

Señores
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Expediente NC2019/0012373
Solicitud de Patente de Invención – Fase Nacional Titulada “KIT PARA PRUEBA DE ELISA INDIRECTO QUE DETECTA ANTICUERPOS CONTRA HAPTENO NATIVO CRUDO Y MÉTODO DE ELISA INDIRECTO PARA DIAGNÓSTICO CONFIRMATORIO DE BRUCELOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO Y LECHE”
Solicitante: VICTORIA MAROUN CORTEZ
Nuestra Re: P2019/000075

RESPUESTA AL OFICIO No. 5686 NOTIFICADO POR CORREO CERTIFICADO DEL 25 DE ABRIL DE 2022
(EXAMEN DE FONDO)

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

1. a. Ese Despacho considera que las Reivindicaciones de la presente invención no cumplen las disposiciones del Artículo 30 de la Decisión 486.

b. En respuesta a cada una de las observaciones presento las siguientes aclaraciones y las modificaciones a las Reivindicaciones que fueron solicitadas en el Oficio Técnico:

i) En las Reivindicaciones 1 a 10 se reemplaza la frase *“para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche por animal y de tanque”* por *“para diagnóstico confirmatorio de brucelosis bovina en suero sanguíneo y leche **de un** animal y de tanque”*;

ii) La Reivindicación 1 se modifica para indicar con claridad que la solución de lavado se encuentra diluida en una proporción 1:10. Específicamente se

menciona ahora: “cuatro (4) frascos de sesenta (60) mililitros cada uno con solución de lavado a base de PBS-Tween 20, al 0.05%, diluida en una proporción 1:10”. Esta modificación está sustentada en la página 11 de la Descripción inicial;

iii) Las Reivindicaciones 1 y 10 (nueva 8) se modifican para indicar la escritura correcta del compuesto ácido 2,2' – azino - bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS);

iv) Se corrige el error tipográfico en la palabra “inmunoglobulina”. Adicionalmente, aclaro al Despacho que la expresión “conjugado concentrado” no hace referencia a la concentración del conjugado en el kit, sino a la naturaleza del conjugado como componente del kit. Esto es, el componente del kit es un “conjugado concentrado” que es una inmunoglobulina G – anti Bovina, conjugada con peroxidasa de rábano producida en cabra; no obstante, dicho conjugado concentrado se encuentra prediluido en un estabilizador de peroxidasas. Considero que la redacción actual Reivindicación 1 presenta de manera clara estas características técnicas del conjugado concentrado;

v) Se corrigen los errores tipográficos en las expresiones “dodecilsulfato sódico”, “Incubar la microplaca”, “sustrato” y se indica la cepa de “Brucella melitensis 16M”, como sugirió ese Despacho;

vi) Se incorpora la longitud de onda a la cual se realiza la lectura de las absorbancias definidas en las Reivindicaciones. El sustento para esta modificación se encuentra en la página 12 de la Descripción inicialmente presentada, en cuanto al proceso de ejecución de la prueba de Elisa indirecto, en donde se describe que la lectura se hace a 405nm;

vii) Se modifica la Reivindicación 3 con el fin de aportar un mayor detalle de las etapas y condiciones técnicas de la prueba Elisa indirecto, y con el único propósito de solventar las objeciones planteadas por ese Despacho. No obstante, ese Despacho debe tener en cuenta que el concepto inventivo subyacente a la presente invención radica en el empleo de Hapteno Nativo crudo, de modo que especificar aspectos adicionales NO esenciales para la solución del problema técnico, llevaría a una limitación injustificada del concepto inventivo a modalidades particulares de realización. Por lo tanto, respetuosamente se solicita la aceptación de la redacción actual;

viii) Aclaro a ese Despacho que la nueva Reivindicación 3 y la Reivindicación 6 no carecen de concisión, toda vez que **no tienen el mismo alcance**. No obstante, con el fin de facilitar el trámite, se siguió la sugerencia de ese Despacho que hacer la anterior Reivindicación 6 (nueva 4) dependiente de la Reivindicación 3, de modo que en la nueva Reivindicación 4 se establecen las condiciones particulares de la conducción del método. Pongo de presente que las Reivindicaciones modificadas NO involucran un número excesivo de etapas que impida a terceros determinar el alcance de la protección, las mismas son concisas y el técnico medio podrá determinar dicho alcance sin ambigüedad alguna; asimismo, cada una de dichas reivindicaciones es susceptible de comparar con arte previo que revele elementos similares.

ix) La Reivindicación 6 (nueva 4) se modificó con el fin de indicar que se distribuyen 50 µL de solución de parada **a cada pocillo de la microplaca**.

x) Se aclara al Despacho que 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” en la Reivindicación 12, no corresponde a un resultado a alcanzar sino una condición técnica que establece la finalización del proceso y que es necesaria para concluir sobre el diagnóstico de la prueba. Es decir, una vez se distribuye la solución de parada, necesaria para detener la reacción, se debe verificar que la solución sea estable por 30 minutos; si la solución no es estable durante este tiempo establecido, el diagnóstico no es concluyente. Adicional a esto, debe notarse que, el tiempo de 30 minutos debe controlarse porque pasado este tiempo el diagnóstico se altera.

Adicionalmente, informo que la frase citada se modifica con el fin de corregir un error material en la redacción, de modo que ahora se indica *“caracterizado porque la lectura de una densidad óptica a 405 nm es estable durante 30 minutos desde que se distribuye la solución de parada”*. Esta modificación no supone ampliación de materia toda vez que es claro en la técnica que la lectura de la densidad óptica se realiza a una longitud de onda determinada.

En vista de las modificaciones que presento a las Reivindicaciones, y que las mismas cumplen a cabalidad las disposiciones del Artículo 30 de la Decisión 486, respetuosamente solicito que las observaciones a por falta de claridad, concisión y sustento descriptivo se tengan por superadas.

2. a. Ese Despacho objeta la claridad de la Descripción porque no reporta correctamente el nombre del compuesto “ácido 2,2’ – azino - bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)”.

b. En respuesta a esta observación informo que la Descripción se ha corregido de la manera sugerida por ese Despacho.

Adicionalmente, informo al Despacho que se incorpora en la Descripción, página 22, una acotación sobre la determinación del punto de corte de positividad, con base en las absorbancias leídas a 405nm. Esta información no implica ampliación de materia toda vez que corresponde a reportar los porcentajes calculados por la inventora con base en las absorbancias reportadas en la Descripción inicial para los sueros positivos y los negativos, empleando las fórmulas establecidas en la técnica para este fin. Por lo tanto, la modificación propuesta explica cómo se determina el punto de corte de positividad, sin que esto vaya más allá de la divulgación inicial de la solicitante.

3. a. En cuanto a los requisitos de patentabilidad, ese Despacho considera que la altura inventiva de las Reivindicaciones 1, 3 y 6 está afectada por la combinación de los documentos D1 (Alonso-Urmeneta B., et al. Clinical and diagnostic laboratory immunology) y D3 (Díaz – Aparicio E., et al. Journal of Clinical Microbiology).

b. En respuesta a la observación del Despacho, respetuosamente expongo mi desacuerdo y presento las siguientes aclaraciones que demuestran que el Kit y el método reclamados por la solicitante, en las nuevas Reivindicaciones 1 y 3 y sus dependientes, no es obvio ni derivado de manera evidente a partir de los documentos D1 y D3 citados para afectar la patentabilidad del mismo.

En primer lugar es preciso aclarar cuál es el objeto de los documentos citados por ese Despacho. En cuanto al documento **D1**, se tiene que éste evaluó la eficacia de la prueba ELISA indirecto con tres antígenos específicos: LPS, LPS-O y **HN purificado**, buscando las estructuras epitópicas (Epítomos A, M y C) para diagnosticar Brucella en pequeños rumiantes y ganado.

Referente al antígeno HN purificado, **D1** en su discusión menciona y concluye que “el Hapteno Nativo en su forma purificada utilizado en su ELISA indirecta, no es el antígeno óptimo en ensayos de inmunoabsorción para brucelosis” dado que, no muestra diferencias significativas en comparación con sus ELISAS de LPS y PS, por lo tanto, concluyen que “su método no es capaz de identificar falsos positivos (FPSR)”.

Esta es una de las diferencias sustanciales de la presente invención frente a **D1**, toda vez que la invención emplea el Hapteno Nativo crudo y demuestra que el efecto técnico es permitir disminuir significativamente los falsos positivos (FPSR) y los falsos negativos. Como bien se muestra en la figura 5 de la presente solicitud, que 741 animales son positivos a las pruebas convencionales; por lo tanto, con la presente invención se evitará la eliminación de 355 animales, que representan el 47,9% de los falsos positivos detectados en dichas pruebas convencionales, siendo una alta diferencia significativa. En este punto cabe señalar que no se debe comparar la diferencia en el beneficio del presente kit entre 14,02% y 15,24%, dado que estos son porcentajes con base en el total de animales (n= 2533), evaluados en las pruebas de la presente invención.

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 y, a partir de dicho valor, se emiten los resultados falsos y verdaderos de una ELISA, teniendo un efecto sorprendente en la presente solicitud. En el documento **D1**, no se puede realizar una comparación, puesto que 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. Así, adicional al empleo de HN **crudo**, la innovación de la presente invención, consiste en que aporta el RANGO exacto de la Densidad Óptica (OD) absorbancias leídas a 405 nm para la selección de los controles liofilizados, la cual es = OD >1 para Controles Positivos y OD 0.20 - 0.28 para Controles Negativos. Así como, cuando dichos controles liofilizados sean utilizados en la ELISA, deberán presentar una diferencia entre control positivo y negativo ≥ 0.6 y, con base en la lectura de dichas absorbancias y su conversión al porcentaje de positividad, se determinó el punto de corte, siendo, para suero sanguíneo, de 66.5% a 67.5% (negativo= $\leq 66.5\%$, sospechoso= 66.51% a 67.49% y positivo= $\geq 67.5\%$) y, para leche de un animal y de tanque de 7.5 % a 8.0 % (negativo= $\leq 7.5\%$, sospechoso= 7.51% a 7.99% y positivo= $\geq 8.0\%$).

Por lo tanto, las características distintivas de la solicitud con respecto del documento **D1** son:

- i) El empleo del método de ELISA indirecto, con el antígeno de hapteno nativo crudo, es decir, SIN PURIFICACIÓN;
- ii) El RANGO exacto de la Densidad Óptica (OD) absorbancias leídas a 405 nm para la selección de los controles;
- iii) La diferencia de la Densidad Óptica entre control positivo y negativo, usada como referencia para determinar el porcentaje de positividad del resultado basado en el punto de corte de dicha positividad.

Por su parte, el **documento D3** divulga que 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. La alta sensibilidad mostrada por el **D3** se debe al uso del hapteno nativo crudo, sin PURIFICACIÓN, sin embargo, el método RID utilizado por **D3** (inmunodifusión radial inversa) es un método cualitativo e impreciso, y es diferente al método cuantitativo de ELISA indirecto usado en la solicitud.

Por lo tanto, la característica distintiva de la presente invención con respecto al documento **D3** es el empleo del hapteno nativo crudo, pero por el método de ELISA indirecto.

Es importante notar que nadie ha utilizado el hapteno nativo crudo en ELISA indirecto, todos los autores estudiados realizaron algún procedimiento que alteró la estructura antigénica natural del hapteno nativo. Específicamente D1 usó hapteno nativo purificado restando especificidad antigénica a su estado natural con la consiguiente emisión de un mayor porcentaje de falsos positivos. Lo anterior es un claro indicio de que el empleo del HN crudo en el método RID, que es muy diferente a la prueba de ELISA indirecto, no constituyó, al momento en el que la presente invención NO se conocía, una motivación técnica que llevara a los diversos autores de previos estudios a desarrollar una prueba de ELISA indirecto empleando Hapteno nativo crudo, sin purificar. Si la publicación de D3 hubiese aportado alguna sugerencia a este respecto, de seguro se habrían

encontrado en el arte previo publicaciones mostrando el empleo de HN crudo, sin purificar, en la prueba ELISA indirecto.

Asimismo, dado que D3 no menciona en lo absoluto el empleo de HN crudo, sin purificar, en la prueba ELISA indirecto, menos aún podría sugerir al técnico medio las lecturas de densidades ópticas determinadas por la solicitante en la presente invención, con las cuales se establece el punto de corte que permite distinguir los falsos y verdaderos animales positivos.

Por tanto, el experto en la materia que se enfrenta al problema técnico, no habría considerado las enseñanzas de D3, ni combinado las mismas con D1, ya que ninguno de estos documentos ofrece una solución al problema de falta de especificidad **de la prueba ELISA indirecto**, identificado en la presente invención.

El efecto técnico de la presente invención proviene del arte de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, lo más cercana posible a la naturaleza, que le confiere la mayor especificidad, combinándola con un método cuantitativo de alta sensibilidad que permite un diagnóstico más eficaz, reduciendo el porcentaje de animales falsos positivos, lo que tiene un alto impacto económico en el sector ganadero, evitando la emisión de falsos positivos y falsos negativos en el diagnóstico de brucelosis. Esta combinación logra la solución inventiva: la mayor sensibilidad del método ELISA indirecto con la mayor especificidad del antígeno hapteno nativo crudo (sin purificación).

Ese Despacho debe tener en cuenta que **el objeto de la presente invención es precisamente la de conservar una estructura antigénica lo más completa posible, SIN PURIFICAR, es decir, es lo más cercano a la naturaleza, y que, gracias a la presencia de estas impurezas, se genera una reacción antígeno-anticuerpo que, con base en la referencia de las densidades ópticas indicadas para los controles, es capaz de arrojar resultados de mayor confiabilidad y eficiencia en el diagnóstico.**

Respetuosamente reitero a ese Despacho que, antes de la fecha de prioridad de la presente invención, nadie había empleado el hapteno nativo crudo sin purificación; **todos los autores estudiados realizaron algún procedimiento que alteró la estructura antigénica natural del hapteno nativo.** Como ya se explicó ampliamente en el trámite de la presente invención, así como en el presente memorial, el arte previo **D1**

utilizó el hapteno nativo purificado restando especificidad antigénica a su estado natural, con la consecuente emisión de un mayor porcentaje de falsos positivos.

Así entonces, la presente invención constituye un aporte significativo al arte previo, al menos por la combinación de los siguientes puntos:

- i) Haber utilizado el hapteno nativo crudo en el método ELISA indirecto por primera vez, tanto en leche como en suero sanguíneo para diagnóstico de brucelosis;
- ii) Haber utilizado el hapteno nativo en estado crudo genera una reacción antígeno-anticuerpo mucho más específica que la utilizada en el Documento **D1**, y que es capaz de arrojar resultados de mayor confiabilidad, evitando la eliminación y/o segregación de animales “**Falsos Positivos**” por vacunaciones, por reacciones cruzadas causadas por otras enterobacterias, o por infecciones transitorias debidas al contacto con animales brucelosis;
- iii) Haber medido los títulos de anticuerpos de los controles y asegurar la estabilidad de dichos niveles por medio de la liofilización;
- iv) 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.

Si bien las anteriores aclaraciones demuestran que la combinación de los documentos **D1** y **D3** no pudo haber motivado al técnico medio a emplear HN crudo, sin purificar, en la prueba ELISA indirecto para el diagnóstico de brucelosis, como tampoco a la determinación de las densidades ópticas de los controles positivos y negativos que permiten establecer el punto de corte, con el cual se evitan los falsos positivos, me permito exponer ante ese Despacho que la presente invención recae dentro de los indicios de nivel inventivo que ese Despacho a reconocido en la Guía para el Examen de Patente de Invención y Modelo de Utilidad. Ese Despacho ha establecido en la mencionada Guía, numeral 5.7.4.5 que:

“En las siguientes situaciones se considera que hay nivel inventivo:

- *Problema técnico sin resolver antes de la invención.*
- *Si la invención reivindicada resuelve un problema técnico que se ha intentado resolver desde mucho tiempo atrás, pero no se había logrado con éxito, la invención tiene nivel inventivo porque representa un avance tecnológico.*
- *Superación de un prejuicio técnico (porque los expertos se encuentran muy lejos de la solución): prejuicio técnico es el hecho de que los especialistas, en el campo técnico correspondiente, piensen que sólo hay una forma de resolver el problema técnico. Si la invención se realiza para eliminar dicho prejuicio, adoptando medios técnicos no utilizados anteriormente, es indicio a favor de la existencia de nivel inventivo.*
- *Simplicidad: reemplazo de máquinas o procedimientos complicados por versiones más simples.*
- *Efecto técnico sorprendente.*
- *Superación de dificultades no resueltas por las técnicas rutinarias(...)”*

De lo anterior se concluye que la presente invención cumple las situaciones en las que ese Despacho considera que hay nivel inventivo, a saber:

- La presente invención aporta una solución a un problema técnico sin resolver, toda vez que el arte previo D1 reconocía que el HN purificado no fue el antígeno óptimo, y **no es capaz** de identificar falsos positivos (FPSR). Por su parte, el arte previo D3 no se limitó a la prueba de IRD, sin mencionar el problema existente con la falta de especificidad empleando HN en la prueba ELISA indirecto;
- La presente invención supera un perjuicio técnico, en la medida que todos los autores reportaron la purificación del hapteno nativo para el diagnóstico de brucelosis. Además que el documento D3, a pesar de reportar el empleo de HP crudo, no lo relaciona con los problemas de especificidad de la prueba ELISA indirecto, y ningún autor había reportado el empleo de HN crudo sin purificar en esta prueba;

- La presente invención representa una solución más simple que NO requiere la purificación del HN, y por lo tanto hace más simple la aplicación de la prueba ELISA indirecto en campo, aportando una claramente ventajosa al campo técnico;
- La presente invención tiene un efecto sorprendente, como bien se demostró por la solicitante, dado que evitó que 355 animales, que representan el 47,9% de los falsos positivos detectados en las pruebas convencionales, fueran eliminados. Este resultado no pudo haberse anticipado a partir de las enseñanzas del arte previo, menos aún de aquellas obtenidas en un método muy diferente a la ELISA indirecto;
- La presente invención resuelve las dificultades técnicas existentes en la técnica anterior relativas a la eliminación de animales falsos positivos, con las consecuentes afectaciones prácticas y de índole económico para los productores, que presentaba la técnica anterior, tal y como la solicitante ilustró en la Figura 5 de la presente invención.

Así entonces, considero que se ha aportado información suficiente que demuestra la altura inventiva del KIT para prueba de ELISA indirecto y el procedimiento de prueba de ELISA indirecto, Reivindicaciones 1 y 3, respectivamente, de la presente invención, respetuosamente solicito el retiro de las observaciones planteadas y se proceda con la concesión del privilegio solicitado.

4. Teniendo en cuenta que el solicitante ha atendido de manera completa al requerimiento, modificando las Reivindicaciones para remover obstáculos de claridad y demostrando el cumplimiento del requisito de nivel inventivo de conformidad con el Artículo 18 de la Decisión 486, respetuosamente solicito se proceda a conceder la patente de invención a las Reivindicaciones 1 a 13 que presento en esta oportunidad. En el evento de subsistir cualquier objeción, solicito se emita un nuevo examen con el ánimo de corregirla.

Atentamente,



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

Anexos:

- Pliego Reivindicatorio modificado
- Descripción modificada
- Tasa por modificación voluntaria
- La tasa por una (1) reivindicación adicional a las ya pagadas durante el trámite