

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

Señor
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

TÍTULO DE LA SOLICITUD: “ANTÍGENOS RECOMBINANTES DE GIARDIA, PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES IGG E IGY ANTI-GIARDIA Y DETECCIÓN DE GIARDIA”

Como resultado del examen de patentabilidad realizado a la solicitud indicada en la referencia, atendiendo a lo consagrado en el artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le comunica que esta Dirección ha encontrado que la materia objeto de solicitud no cumple con algunos requisitos establecidos en la Decisión, con fundamento en los siguientes aspectos:

1. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada al momento de realizar el examen de patentabilidad consagrado en el artículo 45 de la Decisión 486. Por lo tanto, se estudiarán las reivindicaciones 1 a 10 del radicado N° NC2017/0007377 del 25 de julio de 2017.

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de desarrollar métodos para la obtención y purificación de anticuerpos policlonales anti-Giardia, así como pruebas diagnósticas e inmunodiagnósticas *in vitro* para la detección de antígenos de Giardia en diferentes tipos de muestras.

Para resolver este problema técnico, la solicitud en estudio proporciona una fase estacionaria reutilizable para la purificación de anticuerpos policlonales anti-Giardia IgG e IgY, que comprende una mezcla de al menos dos de las proteínas antigénicas recombinantes CWP1, alfa giardina 7.3 y Kinesina 3 incorporadas en un soporte sólido.

2. No es una invención (Art. 15 Decisión 486 literal (b))

El objeto de la reivindicación 5 no se considera una invención, de acuerdo con el artículo 15 de la Decisión 486, toda vez que, se refiere a anticuerpos policlonales anti-giardia de tipo IgG y/o IgY, que de acuerdo con el capítulo descriptivo, han sido producidos mediante la inmunización de conejos o aves, con lisados de trofozoitos del parásito *G. lamblia* y han sido aislados por el solicitante (Pág. 8, Líneas 27-32), por lo que se refiere a materia aislada que no puede distinguirse de cualquier anticuerpo obtenido por el proceso de inmunidad adaptativa resultante de la infección natural de conejos o aves con el parásito *G. lamblia*, toda vez que: “La respuesta inmune a parásitos conduce a la producción de anticuerpos y está asociada a la producción de IgG, IgM, IgE o IgA”¹. Por lo tanto, el alcance la reivindicación 5 comprende material aislado tal y cómo se encuentra en la naturaleza, que no es patentable.

1 J. Stewart, (2012) 11 - Parasitic infections: Pathogenesis and immunity, Editor(s): David Greenwood, Mike Barer, Richard Slack, Will Irving, Medical Microbiology (Eighteenth Edition), Churchill Livingstone, Pages 144-150, ISBN 9780702040894, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4089-4.00026-3>. Recuperado desde: (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702040894000263>)



Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

3. De la solicitud de patente

3.1. Título

El nombre de la invención de que se trata en el artículo 27 literal d) de la Decisión 486 deberá reflejar el objeto y el campo industrial con el cual se relaciona la misma y ser concordante con la materia descrita y las reivindicaciones de la solicitud. El nombre no podrá referirse a nombres personales, marcas de productos o nombres de fantasía.

El solicitante en el escrito radicado bajo el N° NC2017/0007377 el 25 de julio de 2017, tituló la invención como: “ANTÍGENOS RECOMBINANTES DE GIARDIA, PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES IGG E IGY ANTI-GIARDIA Y DETECCIÓN DE GIARDIA”. Este título no se relaciona con el objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones, por lo cual se sugiere el título siguiente: “PROCESO PARA LA PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES IGG E IGY ANTI-GIARDIA Y MÉTODO PARA LA DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO IN VITRO DE LA INFECCIÓN POR GIARDIA”.

3.2. Reivindicaciones (Art. 30 Decisión 486)

- La reivindicación 1 no es clara toda vez que se refiere a un producto encabezado como: “Una fase estacionaria” el cual comprende dos componentes, en donde el primero se refiere como un soporte de tipo matriz el cual no se define mediante su nombre químico, sino que se menciona que puede estar compuesto de: “polisacáridos” o puede ser sintético, y un segundo componente que se refiere como una mezcla de: “dos o más” proteínas antigénicas recombinantes, sin caracterizar las proteínas antigénicas por su estructura. Se recuerda al solicitante que la reivindicación independiente debe ser autosuficiente y por ende debe señalar todas las características técnicas esenciales del producto, que corresponden a: los nombres químicos de la matriz de soporte y a las secuencias de aminoácidos de las proteínas componentes de la mezcla; Así mismo, deben sustituirse los términos imprecisos como: “dos o más” por términos precisos o rangos concretos de acuerdo con lo divulgado en el capítulo descriptivo.
- Las reivindicaciones 1 y 2 no se encuentran sustentadas en la descripción, toda vez que reclaman un fase estacionaria, que comprende una matriz de soporte, en donde dicha matriz puede comprender materiales sintéticos de tipo poliacrilamida o vidrio, los cuales no han sido evidenciados en los métodos de purificación divulgados en el capítulo descriptivo y que pueden resultar no funcionales para la unión de la mezcla de proteínas. Se sugiere al solicitante restringir la reivindicación a una razonable generalización de los materiales de matriz de soporte dentro del alcance de la descripción que tengan las propiedades para ser materiales efectivos de unión de proteínas recombinantes.
- Las reivindicaciones 1 y 3 no son claras ya que incluyen el término: “buffer” que no pertenece al castellano. Se sugiere al solicitante sustituirlo por su equivalente en castellano.
- La reivindicación 6 no es clara, toda vez que su preámbulo la define como un objeto de tipo “prueba diagnóstica” sin embargo se caracteriza mediante una serie de etapas que corresponderían a objeto de tipo método; por lo que la reivindicación 6 es en realidad, una reivindicación de método y no de producto. Además, no se



Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

suministran todas las condiciones necesarias para la reproducción del diagnóstico *in vitro* toda vez que no se refieren los nombres, ni las características estructurales de los antígenos de *Giardia* empleados en la detección, ni los tiempos de incubación o agitación. Se recuerda al solicitante que una reivindicación independiente debe contener todas las características técnicas esenciales por lo que se sugiere incluir las condiciones y agentes señalados, así como, encabezar la reivindicación como: “*un método o un proceso*”.

- La reivindicación 8 no es clara ya que se encabeza como un kit de partes que comprende cuatro componentes, sin embargo el componente b) que se refiere a los anticuerpos policlonales no ha sido caracterizado estructuralmente, ni mediante su proceso de obtención, en tanto que el componente c) se refiere a un conjugado de un anticuerpo anti-giardia unido a un reportero, sin embargo, el kit divulgado en el capítulo descriptivo menciona que los conjugados corresponden a: “*conjugado IgG anti-conejo desarrollado en cabra (...) y (...) conjugado IgG anti-gallina desarrollado en cabra (...)*” (Pág. 22, líneas 36-38). Se sugiere al solicitante caracterizar los anticuerpos componente b) del kit con referencia a su proceso de obtención y corregir el componente c) para que el kit corresponda con las realizaciones del capítulo descriptivo.

4. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha para determinar el estado de la técnica es el 25 de julio de 2017 que corresponde a la fecha de presentación nacional.

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta, se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Moreno-González P., et al, <i>Rev. Colomb. Quím.</i>	“Producción y purificación de anticuerpos aviares (IgYs) a partir de cuerpos de inclusión de una proteína recombinante central en el metabolismo del NAD+”	30 de Julio de 2013
D2	Lopez-Romero G., et al, <i>Parasite Immunology</i>	“Host defences against <i>Giardia lamblia</i> ”	08 de junio de 2015
D3	Moreno-González P., Tesis Magister <i>Univ. Nal. Col.</i>	“Estudio de la Nicotinamida/Nicotinato Mononucleótido Adenililtransferasa de <i>Giardia lamblia</i> (gNMNAT): determinación de la localización subcelular y aproximación estructural.”	2013
D4	Jahan N., et al., <i>Journal of Clinical and Diagnostic Research.</i>	“A Comparison of Microscopy and Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of <i>Giardia lamblia</i> in Human Faecal Specimens”	20 de Noviembre de 2014

El documento D1² divulga una metodología para la producción de anticuerpos policlonales (IgYs) empleando cuerpos de inclusión (CI) como antígeno, en donde los CI purificados e inoculados corresponden a la Nicotinamida/Nicotinato Mononucleotido Adenililtranferasa (His-GiNMNAT) de *Giardia intestinalis* expresada en *Escherichia coli* (Pág. 12, Resumen)

²Moreno-González, Paula A, Diaz, Gonzalo J, & Ramírez-Hernández, María H. (2013). Producción y purificación de anticuerpos aviares (IgYs) a partir de cuerpos de inclusión de una proteína recombinante central en el metabolismo del NAD+. *Revista Colombiana de Química*, 42(2), 12-20. Recuperado desde: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000200002&lng=en&tlng=.

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

El documento D2³ divulga una revisión acerca de la respuesta inmune generada por los hospederos hacia el parásito protozoo *Giardia spp*, en donde se destaca la relevancia del óxido nítrico y las células dendríticas como primera línea de defensa, y la producción de IL6 e IL17 como mecanismo fundamental durante la infección, así como la de varias citoquinas con funciones superpuestas en la regulación de las respuestas inmunes innatas y adaptativas; finalmente se señalan los IgAs y las células T CD4+ como fundamentales en la eliminación de *Giardia*, particularmente se sugiere que las células T CD4+ juegan un rol doble en la respuesta anti-giardia, primero activando y estimulando la diferenciación de células B generando la producción de anticuerpos anti-giardia específicos y segundo, a través de un mecanismo independiente de las células B y mediado por células Th17 (Pág. 394, Resumen).

El documento D3⁴ divulga el estudio de la Nicotinamida Mononucleótido Adenililtransferasa isoenzima A (GINMNAT-a) mediante aproximaciones bioinformáticas y experimentales, a través de: la generación de un modelo estructural *in silico* y la evaluación de la expresión mediante retro-transcripción, también enseña análisis de inmunodetección para los cuales se generaron anticuerpos policlonales en modelos murinos y aviares (IgG e IgY) y el estudio de la localización intracelular mediante el empleo de transgénos (Pág. IX, Resumen).

El documento D4⁵ divulga la evaluación de la eficacia de un ensayo de ELISA RIDASCREEN para *Giardia* en comparación con la detección directa por microscopio de *G. lamblia* en muestras de pacientes con diarrea u otros síntomas gastrointestinales (Pág. 4, Resumen)

5. Examen de Patentabilidad (Art. 14 Decisión 486)

5.1. Nivel Inventivo (Art. 18 Decisión 486)

La reivindicación 1 consiste en: “Una fase estacionaria para purificar anticuerpos anti-*Giardia* IgG o anti-*Giardia* IgY, que comprende: (...)” (Radicado N° NC2017/0007377 del 25 de julio de 2017).

Tabla 1. Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2
Una fase estacionaria para purificar anticuerpos anti- <i>Giardia</i> IgG o anti- <i>Giardia</i> IgY, que comprende:	Una membrana para la purificación de anticuerpos IgY contra la NMNAT de <i>Giardia intestinalis</i> (GiNMNAT) (Pág. 14, Col. Der., Líneas 6-10)	No se menciona
a) un soporte resistente, permeable y reactivo de matriz de	Una membrana de nitrocelulosa unida a (Pág. 14, Col. Der., Línea 9)	No se menciona

³Lopez-Romero, G., Quintero, J., Astiazarán-García, H. and Velazquez, C. (2015), Host defences against *Giardia lamblia*. *Parasite Immunol*, 37: 394-406. doi:10.1111/pim.12210 Recuperado desde: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pim.12210>

⁴Moreno González, Paula Andrea (2013) Estudio de la nicotinamida/nicotinato mononucleótido adenililtransferasa de giardia lamblia (gnmnat): determinación de la localización subcelular y aproximación estructural. Maestría thesis, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá. Recuperado desde: <http://bdigital.unal.edu.co/57937/1/01188158%202013.pdf>

⁵Jahan N., Khatoon R. y Ahmad S., “A Comparison of Microscopy and Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of *Giardia lamblia* in Human Faecal Specimens” *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014 Nov, Vol-8(11): DC04-DC06, DOI: 10.7860/JCDR/2014/9484.5087, Recuperado desde: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290233/pdf/jcdr-8-015-DC04.pdf>

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

polisacáridos o de matriz sintética; y		
b) una mezcla de dos o más proteínas antigénicas recombinantes seleccionadas de CWP1, alfa giardina 7.3 y Kinesina 3, y un buffer.	La proteína recombinante antigénica GiNMNAT (Pág. 13, Col. Der., Línea 8)	Las principales proteínas inmunogénicas de Giardia que comprenden α-7.3-Giardina y a la CWP1 (Pág. 401, Tabla 1).

El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga una membrana para la purificación de anticuerpos IgY contra la NMNAT de *Giardia intestinalis* (GiNMNAT) en donde la membrana es de nitrocelulosa unida y se encuentra unida a la proteína recombinante antigénica GiNMNAT (Pág. 14, Col. Der., Líneas 6-10).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y la membrana divulgada en el documento de D1 consiste en que la fase estacionaria de la solicitud comprende una mezcla de dos o más proteínas antigénicas recombinantes seleccionadas de CWP1, alfa giardina 7.3 y Kinesina 3.

No se evidencia un efecto técnico asociado a la mezcla de dos o más proteínas recombinantes, toda vez que no se caracterizan estructuralmente los componentes de la mezcla por su secuencia completa de aminoácidos.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar la fase estacionaria conocida en D1 con el fin de obtener una fase estacionaria alternativa?

Sin embargo, el documento D2 ya se refiere a las proteínas α-giardina y una proteína de la pared del quiste (CWP) como inductoras de respuesta inmune protectora de hospederos contra retos con *Giardia* y menciona como la caracterización y evaluación de estas proteínas puede ayudar al desarrollo de herramientas contra la giardiasis (Pág. 394, Resumen); específicamente el documento D2 menciona a la α-7.3-Giardina y a la CWP1 dentro de las principales proteínas inmunogénicas de *Giardia* (Pág. 401, Tabla 1).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a emplear las proteínas CWP1 y α-7.3-Giardina señaladas como inmunogénicas en el documento D2 en un soporte para la purificación de anticuerpos IgY anti-giardia como el del documento D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 2 y 3 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo a la fase estacionaria de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.

La reivindicación 4 consiste en: “Un método para purificar anticuerpos policlonales anti-Giardia IgG y/o anti-Giardia IgY, por cromatografía de afinidad, que comprende las siguientes etapas: (...)” (Radicado N° NC2017/0007377 del 25 de julio de 2017).

Tabla 2. Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2
----------------------------	----	----

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

Un método para purificar anticuerpos policlonales anti-Giardia IgG y/o anti-Giardia IgY, por cromatografía de afinidad, que comprende las siguientes etapas:	Método para la producción de anticuerpos policlonales IgY contra una de las isoenzimas de <i>Giardia intestinalis</i> GiNMNAT (Pág. 13, Col. Der. Líneas 6-8) que comprende:	No se menciona
a) preparar una fase estacionaria de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3;	El montaje de la columna de afinidad tiofilica (Pág. 14, Col. Izq., línea 35, Ver manual del kit <i>Pierce® Thiophilic Adsorbent</i> ⁶⁾	Las principales proteínas inmunogénicas de Giardia que comprenden α-7.3-Giardina y a la CWP1 (Pág. 401, Tabla 1).
b) bloquear los grupos activos;	Equilibrar la columna con 24 ml de amortiguador de unión (Pág. 14, Col. Izq., línea 36)	No menciona
c) transferir la fase estacionaria a una columna y lavar con solución reguladora de bicarbonato;		No menciona
d) adicionar anticuerpos policlonales IgG anti-Giardia a la fase estacionaria hasta que se sature el gel y de igual manera, pero independientemente, realizar el proceso con IgY anti-Giardia;	Aplicar la muestra que comprende las IgYs provenientes de la yema de huevo deslipidada, (Pág. 14, Col. Izq., líneas 37 y 38)	No menciona
e) remover proteínas u otros solutos inespecíficos;	Eluir las proteínas no unidas inespecíficas mediante lavados con el amortiguador de unión (Pág. 14, Col. Izq., líneas 39-40)	No menciona
f) eluir los anticuerpos policlonales IgG anti-Giardia o anti-Giardia IgY específicos que se habían adicionado independientemente; y	Eluir las inmunoglobulinas agregando 24ml de amortiguador de elución y se analiza su bioactividad mediante ELISA y se almacenan con glicerol (Pág. 14, Col. Izq., líneas 40-43) y	No menciona
g) neutralizar	Regenerar la columna (Pág. 14, Col. Izq., línea 35, Ver manual del kit <i>Pierce® Thiophilic Adsorbent</i> ⁴⁾	No menciona

El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 4 porque divulga un método para la producción de anticuerpos policlonales IgY contra una de las isoenzimas de *Giardia intestinalis* GiNMNAT (Pág. 13, Col. Der. Líneas 6-8) que comprende: el montaje de la columna de afinidad tiofilica, equilibrar la columna con 24 ml de amortiguador de unión, aplicar la muestra que comprende las IgYs provenientes de la yema de huevo deslipidada, eluir las proteínas no unidas inespecíficas mediante lavados con el amortiguador de unión, eluir las inmunoglobulinas agregando 24ml de amortiguador de elución, analizar la bioactividad mediante ELISA, almacenar con glicerol y regenerar la columna (Pág. 14, Col. Izq., línea 35-43, Ver manual del kit *Pierce® Thiophilic Adsorbent*⁴⁾

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 4 y el método divulgado en el documento D1 consiste en el paso a) de preparar la fase estacionaria, ya que esta comprende además de un soporte resistente, permeable y reactivo de matriz de polisacáridos o de matriz sintética, una mezcla de dos o más proteínas antigénicas recombinantes seleccionadas de CWP1, alfa giardina 7.3 y Kinesina 3, y un amortiguador.

6 Thermo Scientific Pierce®Thiophilic Adsorption Kit. Recuperado desde: https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0011235_Pierce_Thiophilic_Adsorption_UG.pdf?_ga=2.146250228.119417256.0.1568590236-160690456.1568590236

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

El efecto técnico asociado a la mezcla de dos o más proteínas antigénicas recombinantes, es la purificación por afinidad al antígeno de los anticuerpos policlonales IgYs e IgGs.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el método conocido en el documento D1 con el fin de obtener anticuerpos IgY o IgG purificados por afinidad al antígeno?

Sin embargo, el documento D2 ya refiere a la proteína α -giardina y a la proteína de la pared del quiste (CWP) como inductoras de respuesta inmune protectora de hospederos contra retos con *Giardia* y señala que, la caracterización y evaluación de estas proteínas puede ayudar al desarrollo de herramientas contra la giardiasis (Pág. 394, Resumen); específicamente el documento D2 menciona a la α -7.3-Giardina y a la CWP1 dentro de las principales proteínas inmunogénicas de *Giardia* (Pág. 401, Tabla 1) que han mostrado ser inmuno-reactivas en muestras de suero tomadas de pacientes infectados y que permiten estimular la producción de anticuerpos anti-giardia (IgA e IgG2a) generando protección contra desafíos posteriores (Pág. 400, Col. Der., Párr. [3])

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a emplear proteínas inmunogénicas inductoras de anticuerpos anti-giardia como las del documento D2 para obtener y purificar anticuerpos anti-giardia siguiendo el método del documento D1, y llegaría así al objeto de la reivindicación 4. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente el documento D1 menciona un procedimiento para la inmunodetección de la GiNMNAT de *Giardia intestinalis* que comprende ensayos de ELISA indirectos e inmunodetección mediante inmuno-blot que permiten evidenciar un resultado positivo cuando hay detección de la proteína de *Giardia* a través de una reacción colorimétrica de un anticuerpo secundario acoplado a una enzima cuando se adiciona alguno de los sustratos: o-fenildiamina dihidrocloridrato (OPD) o cloronaftol y peróxido al 4% (Pág. 14, Col. Der. Párr. [3 y 4]).

La reivindicación 6 consiste en: “Una prueba diagnóstica in vitro para la detección de antígenos en muestras biológicas o ambientales que comprende las siguientes etapas: (...)” (Radicado N° NC2017/0007377 del 25 de julio de 2017).

Tabla 3. Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D3	D4
Una prueba diagnóstica in vitro para la detección de antígenos en muestras biológicas o ambientales que comprende las siguientes etapas:	Método para la detección de la proteína NMNAT de <i>Giardia lamblia</i> (Pág. 31, Párr. [2])	Procedimiento de ELISA para la detección de <i>Giardia</i> RIDASCREEN (Pág. 5, Párr. [4])
a) adicionar anticuerpos policlonales anti-Giardia IgG o anti-Giardia IgY, de acuerdo con la Reivindicación (anticuerpos de captura), en una fase sólida o matriz;	No se menciona	Cubrir la superficie de placa con anticuerpos específicos contra <i>Giardia</i> (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
b) incubar la matriz y lavarla;	Las membranas se bloquearon durante 1h o 2h con solución de leche descremada 5% (P/V) en amortiguador (TSB-T leche) (Pág. 30, líneas 11-12)	No se menciona

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

c) bloquear;		
d) incubar y lavar;	Entre los cambios se realizaron tres lavados con TBS-T leche de 10 minutos cada uno (Pág. 30, líneas 28-29)	
e) poner en contacto la muestra biológica o ambiental con la matriz que contiene los anticuerpos policlonales anti-Giardia, e incubar;	Las proteínas de lisados de <i>Giardia</i> se transfirieron a una membrana de PVDF o nitrocelulosa pre-activada (Pág. 30, líneas 7-8)	Adicionar la muestra (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
f) retirar el exceso de muestra;	Entre los cambios se realizaron tres lavados con TBS-T leche de 10 minutos cada uno (Pág. 30, líneas 27-28)	No se menciona
g) adicionar anticuerpos policlonales anti-Giardia IgG o anti-Giardia IgY purificados;	La inmunodetección se realizó incubando con los anticuerpos primarios (IgG) o IgY contra la NMNAT de <i>Giardia</i> (Pág. 30, líneas 12-16)	Adicionar el conjugado de anticuerpo anti-giardia unido (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
h) agitar, incubar, retirar el exceso de anticuerpos;	Se incuba y se realizaron tres lavados con TBS-T leche de 10 minutos cada uno (Pág. 30, líneas 28-29)	Remover los anticuerpos no unidos (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
i) adicionar un conjugado de anticuerpo-anti-IgG de conejo o anti-IgY de gallina unido a un reportero;	Se adicionan los anticuerpos secundarios anti-ratón (anti-IgG de <i>Giardia</i>) conjugado a biotina o anti-gallina (anti-IgY de <i>Giardia</i>) conjugado a peroxidasa de rábano (HRP) (Pág. 30, líneas 16-21)	Adicionar un sustrato (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
j) agitar, incubar, retirar el exceso de conjugado;	Se incuba y se realizaron tres lavados con TBS-T leche de 10 minutos cada uno (Pág. 30, líneas 28-29)	No se menciona
k) realizar la detección;	La detección cromogénica se realizó mediante dos sistemas de revelado (i) esptreptavidina A conjugada a fosfatasa alcalina y los sustratos NMBT y BCIP en amortiguador sustrato o (ii) peroxidasa de rábano (HRP) con sustrato peróxido de hidrogeno al 30% en solución TBS con 4-cloro-naftol al 20% (Pág. 30, líneas 22-27)	Detectar el cambio de color de la placa en un resultado positivo (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])
l) incubar, detener la reacción cuando sea necesario.	La detección inmunogénica se detuvo con agua destilada al evidenciar productos coloreados (Pág. 30, líneas 27-28)	Agregar un reactivo para detener la reacción (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4])

El documento D3 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 6 porque divulga un método para la detección de la proteína NMNAT de *Giardia lamblia* (Pág. 31, Párr. [2]) que comprende la transferencia de las proteínas de extractos de *Giardia* (Pág. 33, Párr. [1]) hacia membranas PVDF o Nitrocelulosa (Millipore) previamente pre-activadas, el bloqueo de las membranas durante 1 h o 2 h con solución de leche descremada 5% (P/V) en TBS-Tween (150 mM NaCl, 20 mM Tris/HCl pH 7.5, 0.1% (V/V) Tween 20), la Inmunodetección del antígeno mediante los

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

anticuerpos primarios: murino (IgG) o aviar (IgY) en diferentes diluciones, seguido de la adición de anticuerpos secundarios para los antisueros murinos los anticuerpos anti-ratón conjugado a biotina (1:5000) o anti-ratón conjugado a peroxidasa de rábano (HRP) (1:2000) (Sigma) y para los anticuerpos aviares se usaron los respectivos anticuerpos secundarios anti-gallina conjugado a biotina (1:2000) o anti-gallina conjugado a HRP (1:2000), dependiendo del sistema de revelado cromogénico empleado en los diferentes ensayos, se realizó la detección cromogénica de los complejos inmunológicos mediante los sistemas de revelado: (i) estreptavidina A conjugada a fosfatasa alcalina (1:3000) (Promega) y los sustratos NBT (50mg/ml) y BCIP (50mg/ml) (Promega) en buffer sustrato (150 mM NaCl, 100 mM Tris/HCl pH 9.0, 1 mM MgCl₂). (ii) Peroxidasa de rábano (HRP) (1:2000) (sigma) con el sustrato peróxido de Hidrogeno al 30% en solución de TBS con 4-Cloro-Naftol al 20%, en donde la detección inmunológica se detuvo con agua destilada al evidenciar productos coloreados sobre las membranas. Entre los cambios de anticuerpos y fosfatasa alcalina se realizaron tres lavados con TBS-T leche o TBS leche de diez min cada uno y, después de incubar las membranas con la fosfatasa alcalina, estas se lavaron como se mencionó anteriormente con TBS-T. (Pág. 30, Párr. [1 y 2])

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 6 y el método divulgado en el documento D3 consiste en que en el método de inmunodetección de la solicitud el anticuerpo de captura IgY o IgG anti-giardia es adicionado antes de poner la muestra sobre el soporte solido en contraste con el método del documento D3 en donde el anticuerpo se adiciona posterior a la presencia de la muestra.

No se evidencia un efecto técnico asociado a un paso de contactar el anticuerpo IgY o IgG previo a la adición de la muestra, toda vez que, el método del documento D3 ya permite la detección de *Giardia*, empleando como blanco una proteína GiNMNAT, adicionando el anticuerpo posterior a la muestra biológica y con un menor número de pasos para la detección (Pág. 30, Párr. [1 y 2]). En este punto es importante mencionar que el método de la solicitud no refiere la proteína o mezcla de proteínas inmunogénicas empleadas en la detección que se consideran una característica esencial.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el método conocido en el documento D3 con el fin de obtener un método alternativo?

Sin embargo, el documento D4 ya se refiere a un procedimiento de ELISA para la detección de *Giardia* RIDASCREEN que comprende cubrir la superficie de placa con anticuerpos específicos contra *Giardia*, adicionar la muestra, adicionar el conjugado de anticuerpo anti-giardia y remover los anticuerpos no unidos, adicionar un sustrato y detectar el cambio de color de la placa en un resultado positivo (Pág. 5, Col. Der., Párr. [4]).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a incluir un paso de pre-incubación de la placa con un anticuerpo anti-giardia como el del documento D4 en un método como el del documento D3, para así llegar al objeto de la reivindicación 6. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones 7 a 10 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al método de la reivindicación 6, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.

6. Conclusión con respecto a novedad y/o nivel inventivo



Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

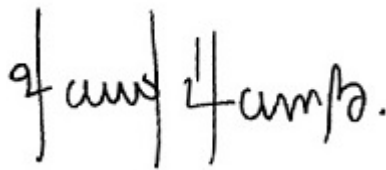
Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Moreno-González P., et al, <i>Rev. Colomb. Quím.</i>	1 a 4	Nivel Inventivo
D2	Lopez-Romero G., et al, <i>Parasite Immunology</i>	1 a 4	Nivel Inventivo
D3	Moreno-González P., Tesis Magister <i>Univ. Nal. Col.</i>	6 a 10	Nivel inventivo
D4	Jahan N., et al., <i>Journal of Clinical and Diagnostic Research.</i>	6 a 10	Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Si como respuesta a este requerimiento, el solicitante modifica: i) el capítulo reivindicatorio, ii) la descripción de la invención a proteger, iii) o presenta un nuevo capítulo reivindicatorio deberá observar las instrucciones contenidas en el numeral 1.2.2.1.1., del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única y la Dirección de Nuevas Creaciones seguirá el procedimiento descrito en el numeral 1.2.2.5.1.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 6.2 del Capítulo Sexto del Título I de la Circular Única, informándoles que contra el mismo no procede recurso alguno en actuación administrativa.



MARÍA JOSÉ LAMUS BECERRA
DIRECTORA DE NUEVAS CREACIONES

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

INFORME DE BÚSQUEDA
EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Solicitud No.		Examen de patentabilidad							
NC2017/0007377		1°	X	2°		3°		Revoca	
Solicitud Internacional No.		Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO)							
Fecha de determinación estado de la técnica (DD/MM/AÑO)				Prioridad			Presentación		
25 de julio de 2017							X		
Solicitante									
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD									
Reivindicaciones que no son objeto de búsqueda por:									
Art. 14	-	Art. 15	5	Art. 20	-	Art. 25 (Falta de unidad de invención)		-	

CRITERIOS DE BÚSQUEDA	
Reivindicaciones objeto de búsqueda	1 a 4 y 6 a 10
Palabras clave utilizadas	ANTIBODIES, GIARDIA, DETECCIÓN PROBES, DETECTION METHOD, AVIAN ANTIBODIES, IGY, IGG, ANTICUERPOS GIARDIA METODOS DE DETECCIÓN, METODOS DE DIAGNOSTICO ANTICUERPOS AVIARES ANTICUERPOS MURINOS,.
Clasificaciones utilizadas para la búsqueda	CIP: A61K 39/00, G01N 33/53

DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES (Documentos patente, Literatura no patente (LNP): Artículos, catálogos, etc.)					
Informes de búsqueda / Bases de datos consultadas	N° de solicitud de patente / N° de patente / Autor LNP(¹)	Fecha de Publicación /Presentación (DD/MM/AAAA)	Reivindicaciones /Secuencias afectadas	Citas relevantes del estado de la técnica	Categoría del documento citado(²)
ISA EPO	Moreno-González P.	30/07/2013	1 a 4	(Pág. 13, Col. Der. Líneas 6-8) (Pág. 14, Col. Izq., línea 35-43, Ver manual del kit Pierce® Thiophilic Adsorbent4)	Y
	Boone J. H.	01/03/1999	-	-	A
	Palm D.	15/05/2013	-	-	
	Garcia D.	01/12/2005	-	-	
	De Candia M.	2016	-	-	
	Quintero J.	01/08/2013	-	-	
	EP0390460	03/10/1990	-	-	
	BioRad	17/06/1998	-	-	
	US2015118264	30/04/2015	-	-	
US2003064417	03/04/2003	-	-		
US5503983	02/04/1996	-	-		
WO19021049	31/01/2019	-	-		
WO1995002822	26/01/1995	-	-		
US5558989	24/09/1996	-	-		
CN105255992	20/01/2016	-	-		
WO8602356	24706/1986	-	-		
US5512288	30/04/1996	-	-	A	
US2012093871	19/04/2012	-	-		

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

	US2011151435	23/06/2011	-	-	
	US2015071994	12/03/2015	-	-	
	US8852596	07/10/2014	-	-	
STN	Weiland M.	2005	-	-	A
	Mendez, T	2013	-	-	
	Lopez-Romero, G.	2015	1 a 4	(Pág. 394, Resumen); (Pág. 401, Tabla 1).	Y
	Lee, P	2007	-	-	A
	Jenkins, M	2014	-	-	
	Mendez T	2005	-	-	
Google Académico	Moreno-González P.	2013	6 a 10	(Pág. 30, Párr. [1 y 2])	Y
	Jahan N.	11/2014	6 a 10	(Pág. 5, Col. Der., Párr. [4]).	Y
(1) Cita completa literatura no patente (LNP) Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Volumen(Número), pp-pp. O Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Recuperado de http://xxxxxxx.					
MORENO-GONZÁLEZ, Paula A.; DIAZ, Gonzalo J.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, María H. (2013) Producción y purificación de anticuerpos aviares (IgYs) a partir de cuerpos de inclusión de una proteína recombinante central en el metabolismo del NAD+. Revista Colombiana de Química, [S.l.], v. 42, n. 2, p. 12-20. ISSN 2357-3791. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/45879>. "Activated Immunoaffinity Supports", Manual de sistema Affi-gel 10, (19980617), URL: http://www.manualsdir.com/manuals/600431/bio-rad-affi-gel-15-gel-affi-gel-10-gel-affi-gel-10-and-affi-gel-15-resins.html?original=1 BOONE J H, ET AL. (1999)TECHLAB AND ALEXON GIARDIA ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY KITS DETECT CYST WALL PROTEIN 1. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 19990301 American Society for Microbiology, US 37, Nr: 3, Page(s): 611 - 614 Daniel J E Palm, Malin E, Weiland-L, Griffiths William J, Ljungström Inger, Svård Staffan G, Smi, Solna, Sweden. (2003) Identification of immunoreactive proteins during acute human giardiasis. The Journal of infectious diseases. URL:https://academic.oup.com/jid/article/187/12/1849/2191261 Dabeiba Adriana García, Rubén Santiago Nicholls, Adriana Arévalo, Orlando Torres, Sofía Duque. (2005) Obtención, purificación y caracterización de anticuerpos policlonales IgY desarrollados en gallina, dirigidos contra aislamientos colombianos de Giardia duodenalis. Publication data:BIOMEDICA: REVISTA DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, 20051201 XX, CO. Source info:Vol: 25, Nr: 4, Page(s): 451 - 463 DE CANDIA, M. et al. (2016), "Respuesta de anticuerpos IgG contra fracciones de Giardia duodenalis en individuos infectados", Salus, vol. 20, no. 2, (20160000), pages 13 - 17, URL: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382016000200004&lng=es&nrm=iso, Jael Quintero, Diana Carolina Figueroa, Rafael Barcelo, Linda Breci, Humberto Astiazaran-Garcia, Lucila Rascon, Ramon Robles-Zepeda, Adriana Garibay-Escobar, Enrique Velazquez-Contreras, Gloria Leon Avila, Jose Manuel Hernandez-Hernandez, Carlos Velazquez (2013) Identification of an immunogenic protein of Giardia lamblia using monoclonal antibodies generated from infected mice. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Vol: 108, Nr: 5, Page(s): 616 - 622 Malin E.-L. Weiland, Andrew G. McArthur, Hilary G. Morrison, Mitchell L. Sogin, Staffan G. Svård, Annexin-like alpha giardins: a new cytoskeletal gene family in Giardia lamblia, International Journal for Parasitology, Volume 35, Issue 6, 2005, Pages 617-626, ISSN 0020-7519, https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.12.009. (http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751905000056) Peter Lee & Gaetan M. Faubert (2006) "Oral immunization of BALB/c mice by intragastricdeliveryof Streptococcus gordonii -expressingGiardia cystwall protein decreases cyst shedding in challenged mice" FEMS Microbiol Lett 265 225–236 A. TÉLLEZ, D. PALM,, M. WEILAND, J. ALEMÁN, J. WINIECKA-KRUSNELL, E. LINDER, & S. SVÄRD. 2005. Secretory antibodies against Giardia intestinalis in lactating Nicaraguan women. Parasite Immunology, , 27 , 163–169 Tavis L. Mendez, Atasi De Chatterjee, Trevor T. Duarte, Felipe Gazos-Lopes, Leobarda Robles-Martinez, Debarshi Roy, Jianjun Sun, Rosa A. Maldonado, Sukla Roychowdhury, Igor C. Almeida, and Siddhartha Das (2013) Glucosylceramide Transferase Activity Is Critical for Encystation and Viable					

Oficio N° 10675 de 25 de septiembre de 2019

Ref. Expediente N° NC2017/0007377

	Cyst Production by an Intestinal Protozoan, Giardia lamblia* THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY VOL. 288, NO. 23, pp. 16747–16760, June 7, 2013 G. LOPEZ-ROMERO,1 J. QUINTERO,2 H. ASTIAZARÁN-GARCÍA1 & C. VELAZQUEZ (2015) Host defences against Giardia lamblia. Parasite Immunology, 2015, 37, 394–406 Moreno González, Paula Andrea (2013) Estudio de la nicotinamida/nicotinato mononucleótido adenililtransferasa de giardia lamblia (gnmnat): determinación de la localización subcelular y aproximación estructural. Maestría thesis, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá. Recuperado desde: http://bdigital.unal.edu.co/57937/1/01188158%202013.pdf Jahan N., Khatoon R. y Ahmad S., (2014) “A Comparison of Microscopy and Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Giardia lamblia in Human Faecal Specimens” Journal of Clinical and Diagnostic Research. Nov, Vol-8(11): DC04-DC06, DOI: 10.7860/JCDR/2014/9484.5087, Recuperado desde: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290233/pdf/jcdr-8-015-DC04.pdf
(²) Categorías de documentos citados	
“A” Documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. “E” Solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. “L” Documento citado para llamar la atención sobre por ejemplo, dudas acerca de una reivindicación de prioridad o para determinar la fecha de publicación de otra cita, siempre van acompañados de una explicación, por la cual se citan. “O” Documento del tipo actas de conferencia, este tipo de documentos siempre estará acompañado por otra letra que indique la pertinencia del documento, por ejemplo, O,X, O,Y o bien O,A. “P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada. “T” Documento publicado en fecha posterior a la de presentación o la de prioridad de la solicitud internacional y no entra en conflicto con dicha solicitud, pero puede ser útil para la mejor comprensión del principio o teoría en que se basa la invención, o para demostrar que el razonamiento o los hechos en los que se basa dicha invención son incorrectos. “X” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. “Y” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.	
Fecha del reporte de búsqueda: 17/09/2019	
Examinador: PAULA ANDREA MORENO GONZALEZ	