

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Señor(a)
Victoria MAROUN CORTEZ

TÍTULO DE LA SOLICITUD: “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”

NÚMERO DE SOLICITUD INTERNACIONAL: PCT/MX2018/050009

FECHA DE PRESENTACIÓN INTERNACIONAL: 5 de abril de 2018.

PRIORIDAD(ES): MX MX/a/2017/004490 6 de abril de 2017.

MX MX/a/2018/004219 5 de abril de 2018.

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. Modificaciones presentadas (Art. 34 Decisión 486)

La modificación de las reivindicaciones 1 - 12, presentada mediante escrito radicado bajo el N° NC2019/0012373 el 8 de noviembre de 2021 con número de documento 06-02, no es aceptable porque no se realizó el pago de la tasa respectiva.

2. 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 5 del radicado N° NC2019/0012373 del 5 de noviembre de 2019.

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de un kit para la prueba de ELISA indirecto con hapteno nativo crudo (HN), para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque, con el fin de disminuir la obtención de resultados falsos positivos respecto a las pruebas inmunológicas que utilizan el lipopolisacárido (LPS) de *Brucella sp.* como antígeno y un método de prueba de ELISA indirecto para la confirmación de brucelosis bovina.

Para resolver este problema técnico, la solicitud en estudio proporciona un kit para la prueba de ELISA indirecto basado en la detección de anticuerpos contra el antígeno HN de la bacteria *Brucella sp.*, el cual incluye microplacas antigenizadas con el antígeno hapteno nativo en su forma cruda, solución de lavado, diluyente de la muestra, diluyente de conjugado, substrato, conjugado concentrado, solución de parada y controles positivo y negativo sometidos previamente a un proceso de liofilización, los cuales son específicos para suero sanguíneo y leche de bovino. Así mismo, la solicitud proporciona un método

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

de prueba de ELISA indirecto para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque.

3. Reivindicaciones relativas a un uso (Art. 14 Decisión 486)

El uso de la reivindicación 5 no es patentable, de acuerdo con el artículo 14 de la Decisión 486, teniendo en cuenta que, aunque tiene como preámbulo un procedimiento se está caracterizando únicamente por su uso en otras pruebas de diagnóstico.

4. De la solicitud de patente

4.1. 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° NC2019/0012373 el 5 de noviembre de 2019, tituló la invención como: "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.". 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: "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".

4.2. Reivindicaciones (Art. 30 Decisión 486)

- La reivindicación 1 no es clara porque menciona marcas registradas como ABTS y HRP protector, las cuales no definen el producto porque sus características técnicas pueden cambiar con el paso del tiempo, aunque conserve el mismo nombre. Se sugiere aclarar cuáles son las características de los productos en cuestión.
- Las reivindicaciones 2-4 no son claras porque mencionan un procedimiento, pero este no se define mediante una secuencia lógica de etapas, ni mediante sus condiciones técnicas esenciales. Se sugiere incluir las etapas técnicas esenciales del procedimiento para la prueba de ELISA indirecto en la reivindicación independiente e incluir las características particulares del mismo en las reivindicaciones dependientes, según lo divulgado en el capítulo descriptivo.
- La reivindicación 3 no es clara debido a que menciona la fase: "(...) porque tal y como se reivindicó en la cláusula anterior, la Sensibilización o Antigenización de placas de ELISA con antígeno Hapteno Nativo a una concentración de 1 microgramo por pozo para diagnóstico de brucelosis en suero sanguíneo y leche.", pero en la reivindicación 2 no se menciona esa característica, además, la redacción no permite determinar exactamente la materia que se desea proteger y algunas palabras empiezan con una letra mayúscula siendo que la palabra anterior se encuentra escrita en letra minúscula, no empiezan después de un punto y no se trata de nombres propios, por lo tanto, no es correcto a nivel gramatical. Se sugiere revisar la redacción de la reivindicación y establecer la dependencia según las etapas esenciales del procedimiento para la



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

prueba de ELISA indirecto, teniendo en cuenta lo que se encuentra divulgado en el capítulo descriptivo.

5. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha para determinar el estado de la técnica es el 6 de abril de 2017 que corresponde a la fecha de presentación de la solicitud de prioridad.

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	Alonso-Urmeneta B., <i>et al.</i> <i>Clinical and diagnostic laboratory immunology.</i>	“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”	Noviembre de 1998
D2	DRG International Inc., USA.	“DRG® Brucella ELISA (bovine) (EIA-2497: 96 wells / EIA-5487: 480 wells)”	1 de junio de 2012

El documento D1¹ divulga un método de diagnóstico de brucelosis en muestras de suero sanguíneo de bovinos, ovejas y cabras, usando diferentes antígenos tales como lipopolisacáridos crudos, polisacáridos hidrolíticos O y polisacáridos haptenos nativos (NH), evaluados con la prueba ELISA indirecto, usando anticuerpos policlonales y monoclonales o conjugados de proteína G (Abstract).

El documento D2² divulga un kit para el diagnóstico de brucelosis en muestras de suero sanguíneo y leche de bovinos, identificando anticuerpos en contra de antígenos de la bacteria *Brucella abortus*, con alta sensibilidad y especificidad (Pág. 1, Intended use of the test kit).

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

6.1. Nivel Inventivo (Art. 18 Decisión 486)

La reivindicación 1 consiste en: “KIT 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, caracterizado por (...)” (Radicado N° NC2019/0012373 del 8 de noviembre de 2021).

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

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

¹Alonso-Urmeneta B., *et al.* (1998). 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*, 5(6). Recuperado desde: <https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/29425/1/Evaluation%20of%20lipopolysaccharides.pdf>
²DRG International Inc., USA. (2012). DRG® Brucella ELISA (bovine) (EIA-2497 : 96 wells / EIA-5487: 480 wells). Vers. 8.1. Recuperado desde: <https://www.yumpu.com/en/document/view/24689225/eia-2497-96-wells-eia5487-480-wells-drg-international>

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

KIT para prueba de ELISA indirecto a base de hapteno nativo crudo, caracterizado por:	Materiales y métodos para prueba de ELISA indirecto con hapteno nativo purificado como antígeno de <i>Brucella</i> sp. (Pág. 750, iELISA).	Kit para prueba de ELISA indirecto con polisacárido como antígeno de <i>Brucella</i> sp., en muestras de suero y leche (Pág. 1, Intended use of the test kit).
Diez (10) microplacas antigenizadas con hapteno nativo crudo, de 96 pocillos cada una (distribuidos en 12 tiras de 8 pocillos cada tira) de fondo plano y claro, con superficie especialmente tratada para una alta capacidad de adhesión del antígeno, con capacidad máxima de 360 microlitros por pocillo.	96 pocillos standard de poliestireno con solución madre de extracto de antígeno (HN purificado). Se utilizaron dos marcas diferentes de pocillos y no se encontraron diferencias significativas entre ellas. Se trató la superficie de los pocillos con dos soluciones de recubrimiento: solución carbonato/bicarbonato y solución salina fosfatada y se incubó toda la noche para adhesión del antígeno (Pág. 750, iELISA).	5 microplacas con 96 pocillos cada una, pretratadas y recubiertas con antígeno de polisacárido de <i>Brucella</i> (Pág 1. Contents EIA-5487, Principle of the test kit).
Cinco (5) microplacas de 96 pocillos, sin tratamiento, para realizar la predilución de la muestra.	Pre-dilución de la muestra de suero (Pág. 750, iELISA). No menciona microplacas sin tratamiento.	No menciona.
Cuatro (4) frascos de sesenta (60) mililitros cada uno con solución de lavado a base de PBS-Tween 20, al 0.05%, a concentración (10 X).	Solución de lavado con PBS-Tween 20 al 0.05% (Pág. 750, iELISA).	Un frasco con 50 mL de solución de lavado concentrada 200 X (diluir con agua desionizada antes de usar) (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un frasco (1) de cuarenta (40) mililitros de diluyente de la muestra, a base de CABI (Carbonato bicarbonato) a concentración (10 X).	Solución de lavado con PBS-Tween 20 al 0.05% (Pág. 750, iELISA).	Dos frascos con 40 mL de buffer ELISA para diluir las muestras (Pág 1. Contents EIA-5487 y pág. 2, Handling and storage of kit and specimens).
Un (1) frasco de cincuenta (50) mililitros de diluyente de conjugado, a base de CABI (Carbonato bicarbonato) a concentración (1 X).	Solución de lavado con PBS-Tween 20 al 0.05% (Pág. 750, iELISA).	Un frasco con 60 mL de buffer de conjugado (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un (1) frasco de 50 mililitros de sustrato, el cual es ABTS (es un producto comercial).	Se utilizó ABTS como sustrato (Pág. 750, iELISA)	Un frasco con 40 mL buffer sustrato A y un frasco con 40 mL con buffer sustrato B (Pág 1. Contents EIA-5487)
Un (1) vial de un (1) mililitro que consta de 25 microlitros de conjugado concentrado, el cual es una inmuno globulina G – anti bovina, conjugada con peroxidasa de rábano producida en cabra (es un producto comercial) el cual está prediluido en el conservador HRP Protector, que es un estabilizador de peroxidasa.	Se utilizaron cuatro conjugados: i) inmunoglobulina G anti-oveja policlonal conjugada con peroxidasa de especificidad de cadena pesada y ligera, ii) inmunoglobulina G anti-bovina policlonal conjugada con peroxidasa de especificidad de cadena pesada y ligera, iii) anticuerpo monoclonal inmunoglobulina G1 anti-rumiante conjugado con peroxidasa y iv) proteína G recombinante (que reacciona con la IgG de rumiantes) conjugada con peroxidasa (Pág. 750, iELISA).	Un frasco con 1,5 mL de conjugado concentrado HRPO (Pág 1. Contents EIA-5487, Principle of the test kit).

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

	No menciona el estabilizador de peroxidasas.	
Un (1) frasco de cincuenta (50) mililitros de solución de parada, la cual es Duodecilsulfato sódico (SDS) al 4%.	No menciona.	Un frasco con 50 mL de solución de parada (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un (1) vial de suero sanguíneo positivo liofilizado.	Control positivo de suero (Pág. 750, iELISA). No menciona que sea liofilizado.	Un vial de control positivo inactivado estandarizado a 200 EIU/ml (liofilizado) (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un (1) vial de suero sanguíneo negativo liofilizado	Control negativo de suero (Pág. 750, iELISA). No menciona que sea liofilizado	Un vial de control negativo inactivado (liofilizado) (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un (1) vial de suero de leche positiva liofilizada	No menciona.	Un vial de control positivo inactivado estandarizado a 200 EIU/ml (liofilizado) (Pág 1. Contents EIA-5487).
Un (1) Vial de suero de leche negativa liofilizada.	No menciona.	Un vial de control negativo inactivado (liofilizado) (Pág 1. Contents EIA-5487).
Todos los viales de controles para su reconstitución en un (1) mililitro de agua destilada.	No menciona.	Un vial de control negativo inactivado (liofilizado) (Pág 1. Contents EIA-5487).

El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga un método para realizar la prueba ELISA indirecto que emplea hapteno nativo como antígeno (Pág. 750, iELISA) para detectar la presencia de anticuerpos de *Brucella sp.* en muestras de suero de ganado, ovejas y cabras con el fin de identificar a los animales que padecen brucelosis (Págs. 749 y 750, Animals and sera); este documento también divulga que los materiales y métodos para realizar la prueba son: 96 pocillos de poliestireno con NH purificado, pretratados para favorecer la adhesión del antígeno, PBS-Tween 20 al 0.05% para diluir las muestras y los conjugados y como solución de lavado, sustrato (ABTS), cuatro tipos de conjugados, un control positivo y un control negativo (Pág. 750, iELISA).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el método divulgado de D1 consiste en que el antígeno es hapteno nativo crudo, microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, la solución de parada (SDS al 4%), los controles positivos y negativos liofilizados, tanto de suero como de leche y los viales de los controles son reconstituidos en agua destilada.

No se evidencia un efecto asociado al incluir en la prueba de ELISA indirecto hapteno nativo crudo como antígeno, microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, solución de parada (SDS al 4%), controles positivos y negativos liofilizados, tanto de suero como de leche y que los viales de los controles sean reconstituidos en agua destilada, ya que la dilución de la muestra previo a la prueba se puede realizar en materiales diferentes a microplacas sin tratamiento, la prueba produce resultados confiables sin el uso de SDS al 4% como solución de parada según lo demostrado en D1 y los controles liofilizados que previamente a la prueba son reconstituidos en agua destilada son ampliamente conocidos y utilizados en la rutina para llevar a cabo diferentes tipos de pruebas de laboratorio, así mismo, no se evidencia en el capítulo descriptivo ejemplos o pruebas que demuestren un efecto técnico asociado a las diferencias descritas.

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar los materiales para la prueba de ELISA indirecto conocidos en D1 con el fin de obtener un kit alternativo?

Sin embargo, el incluir una solución de parada, controles positivos y negativos liofilizados y la reconstitución de los controles con agua destilada para obtener un kit, ya está divulgado en el documento D2 que se refiere a un frasco con 50 mL de solución de parada, un vial de control positivo inactivado estandarizado a 200 EIU/mL (liofilizado), un vial de control negativo inactivado (liofilizado) (los controles son usados en la prueba con suero o con leche) (Pág. 1. Contents EIA-5487) y la reconstitución de los controles se realiza con agua destilada (Pág. 3. Test protocol). Este documento no menciona una microplaca sin tratamiento para diluir la muestra, pero sí menciona la dilución de las muestras antes de la prueba (pág. 2, Handling and storage of kit and specimens), por lo tanto, no se observa un efecto técnico asociado a realizar la dilución en la microplaca de la solicitud.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a incluir la solución de parada, controles positivos y negativos liofilizados y la reconstitución de los controles con agua destilada del documento D2 en el método de D1, además de una microplaca sin tratamiento para diluir las muestras, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.

Es importante mencionar que D2 no motiva el uso de hapteno nativo crudo como antígeno, ya que el antígeno empleado en dicho documento es polisacárido, pero debido a que la solicitud no aporta pruebas técnicas que demuestren un efecto al emplear hapteno nativo crudo como antígeno en la prueba de ELISA indirecto para determinar brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche, en lugar de hapteno nativo purificado como lo divulgado en D1, no es posible otorgarle nivel inventivo a esta diferencia.

Adicionalmente, el documento D1 menciona que la cepa *Brucella melitensis* 16 M (biotipo 1 [MC]), se sembró y se utilizó para obtener el antígeno de la prueba (Págs. 749 y 750, Materials and methods). Por otra parte, la metodología empleada para llevar a cabo la prueba de ELISA indirecto de D1 consistió en realizar diluciones de la muestra en Tween20-PBS al 0.05%, dispensar una alícuota de 100 µL en cada pocillo e incubar las placas durante 1 hora a 37°C, para luego realizar cuatro lavados con el diluyente; diluir los conjugados en Tween-PBS al 0.05% (1:1000 y 1:2000 para los anticuerpos y 0.2 µg/mL para la proteína G) y agregar 100 µL de dicha solución a los pocillos, incubar nuevamente durante 1 hora a 37°C, lavar los pocillos y agregar en los pocillos 100 µL de ABTS al 0.1%, citrato 0.05 M (pH 4.0) y H₂O₂ al 0.004% durante 20 minutos a 20°C; así mismo, los controles positivos y negativos de suero para cada una de las especies animales evaluadas (bovinos, ovejas y cabras) se agregaron junto con las muestras, para finalmente, determinar los resultados, los cuales se expresan como la DO a 405 nm del suero de control positivo o como el porcentaje de la DO a 405 nm del control positivo en la dilución que ofrezca la mejor discriminación entre los animales vacunados y los animales infectados (Pág. 750, Materials and methods). Así mismo, los controles negativo y positivo empleados en el método demostraron ser adecuados para permitir la interpretación de los resultados aun cuando no menciona que fueron liofilizados (Págs. 751 y 752, Figs. 2 y 3). Finalmente, cabe mencionar que emplear duodecilsulfato sódico como solución de parada en las pruebas ELISA indirecto para determinar infección por



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Bucella sp. en bovinos es ampliamente conocido en la técnica³ por lo que tampoco aporta nivel inventivo a la materia reclamada.

Las reivindicaciones 2 a 4 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al producto de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.

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

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

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Alonso-Urmeneta B., <i>et al.</i> <i>Clinical and diagnostic laboratory immunology.</i>	1 a 4	Nivel Inventivo
D2	DRG International Inc., USA.	1 a 4	Nivel inventivo

8. Respuesta a los argumentos del solicitante

Argumentos respecto al cambio de título de la invención

El solicitante menciona que “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.”.*

Se aclara que, no se acepta el cambio de título mencionado por el solicitante, ya que no se realizó el pago de la tasa respectiva de las modificaciones presentadas mediante escrito radicado bajo el N° NC2019/0012373 el 8 de noviembre de 2021.

Argumentos respecto a D1

El solicitante argumenta que “*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.*” El solicitante también afirma que “*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.*”

³ Padilla Poester F., *et al.* (2000). The serological response of adult cattle after vaccination with *Brucella abortus* strain 19 and RB51. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37(1). (Pág. 2, Material and Method). Recuperado desde: <https://www.scielo.br/lj/bjvras/a/QRfDDqLyfVFXc8tP9H8HWJK/?lang=en>



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Se aclara que, el solicitante tiene razón al mencionar que la diferencia entre la invención reclamada y el D1, respecto al antígeno de la prueba ELISA indirecto, es que la solicitud reclama el hapteno nativo en su forma cruda, sin embargo, en el capítulo descriptivo no se aportan pruebas técnicas que evidencien la afirmación del solicitante en cuanto a que dicha diferencia genera una reacción antígeno-anticuerpo que arroja resultados de mayor confiabilidad. Además, si bien D1 concluye que el HN purificado no es el antígeno óptimo en ensayos de inmunoabsorción para brucelosis, como se mencionó anteriormente, la solicitud no aporta evidencia donde sea obvio que el uso del HN crudo sí es el antígeno óptimo, como lo da a entender el solicitante. Por lo tanto, no es posible otorgarle nivel inventivo a dicha diferencia.

El solicitante también asegura que *“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.”*

Se aclara que, el solicitante tiene razón al mencionar que el uso del etanol en la metodología expuesta en el capítulo descriptivo para obtener el antígeno (hapteno nativo), no tiene como finalidad la purificación de este, sino, únicamente su extracción. De esta manera queda claro que hay diferencia entre el antígeno empleado en la solicitud (hapteno nativo crudo) y el antígeno empleado en D1 (hapteno nativo purificado).

El solicitante afirma que *“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.”*

Se aclara que, el solicitante tiene razón al mencionar que el control positivo y el control negativo empleados en D1 son diferentes a los controles de la solicitud en relación con que estos últimos se ajustan a una densidad óptica específica y luego se liofilizan, lo cual



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

es considerado una buena práctica y, por ende, aumenta la confiabilidad del resultado a obtener. Sin embargo, D1 pone en evidencia que los controles empleados en la prueba de ELISA indirecto para determinar la presencia de brucelosis fueron adecuados para la metodología empleada y, así mismo, permitieron la obtención de resultados confiables. Por lo tanto, aunque D1 no haga énfasis en las características de los controles empleados en el ensayo de ELISA indirecto, no es posible considerar que no son confiables para llevar a cabo la lectura de los resultados positivos o negativos según corresponda.

Argumentos respecto a D2

El solicitante asegura que *“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.”*. El solicitante también menciona que *“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.”* *“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.”*

Se aclara que, el solicitante tiene razón al argumentar que D2 no motiva el uso de HN crudo como antígeno en la prueba de ELISA indirecto para determinar la presencia de brucelosis en muestras de suero o leche; no obstante, el HN crudo no es la única diferencia entre la invención reclamada y D1, ya que también se observan otras diferencias que no se pueden pasar por alto, las cuales son microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, solución de parada (SDS al 4%), controles positivos y negativos liofilizados, tanto de suero como de leche y que los viales de los controles son reconstituidos en agua destilada. Diferencias que sí menciona D2. Por lo tanto, la combinación de los documentos D1 y D2 motiva la obtención de un kit alternativo.

Argumentos respecto al examen de nivel inventivo

El solicitante reitera que *“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. (...) 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*



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

nativo.”

Igualmente, el solicitante asegura que “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.”; y, “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 el arte previo D1 el cual emplea el antígeno purificado.”

Se aclara que, el solicitante tiene razón al mencionar que el estado del arte no sugiere el uso de HN crudo como antígeno en una prueba de ELISA indirecto para determinar brucelosis en muestras bovinas, sin embargo, las pruebas técnicas mencionadas en el capítulo descriptivo se realizaron comparando dos tipos de pruebas o kits, donde uno de ellos se basa en LPS-O como antígeno y el kit de la solicitud a base de HN crudo; el resultado obtenido a partir de la investigación con muestras de 741 animales, aparentemente positivos luego de aplicar la prueba a base de LPS-O, fue que al emplear el kit de la solicitud como prueba confirmatoria, 386 muestras (52.1%) arrojaron un resultado negativo (el cual el solicitante asume que se trata de un “falso positivo”), mientras que 355 muestras (47.9%) arrojaron un resultado positivo con ambas pruebas (el cual el solicitante asume que es un resultado “verdadero positivo”), pero no hay evidencia de que los resultados emitidos al emplear el kit de la solicitud sean absolutos, es decir, verdaderamente positivos o verdaderamente negativos, ya que para ello se deberían emplear muestras patrón (un *gold standard*) que den total certeza de que un resultado es positivo o negativo según corresponda. Debido a las razones expuestas anteriormente, las pruebas presentadas por el solicitante en el capítulo descriptivo no son suficientes para otorgarle nivel inventivo a la solicitud.

Finalmente, el solicitante menciona *“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.”*

Se aclara que, comparar los resultados obtenidos por el solicitante con los resultados obtenidos en D1 para otorgarle nivel inventivo a la solicitud, no es técnicamente correcto, ya que para comparar dos métodos es necesario someterlos a las mismas condiciones, es decir, las mismas muestras (en cantidad y características), las mismas condiciones ambientales (el lugar donde se realiza la prueba) e incluso, los mismos analistas; así mismo, es necesario realizar un diseño experimental que demuestre una diferencia estadísticamente significativa entre ambos métodos, de tal manera que los atributos técnicos entre un método y otro sean evidentes. Por lo tanto, los argumentos del solicitante respecto al porcentaje de resultados falsos positivos entre un método y otro no son comparables y, por ende, no le otorgan nivel inventivo a la solicitud.

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



Oficio N° **20021** de **16 de diciembre de 2021**

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

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 el 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 de esta Superintendencia. De igual forma, deberá tener presente que de conformidad con el literal a) del numeral 1.2.2.5.1. de la norma ibidem, será necesario acreditar el pago de la tasa por concepto de modificación a solicitudes en trámites, de conformidad con el valor establecido en la resolución de tasas vigentes.

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.



Edna Marcela Ramirez Orozco
DIRECTORA DE NUEVAS CREACIONES



Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

INFORME DE BÚSQUEDA
EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Solicitud No.		Examen de patentabilidad							
NC2019/0012373		1°		2°	X	3°		Revoca	
Solicitud Internacional No.		Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO)							
PCT/MX2018/050009		05/04/2018							
Fecha de determinación estado de la técnica (DD/MM/AÑO)				Prioridad		Presentación			
06/04/2017				X					
Solicitante									
Victoria MAROUN CORTEZ									
Reivindicaciones que no son objeto de búsqueda por:									
Art. 14	-	Art. 15	-	Art. 20	-	Art. 25 (Falta de unidad de invención)		-	

CRITERIOS DE BÚSQUEDA	
Reivindicaciones objeto de búsqueda	1 a 12.
Palabras clave utilizadas	Prueba ELISA indirecto para diagnóstico de brucelosis con hapteno nativo crudo, kit ELISA para diagnóstico de brucelosis.
Clasificaciones utilizadas para la búsqueda	CIP: G01N 33/569

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	Alonso-Urmeneta B., et al.	11/1998	1 a 12	Págs. 749 a 752 y Figs. 2 y 3.	Y
	WO1999030161	17/06/1999	-	-	A
	WO2008051065	02/05/2008	-	-	A
	Alonso-Urmeneta B., et al.	12/1988	-	-	A
	Marín C.M., et al.	03/1999	-	-	A
	Aragón V. et al.	02/1996	-	-	A
ISA/ SCIENCE DIRECT	Ducrotoy J.M., et al.	2016	-	-	A
	Ramírez-Pfeiffer C., et al.	2008	-	-	A
	Dieste-Pérez., et al.	2015	-	-	A
PATBASE	CN101581726	18/11/2009	-	-	A
	CN101592660	02/12/2009	-	-	A
	CN101799470	08/01/2010	-	-	A
GOOGLE	DRG International Inc., USA.	01/06/2012	1 a 12	Págs. 1 a 3.	Y

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

	Mirjalili A. & Loftpouri H.	18/08/2016	-	-	A
	Padilla Poester F., et al.	01/2000	-	-	A
	Saadi Siu K.T.	2014	-	-	A
	Díaz-Aparicio E., et al.	1993	-	-	A
	Díaz R., et al.	1981	-	-	A
(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.	Alonso-Urmeneta B., et al. (1998). 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. <i>Clinical and diagnostic laboratory immunology</i> , 5(6), 749-754.				
	Alonso-Urmeneta B., et al. (1988). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with Brucella Native Hapten Polysaccharide and Smooth Lipopolysaccharide. <i>Journal of Clinical Microbiology</i> , 26(12), 2642-2646.				
	Marín C.M., et al. (1999). Performance of Competitive and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, Gel Immunoprecipitation with Native Hapten Polysaccharide, and Standard Serological Tests in Diagnosis of Sheep Brucellosis. <i>Clinical and diagnostic laboratory immunology</i> , 6(2), 269–272.				
	Aragón V. et al. (1996). Characterization of Brucella abortus and Brucella melitensis Native Haptens as Outer Membrane O-Type Polysaccharides Independent from the Smooth Lipopolysaccharide. <i>Journal of Bacteriology</i> , 178(4), 1070–1079.				
	Ducrotoy J.M., et al. (2016). A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. <i>Veterinary Immunology and Immunopathology</i> , 171, 81–102.				
	Ramírez-Pfeiffer C., et al. (2008). Improved performance of Brucella melitensis native hapten over Brucella abortus OPS tracer on goat antibody detection by the fluorescence polarization assay. <i>Veterinary Immunology and Immunopathology</i> 123, 223–229.				
	Dieste-Pérez., et al. (2015). Diagnostic performance of serological tests for swine brucellosis in the presence of false positive serological reactions. <i>Journal of Microbiological Methods</i> , 111, 57–63.				
	DRG International Inc., USA. (2012). DRG® Brucella ELISA (bovine) (EIA-2497 : 96 wells / EIA-5487: 480 wells). Vers. 8.1.				
	Mirjalili A. & Loftpouri H. (2016). Development of Indirect ELISA (IELISA) for Diagnosis of Bovine Brucellosis, Comparison of Three Different Labeled Detection Reagents. <i>MOJ Immunology</i> , 3(5), 00104.				
	Padilla Poester F., et al. (2000). The serological response of adult cattle after vaccination with <i>Brucella abortus</i> strain 19 and RB51. <i>Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science</i> , 37(1), 1-4.				
	Saadi Siu K.T. (2014). Validación de un ELISA indirecto con antígeno citosólico de <i>Brucella abortus</i> RB51, para la detección de anticuerpos contra <i>Brucella ovis</i> en ovinos. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario Departamento de Medicina Preventiva Animal. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Escuela de Ciencias Veterinarias.				
	Díaz-Aparicio E., et al. (1993). Comparative Analysis of Brucella Serotype A and M and Yersinia enterocolitica 0:9 Polysaccharides for Serological Diagnosis of Brucellosis in Cattle, Sheep, and Goats. <i>Journal of Clinical Microbiology</i> . 31(12), p. 3136-3141.				
	Díaz R., et al. (1981). A simple method for the extraction of polysaccharide B from Brucella cells for use in the radial immunodiffusion test diagnosis of bovine brucellosis. <i>Annals of veterinary research</i> . 12(1). 35-39.				
(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.			“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.		

Oficio N° 20021 de 16 de diciembre de 2021

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

“P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.
Fecha del reporte de búsqueda: 16/11/2021
Examinador: Natalia Charry Uribe