

Señores
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Expediente NC2019/0012373
Solicitud de Patente de Invención – Fase Nacional Titulada “KIT PARA PRUEBA DE ELISA INDIRECTO A BASE DE HAPTENO NATIVO CRUDO Y CONTROLES LIOFILIZADOS PARA DIAGNÓSTICO CONFIRMATORIO DE BRUCELOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO Y LECHE POR ANIMAL Y DE TANQUE”
Solicitante: VICTORIA MAROUN CORTEZ
Nuestra Re: P2019/000075

RESPUESTA AL OFICIO No. 12813 NOTIFICADO POR CORREO CERTIFICADO DEL 11 DE AGOSTO DE 2021
(EXAMEN DE FONDO)

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

1. a. El Examinador reporta que la Reivindicación 5 no es patentable porque está dirigida a un uso, por cuanto, aunque tiene como preámbulo un procedimiento, éste se está caracterizando únicamente por su uso en otras pruebas de diagnóstico.

b. En atención a esta observación, informo que, con el fin de facilitar el trámite de la presente invención, la Reivindicación 5 se retira del trámite. Por lo tanto, la observación antes citada queda superada.

2. a. El Examinador considera que el título de la invención no se relaciona con el objeto divulgado en la Descripción y reclamado en las Reivindicaciones, y sugiere como nuevo título: “KIT PARA PRUEBA DE ELISA INDIRECTO QUE DETECTA ANTICUERPOS CONTRA HAPTENO NATIVO CRUDO Y MÉTODO DE ELISA INDIRECTO PARA DIAGNÓSTICO CONFIRMATORIO DE BRUCELOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO Y LECHE”

b. Informo que, con el fin de facilitar el trámite, se acepta el título sugerido por el Examinador.

3. a. Ese Despacho considera considera que la reivindicación 1 no es clara porque menciona marcas registradas como ABTS y HRP protector. Por lo cual, solicita aclarar cuáles son las características de los productos bajo identificados dichas marcas.

b. Con el ánimo de subsanar las deficiencias mencionadas en cuanto al empleo de marcas comerciales, informo a ese Despacho que la Reivindicación 1 se ha modificado mediante el retiro de las mismas. Específicamente, la expresión “ABTS” se reemplazó por “una solución ácido 3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico”, y la expresión “HRP protector” se retiró, indicando con precisión que la peroxidasa de rábano producida en cabra está prediluida en un estabilizador de peroxidasas. Así, la nueva Reivindicación 1 define con claridad los elementos técnicos que caracterizan el kit.

Cabe anotar que las modificaciones mencionadas no implican ampliación del alcance de la protección correspondiente a la divulgación inicial, en la medida que la Descripción, página 24, divulga el substrato empleado. Del mismo modo, la divulgación inicial, reivindicación 1 especifica que el conservador HRP Protector es un estabilizador de peroxidasas. Por lo tanto, las modificaciones cumplen con las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486.

4. a. Ese Despacho objeta la claridad de las Reivindicaciones 2 a 4 porque el procedimiento reclamado no se define mediante una secuencia lógica de etapas, ni mediante sus condiciones técnicas esenciales. Adicionalmente, considera que la Reivindicación 2 no está sustentada en la Descripción y que la Reivindicación 3 presenta deficiencias de redacción y de dependencia de la reivindicación anterior. Por lo tanto sugiere eliminar la Reivindicación 2, redactar una reivindicación independiente para el método que defina las etapas y condiciones según la divulgación de la Descripción y revisar la redacción y dependencias.

b. En atención a las observaciones planteadas por ese Despacho, informo que las Reivindicaciones 2 a 4 (nuevas 3 a 5) se han modificado en su redacción, con el fin de mejorar la definición de los elementos técnicos esenciales. Asimismo, se ha revisado la

dependencia de estas Reivindicaciones, corrigiendo las imprecisiones identificadas por ese Despacho.

En particular, con respecto a las objeciones planteadas a la reivindicación 2, aclaro a ese Despacho que la característica técnica relativa al empleo de hapteno nativo “sin ningún tratamiento de purificación” sí está debidamente sustentada en la Descripción. Al respecto, ese Despacho debe notar en primer lugar que **la extracción y purificación son procesos diferentes**, toda vez que son métodos con efectos diferentes que no son alternativos, y ambos impactan la efectividad en el diagnóstico. Así en la presente invención, el antígeno fue **únicamente EXTRAÍDO** desde la cosecha de las células hasta la precipitación utilizando etanol, **método que no debe entenderse como una purificación**. Pongo de presente que la importancia del Etanol radica en que éste compuesto es estrictamente utilizado para **extraer** al Hapteno Nativo; de hecho, dado que el Etanol **no modifica la estructura química de la molécula del hapteno, ni limpia las impurezas, su función es meramente la de precipitar** y no purificar. Por lo tanto, las referencias dadas en la Descripción de la presente invención a la “extracción del hapteno nativo” no implican de ninguna manera su purificación.

Asimismo, la Descripción de la presente invención, en cuanto a la mejor manera conocida de realizar la invención, se establece que “(...) *El pellet del antígeno se resuspendió en solución salina y **se probó en crudo (sin purificación)** por las pruebas de IDR y ELISA indirecta anti-HN contra sueros sanguíneos positivos confirmados con las pruebas oficiales de la NOM-041-ZOO-1995. En este ensayo se obtuvieron resultados favorables, por lo que se decidió probar **el extracto crudo** con muestras de leche en la ELISA indirecta anti-HN, en donde también se obtuvo un resultado favorable. **Por lo que se concluyó que no es necesario una purificación del antígeno para la sensibilización de las placas**” (énfasis añadido). Por lo tanto, sí existe sustento descriptivo para la característica mencionada por el Examinador, y respetuosamente solicito se retire la observación.*

En cuanto a la solicitud del señor Examinador de definir el método por sus etapas y condiciones técnicas, respetuosamente aclaro que la prueba de ELISA indirecto es bien conocida en el campo técnico y por lo tanto las etapas requeridas para su conducción hacen parte del arte, de modo que el técnico medio, a partir de la lectura del preámbulo de la Reivindicación 2, podrá establecer sin ninguna ambigüedad que se trata de una prueba de ELISA indirecto a base de hapteno nativo para diagnóstico confirmatorio de

brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque. Ahora, lo que debe entonces identificar esta reivindicación son las características técnicas esenciales, que constituyen el aporte de la inventora al campo técnico y que resuelven el problema técnico asociado a la necesidad de un método de diagnóstico confiable con alta especificidad para evitar la emisión de falsos positivos y falsos negativos en el diagnóstico de brucelosis. Así entonces, en la nueva Reivindicación 2 se establece con absoluta claridad y precisión dicha característica técnica, la cual corresponde a la condición del procedimiento que limita el alcance de la protección de manera clara y concisa; siendo esta condición que *“el hapteno nativo se emplea crudo, y es obtenido de una cepa de B. melitensis 16M, sin ningún tratamiento de purificación”*.

Así entonces, no corresponde la identificación de etapas genéricas ampliamente conocidas en el campo técnico y que básicamente corresponden a correr la prueba de ELISA indirecto, mediante el empleo de un antígeno específico; así, lo que corresponde limitar en la Reivindicación es la identificación de dicho antígeno para empleo en las placas para ejecución de la prueba a partir de los sueros identificados con total claridad en el preámbulo de la Reivindicación. Ese Despacho debe notar que en la práctica de patentes el alcance de una reivindicación está dado por los elementos técnicos que corresponden al concepto inventivo desarrollado por los inventores, precisamente para evitar limitaciones injustificadas de dicho concepto inventivo a modalidades particulares de la invención. Así, sobre esta base, respetuosamente solicito aceptar la definición actual del procedimiento de la invención en la Reivindicación 2.

5. Adicionalmente a las modificaciones descritas en el numeral anterior, informo a ese Despacho que se han incluido nuevas Reivindicaciones 2 y 6 a 12. En particular, la nueva Reivindicación 2, dependiente de la Reivindicación 1, limita las características técnicas de los sueros positivos y negativos que hacen parte del kit definido en la Reivindicación independiente. Las nuevas Reivindicaciones 6 a 12 se dirigen al procedimiento de la invención en su alcance más limitado, por lo tanto no amplían la protección correspondiente a la divulgación inicialmente presentada, cumpliendo con las Disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486.

Se presenta el pago correspondiente a Reivindicaciones adicionales, así como por concepto de examen de patentabilidad.

6. a. En cuanto a los requisitos de patentabilidad, ese Despacho considera que la altura inventiva de la Reivindicación 1 está afectada por la combinación de los documentos D1 (Alonso-Urmeneta B., et al. Clinical and diagnostic laboratory immunology.) y D2 (Alonso-Urmeneta B., et al. Clinical and diagnostic laboratory immunology).

b. Respetuosamente manifiesto mi desacuerdo con esta observación y presento las siguientes consideraciones y planteamientos de la Solicitante que justifican su retiro.

En primer lugar es preciso aclarar el efecto técnico de la solución novedosa e inventiva propuesta por la Solicitante. Dicho efecto técnico se deriva del arte de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, lo más cercana a la naturaleza, lo que le otorga la mayor especificidad, combinándola con un método cuantitativo de alta sensibilidad que permite un diagnóstico más eficiente, reduciendo el porcentaje de animales falsos positivos, lo que tiene un alto impacto económico en el sector ganadero, evitando la emisión de falsos positivos y falsos negativos en el diagnóstico de brucelosis. Es así como, dicha combinación logra la solución inventiva en cuanto a: la mayor sensibilidad con la mayor especificidad.

La intención de la presente invención es precisamente la de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, es decir, que sea lo más cercana posible a la naturaleza, y que gracias a la presencia de estas impurezas se genere una reacción antígeno-anticuerpo que puede producir resultados de mayor confiabilidad y eficiencia en el diagnóstico.

Ahora, con respecto al arte previo citado, ponemos de presente que en la presente invención el hapteno nativo se utiliza es en su forma cruda; por el contrario, el documento D1 lo utiliza en su forma purificada. El efecto técnico resultante de la mencionada diferencia técnica, es la generación de una reacción antígeno-anticuerpo que es capaz de arrojar resultados de mayor confiabilidad, gracias que la invención conserva una estructura antigénica lo más completa posible, es decir es lo más cercano a la naturaleza.

Ese Despacho debe notar que la diferencia técnica entre la presente invención y D1, no se enseña ni se sugiere en el documento D2, el cual utiliza un antígeno basado en lipopolisacáridos que es completamente diferente al hapteno nativo; por lo

tanto, el rasgo distintivo de la presente invención frente al documento D2 es el tipo de antígeno, de modo que a partir de dicho documento no podría derivarse a solución propuesta por mí representada, menos aún esperar con expectativa razonable de éxito que una prueba de ELISA indirecto a base de hapteno nativo crudo llevaría al efecto técnico demostrado por mí representada. Así entonces, en D2 no existe sugerencia alguna que motive al técnico medio a modificar un método como el conocido en D1 de la forma reivindicada en la presente invención.

Adicional a las anteriores consideraciones, ante las observaciones planteadas por el Despacho, se hace necesario aclarar que el proceso de precipitación con etanol no es una metodología de purificación y que **la extracción y la purificación son procesos diferentes;** específicamente, la extracción y la purificación son métodos con efectos diferentes, no son alternativos y ambos impactan la efectividad en el diagnóstico.

Con referencia al documento **D1** (pág. 750), pongo de presente que allí se mencionan procesos de **EXTRACCIÓN y PURIFICACIÓN** (*a través de diálisis y digestión con nucleasas y proteinasa K, Ultracentrifugación 200,000 g, 6 h, 10 °C*) del antígeno Hapteno Nativo (HN); mientras que, en la presente invención, el antígeno fue únicamente **EXTRAÍDO** desde la cosecha de las células hasta la precipitación utilizando etanol, más nunca se contempla este método como una purificación. Por lo tanto, la importancia del Etanol radica en que éste compuesto es estrictamente utilizado para extraer al Hapteno Nativo. El Etanol **no modifica la estructura química de la molécula del hapteno, ni limpia las impurezas, ya que su función es meramente la de precipitar.**

La extracción es la técnica empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente¹. La extracción de la molécula a trabajar se puede realizar mediante múltiples metodologías pero, el hecho de que se haya obtenido la molécula en cuestión no asegura que ésta se encuentre libre de contaminantes. Es por ello que existen metodologías similares a los procesos de extracción pero que cuentan con la finalidad de liberar de toda contaminación al producto extraído. A eso se le conoce como purificación. Entonces bien, se puede concluir que, a

¹ [Rocha, P. 2002. Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de Aceite. Palmas, vol 23, No. 3, 9-17.](#)

pesar de que la extracción y purificación de moléculas son procedimientos que se encuentran estrechamente ligados, no son dependientes uno del otro. En muchas ocasiones, la extracción puede servir como un método de purificación, pero esto únicamente dependerá del tipo de estudio que se esté realizando. En métodos moleculares, es un requisito fundamental realizar dos metodologías de manera independiente (a menos que el usuario no lo vea necesario), una para extraer la molécula necesaria y la otra para purificar el elemento en cuestión. El punto clave radica en la extracción de contaminantes, ya que una molécula, célula o cualquier cosa que se desee obtener, no se encuentra aislada, sino que está inmerso en un medio que contiene estructuras de composición química diversa. Además, los reactivos iniciales empleados en los procesos de purificación se convierten en agentes contaminantes²³.

El documento D1 en su discusión menciona y concluye que el Hapteno Nativo (en su **forma purificada** como lo utilizaron en el mismo D1) “no es el antígeno óptimo en ensayos de inmunoabsorción para brucelosis”. Esta es la diferencia sustancial respecto del Hapteno Nativo **crudo** de la presente invención.

Por su parte, el documento **D2** se refiere a una prueba de diagnóstico que está destinada a identificar anticuerpos contra los antígenos de azúcar de *Brucella abortus*, en muestras de suero y leche.

“Las Brucellae son bacterias con una estructura antigénica compleja, siendo el lipopolisacárido (LPS), el hapteno nativo (HN), y las proteínas citoplasmáticas y de membrana externa los antígenos más significativos”. “Por su localización estructural en la superficie de la célula y su elevada inmunogenicidad, el LPS-S es el antígeno de superficie dominante en las especies en fase lisa (S) y por tanto, frente al que primero aparecen anticuerpos en el suero en los animales tras la infección o vacunación, pudiendo a su vez ser detectados mediante la utilización de las pruebas serológicas denominadas «clásicas» (Aglutinación y Fijación del Complemento), que utilizan suspensiones de bacterias en fase S como antígeno.”⁴ .

² Idem

³ Suárez, L. 2004. Aislamiento e identificación del hongo *Moniliophthora roreri* a partir de cultivos de cacao ubicados en Norte de Santander- Colombia. Universidad Pablo de Olavide. Trabajo de Investigación. Sevilla, España.

⁴ Ducrotoy, M.J., Conde-Álvarez, R., Blasco, J.M., Moriyón, I., 2016. A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. Vet. Immunol. Immunopathol. 17, 81–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.02.002>

Así entonces, el documento **D2** mide un antígeno basado en lipopolisacáridos, el cual es un antígeno totalmente diferente al utilizado en la presente solicitud (hapteno nativo crudo) por lo que no es posible compararlos.

Con base en las anteriores aclaraciones resulta absolutamente claro que ninguno de los documentos **D1 y D2** enseña ni sugiere la solución técnica desarrollada por la solicitante, y por lo tanto ninguno de estos documentos solo o en combinación podría motivar al técnico medio a desarrollar un Kit y/o un método para prueba de ELISA indirecto a base de hapteno nativo crudo para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque, tal y como se define en las actuales Reivindicaciones. Menos aún podría anticipar el resultado obtenido por la solicitante, en cuanto a la alta confiabilidad y eficiencia.

Si bien las anteriores consideraciones muestran con absoluta claridad que ninguno de D1 y D2 anticipa el objeto reclamado en la presente invención, me permito hacer énfasis en el hecho que la presente invención emplea el hapteno nativo crudo. Como ya mencioné en este memorial, la intención de la presente invención es precisamente la de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, es decir, que sea lo más cercana posible a la naturaleza, y que gracias a la presencia de estas impurezas se genere una reacción antígeno-anticuerpo que puede producir resultados de mayor confiabilidad y eficiencia en el diagnóstico. Por tanto, la característica técnica del hapteno nativo crudo es un rasgo distintivo de la presente invención. Pongo de presente a ese Despacho que nadie ha utilizado el hapteno nativo crudo en ELISA indirecto; esto es, todos los autores realizaron algún procedimiento que alteró la estructura antigénica natural del hapteno nativo. Es así como, el documento **D1** utilizó el hapteno nativo purificado, restando la especificidad antigénica de su estado natural, con la consiguiente emisión de un mayor porcentaje de falsos positivos. El documento **D2** utiliza un antígeno diferente al de la presente solicitud, basado en lipopolisacáridos, no utiliza hapteno nativo.

La comparación de las características técnicas esenciales con las del estado de la técnica, que presenta ese Despacho en Tabla 1 del Oficio técnico, muestra todas los elementos menos la diferencia medular de la invención frente a la divulgación de D1, la cual radica en el antígeno utilizado, que en la presente invención es hapteno nativo en su

forma cruda (diferencia sustancial con el documento D1). Asimismo, ese Despacho falla en identificar que el documento D2 que utiliza otro antígeno que no es hapteno nativo.

Así, debe notarse que las características técnicas de la **Reivindicación 1**, pretenden resolver el problema técnico objetivo relativo a la necesidad de un método de obtención del antígeno hapteno nativo (en su forma cruda, sin PURIFICACIÓN) como material medular para la prueba de ELISA indirecto, con el fin de obtener un kit que proporcione mayor confiabilidad y eficiencia de la prueba, frente a las técnicas conocidas como la de D1 que NO emplea el antígeno hapteno nativo en su forma cruda.

Adicionalmente, el documento D1 menciona que la cepa *Brucella melitensis* 16 M (biotipo 1 [MC]), se sembró y se utilizó para obtener la preparación de hapteno nativo puro (Págs. 749 y 750, Materials and methods), con el cual se realizó la prueba de ELISA indirecto, la cual **NO** demostró ser altamente sensible para detectar anticuerpos por una infección con *Brucella sp.* en muestras de suero de bovinos, ovejas y cabras. Los autores del D1 encontraron que sus dos ELISAS con hapteno nativo purificado de *B. abortus* and *B. melitensis* emitieron 26.6% y 20% respectivamente en una población de 83 vacas vacunadas con S19, como lo muestra a continuación la Tabla 3 del D1.

Los mismos autores del D1 mencionan que el hapteno nativo purificado utilizado en su ELISA no mostró diferencias significativas comparado con sus ELISAS que usaron LPS y PS, y concluyen que, por lo tanto, no es un método capaz de identificar falsos positivos (FPSR). El documento D1 en su discusión menciona y concluye que el Hapteno Nativo (en su forma purificada como lo utilizaron en el mismo D1) “no es el antígeno óptimo en ensayos de inmunoabsorción para brucelosis”. Así entonces, no existe evidencia en D1 que motivara al técnico medio el empleo de HN crudo frente al purificado.

Los **FPSR** (Falsos Positivos Sero Reactores) se pueden observar en todas las pruebas que usan suspensiones bacterianas *B. abortus* o *B. melitensis* o S-LPS. La excepción son las pruebas de inmunoprecipitación con **HN**. Sin embargo, la inmunoprecipitación de **HN** requiere la combinación de umbral de títulos de anticuerpos y avidez que resulta de una infección activa por *Brucella*. No se alcanza este umbral durante las infecciones más leves y transitorias causadas por las bacterias extracelulares asociadas con **FPSR**. (Ducrotoy et al, 2016).

En cambio, la **Fig. 5** de la presente solicitud muestra que 741 animales son positivos a las pruebas convencionales; por lo tanto, la aplicación del kit de la Reivindicación 1 evita la eliminación de 355 animales que representan el 47.9% de Falsos Positivos detectados, lo cual es altamente significativo estadísticamente. Esta es la diferencia sustancial del Hapteno Nativo crudo de la presente invención, por lo que Sí se observa diferencia sustancial al emplear hapteno nativo crudo como antígeno en la prueba.

Ahora, con respecto a las Reivindicaciones anteriores 2, 3 y 4, ese Despacho debe notar que en el documento D1 se describe una metodología en la cual se buscan anticuerpos específicos (Epítomos A, M y C) de diferentes especies animales (vacas, cabras y ovejas) utilizando placas antigenizadas con tres antígenos específicos LPS, LPS-O y **HN purificado**. El propósito en el **Documento D1** fue evaluar la eficacia de dichos antígenos ante tales estructuras epitópicas para diagnosticar *Brucella* en pequeños rumiantes y ganado. Por lo tanto, en D1 no se hace referencia a la característica técnica esencial de la presente invención en cuanto al empleo de hapteno nativo **crudo**.

En cuanto a la Reivindicación 2 (nueva 3), reitero las aclaraciones ya aportadas en este memorial en cuanto a que la extracción y purificación son métodos con efectos diferentes, y que sí impactan la efectividad diagnóstica. La presente solicitud no tuvo el objetivo de "abreviar pasos de la purificación", ni pretendió "dejarle más impurezas" al hapteno nativo, como se menciona en el Oficio Técnico. **La intención de la presente invención es precisamente la de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, es decir es lo más cercano a la naturaleza, y que gracias a la presencia de estas impurezas se genera una reacción antígeno-anticuerpo que es capaz de arrojar resultados de mayor confiabilidad y eficiencia en el diagnóstico.**

Ahora, en lo referente a la Reivindicación 4 (nueva 5), pongo de presente que en el Documento D1 se utilizaron como controles, un suero negativo y un suero positivo de la especie animal apropiada y fueron utilizados en todas las placas. Los resultados sólo se expresaron como la densidad óptica (OD) en 405 nm o como el porcentaje de la DO a 405 nm del suero de control positivo a la dilución que proporciona la mejor discriminación entre infectados y vacunados animales. Dado que existe un amplio rango de titulación de anticuerpos, el valor de los controles es la referencia para determinar el punto de corte de una ELISA. El **Documento D1** no descubre el valor de la

titulación de sus controles; por el contrario, la presente invención determina la titulación de sus controles y posteriormente utiliza la liofilización para garantizar la estabilidad de ésta, con ello su eficiencia como método diagnóstico.

Con respecto a la Reivindicación 4 (nueva 5), en el uso de controles liofilizados frente al uso de controles frescos utilizados en el **Documento D1**, no se puede realizar una comparación, puesto que en dicho documento solo menciona que se utilizaron como controles sueros positivos y negativos apropiados para cada especie animal, sin mostrar un procedimiento para determinar y documentar el Valor de las Densidades Ópticas de los controles positivos y negativos, mismos que son la Referencia para determinar el punto de corte de una Elisa y a partir de dicho valor, se emiten los resultados falsos positivos y negativos de una ELISA. Por lo tanto, la identificación en la presente invención del valor de las densidades ópticas no es anticipado por D1, y además tiene un efecto técnico sorprendente.

La innovación de la presente invención, respeto del arte previo, es el RANGO exacto de la Densidad Óptica (OD) para la selección de los controles liofilizados, la cual es = **OD >1 para Controles Positivos y OD 0.20 - 0.28 para Controles Negativos**. Es así como, cuando dichos controles liofilizados sean utilizados en la ELISA, deberán presentar una **diferencia entre control positivo y negativo ≥ 0.6** .

La liofilización permite mantener la titulación exacta de los controles positivos y negativos, por lo tanto, se puede asegurar la eficiencia del diagnóstico. Los controles liofilizados utilizados en la presente invención cuentan con estudios de validación que demuestran la estabilidad de **las densidades ópticas de los controles**.

Por lo tanto, la Reivindicación 4 (nueva 5) **no es SÓLO UNA VARIABLE** para la ejecución del método, sino que establece una condición técnica para determinar el punto de corte en una ELISA, y garantizar la titulación de sus controles, lo cual tiene un efecto sorprendente en la eficiencia del diagnóstico.

Las anteriores aclaraciones aplican de igual manera para las nuevas Reivindicaciones 6 a 12, toda vez que estas limitan también los elementos técnicos esenciales de la invención en cuanto al empleo de de hapteno nativo crudo, así como el RANGO exacto de la Densidad Óptica (OD) para la selección de los controles positivos y negativos liofilizados.

En conclusión, la presente invención tiene ventajas técnicas asociadas a un alto impacto económico en el sector ganadero, evitando la emisión de falsos positivos y falsos negativos en el diagnóstico de brucelosis, el cual es resultado del arte de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, lo más cercana a la naturaleza, lo que le otorga la mayor especificidad, combinándola con un método cuantitativo de alta sensibilidad que permite un diagnóstico más eficiente, reduciendo el porcentaje de animales falsos positivos.

Esta combinación por consiguiente reviste una solución inventiva, que es en esencia: la mayor sensibilidad con la mayor especificidad, mediante la titulación de anticuerpos de los controles, asegurando la estabilidad de dichos niveles mediante liofilización, y la determinación del punto de corte de este iELISA.

Reitero que nadie había usado el hapteno nativo crudo, todos los autores estudiados por la solicitante realizaron algún procedimiento que alteró la estructura antigénica natural del hapteno nativo. El saber previo del **Documento D1** utilizó el hapteno nativo purificado restando especificidad antigénica a su estado natural, con la consecuente emisión de un mayor porcentaje de falsos positivos. Problema técnico que resuelve la invención desarrollada por mí representada.

En particular, pongo de presente que la presente invención incluye la combinación de los siguientes puntos, que repercuten en una solución novedosa e inventiva frente al arte previo citado:

- i) El haber utilizado el hapteno nativo en estado crudo genera una reacción antígeno-anticuerpo mucho más específica que la utilizada en el **Documento D1**, y que es capaz de arrojar resultados de mayor confiabilidad, evitando la eliminación y/o segregación de animales “**Falsos Positivos**” por vacunaciones, por reacciones cruzadas causadas por otras enterobacterias, o por infecciones transitorias debidas al contacto con animales brucelosos;
- ii) El haber medido los títulos de anticuerpos de los controles y asegurar la estabilidad de dichos niveles por medio de la liofilización;

iii) El haber determinado el punto de corte de esta iELISA, lo que permite distinguir los falsos y verdaderos animales positivos, con un porcentaje más eficiente (**14.02%**) *versus* lo obtenido en el **Documento D1 (20-26.6%)**, generando un alto impacto económico para la ganadería.

Los resultados obtenidos no son de ninguna manera obvios ni evidentes a partir del arte previo citado, y confirman la altura inventiva de la presente invención en la medida que el técnico medio, al momento que la presente invención no se conocía, no pudo haber esperado con expectativa razonable de éxito que el método que emplea hapteno nativo crudo llevaría a mayor especificidad del diagnóstico, reportando solamente 14.02% de animales verdaderamente positivos, frente al resultado reportado por al arte previo D1 el cual emplea el antígeno purificado. Al respecto, solicito respetuosamente al Despacho tener en cuenta lo establecido por el Tribunal Andino de Justicia en la Interpretación prejudicial emitida dentro del Proceso 654-IP-2018 en cuanto al análisis del nivel inventivo según los lineamientos del Manual Andino de Patentes. En dicha Interpretación prejudicial, se precisa que el Manual Andino de Patentes establece que para determinar si una invención se deriva de manera evidente del estado de la técnica, “el examinador debe plantearse las siguientes preguntas:

*“¿estaba un técnico con conocimientos medios en la materia en condiciones de plantearse el problema?,
¿de resolverlo en la forma en que se reivindica?, y
¿de prever el resultado?
Si la respuesta es afirmativa en los tres casos, no hay nivel inventivo”*

Aplicando las tres preguntas al caso que nos ocupa, se podría decir que la respuesta a las dos primeras preguntas eventualmente podría ser afirmativa; no obstante, la respuesta a la tercera pregunta negativa, toda vez que, como ya expliqué ampliamente en este memorial, no existe ninguna sugerencia en el arte previo que permitiera prever una alta especificidad una prueba de ELISA indirecto que emplea hapteno nativo crudo, como bien demostró la solicitante en la presente invención.

7. Teniendo en cuenta que el solicitante ha atendido de manera completa al requerimiento, modificando las Reivindicaciones para remover obstáculos de claridad y demostrando el cumplimiento del requisito de nivel inventivo de conformidad con el Artículo

18 de la Decisión 486, respetuosamente solicito se proceda a conceder la patente de invención a las Reivindicaciones 1 a 4 que presento en esta oportunidad. En el evento de subsistir cualquier objeción, solicito se emita un nuevo examen con el ánimo de corregirla.

Atentamente,



J. IAN RAISBECK
C.C. 79'376.996 de Bogotá D.C.
T.P. 135.799 del C. S. de la J.

Anexos:

- Pliego Reivindicatorio modificado
- Tasa por modificación voluntaria
- Tasa por examen de patentabilidad