

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

Remitente: LA ADMINISTRACIÓN ENCARGADA
DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Destinatario:
MAROUN CORTEZ, Victoria
Paseo de la Rosita 437
Colonia Campestre la Rosita
CP 27250
Torreón, Coahuila
México

PCT

OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(Regla 43bis.1 del PCT)

Fecha de expedición
(día/mes/año) 31/07/2018 31/julio/2018

Referencia del expediente del solicitante o del mandatario
MXa20184219

PARA CONTINUAR LA TRAMITACIÓN

Véase el punto 2

Solicitud internacional N°
PCT/MX2018/050009

Fecha de presentación internacional
(día/mes/año) 05/04/2018 05/abril/2018

Fecha de prioridad (día/mes/año)
06/04/2017 06/abril/2017

Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o a la vez clasificación nacional e CIP
(CIP): G01N33/569, G01N2333/23 (2018.01)

Solicitante
MAROUN CORTEZ, Victoria

1. La presente opinión contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes:

- | | | |
|-------------------------------------|---------------|--|
| ☒ | Recuadro I | Base de la opinión |
| ☐ | Recuadro II | Prioridad |
| ☒ | Recuadro III | No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial |
| ☐ | Recuadro IV | Falta de unidad de invención |
| ☒ | Recuadro V | Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración |
| ☐ | Recuadro VI | Ciertos documentos citados |
| ☐ | Recuadro VII | Defectos en la solicitud internacional |
| ☒ | Recuadro VIII | Observaciones relativas a la solicitud internacional |

2. CONTINUACIÓN DE LA TRAMITACIÓN

Si se hace una petición de examen preliminar internacional, esta opinión se considerará como una opinión escrita de la Administración encargada del examen preliminar internacional ("IPEA") salvo en aquellos casos en los que el solicitante elija una Administración distinta a ésta y, la IPEA elegida haya notificado a la Oficina Internacional según lo previsto en la Regla 66.1bis.b) que las opiniones escritas de esta Administración encargada de la búsqueda internacional no serán consideradas como tales.

Si esta opinión es, como se indica más arriba, considerada como una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a que presente ante la IPEA una respuesta por escrito junto con modificaciones, en su caso, antes de la expiración del plazo de 3 meses a contar desde la fecha de envío del formulario PCT/ISA/220 o antes de la expiración del plazo de 22 meses a contar desde la fecha de prioridad, aplicándose el plazo que expire más tarde.

Para otras opciones, consultar el formulario PCT/ISA/220.

Nombre y dirección postal de la Administración
encargada de la búsqueda internacional
INAPI, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 194, Piso 17
Santiago, Chile
N° de fax:

Fecha en que se ha concluido
efectivamente esta opinión
21/06/2018 21/junio/2018

Funcionario autorizado
NARVÁEZ, Claudio
N° de teléfono: 56-2-28870551

**OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud internacional N°
PCT/MX2018/050009

Recuadro I. Base de la opinión

1. Por lo que respecta al **idioma** esta opinión se ha establecido sobre la base de:
 - ☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó
 - ☐ una traducción de la solicitud original al _____, que es el idioma de una traducción proporcionada a los fines de la búsqueda internacional (según las Reglas 12.3.a) y 23.1.b)).
2. ☐ Esta opinión se ha establecido teniendo en cuenta la **rectificación de un error evidente** autorizado por o notificado a esta Administración según la Regla 91 (Regla 43bis.1.a)).
3. En lo que se refiere a **las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos** divulgadas en la solicitud internacional, esta opinión se ha establecido sobre la base de una lista de secuencias:
 - a. ☐ que forma parte de la solicitud internacional tal y como se presentó:
 - ☐ en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25.
 - ☐ en formato papel o en formato de archivo de imagen.
 - b. ☐ presentada junto con la solicitud internacional de acuerdo a la Regla 13ter.1.a) del PCT a los fines de la búsqueda exclusivamente, en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25.
 - c. ☐ Presentada con posterioridad a la fecha de presentación a los fines de la búsqueda internacional exclusivamente:
 - ☐ en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25 (Regla 13ter.1.a)).
 - ☐ en formato papel o en formato de archivo de imagen (Regla 13ter.1.b) e Instrucciones Administrativas, sección 713).
4. ☐ Además, en caso de que se haya presentado más de una versión o copia de una lista de secuencias, se ha entregado la declaración requerida de que la información contenida en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a la que forma parte de la solicitud tal y como se presentó o no va más allá de lo presentado inicialmente.
5. Comentarios adicionales:

OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°
PCT/MX2018/050009

Recuadro III. No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial

No se ha examinado la cuestión de saber si el objeto de la invención reivindicada parece ser nuevo, si implica una actividad inventiva (no ser evidente), o si es susceptible de aplicación industrial, por lo que respecta:

☐ al conjunto de la solicitud internacional,

☒ a las reivindicaciones Nos. 5

debido a que:

☐ la solicitud internacional o las reivindicaciones Nos. _____ en cuestión se refieren al objeto siguiente, respecto del cual la Administración no está obligada a efectuar una búsqueda internacional (*precisar*):

☒ la descripción, las reivindicaciones o los dibujos (*indíquense cuáles a continuación*) o las reivindicaciones Nos. 5 en cuestión, no son claros, de manera que no es posible formular una opinión significativa (*precisar*):

La reivindicación 5 define un procedimiento de selección y liofilización de controles positivos o negativos para uso en otras pruebas de diagnóstico. No se describen características técnicas que describan este procedimiento de selección y liofilización. Por lo tanto, no es posible compararlo con el estado del arte.

☐ las reivindicaciones, o las reivindicaciones Nos. _____ en cuestión, no están fundadas adecuadamente en la descripción, por lo que es imposible formular una opinión significativa (*precisar*):

☒ no se ha emitido informe de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos. 5

☐ no fue posible formular una opinión significativa sin la lista de secuencias; el solicitante en el plazo previsto no:

☐ presentó una lista de secuencias en formato de archivo de texto según Anexo C/ST.25, y la Administración encargada de la búsqueda internacional no dispuso de dicha lista en un formato apropiado, o la lista de secuencias proporcionada no cumplía con la norma prevista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas.

☐ presentó una lista de secuencias en formato papel o como archivo de imagen de acuerdo a la norma prevista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y la Administración encargada de la búsqueda internacional no dispuso de dicha lista en un formato apropiado; o la lista de secuencias proporcionada no cumplía con la norma prevista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas.

☐ pagó la tasa por presentación tardía de una lista de secuencias en respuesta a un requerimiento según la Regla 13ter.1.a) o b).

☐ Ver Recuadro Suplementario para más detalles.

**OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud internacional N°

PCT/MX2018/050009

Recuadro V. Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

Novedad	Reivindicaciones	<u>1-4</u>	SÍ
	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	NO
Actividad inventiva	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	SÍ
	Reivindicaciones	<u>1-4</u>	NO
Aplicación industrial	Reivindicaciones	<u>1-4</u>	SÍ
	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	NO

2. Citas y explicaciones

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: ALONSO-URMENETA, B. et al. Evaluation of lipopolysaccharides and polysaccharides of different epitopic structures in the indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of brucellosis in small ruminants and cattle. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 1998, vol. 5, no 6, p. 749-754.

Análisis de Novedad.

La invención definida en las reivindicaciones 1-4 es novedosa y, por lo tanto, cumple con lo dispuesto en el artículo 33(2) del PCT.

Se considera que el documento D1 representa el estado del arte más cercano. El documento D1 describe un método de diagnóstico de Brucelosis usando diferentes antígenos tales como Lipopolisacáridos crudos, polisacáridos hidrolíticos O y polisacáridos haptenos nativos (NH) que fueron evaluados en ensayos de ELISA indirecto (iELISA), usando anticuerpos policlonales y monoclonales, o conjugados de proteína G usando sueros de bovinos, ovinos y caprinos infectados con los biotipos AC, MC o AMC de Brucella. En la página 750 del documento D1 se indica que para preparar el extracto de NH se extrajo de dos biotipos de Brucella, uno de las cuales es la cepa B. melitensis 16M (MC NH, ver tabla 1, página 750), la misma usada para aislar NH en la presente solicitud. También se indica en el documento D1 que para purificar el NH, el extracto es sometido a 100°C en agua, y luego purificado con precipitaciones de 3 volúmenes de etanol frío, para luego ser dializado y liofilizado. La diferencia técnica del proceso de preparación del NH crudo de la presente invención respecto al proceso de purificado de NH descrito en el documento D1 corresponde a que en la presente invención no se dializó el purificado de NH, posterior a las etapas de precipitación con etanol, y no se sometió a la digestión con nucleasas y proteinasa K. En el documento D1 (página 750, sección iELISA) se describe un iELISA para detectar brucelosis donde el extracto NH fue preparado a una concentración de 1 mg/ml para luego usarse a una concentración de 2,5 ug/ml, diluido en buffer PBS o buffer bicarbonato. En la reivindicación 1 de la presente invención se indica que uno de los componentes es el Buffer bicarbonato (CABI). Luego, el antígeno NH se incubó en las placas de poliestireno de ELISA de 96 pocillos a 37°C toda la noche (usando buffer carbonato) o a 4°C toda la noche usando buffer PBS, para fijarlo a la superficie de las placas.

(Continúa en Recuadro suplementario 1 de 3)

Recuadro suplementario

En caso de que el espacio en los recuadros precedentes no sea suficiente.
Continuación de:

(Recuadro V)

En la presente invención, para preparar las placas de iELISA con el antígeno fijado, se usó buffer carbonato a 4°C, es decir otra diferencia técnica del proceso de preparación de uno de los componentes del kit descrito en la reivindicación 1 de la presente invención. En el documento D1 también se indica que después de fijar el antígeno NH a la placa de policarbonato, se lavó el exceso con buffer PBS-tween 20, es decir usando el mismo buffer de lavado indicado en la reivindicación 1 de la presente invención. En el documento D1 se usaron anticuerpos policlonales anti inmunoglobulina G conjugado con peroxidasa y reactivos ABTS de revelado tal como los componentes indicados en la reivindicación 1 de la presente invención. No se indica una solución de parada en el documento D1, a diferencia de lo indicado en la reivindicación 1 de la presente invención donde si se menciona este componente del kit. En el documento D1 se menciona el uso como controles, sueros sanguíneos de bovino con Brucella y sin Brucella (página 750, sección animales y suero), sin embargo, no se indica que éstos se encuentren liofilizados, tal como los componentes mencionados en la reivindicación 1 de la presente invención. En el documento D1 no se menciona el uso de controles de leche, tal como se indica en la reivindicación 1 de la presente invención. Por lo tanto, la reivindicación 1 de la presente invención se diferencia de lo descrito en el documento D1 en la presencia de una de iELISA antigenizada con un NH del tipo "crudo" (ver Recuadro VIII que se entiende por "crudo"), en el uso de solución de detención del revelado, y en la presencia de controles positivos y negativos liofilizados de suero de sangre y suero de leche. Por lo tanto, la cláusula 1 tiene novedad de acuerdo al documento D1. La reivindicación 2 describe un procedimiento de prueba de iELISA a base de NH crudo para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque que emplea este antígeno crudo obtenido de una cepa de B. melitensis 16M, sin ningún tratamiento de purificación con efectiva adherencia para realizar una iELISA para diagnóstico. La reivindicación 2 tiene novedad porque el documento D1 no usa antígeno NH del tipo "crudo" (ver Recuadro VIII que se entiende por "crudo") para detectar brucelosis y no se menciona que pueda usarse en leche animal y de tanque. La reivindicación 3 especifica que se usa 1 ug de NH crudo por pozo de placa de ELISA. En el documento D1 se usa el NH en una concentración de 2,5 µg/ml. Por lo tanto, la reivindicación 3 tiene novedad. La reivindicación 4 describe un procedimiento de Prueba de iELISA a base del uso de controles liofilizados para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque porque se usan controles de suero sanguíneo y suero de leche liofilizados como método de conservación. El documento D1 describen controles de suero de sangre provenientes de bovinos infectados y no infectados, pero no se describen controles provenientes de suero de leche, además no indica que éstos se encuentren liofilizados. Por lo tanto, la reivindicación 4 de la presente invención tiene novedad. La invención definida en las reivindicaciones 1-4 es, en consecuencia, novedosa.

Análisis de Nivel Inventivo

La invención definida en las reivindicaciones 1-4 no implica nivel inventivo y, por consiguiente, no cumple con lo dispuesto en el Artículo 33(3) del PCT.

El documento D1 describe un método de diagnóstico de Brucelosis usando diferentes

(Recuadro suplementario 1 de 3, continúa en Recuadro suplementario 2 de 3)

Recuadro suplementario

En caso de que el espacio en los recuadros precedentes no sea suficiente.
Continuación de:

(Recuadro suplementario 1 de 3)

antígenos tales como Lipopolisacáridos crudos, polisacáridos hidrolíticos O y polisacáridos haptenos nativos (NH) que fueron evaluados en ensayos indirectos de ELISA (iELISA) usando anticuerpo policlonal y monoclonal, o conjugados de proteína G usando sueros de bovinos, ovinos y caprinos infectados con biotipos AC, MC o AMC de *Brucella*. Tal como se indica en el análisis de novedad, el documento D1 describe un procedimiento para preparar NH que fue extraído de la misma cepa *B. melitensis* 16M (MC NH, ver tabla 1, página 750) que la presente invención. También se indica que para purificar el NH, el extracto fue sometido a 100°C en agua, y luego purificado con precipitaciones con 3 volúmenes de etanol frío, tal como la presente invención, para luego ser dializado, liofilizado y sometido a digestión con nucleasas y proteasas. En efecto, la diferencia técnica del proceso de preparación del NH crudo de la presente invención respecto al proceso de purificado de NH descrito en el documento D1 corresponde a que en la presente invención no se dializó el purificado de NH, posterior a las etapas de precipitación con etanol, y no se sometió a la digestión con nucleasas y proteinasa K. En el documento D1 (página 750, sección iELISA) se describe un iELISA para detectar brucelosis donde el extracto NH fue preparado a una concentración de 1 mg/ml para luego usarse a una concentración de 2,5 ug/ml, diluido en buffer PBS o buffer bicarbonato. Luego, el antígeno NH se incubó en las placas de poliestireno de iELISA de 96 pocillos a 37°C toda la noche (usando buffer carbonato) o a 4°C toda la noche usando buffer PBS, para fijarlo a la superficie de las placas. En la presente invención, para preparar las placas de iELISA con el antígeno fijado, se usó buffer bicarbonato a 4°C, es decir otra diferencia técnica del proceso de preparación de uno de los componentes del kit descrito en la reivindicación 1 de la presente invención. En el documento D1 también se indica que después de fijar el antígeno NH a la placa de policarbonato, se lavó el exceso con buffer PBS-tween 20, al igual que el buffer indicado en la reivindicación 1 de la presente invención. La cláusula 1 de la presente invención describe un Kit para prueba de iELISA a base de NH crudo que comprende un conjunto de componentes que ahora se indican: 1) Microplacas de poliestirenos antigenizadas con NH del tipo "crudo", 2) microplacas sin tratamiento, 3) solución de lavado de PBS-tween 20 al 0,05%, 4) buffer diluyente CABI (buffer bicarbonato), 5) solución de diluyente de conjugado a base de CABI, 6) sustrato ABTS, 7) anticuerpos anti Inmunoglobulina G de bovino conjugado con peroxidasa, 7) solución de parada (SDS), 8) suero sanguíneo liofilizado control positivo, 8) suero sanguíneo liofilizado control negativo, 9) suero de leche liofilizado control negativo y 9) suero de leche liofilizado control positivo. La materia de la reivindicación 1 difiere del documento D1 en que el kit comprende una placa de ELISA antigenizada con NH del tipo "crudo" (es decir NH purificado con etanol pero que posteriormente no fué sometido a diálisis y tratamiento con nucleasas y proteasas), una solución de parada (SDS), y la presencia de controles positivos y negativos liofilizados de suero de sangre y de leche que no se encuentran descritos en el documento D1. El problema a resolver por la presente invención se puede considerar por tanto, como proveer de un kit alternativo para prueba de iELISA para el diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque a base de NH. La solución sería

(Recuadro suplementario 2 de 3, continua en el recuadro suplementario 3 de 3)

Recuadro suplementario

En caso de que el espacio en los cuadros precedentes no sea suficiente.
Continuación de:

(Recuadro suplementario 2 de 3)

el kit descrito en la cláusula 1 de la presente invención que comprende un conjunto de componentes dentro de los cuales se encuentra la microplaca de poliestireno antigenizada con NH del tipo "crudo", una solución de parada (SDS), y la presencia de controles positivos y negativos "líoofilizados" de suero de sangre y de leche. Esta solución no puede considerarse, sin embargo que tenga nivel inventivo, pues el documento D1 describe el uso de una microplaca antigenizada con NH purificado que presenta una alta sensibilidad a la detección de anticuerpos anti brucelosis en suero de sangre bovina. Si bien, en el D1 no se describe la capacidad del sistema iELISA de tener un mejor comportamiento con respecto a los "falsos positivos" tal como se menciona en la descripción de la presente invención (figura 5 y página 5 y 6), en el ejemplo de la presente invención solamente se compara la respuesta de la invención (kit de iELISA con NH crudo) con un sistema de diagnóstico que usa un antígeno LPS-O, diferente al NH crudo. Finalmente el inventor asume que la diferencia en el número de detecciones (figura 5 de la descripción de la invención) se debe a falsos positivos. En la descripción de la presente invención no hay ejemplos que demuestren un efecto sorprendente del iELISA de la presente invención (NH del tipo "crudo", es decir sin las etapas de diálisis y tratamiento de nucleasas y proteasas) respecto del iELISA descrito en el documento D1. Por tanto, la presente invención se puede considerar como equivalente técnico del iELISA descrito en el documento D1, porque ambos resuelven el mismo problema técnico, y no tendría nivel inventivo. Respecto a la reivindicación 2 que especifica un procedimiento de prueba de iELISA a base de NH "crudo" para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque que emplea este antígeno crudo obtenido de una cepa de B. melitensis 16M, sin ningún tratamiento de purificación con efectiva adherencia para realizar una ELISA indirecta para diagnóstico no tiene nivel inventivo porque no existe en la descripción de la presente invención un ejemplo que compare el iELISA de la invención con el descrito en el documento D1 que permite concluir que el uso de un NH del tipo "crudo" tiene un efecto inesperado respecto a lo conocido (D1). La reivindicación 3, que indica que el NH crudo es usado en una concentración de 1 µg por pozo no tiene nivel inventivo porque los ejemplos descritos en la descripción de la presente invención no demuestran que esta concentración específica tenga un efecto sorprendente respecto a la concentración descrito en el documento D1. La reivindicación 4 describe un procedimiento de Prueba de iELISA a base del uso de controles liofilizados para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque porque se usa controles de suero sanguíneo y leche liofilizados como método de conservación no tienen nivel inventivo porque no hay ejemplos en la descripción de la presente invención que demuestren que el uso de sueros de sangre o leche "líoofilizados" tengan un efecto sorprendente respecto a los sueros usados en el documento D1. El documento D1 en consecuencia muestra que las reivindicaciones 1-4 no involucran nivel inventivo.

Análisis de Aplicación Industrial

La invención definida en las reivindicaciones 1-4 cumple con el requisito de aplicación industrial según lo dispuesto en el artículo 33(4) del PCT.

(Recuadro suplementario 3 de 3)

Recuadro VIII. Observaciones relativas a la solicitud internacional

Se formulan las observaciones siguientes sobre la claridad de las reivindicaciones, de la descripción y de los dibujos o sobre si las reivindicaciones se fundan totalmente en la descripción:

Las reivindicaciones 1-3 no cumplen con el artículo 6 del PCT.

La reivindicación 1 define un KIT para prueba de ELISA indirecto a base de Hapteno nativo (HN) crudo, donde uno de los componentes del kit son 10 microplacas antigenizadas con el Hapteno nativo crudo, el cual es una fracción del extracto bacterial que ha sido sometido a la purificación por precipitación con etanol y estabilización usando liofilización (Descripción, Ítem Extracción, páginas 7 y 8; tabla comparativa de estado del arte, páginas 14-18). Por lo tanto, el "HN crudo" de la invención, para efectos del análisis de patentabilidad, será entendido como una fracción del extracto sometida a precipitaciones con etanol. La misma interpretación será aplicada cuando se mencione este término en las reivindicaciones 2 y 3 de procedimiento.

La reivindicación 2 describe un procedimiento de Prueba de ELISA indirecto (iELISA) a base de Hapteno nativo Crudo para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque que emplea este antígeno crudo obtenido de una cepa de B. melitensis 16M, sin ningún tratamiento de purificación y con efectiva capacidad de adherencia para realizar una iELISA para diagnóstico de brucelosis en suero sanguíneo y leche. En la caracterización técnica se indica "sin ningún tratamiento de purificación", frase que no será ocupada en el análisis dado que de acuerdo a la descripción de la invención, para obtener el Hapteno nativo se realizaron purificaciones por precipitación con etanol, por lo tanto, existen tratamientos de purificación (Descripción, Ítem Extracción, páginas 7 y 8; tabla comparativa de estado del arte, páginas 14-18). Para el análisis se considerará que el HN fue obtenido con purificación con etanol.