

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Señor(a)
Victoria MAROUN CORTEZ

TÍTULO DE LA SOLICITUD: “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”

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)

Se aceptan las modificaciones radicadas el 11 de marzo de 2022, bajo el número NC2019/0012373, por ajustarse a los requisitos legales.

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 12 del radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022.

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 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 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.

3. De la solicitud de patente



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

3.1. Título

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

De acuerdo con la modificación presentada por el solicitante en el escrito radicado bajo el N° NC2019/0012373 el 11 de marzo de 2022 y teniendo en cuenta el objeto de la solicitud, se acepta 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”.

3.2. Reivindicaciones (Art. 30 Decisión 486)

- Las reivindicaciones 1 a 10 no son claras porque mencionan “*para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque*” cuando debería ser “*para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche de un animal y de tanque*”.
- La reivindicación 1 no es clara porque menciona “*solución de lavado a base de PBS-Tween 20, al 0.05%, a concentración (10 X)*”, sin embargo, no es claro si la concentración de la solución PBS-Tween 20 es al 0,05% o a 10X. Se sugiere realizar las aclaraciones respectivas.
- Las reivindicaciones 1 y 10 no son claras porque mencionan “*una solución ácido 3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico*” cuando debería ser “*una solución de ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico*”, sin embargo, el nombre del compuesto como está escrito es incorrecto, por lo cual se sugiere cambiar la frase así, “*una solución de ácido 2,2’ – azino - bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)*”.
- La reivindicación 1 no es clara porque menciona “*25 microlitros de conjugado concentrado, el cual es una inmuno globulina G – anti Bovina, conjugada con peroxidasa de rábano producida en cabra el cual está prediluido en un estabilizador de peroxidases*” cuando debería ser “*25 microlitros de conjugado concentrado, el cual es una inmunoglobulina G – anti Bovina conjugada con peroxidasa de rábano producida en cabra, el cual está prediluido en un estabilizador de peroxidases*”. Así mismo, no es claro si el conjugado está concentrado o está diluido, ya que en la primera parte de la frase se menciona “*25 microlitros de conjugado concentrado*”, pero en la parte final se menciona “*el cual está prediluido en un estabilizador de peroxidases*”. Se sugiere realizar las aclaraciones respectivas.
- La reivindicación 1 no es clara porque menciona “*la cual es Duodecilsulfato sódico (SDS) al 4%*” cuando debería ser “*la cual es dodecilsulfato sódico (SDS) al 4%*”.
- La reivindicación 2 no es clara porque menciona “*los viales de suero sanguíneo y suero de leche positivos son controles positivos que presentan una absorbancia ≥ 1.0 y los viales de suero sanguíneo y suero de leche negativos son controles negativos que presentan una absorbancia de 0.20 – 0.28*” pero no menciona la longitud de onda a la



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

cual debería presentarse dicha absorbancia. Se sugiere incluir la longitud de onda respectiva.

- La reivindicación 3 no es clara porque menciona *“Procedimiento de 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 caracterizado porque el hapteno nativo se emplea crudo, y es obtenido de una cepa de B. melitensis 16M, sin ningún tratamiento de purificación”*, de esta forma menciona un procedimiento pero este no se define mediante una secuencia lógica de etapas y las condiciones técnicas específicas. Se sugiere incluir las etapas del procedimiento de acuerdo con el capítulo descriptivo.
- La reivindicación 3 no es clara porque menciona *“de una cepa de B. melitensis 16M”* cuando debería ser *“de la cepa de B. melitensis 16M”*, además, no menciona la especie exacta por lo cual se sugiere que se corrija así *“de la cepa de Brucella melitensis 16M”*.
- Las reivindicaciones 3 y 6 no son concisas porque: son reivindicaciones independientes que repiten materia y presentan el mismo alcance. Se sugiere que todas las características esenciales del procedimiento reclamado queden expuestas en la reivindicación 3, en tanto las características particulares se estipulen en reivindicaciones dependientes de la 3.
- Las reivindicaciones 5 y 7 no son claras porque mencionan *“en donde los controles positivos presentan una absorbancia ≥ 1.0 y los controles negativos presenten una absorbancia de $0.20 - 0.28$ ”* pero no menciona la longitud de onda a la cual debería presentarse dicha absorbancia. Se sugiere incluir la longitud de onda respectiva.
- La reivindicación 6 no es clara porque menciona *“Incubar la Microplaca”* cuando debería ser *“Incubar la microplaca”*.
- La reivindicación 6 no es clara porque menciona *“Distribuir 50 μ L de solución de parada y leer a una densidad óptica de 405 nm”* pero no menciona si dicha solución debe ser aplicada en cada pocillo de la microplaca. Se sugiere realizar las correcciones respectivas.
- Las reivindicaciones 1, 6 y 9 mencionan la palabra *“substrato”* pero las demás de reivindicaciones que se refieren al mismo usan la palabra *“sustrato”*, se sugiere uno solo de los dos términos con el fin de homogenizar el texto y dar una mejor claridad.
- La reivindicación 12 se refiere únicamente a la frase *“caracterizado porque la lectura a una densidad óptica de 405 nm es estable durante 30 minutos desde que se distribuye la solución de parada”*, la cual sugiere un resultado a alcanzar y no define al procedimiento, puesto que la reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Se sugiere reemplazar por las características esenciales que contribuyen a la obtención de ese efecto.

3.2. Descripción (Art. 28 Decisión 486 literal (c))

- En la página 24 del capítulo descriptivo se menciona *“Como substrato se utiliza una solución ácido 3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)”* sin embargo, este no es el



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

nombre del compuesto ABTS, por lo cual se sugiere cambiar a “Como substrato se utiliza una solución de ácido 2,2’ – azino - bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)”.

Es importante, señalar que las modificaciones no deberán ampliar el alcance de la materia divulgada inicialmente.

4. 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., et al. <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
D3	Díaz – Aparicio E., et al. <i>Journal of Clinical Microbiology</i> ,	“Comparative Analysis of <i>Brucella</i> Serotype A and M and <i>Yersinia enterocolitica</i> 0:9 Polysaccharides for Serological Diagnosis of Brucellosis in Cattle, Sheep, and Goats.”	Diciembre de 1993

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 D3² divulga la comparación de diferentes haptenos por inmunodifusión radial inversa para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, ovejas y en cabras. Donde el hapteno nativo crudo de *B. melitensis* 16M mostró la mayor sensibilidad (89,6 a 97,3 %) independientemente de la especie huésped y permitió diferenciar bovinos, ovinos y caprinos infectados de vacunados (Abstract, Tabla 2, Págs. 3137 – 3139).

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

5.1. Nivel Inventivo (Art. 18 Decisión 486)

La reivindicación 1 consiste en: “KIT para 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, caracterizado porque comprende: diez (10) microplacas

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>
²Díaz-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. *Journal of Clinical Microbiology*. 31(12), p. 3136 3141. Recuperado de: <https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/29443/1/Comparative%20analysis.pdf>

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

antigenizadas con hapteno nativo crudo, de 96 pocillos cada una (distribuidos en 12 tiras de 8 pocillos cada tira) (...)” (Radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022).

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

Características esenciales	D1	D3
KIT para 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, caracterizado porque comprende:	Materiales y métodos para prueba de ELISA indirecto con hapteno nativo como antígeno de <i>Brucella</i> sp. (Pág. 750, Sección iELISA).	Test serológico para el diagnóstico de brucelosis en suero sanguíneo de bovinos, ovinos y caprinos usando hapteno nativo crudo sin purificar de <i>B. melitensis</i> 16M (Pág. 3137, Col. Der, Sección Serological tests; Pág. 3138, Sección – Results, Sensitivity of precipitation tests with different polysaccharide preparations and sera from infected animals, y– Pág. 3139, Col. Der. Sección – Discussion, Tabla 2).
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;	Microplaca con 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, Sección iELISA)	Se usa hapteno nativo crudo sin purificar de <i>B. melitensis</i> 16M (Pág. 3136, Col. Der, Sección Crude NH, Pág. 3137, Sección – Serological Test; Pág. 3138, Sección – Results, Sensitivity of precipitation tests with different polysaccharide preparations and sera from infected animals, y– Pág. 3139, Col. Der. Sección – Discussion, Tabla 2).
cinco (5) microplacas de 96 pocillos, sin tratamiento, para realizar la predilución de la muestra;	Pre-dilución de la muestra de suero (Pág. 750, Sección 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, Sección iELISA).	
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, Sección iELISA).	
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, Sección iELISA).	
un (1) frasco de 50 mililitros de Substrato, el cual es una solución ácido 3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico;	Se utilizó ácido 2,2' – azino - bis (3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) como sustrato (Pág. 750, Sección iELISA)	
un (1) vial de un (1) mililitro que consta de 25 microlitros	Se utilizaron cuatro conjugados: i) inmunoglobulina G anti-oveja	



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

de conjugado concentrado, el cual es una inmuno globulina G – anti Bovina, conjugada con peroxidasa de rábano producida en cabra el cual está prediluido en un estabilizador de peroxidasa;	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, Sección iELISA). No menciona el estabilizador de peroxidasa.	
un (1) frasco de cincuenta (50) mililitros de solución de parada, la cual es Duodecilsulfato sódico (SDS) al 4%; un (1) vial de suero sanguíneo positivo liofilizado;	No menciona	
un (1) vial de suero sanguíneo negativo liofilizado;	Control negativo de suero (Pág. 750, Sección iELISA). No menciona que sea liofilizado	
un (1) vial de suero de leche positiva liofilizada;	Control positivo de suero sanguíneo de un animal infectado (Pág. 750, Sección iELISA). No menciona que sea liofilizado ni menciona suero de leche.	
y un (1) vial de suero de leche negativa liofilizada;	No menciona	
y en donde todos los viales de controles se presentan para su reconstitución en un (1) mililitro de agua destilada.	No menciona	

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) 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); 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, Sección iELISA).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el método divulgado de D1 consiste en el uso de hapteno crudo, las 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 reconstituídos en agua destilada.

El efecto que se logra al incluir el hapteno nativo crudo en un kit de prueba de ELISA indirecto es mejorar la confiabilidad del diagnóstico evitando falsos positivos y

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

permitiendo una mejor determinación del porcentaje de animales verdaderamente infectados (14,02%) frente al porcentaje arrojado por un procedimiento convencional que no usa hapteno crudo sin purificar (29,25%) (Figura 5, Págs. 19 y 20). No se evidencia un efecto asociado al incluir en la prueba de ELISA indirecto 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 dado que para garantizar la confiabilidad de los resultados los mismos deben ser incluidos en el test, así mismo, no se evidencia en el capítulo descriptivo ejemplos o pruebas que demuestren un efecto técnico asociado a las diferencias descritas.

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 hapteno crudo en un procedimiento para diagnosticar brucelosis en bovinos con el fin de mejorar la confiabilidad ya está divulgado en el documento D3 que se refiere a la comparación de diferentes haptenos por inmunodifusión radial inversa para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, ovejas y en cabras. Donde el hapteno nativo crudo de *B. melitensis* 16M mostró la mayor sensibilidad (89,6 a 97,3 %) independientemente de la especie huésped y permitió diferenciar bovinos, ovinos y caprinos infectados de vacunados, además de permitir que las 95 muestras de bovinos libres de brucelosis fueran negativas en dicha prueba, con resultados similares para sueros de ovejas y cabras, por lo cual los resultados fueron confiables (Abstract, Tabla 2, Pág. 3137, Sección – Serological Test; Pág. 3138, Sección – Results, Sensitivity of precipitation tests with different polysaccharide preparations and sera from infected animals y Pág. 3139, Col. Der. Sección - Discussion).

Además, D3 menciona que el hapteno nativo crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M es fácil de obtener en comparación con extracción de los polisacáridos, además que este funciona mejor en el diagnóstico de brucelosis para vacas, ovejas y cabras (Pág. 3139, Col. Der., Párr. 1; Tabla 2).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a incluir el hapteno crudo del documento D3 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.

Adicionalmente, el documento D1 menciona que 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), así mismo, los resultados 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). Este documento no menciona el uso de una microplaca sin tratamiento para la predilución de las muestras, pero si menciona la necesidad de diluir las muestras antes de la distribución en la placa antigenizada (Pág. 750). Finalmente, cabe mencionar que



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

incluir controles positivos y negativos liofilizados y la reconstitución de los controles con agua destilada, ya está divulgado en la literatura³. Así como el emplear dodecilsulfato sódico (SDS) como solución de parada en las pruebas ELISA indirecto para determinar infección por *Brucella sp.* en bovinos es ampliamente conocido en la técnica⁴ por lo que tampoco aporta nivel inventivo a la materia reclamada.

La reivindicación dependiente 2 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al kit de prueba de ELISA indirecto de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no tiene nivel inventivo.

La reivindicación 3 consiste en: “*Procedimiento de 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 (...)*” (Radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022).

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

Características esenciales	D1	D3
Procedimiento de 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 caracterizado porque	Procedimiento de prueba de ELISA indirecta a base de hapteno nativo purificado, obtenido de <i>B. melitensis</i> 16M, para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo (Pág. 750, Sección iELISA).	Test serológico para el diagnóstico de brucelosis en suero sanguíneo de bovinos, ovinos y caprinos (Pág. 3137 – 3139, Tabla 2).
el hapteno nativo se emplea crudo, y es obtenido de una cepa de <i>B. melitensis</i> 16M, sin ningún tratamiento de purificación.	No menciona	usando hapteno nativo crudo sin purificar de <i>B. melitensis</i> 16M (Pág. 3136, Col. Der., Sección Crude NH, Pág. 3137 – 3139, Tabla 2).

El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 3 porque divulga un procedimiento para realizar la prueba ELISA indirecto que emplea hapteno nativo de *B. melitensis* 16M como antígeno (Pág. 750,Sección 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).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 3 y el procedimiento de prueba ELISA divulgado en D1 consiste en el uso de hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M.

El efecto que se logra al incluir el hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M es mejorar la confiabilidad del diagnóstico evitando falsos positivos y permitiendo una mejor determinación del porcentaje de animales verdaderamente infectados (14,02%) frente al porcentaje arrojado por un procedimiento convencional que no usa hapteno crudo sin purificar (29,25%) (Figura 5, Págs. 19 y 20).

³ DRG 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-wellsdrg-internationa>

⁴ 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). Recuperado desde: <https://www.scielo.br/bjvras/a/QRfDDqLyfVFxc8tP9H8HWJK/?lang=en>

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el procedimiento de prueba ELISA conocido en D1 con el fin de mejorar la confiabilidad del diagnóstico de brucelosis en bovino y evitar los falsos positivos?

Sin embargo, el incluir hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M, en un procedimiento para diagnosticar brucelosis en bovinos, para mejorar la confiabilidad ya está divulgado en el documento D3 que se refiere a la comparación de diferentes haptenos por inmunodifusión radial inversa para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, ovejas y en cabras. Donde el hapteno nativo crudo de *B. melitensis* 16M mostró la mayor sensibilidad (89,6 a 97,3 %) independientemente de la especie huésped y permitió diferenciar bovinos, ovinos y caprinos infectados de vacunados, además de permitir que las 95 muestras de bovinos libres de brucelosis fueran negativas en dicha prueba, con resultados similares para sueros de ovejas y cabras, por lo cual los resultados fueron confiables (Abstract, Tabla 2, Págs. 3137 – 3139).

Además, D3 menciona que el hapteno nativo crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M es fácil de obtener en comparación con extracción de los polisacáridos, mencionando que este funciona mejor en el diagnostico de brucelosis para vacas, ovejas y cabras (Pág. 3139, Col. Der., Párr. 1; Tabla 2).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a incluir el hapteno nativo crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M del documento D3 en el procedimiento de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 3. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 4 y 5 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al procedimiento de la reivindicación 3, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.

La reivindicación 6 consiste en: “Procedimiento de 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 caracterizado porque comprende las etapas de (...)” (Radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022).

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

Características esenciales	D1	D3
Procedimiento de 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 caracterizado porque comprende las etapas de	Procedimiento de prueba de ELISA indirecta a base de hapteno nativo, obtenido de <i>B. melitensis</i> 16M, para diagnostico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo (Pág. 750, Sección iELISA).	Test serológico para el diagnóstico de brucelosis en suero sanguíneo de bovinos, ovinos y caprinos usando hapteno nativo crudo sin purificar de <i>B. melitensis</i> 16M (Pág. 3137 – 3139, Tabla 2).
Distribuir 285 µL de un diluyente de muestra a cada pocillo en una microplaca de predilución;	Realizar la predilución de cada muestra (Pág. 750, Sección iELISA). No menciona microplaca de predilución	No menciona
Agregar 15 µL de un control negativo en los pocillos A1 y	Los controles positivo y negativo deben ser incluidos (Pág. 750,	

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

B1; y 15 µL de un control positivo en los pocillos C1 y D1;	Sección iELISA). No menciona cuanto deben diluirse.	
Agregar 15 µL de una muestra de suero sanguíneo o leche en los pocillos restantes;	Realizar la predilución de cada muestra (Pág. 750, Sección iELISA).	
Tomar 50 µL de las muestras y controles diluidos en la microplaca de pre-dilución;	Realizar la predilución de cada muestra (Pág. 750, Sección iELISA). No menciona microplaca de predilución	
Pasar las muestras y controles diluidos a una microplaca antigenizada con hapteno nativo, en donde el hapteno nativo se encuentra crudo sin ningún tratamiento de purificación;	Agregar el control negativo en algunos pocillos de cada placa, así mismo, con el control positivo (Pág. 750, Sección iELISA). Adicionar 100 µL de cada muestra diluida de suero sanguíneo en los pocillos restantes (Pág. 750, Sección iELISA). La microplaca esta previamente antigenizada con hapteno nativo purificado (Pág. 750).	En donde el hapteno nativo se encuentra crudo sin ningún tratamiento de purificación (Pág. 3136, Col. Der., Sección Crude NH, Pág. 3137).
Incubar la microplaca antigenizada durante 1 hora a 37°C;	Incubar la microplaca antigenizada durante 1 hora a 37°C (Pág. 750, Sección iELISA).	No menciona
Lavar cada pocillo con una solución de lavado previamente diluida y eliminar el exceso de solución;	Lavar cada pocillo con una solución de lavado diluida y eliminar exceso de solución (Pág. 750, Sección iELISA).	
Agregar un conjugado previamente diluido a dilución de 1:2000 a cada pocillo;	Agregar un conjugado previamente diluido a una dilución 1:1000 o 1:2000 a cada pocillo (Pág. 750, Sección iELISA).	
Incubar la Microplaca durante 1 hora a 37°C.	Incubar la microplaca durante 1 hora a 37°C (Pág. 750, Sección iELISA).	
Lavar cada pocillo con una solución de lavado previamente diluida y eliminar el exceso de solución;	Lavar cada pocillo con una solución de lavado previamente diluida y eliminar el exceso de solución (Pág. 750, Sección iELISA).	
Agregar 50 µL de un sustrato a cada pocillo;	Agregar 100 µL de un sustrato a cada pocillo (Pág. 750, Sección iELISA).	
Incubar la Microplaca durante 15 minutos a temperatura ambiente (21°C ± 5°C) en oscuridad;	Incubar la microplaca durante 15 minutos a temperatura ambiente (20°C) en oscuridad (Pág. 750, Sección iELISA).	
Distribuir 50 µL de solución de parada y leer a una densidad óptica de 405 nm.	Leer la microplaca a 405 nm (Pág. 750, Sección iELISA). No menciona solución de parada.	

El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 6 porque divulga un procedimiento para realizar la prueba ELISA indirecto que emplea hapteno nativo de *B. melitensis* 16M como antígeno (Pág. 750, Sección 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).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 6 y el procedimiento de ELISA indirecto divulgado de D1 consiste en que el antígeno es hapteno nativo crudo y sin



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

tratamiento de purificación, el uso de microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, el volumen de las muestras, las soluciones y los controles distribuidos en la microplaca y el uso de una solución de parada.

El efecto que se logra al incluir el hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M es mejorar la confiabilidad del diagnóstico evitando falsos positivos y permitiendo una mejor determinación del porcentaje de animales verdaderamente infectados (14,02%) frente al porcentaje arrojado por un procedimiento convencional que no usa hapteno crudo sin purificar (29,25%) (Figura 5, Págs. 19 y 20). No hay efecto asociado a incluir el uso de microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, el usar un volumen diferente de las muestras, las soluciones (aunque depende principalmente de la concentración inicial y final de las soluciones) y los controles distribuidos en la microplaca y el uso de una solución de parada.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el procedimiento de prueba ELISA conocido en D1 con el fin de mejorar la confiabilidad del diagnóstico de brucelosis en bovino y evitar los falsos positivos?

Sin embargo, el incluir hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M, en un procedimiento de diagnóstico brucelosis en bovinos, para mejorar la confiabilidad ya está divulgado en el documento D3 que se refiere a la comparación de diferentes haptenos por inmunodifusión radial inversa para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, ovejas y en cabras. Donde el hapteno nativo crudo de *B. melitensis* 16M mostro la mayor sensibilidad (89,6 a 97,3 %) independientemente de la especie huésped y permitió diferenciar bovinos, ovinos y caprinos infectados de vacunados, además de permitir que las 95 muestras de bovinos libres de brucelosis fueran negativas en dicha prueba, con resultados similares para sueros de ovejas y cabras, por lo cual los resultados fueron confiables (Abstract, Pág. 3137, Col. Der, Sección Serological tests; Pág. 3138, Sección – Results, Sensitivity of precipitation tests with different polysaccharide preparations and sera from infected animals, y– Pág. 3139, Col. Der. Sección – Discussion, Tabla 2).

Además, D3 menciona que el hapteno nativo crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M es fácil de obtener en comparación con extracción de los polisacáridos, mencionando que este funciona mejor en el diagnostico de brucelosis para vacas, ovejas y cabras (Pág. 3139, Col. Der., Párr. 1; Tabla 2).

Adicionalmente, el uso de solución de parada está ampliamente descrito en la literatura⁴, así como la dilución de las muestras sin necesidad de una microplaca de tratamiento para lo cual se puede usar diferentes tipos de recipiente. Los volúmenes que se distribuyen de las muestras y de las soluciones en la microplaca dependen de la concentración de estas.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a incluir el hapteno crudo sin tratamiento de purificación del documento D3 en el procedimiento ELISA indirecto de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 6. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 7 a 12 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al procedimiento de la reivindicación 6, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

6. 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., et al. <i>Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.</i>	1 a 12	Nivel Inventivo
D3	Díaz – Aparicio E., et al. <i>Journal of Clinical Microbiology,</i>	1 a 12	Nivel inventivo

7. Respuesta a los argumentos del solicitante

Argumentos respecto a la claridad de las reivindicaciones

El solicitante argumenta 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 (...)”*

Se retiran de la Reivindicación 1 las referencias a marcas comerciales. Específicamente, la expresión “ABTS” se reemplazó por “una solución ácida 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 peroxidasa. Así, la nueva Reivindicación 1 define con claridad los elementos técnicos que caracterizan el kit. 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 peroxidasa. Por lo tanto, las modificaciones cumplen con las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486 (...)

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 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 (...)

Adicionalmente a las modificaciones antes descritas, 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



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

divulgación inicialmente presentada, cumpliendo con las Disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486”.

Se aclara que, a pesar de que el capítulo reivindicatorio radicado bajo el N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022 permite superar algunas objeciones respecto a la claridad de las reivindicaciones, aún se presentan problemas de claridad de acuerdo con el numeral 3.2 del presente oficio. Se debe mencionar, que los nombres de los compuestos están mal escritos, tal es el caso del “ácido 3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico” dado que si se está hablando de ABTS el nombre correcto es “ácido 2,2’ – azino - bis (3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico)”, así mismo, si se está hablando de SDS el nombre correcto es “dodecilsulfato sódico” y no “Duodecilsulfato sódico”. Así, los nombres de los compuestos deben ser corregidos y los demás errores que dan lugar a la falta de claridad de las reivindicaciones presentadas por el solicitante.

Argumentos respecto a nivel inventivo

El solicitante sostiene que “Dentro del análisis expuesto en el Oficio, el Examinador reconoce que la presente invención difiere del arte previo D1 en el empleo de hapteno nativo crudo, además de las diferencias técnicas en cuanto a la presencia de microplacas sin tratamiento para la dilución de la muestra, la solución de parada (SDS al 4%), los controles positivos y (...)

Respetuosamente manifiesto mi desacuerdo con la conclusión de ese Despacho y presento las siguientes consideraciones y planteamientos de la Solicitante que demuestran el nivel inventivo de la presente invención.

En primer lugar, es pertinente resaltar que el Examinador identifica como una diferencia técnica existente entre la presente invención y D1 el empleo HN crudo, y lo reitera en el presente oficio técnico frente a los argumentos expuestos por mí durante el primer examen de patentabilidad.

A pesar de reconocer esta diferencia técnica, el Examinador sostiene que no se evidencia un efecto asociado al incluir en la prueba de ELISA indirecto los elementos diferenciadores de la presente invención frente a D1, y que no se evidencia en el capítulo descriptivo ejemplos o pruebas que demuestren un efecto técnico asociado a las diferencias identificadas. Esta afirmación es complementamente equivocada toda vez que la Descripción sí aportó resultados experimentales que demuestran que el kit de la presente invención llevó al diagnóstico de brucelosis con tal especificidad que se pudo identificar el porcentaje de falsos positivos y de animales positivos, el cual es el efecto técnico asociado al empleo de hapteno nativo crudo en la prueba Elisa indirecto. En particular, la descripción de la presente invención aporta pruebas técnicas que muestran el efecto de emplear HN crudo frente a los métodos convencionales, que no emplean dicho hapteno nativo crudo (...)

Se aclara que el solicitante tiene razón dado que como se sostiene en el numeral 5.1 del presente oficio, la diferencia entre D1 y la materia reclamada en el capítulo reivindicatorio del radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022 es el uso del hapteno nativo crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M, lo cual muestra como efecto técnico una mejora en la confiabilidad del diagnóstico evitando falsos positivos y permitiendo una mejor determinación del porcentaje de animales verdaderamente infectados (14,02%) frente al porcentaje arrojado por un procedimiento convencional que no usa hapteno crudo sin purificar (29,25%) (Figura 5, Págs. 19 y 20). Además del



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

hapteno crudo, otras diferencias con D1 radican en el uso 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. Sin embargo, el uso de hapteno crudo para pruebas serológicas en el diagnóstico de brucelosis en bovinos ya está divulgada en el documento D3 y los demás elementos ya están divulgados en el estado del arte a excepción de la microplaca sin tratamiento destacándose además que los mismos no aportan nivel inventivo a la materia reclamada.

El solicitante asegura que “Ahora, a pesar de reconocer que D2 no enseña el empleo de hapteno nativo crudo en la prueba Elisa indirecto, el Examinador no le otorga nivel inventivo a esta característica por cuanto considera que no se presentaron pruebas técnicas que demostraran 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. Al respecto, respetuosamente manifiesto que para la evaluación del nivel inventivo no procede demostrar el efecto del empleo de hapteno nativo crudo de la invención frente al resultado de emplear hapteno nativo purificado empleado en D1, toda vez que lo que se debe evaluar es si la característica técnica identificada como diferenciadora de la invención frente al arte previo más cercano es obvia o se deriva de manera evidente a partir del arte previo; evaluación que el Examinador ya realizó y que lo llevó a concluir que D2 no anticipa la característica técnica relativa al empleo de hapteno nativo crudo en la prueba Elisa indirecto. Esta conclusión del Examinador debe ser suficiente para reconocer el nivel inventivo de la presente invención y otorgar el privilegio de patente solicitado, y respetuosamente solicito se proceda de conformidad”

Se aclara que, teniendo en cuenta los argumentos del solicitante y el último capítulo reivindicatorio, el estudio de patentabilidad fue trasladado a los documentos D1 y D3 de acuerdo con el numeral 5 del presente oficio. Cabe mencionar que como se mencionó anteriormente, el uso de hapteno crudo sin purificación de la solicitud difiere del método de ELISA indirecto divulgado en D1, sin embargo, el uso de hapteno crudo sin ningún tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M para el diagnóstico de brucelosis con métodos serológicos en bovinos teniendo alta confiabilidad ya había sido divulgado en D3 y por tanto este documento sí sugiere que pueda ser usado dada su facilidad para la obtención y la consistencia de sus resultados en términos de sensibilidad, especificidad y confiabilidad (Abstract, Págs. 3137 – 3139). De esta forma, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir el hapteno crudo sin purificación del documento D3 en el procedimiento de ELISA de D1 para llegar a la materia reclamada en la solicitud, esto porque en el mismo D3 se sugiere el uso de dicho hapteno crudo sin purificar, específicamente de la bacteria *B. melitensis* 16M debido a los excelentes resultados presentados y en términos prácticos (Tabla 2, Págs. 3137 -3139). Adicionalmente, los demás elementos diferenciales entre la materia reclamada y D1, son conocidos en el estado de la técnica y se aclara que no hay ningún efecto asociado a incluir estos elementos en el KIT y en el procedimiento de ELISA indirecto de acuerdo con el capítulo descriptivo de la solicitud.

El solicitante argumenta que, “Los resultados mencionados no pueden considerarse insuficientes ni ser pasados por alto de ningún modo ya que constituyen evidencia clara y suficiente del efecto técnico derivado del empleo de hapteno nativo crudo en la prueba de Elisa indirecto, frente a los métodos convencionales que no emplean este antígeno. Adicionalmente, los resultados reportados en la Descripción de la presente invención constituyen parte de la divulgación suficiente de la invención pues muestran el efecto



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

técnico de la misma, así como parte de la divulgación de la mejor manera conocida por el solicitante para llevar a cabo la invención; por lo tanto, el Examinador no debe exigir que se demuestren pruebas más allá de lo presentado por el solicitante con el fin de confirmar que lo expuesto en la descripción es cierto, menos aún cuando el Examinador ya reconoció que el empleo de hapteno nativo crudo es una diferencia técnica de la invención frente al arte previo más cercano D1, y que dicha diferencia no se enseña ni se sugiere por el documento D2. Lo anterior confirma la altura inventiva del kit de la presente invención (...)

Con base en las anteriores aclaraciones, respetuosamente considero que los resultados aportados por la solicitante sí muestran el efecto técnico del kit de la presente invención en la detección de brucelosis bovina con mayor precisión que las pruebas convencionales. Sin perjuicio de esta suficiencia, también es preciso reiterar que el nivel inventivo de la invención no debe estar sujeto a probar que el efecto técnico de la invención es superior al de otras tecnologías, sino que dicho requisito debe evaluar si las diferencias técnicas entre la invención y el arte previo son obvias o se derivan de manera evidente a partir del arte previo, evaluación que ya realizó el Examinador y que concluye en que el empleo de hapteno nativo crudo no se enseña ni sugiere en el arte previo citado (...).

Se aclara que, el solicitante tiene razón en que los resultados reportados en la descripción dan soporte al efecto técnico de incluir el hapteno crudo sin tratamiento de purificación en el KIT y el procedimiento de ELISA indirecto para el diagnóstico de brucelosis en bovinos y que esto es reconocido en el numeral 5.1 del presente oficio donde se trasladó el examen de patentabilidad a los documentos D1 y D3 de acuerdo con las modificaciones presentadas por el solicitante en el radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022. No obstante, el uso de hapteno crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M para el diagnóstico de brucelosis con métodos serológicos en bovinos ya está divulgado en D3 donde se expone además sus ventajas en términos de confiabilidad, especificidad y sensibilidad (Págs. 3137 – 3139, Tabla 2) y se sugiere su uso.

El solicitante reitera que “(...) Es preciso aclarar a ese Despacho que los argumentos expuestos durante el primer examen de patentabilidad, respecto a los controles empleados en el kit, no pretender hacer ver que los resultados de los controles empleados en D1 no sean confiables, sino evidenciar que D1 no presenta ninguna enseñanza ni sugerencia que pudiera motivar al técnico medio a diseñar los controles particulares seleccionados para el kit de la presente invención. Es decir, los controles de D1 pueden haber funcionado para la metodología propuesta en ese documento; sin embargo, ese no es el punto de discusión, sino el hecho que ese documento no sugería los controles diseñados para el presente kit, ni tampoco aportaba una base lógica para anticipar el resultado obtenido con los mismos. Es este aspecto el que el Examinador debe considerar cuando evalúa el nivel inventivo de la invención”.

Se aclara que, a pesar de que en D1 no se sugiera el uso de controles liofilizados, es de conocimiento general de la persona normalmente versada en la materia, la presencia de controles en forma liofilizada en pruebas de ELISA. Así mismo, no se logró evidenciar en el capítulo descriptivo de la solicitud resultados que indiquen que dichos controles tengan algún efecto y por tanto se consideran que no son elementos que le otorguen nivel inventivo a la materia reclamada. Así las cosas, dado que dichos controles están sugeridos en el estado de la técnica, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir dichos controles en el procedimiento de ELISA indirecto divulgado en el documento D1 para así llegar a materia reclamada en la solicitud. Como



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

se mencionó anteriormente, resulta esencial incluir controles en una prueba de ELISA pues esto le otorga validez a la misma.

El solicitante adiciona *“Con respecto al documento D2, el Examinador reconoce 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, menciona que 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; Contrario a lo afirmado por el Examinador, respetuosamente manifiesto que más allá que existan otras diferencias entre una invención y el arte previo más cercano, el requisito de nivel inventivo debe evaluarse con base en todas las diferencias existentes entre estos de modo que se eviten conclusiones subjetivas como la planteada por el Examinador, según la cual considera que la combinación de los documentos D1 y D2 motiva la obtención de un kit alternativo, y que el kit de la invención es obvio ante la publicación D2 (...); En el presente caso, aunque el Examiandor considere que las “demás” diferencias técnicas se sugieren en D2, no es posible concluir que por esta razón el kit es carente de altura inventiva, pues esta conclusión no tiene en consideración todas las características técnicas diferenciadores de la invención respecto del arte previo, más aún cuando el mismo Examiandor reconoce que D2 no enseña ni sugiere el empleo de hapteno nativo crudo en la prueba de Elisa indirecto. Sobre esta base, la conclusión del examinador debe ser que el kit tal y como se reclama en la Reivindicación 1 de la presente invención no se enseña ni sugiere por el documento D2 y por lo tanto dicho kit es inventivo”*

Se aclara que, como se mencionó previamente, teniendo en cuenta las modificaciones del capítulo reivindicatorio presentado en el radicado N° NC2019/0012373 del 11 de marzo de 2022, el documento D2 no fue tenido en cuenta para realizar el presente análisis de nivel inventivo y en su lugar, fueron trasladados los documentos D1 y D3 en concordancia con numeral 5.1 del presente oficio. Se debe mencionar que todas las características fueron tenidas en cuenta como lo reclama el solicitante, pero si la intención era destacar la diferencia del empleo de hapteno nativo crudo como principal diferencia con D1 y D2, se reitera que el uso de hapteno crudo sin tratamiento de purificación de *B. melitensis* 16M para el diagnóstico de brucelosis con métodos serológicos en bovinos ya está divulgado en D3 donde se expone además sus ventajas en términos de confiabilidad, especificidad y sensibilidad (Págs. 3137 – 3139, Tabla 2) y se sugiere su uso. Por esta razón, las objeciones respecto a nivel inventivo de las reivindicaciones se siguen manteniendo.

El solicitante sostiene que *“En cuanto a los resultados de la presente invención frente a D1, el Examinador manifiesta 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 (...)*

Es preciso aclarar al señor Examiandor que cualquier posible comparación realizada entre la Reivindicación 1 de la presente invención y el documento D1, se da no en términos de la comparación de los resultados de las pruebas de cada uno de los



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

documentos sino con el ánimo de evidenciar que, a partir del documento D1, el técnico medio no habría anticipado los resultados reportados por mí representada en el sentido que ese documento no contempla el empleo del antígeno HN crudo (...)

Con base en la anterior aclaración, respetuosamente solicito a ese Despacho retirar sus planteamientos sobre la posible comparación de las técnicas de D1 y de la presente invención, y en su lugar dar crédito a los argumentos de la solicitante los cuales demuestran que a partir de D1 no era posible anticipar el resultado demostrado en la presente invención.

Se concluye que es 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”.

Se aclara que, aunque bien es cierto que D1 no sugiere el uso de hapteno crudo, ni de los controles liofilizados o de la solución de parada (SDS al 4%) planteados en la solicitud, si enseña que el diagnóstico de brucelosis puede realizarse mediante el empleo de una prueba de ELISA indirecto usando hapteno de *B. melitensis* 16S (Pág. 750, Tabla 2, Abstract), adicionando, que el procedimiento propuesto en D1 funciona permitiendo discriminar entre animales libres de brucelosis de aquellos infectados (Figs. 2 y 3). Así mismo, en D1 se menciona que el hapteno nativo no es el antígeno más óptimo en los ensayos inmunoabsorbentes para brucelosis debido a su baja resolución para discriminar animales infectados que aquellos libres de brucelosis (Figs. 2 y 3) y por esta razón se sugiere el uso de polisacáridos reconociendo que los extractos crudos deberían ser preferidos en términos prácticos y porque los resultados son similares a los purificados (Pág. 759, Discussion). En esta misma vía, D3 menciona las ventajas técnicas de usar hapteno nativo crudo en diagnóstico por método serológico de brucelosis en bovinos, destacando la obtención que es sencilla y por tanto en términos prácticos es significativa para su aplicación y contrario a lo expresado en D1, el uso de hapteno nativo crudo si permite una alta confiabilidad en el diagnóstico de animales positivos discriminándolos de los que están libres de brucelosis (Tabla 2, Págs. 3137 – 3139). De esta manera, tanto los documentos D1 como D3 sugieren el uso de antígenos crudos sin purificación, pero en especial D3 sugiere el uso de hapteno nativo crudo debido a los resultados obtenidos en términos de alta confiabilidad y eficiencia (Tabla 2), lo cual motiva a la persona normalmente versada en la materia a incluir hapteno nativo crudo en un método de ELISA teniendo en cuenta los resultados presentados en D1 y D3.

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

Si como respuesta a este requerimiento, el solicitante modifica 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



Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

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° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

INFORME DE BÚSQUEDA
EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Solicitud No.		Examen de patentabilidad							
NC2019/0012373		1°		2°		3°	X	Revoca	
Solicitud Internacional No.		Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO)							
PCT/MX2018/050009		5 de abril de 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	ELISA kit for diagnosis of brucellosis, indirect ELISA test for diagnosis of brucellosis with crude native hapten, crude native hapten AND brucellosis, crude native hapten AND <i>B. melitensis</i> 16S, <i>Brucella melitensis</i> AND hapten
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	WO1999030161	17/06/1999	-	-	A
	WO2008051065	02/05/2008	-	-	A
	Aragón V. <i>et al.</i>	02/1996	-	-	A
	Alonso - Urmeneta B., <i>et al.</i>	12/1988	-	-	A
	Alonso - Urmeneta B., <i>et al.</i>	11/1998	1 a 12	Abstract, Págs. 749 a 752 y 759, Figs. 2 y 3 y Tabla 2	Y
	Marín C.M., <i>et al.</i>	03/1999	-	.	A
GOOGLE/ EPO	Díaz-Aparicio E., <i>et al.</i>	12/1993	1 a 12	Abstract, Págs. 3137 a 3139, Tabla 2	Y
EPO	WO2008051065	02/05/2008	-	-	A
	WO1999030161	17/06/1999	-	-	A
ISA/ SCIENCE DIRECT/ EPO	Ducrotoy J.M., <i>et al.</i>	2016	-	-	A
	Ramírez-Pfeiffer C., <i>et al.</i>	2008	-	-	A
	Dieste – Pérez., <i>et al.</i>	2015	-	-	A
Patbase	CN101581726	18/11/2009	-	-	A
	CN101592660	02/12/2009	.	-	A
	CN101799470	08/01/2009	-	-	A

GOOGLE	Mirjalili A. & Loftpouri H.	18/08/2016	-	-	A
	Padilla Poester F., <i>et al.</i>	01/2000	-	-	A
	Díaz R., <i>et al.</i>	1981	-	-	A
	Saadi Siu K. T	2014	-	-	A
	DRG International Inc., USA.	01/06/2012	-	-	A
	Ferreira A., <i>et al.</i>	2003	-	-	A
	Bertu W.J., <i>et al.</i>	01/2010	-	-	A
Google Scholar	Díaz – Aparicio E., <i>et al.</i>	05/1994	-	-	A
	Moreno E	11/1987	-	-	A
	Bassiony M. M., <i>et al.</i>	04/2010	-	-	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., <i>et al.</i> (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., <i>et al.</i> (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., <i>et al.</i> (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. <i>et al.</i> (1996). Characterization of <i>Brucella abortus</i> and <i>Brucella melitensis</i> 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., <i>et al.</i> (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., <i>et al.</i> (2008). Improved performance of <i>Brucella melitensis</i> native hapten over <i>Brucella abortus</i> OPS tracer on goat antibody detection by the fluorescence polarization assay. <i>Veterinary Immunology and Immunopathology</i> 123, 223–229.			
		Dieste-Pérez., <i>et al.</i> (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., <i>et al.</i> (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., <i>et al.</i> (1993). Comparative Analysis of <i>Brucella</i> Serotype A and M and <i>Yersinia enterocolitica</i> 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., <i>et al.</i> (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.			
		Ferreira A., <i>et al.</i> (2003). Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of <i>Brucella melitensis</i> infection in sheep. <i>Veterinary Research, BioMed Central</i> , 34 (3), pp.297-305.			
		Bertu W.J., <i>et al.</i> (2010). Brucella lateral flow assay: a newly introduced test for rapid diagnosis of brucellosis. <i>Vom Journal of Veterinary Science</i> Vol. 7, 2010: 42 – 46			

Oficio N° 5686 de 22 de abril de 2022

Ref. Expediente N° NC2019/0012373

	Moreno E. (1987). Characterization of a native polysaccharide hapten from <i>Brucella melitensis</i>. <i>Infection and Immunity</i>. Vol 55 (11): 2850 - 2853 Díaz-Aparicio, E., <i>et al.</i> (1994). Evaluation of serological tests for diagnosis of <i>Brucella melitensis</i> infection of goats. <i>Journal of clinical microbiology</i>, 32(5), 1159–1165. Bassiony M. M., <i>et al.</i> (2010). Evaluation of rose bengal test, gel immunodiffusion with native hapten, and indirect ELISA in diagnosis of brucellosis in infected and vaccinated sheep. <i>Assiut Vet. Med. J.</i> Vol. 56: 1- 12.
(2) Categorías de documentos citados	
“A” Documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. “E” Solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. “L” Documento citado para llamar la atención sobre por ejemplo, dudas acerca de una reivindicación de prioridad o para determinar la fecha de publicación de otra cita, siempre van acompañados de una explicación, por la cual se citan. “O” Documento del tipo actas de conferencia, este tipo de documentos siempre estará acompañado por otra letra que indique la pertinencia del documento, por ejemplo, O,X, O,Y o bien O,A. “P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	“T” Documento publicado en fecha posterior a la de presentación o la de prioridad de la solicitud internacional y no entra en conflicto con dicha solicitud, pero puede ser útil para la mejor comprensión del principio o teoría en que se basa la invención, o para demostrar que el razonamiento o los hechos en los que se basa dicha invención son incorrectos. “X” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. “Y” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
Fecha del reporte de búsqueda: (10/04/2022)	