentado en el Capítulo Descriptivo como se explica detalladamente en el numeral I del presente memorial. Por lo tanto, aunque pueda no haber más de un ejemplo para cada una de las modalidades, la composición de vacuna neumocócica reivindicada es una razonable generalización de las modalidades incluidas en el Capítulo Descriptivo. De manera que el Solicitante tiene derecho a reclamar la totalidad de concepto inventivo desarrollado, pues el método que se reivindica cuenta con el debido sustento, cumpliendo así con los requisitos del artículo 30 de la Decisión Andina 486.

Además, es importante señalar que no es necesario limitar el Capítulo Reivindicatorio solo a los ejemplos probados en el Capítulo Descriptivo de acuerdo con la Guía colombiana de Examen de Solicitudes de Patente, pues esta establece que *“en referencia a la mejor manera de realizar la invención se considerará que los ejemplos son casos particulares que sirven para ilustrar la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención”*¹. En otras palabras, los ejemplos no son obligatorios y se proporcionan solo con fines ilustrativos. Por lo tanto, limitar el alcance de la Solicitud solo a las realizaciones ejemplificadas comprendidas en la sección de ejemplos sería una

¹ Superintendencia de Industria y Comercio. Guía para Examen de Solicitudes de Patente (2014). Bogotá, Colombia. Sección 2.7, página 91, párrafo 1.

limitación excesiva e injusta de la materia que al Solicitante le asiste el derecho legítimo de reivindicar.

Más allá de esto, el Capítulo Descriptivo enseña detalladamente la composición que comprende de dos a veinticinco serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares, cada uno individualmente conjugado con una proteína portadora proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA) o combinación de PsaA y CRM197 como proteínas portadoras. Además, el proceso de preparación de los conjugados polisacárido-proteína se ha demostrado suficientemente en los ejemplos 1 y 2 para que la persona versada en la materia ponga en práctica la invención.

No obstante, con el fin de subsanar cualquier vacío que el Examinador pueda considerar con relación al efecto técnico o al desarrollo de pruebas técnicas de la composición reivindicada, el Solicitante desea presentar información adicional sobre la formulación de vacunas conjugadas 11 valentes, que podrá encontrar en los argumentos sobre el Nivel Inventivo en el presente memorial. Los conjugados en la composición de vacuna 11 valente, con PsaA, se han preparado mediante el mismo proceso que se describe en la descripción [Página 80-82 de la presente solicitud]; y, por lo tanto, confío en el excelente juicio del Examinador para comprender que esta información no supone una ampliación de la materia originalmente divulgada en la presente solicitud.

Por lo tanto, particularmente teniendo en cuenta el Capítulo Reivindicatorio modificado, considero respetuosamente que esta objeción de supuesta falta de suficiencia del Capítulo Descriptivo no procede y debe ser retirada.

V. ESTADO DE LA TÉCNICA

El Examinador considera los siguientes documentos como relevantes en la evaluación de patentabilidad de la presente invención:

D1, correspondiente al documento EP2425856 titulado “*MULTIVALENT PNEUMOCOCCAL POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATE COMPOSITION*”, que se refiere a una composición inmunogénica que tiene 13 conjugados de polisacárido-proteína y, opcionalmente, un adyuvante a base de aluminio (Resumen).

D2, correspondiente al documento Lin, H., Lin, Z., Meng, C., Huang, J. y Guo, Y. Immunobiology titulado *“PREPARATION AND IMMUNOGENICITY OF CAPSULAR POLYSACCHARIDE–SURFACE ADHESIN A (PSAA) CONJUGATE OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE”*, que se refiere a una vacuna conjugada CPS-rPsaA, en la que CPS y PsaA se derivan de *S. pneumoniae* 23F (Resumen).

VI. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

En la valiosa opinión del Examinador, la presente invención, tal como se define en la antigua reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes 2 a 15, 17 a 22, 25 a 32 y 34 a 37, carecía de nivel inventivo a la luz de D1 y D2. En respuesta, en primer lugar, quisiera destacar la excelente labor del Examinador, pues las antiguas reivindicaciones 16, 23, 24 y 33 (actuales reivindicaciones 16, 23, 24 y 34), al no ser afectadas en su novedad ni en su nivel inventivo, son consideradas nuevas e inventivas.

En segundo lugar, deseo presentar las razones por las que la actual reivindicación 1 y sus dependientes también son inventivas. Para iniciar, llamo respetuosamente la atención del Examinador al Capítulo Reivindicatorio modificado en el que la actual reivindicación 1 ha sido modificada y ahora se refiere a:

“Una composición de vacuna neumocócica multivalente caracterizada porque comprende de dos a veinticinco serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares, cada uno individualmente conjugado con una proteína portadora proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA) o combinación de PsaA y CRM197 como proteínas portadoras, en donde al menos dos serotipos de polisacáridos neumocócicos capsulares están conjugados con PsaA”.

Con el ánimo de hacer una comparación directa con las conclusiones a las que llega el Examinador en su examen de patentabilidad, considero a D1 como el arte previo más cercano a la presente invención, pues este describe una composición inmunogénica multivalente (Prevnar®13), en la que los polisacáridos capsulares son de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F y 23F de *Streptococcus pneumoniae* y la proteína portadora es CRM₁₉₇.

La presente invención difiere de la descrita en D1 en que esta última está relacionada con una composición de vacuna neumocócica conjugada 13 valente que contiene CRM₁₉₇ como única proteína portadora, mientras que la presente invención reclama una composición multivalente que comprende dos o más polisacáridos capsulares conjugados con proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA). D1 no enseña o sugiere una composición de vacuna neumocócica conjugada multivalente con dos o más serotipos de polisacáridos conjugados con la proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA) o combinación de PsaA y CRM₁₉₇.

Como se describe en la presente solicitud, la respuesta inmune al serotipo 3 (Figura 5) fue de aproximadamente 1:10000 cuando los animales fueron inmunizados con conjugados de PsaA que contienen 4 µg de polisacárido (grupo 3). Además, el título de anticuerpos en suero contra los serotipos 3, 6A y 6B fue al menos el doble en comparación con la respuesta inmune obtenida de conejos inmunizados con Prevnar®13. El título de IgG en suero después de la primera inmunización en conejos con Prevnar®13 no muestra un aumento en el mismo grado que el observado con la formulación 15 valente de la presente solicitud (Figuras 3 y 4). El título de anticuerpos del serotipo 3 apenas alcanza los 8000 en formulaciones que contienen 2.2 µg del serotipo 3 conjugado con CRM₁₉₇. Este título muestra una mejora notable (16000) cuando se conjugaba con 4.4 µg de PsaA. Esta es una mejora en la respuesta inmune debido a la conjugación de polisacáridos de serotipo 3, 6A y 6B a PsaA. El título de anticuerpos en suero contra el serotipo 14 en animales vacunados con Prevnar®13 fue menor en comparación con las formulaciones de la presente invención (Capítulo Descriptivo de la solicitud, páginas 91 a 93).

Por otro lado, D2 describe una composición que comprende polisacárido capsular de la cepa 23-F de *Streptococcus pneumoniae* conjugado con la proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA). D2 describe un conjugado monovalente.

La presente invención difiere de D2 en que D2 describe sólo el conjugado de serotipo 23F-rPSaA. D2 no enseña una composición multivalente que comprenda dos o más conjugados neumocócicos con la proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA) o una combinación de PsaA y CRM₁₉₇. La presente invención está relacionada con una composición de vacuna neumocócica multivalente en la que al menos dos polisacáridos de los serotipos neumocócicos están conjugados con proteína A de adhesión de superficie neumocócica (PsaA).

Además, los datos experimentales indican claramente que el título de anticuerpos inducido por las composiciones de vacuna de la presente invención (Figura 3 y Figura 5) es varias veces mayor que el título de anticuerpos inducido por la composición de conjugado monovalente descrita en D2 (Fig.3 de D2). Esto indica una mejora técnica significativa sobre D2.

Por tanto, es evidente que existe un aumento global de la inmunogenicidad de la composición multivalente descrita en la presente invención. Más allá de esto, en los documentos citados no existen divulgaciones o sugerencias que describan composición de vacuna multivalente en la que cualquiera de PsaA o combinación de PsaA y CRM₁₉₇ se hayan utilizado como proteínas portadoras.

A continuación, se presentan los detalles de la formulación de la vacuna conjugada 11 valente que contiene polisacárido neumocócico, cada uno de ellos conjugado con la proteína portadora PsaA.

Formulación de vacuna conjugada

Se formuló una vacuna conjugada 11-valente, donde 0.5 ml contienen 2.2 µg de polisacárido de los serotipos 3, 6A, 8, 10A, 11A, 12F, 15A, 23A, 23B, 24F y 35B conjugado con ~ 25 µg de proteína PsaA. Todos los conjugados se adsorbieron sobre un gel de fosfato de aluminio equivalente a 0.5 mg de Al³⁺ por dosis de 0.5 ml. Se usó solución salina al 0.9% p/v como diluyente y vehículo para la formulación y el pH de la formulación final se ajustó a pH 6 usando ácido clorhídrico 1N. Para una adsorción eficaz después del ajuste del pH, la formulación se mezcló durante 2 horas con agitación constante. Después de 2 horas de mezcla, la mezcla formulada se llenó asépticamente con un volumen de llenado de 0.58 ml por vial en viales estériles no siliconizados de 3 mL, se cerró con tapones de goma estériles de 13 mm y se selló con sellos de aluminio flip off estériles de 13 mm, seguido de inspección óptica y etiquetado de los viales llenos. Del lote, se enviaron algunos viales seleccionados al azar para analizar la apariencia, pH, osmolalidad, contenido total de poli y proteínas (µg/SHD), % de adsorción, contenido de aluminio (mg/SHD).

Inmunización de conejos con la vacuna formulada

Se criaron conejos sanos de 1.5 a 2 kg cada uno en una instalación contenida libre de patógenos específicos. Se inmunizaron conejos con la formulación mencionada

anteriormente de acuerdo con el siguiente esquema - día 1, día 15 y día 29 como se muestra en la Tabla siguiente:

Grupo	Descripción	Nombre del grupo	No. de animales	Esquema de inmunización	Esquema de sangrado
1	Vacuna neumocócica conjugada (adsorbida) (11-Valente) PsaA 2.2 µg del serotipo 3, 6A, 8, 10A, 11A, 12F, 15A, 23A, 23B, 24F y 35B	PCV11/PsaA 2.2	7	Días 1, 15 y 29	Día 0, 15 y 36
5	0.9% p/v de solución salina normal	Control	7		

Se extrajeron muestras de sangre de conejos inmunizados en los días 0 (PI), 15 (PD1), 29 (PD2) y 36 (PD3). El suero obtenido de los conejos inmunizados se analizó para determinar la respuesta inmune específica del serotipo usando ELISA.

El ELISA se realizó según el protocolo sugerido por la OMS. Brevemente, las placas de ELISA Maxisorp™ se recubrieron con PnCPS de un serotipo dado (1 µg/50 µL/pocillo usando PBS; libre de endotoxinas estériles, con azida sódica al 0.02%). Las placas se colocaron en una caja con toallas de papel humedecidas para humidificación y se incubaron a 37°C ± 2°C durante 5 horas, luego las placas se almacenaron a 5°C ± 3°C hasta su uso.

Los sueros de prueba se adsorbieron previamente en CWPS Mlti™ para eliminar la reactividad de fondo que se origina en el polisacárido de la pared celular. Para lograr esto, se diluyeron 2µL de suero de prueba y control positivo usando 998µL de solución de preadsorción (1mL-1µL CWPS Multi™ en 999µL de SuperBlock™ al 10% en PBST) para obtener una dilución final de 1:500. Las muestras diluidas se incubaron a temperatura ambiente (25°C ± 5°C) durante 1 hora con agitación continua. Las PnCPS no unidas se eliminaron agitando la placa y los sitios libres en los pocillos se bloquearon añadiendo 200µl de bloqueador (SuperBlock™ al 20% en PBS). Las placas se incubaron a temperatura ambiente (25°C ± 5°C) durante 1 hora sin agitar.

Muestras de prueba y adición de controles

Se añadieron 50 µl de diluyente (SuperBlock™ al 10% en PBST) a todos los pocillos excepto A1 a A12. Después de esta prueba de preadsorción de 100 µL/pocillo, se agregaron muestras de sueros de prueba a A1 a A10, y se agregaron muestras de sueros control a A11 y A12. Se realizó una dilución en serie de dos veces de las muestras de prueba transfiriendo 50 µl del 1º al 2º y así sucesivamente, es decir, de A1-A10 a H1-H10. De manera similar, se realizó una dilución en serie de las muestras de control (007SP) de A11 y 12 a E11 y E12. F11 y F12 a H11 y H12 sin dilución se configuraron como blanco.

Las placas se incubaron a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) durante 2 horas sin agitar. Tras la etapa de incubación, se descartó el contenido y las placas se lavaron tres veces con PBST (~ 250 µL/pocillo) manualmente o con un lavador de placas.

Adición de anticuerpos primarios

Se añadieron 50 µL/pocillo de proteína recombinante A/G peroxidasa (diluida 1:20000 usando SuperBlock™ al 10% en PBST) a todos los pocillos y las placas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) sin agitar. Después de esto, las placas se lavaron tres veces con PBST (~ 250 µL/pocillo) manualmente o con un lavador de placas.

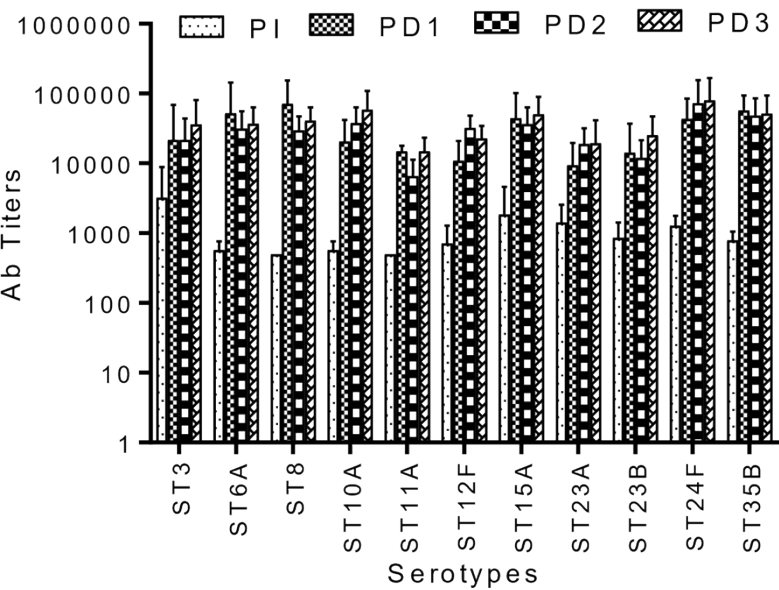
Desarrollo y lectura

La reacción cromogénica se desarrolló añadiendo 50 µL/pocillo de sustrato TMB y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) sin agitar. La reacción se detuvo añadiendo 50 µL/pocillo de ácido sulfúrico 1.25 M. Se midió la DO a 450 nm.

Estimación de títulos

El título de anticuerpos en los animales inmunizados se asignó como factor de dilución inverso. La dilución más alta que muestra una $\text{DO}_{450\text{nm}}$ como el doble del título preinmune (aproximadamente 0.2) se reportó como título. Se representó gráficamente el título de anticuerpos séricos para cada serotipo y se comparó con diferentes grupos de tratamiento. La barra de error indica la desviación estándar del título entre diferentes animales.

La figura proporcionada a continuación muestra la respuesta inmune a diferentes serotipos en conejos inmunizados en diferentes puntos de tiempo, con una formulación que contiene 2.2 µg de los serotipos 3, 6A, 8, 10A, 11A, 12F, 15A, 23A, 23B, 24F y 35B conjugados con PsaA.



A partir de los datos de la respuesta inmune, está claro que los polisacáridos conjugados con PsaA conservan una alta inmunogenicidad en conejos. La respuesta del título de IgG aumenta después de cada inmunización.

Además, debe tenerse en cuenta que el diseño de una vacuna conjugada multivalente es extremadamente complicado e impredecible. Debido a la complejidad del proceso de fabricación de vacunas multivalentes, el riesgo de interferencia inmunológica, la pérdida de estabilidad y los problemas de seguridad, no existe ninguna motivación para la persona versada en la materia combine los documentos de la técnica anterior citados para llegar a la presente invención.

En este sentido, quisiera añadir que, de acuerdo con el Artículo 18 de la Decisión 486, una invención tiene nivel inventivo cuando no hubiese resultado obvia ni se hubiera derivado de manera evidente del estado de la técnica para la persona versada en la materia. Así entonces, el análisis de nivel inventivo no debería basarse en si la invención era **posible de obtener**, pues esto haría todas las invenciones obvias y que el sistema de patentes fuera inviable. En otras palabras, lo que debería hacer parte del análisis **no** es lo que la persona medianamente versada en la materia podría haber hecho en la fecha de prioridad sino lo que habría hecho teniendo en cuenta de sus conocimientos en la técnica y lo enseñado en el arte previo. Por lo tanto, llegar al método de las reivindicaciones 1 a 38 de la presente

invención, a la luz de D1 y D2, aún implicaría un esfuerzo inventivo para la persona versada en la materia.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, señalo respetuosamente que para que una invención reclamada sea obvia, tanto la sugerencia de obtener las características esenciales de la invención como la expectativa de éxito deben estar contenidas en el arte previo. Sin embargo, D1 y D2 no proporcionan a la persona versada en la materia con una expectativa razonable de éxito si eligiera alguna línea particular de investigación de todas las enunciadas en estos documentos. En consecuencia, está claro que las Reivindicaciones 1 a 38 no pueden considerarse obvias a la luz de las enseñanzas de D1 y D2.

VII. PETICIÓN

1. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, solicito proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.
2. De manera subsidiaria, y en caso de que su Despacho considere que la modificación introducida al Capítulo Reivindicatorio amerita revisión adicional, solicito un segundo examen de patentabilidad o que se me requiera el pago de ser necesario en conformidad con lo dispuesto en el Artículo 10 de la Resolución 59669 de 25 de septiembre de 2020.

VIII. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por **38** reivindicaciones;
2. Comprobante de pago por Modificación Voluntaria del Capítulo Reivindicatorio.

Señora Directora,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908