

**ATORIO**

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

02 6152 0

Radicación : 02006152 00000000

Folio: 40

Fecha (PMB): 2002-01-28 16:35:06

Trámite : 002 PATENTES D 1. REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2001 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Industria y Comercio  
SUPERINTENDENCIA

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

378

①

SOLICITUD DE :

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE  
(71)

Nombre: Fundacao Oswaldo Cruz -  
FIOCRUZ

Dirección: Avenida Brasil 4365  
21045-900 Mangunhos, Rio de  
Janeiro, Brasil

Nacionalidad o Domicilio: Brasileira

Lugar de Constitución:

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

③

REPRESENTANTE  
O APODERADO

Nombre: Laura Michelsen Niño

Dirección: C11 93B 12 48 Of. 204

Teléfono: 621 5810 Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_ TP \_\_\_\_\_

④

INVENTOR (ES)  
(72)

Nombre: (1) Elizabeth Gomes Sanches (CONTINUUM EN EL

Rua Alfredo Volpi 260, Apto. 403

Dirección: Secreio, Rio de Janeiro/RJ.

Brasil

Nacionalidad o Domicilio Brasileira

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/BR 01/00063

Fecha 24 Mayo 2001

Publicación Internacional No. WO 01/89297 A2

Fecha 29 Nov. 2001

⑥

Título (54) FORMULACION DE UN BIOINSECTICIDA CON BASE EN  
BACILLUS THURINGIENSIS VAR ISRAELENSIS Y SU RESPECTIVO PROCESO  
DE FABRICACION.

⑦

Clasificación Internacional (51) A01N 63/00

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) Pais de Origen

Brasil

(32) Fecha

24 Mayo 2000

(31) Número de Solicitud

PI 0003314-6

⑨

Comprobante de pago No.

Fecha

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

ANEXOS

2

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente

NOMBRE

FIRMA

C.O.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

RC 3 2

# **Industria y Comercio** **SUPERINTENDENCIA**

NIT : 800176087 .

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00006152 00000000

Folios: 40

Fecha (APD): 2002-01-28 16:56:00

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRADO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

ECIBO OFICIAL DE CAJA : 02 - 5,848  
ECHA : ENERO 24 DE 2002

## \*\*\*\*\* CONSIGNACION \*\*\*\*\*

| DEPOSITANTE                          | TIPO PAGO | BANCO         | CUENTA      | No. PAGO | FECHA PGO  | Vr. PAGO   |
|--------------------------------------|-----------|---------------|-------------|----------|------------|------------|
| RIANA URIBE & NICHOLSEN CONSIGNACION |           | BANCO POPULAR | 050-00110-6 | 9093628  | 24/01/2002 | 885.200.00 |

## \*\*\*\*\* CONCEPTO \*\*\*\*\*

| ANT. CONTABILISTICO       | CONCEPTO                            | TOTAL CONCEPTO |
|---------------------------|-------------------------------------|----------------|
| 1 50005-01-01 SOLICITUDES | 1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN | 378.000.00     |
|                           | TOTAL :                             | 378.000.00     |

DM: TRESCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :

ECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE-No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10  
Conmutador 382 0840  
Fax 350 5220  
E-mail: [Info@slc.gov.co](mailto:Info@slc.gov.co)  
[www.slc.gov.co](http://www.slc.gov.co)  
Bogotá, D.C., Colombia

- 4
- Inventor (2)   Nombre:   Ana Cristina Batista da Silva**  
**Dirección:   Rua Cristóvão Penha 45, apto. 101**  
**Piedade, Rio de Janeiro, RJ**  
**Brasil**
- Inventor (3)   Nombre:   Flávia Maria Abreu Campos**  
**Dirección:   Rua Conde de Bonfim 838, apto. 702**  
**Tijuca, Rio de Janeiro, RJ**  
**Brasil**
- Inventor (4)   Nombre:   Renata Alves Pinheiro Roberg**  
**Dirección:   Rua Barao de Pirassinunga 42, casa 7/302**  
**Tijuca, Rio de Janeiro, RJ**  
**Brasil**
- Inventor (5)   Nombre:   Fernando Justino de Assunção**  
**Dirección:   Rua Engenheiro Paula Lopes 631**  
**Bangu, Rio de Janeiro, RJ**  
**Brasil**

## **FORMULACION DE UN BIOINSECTICIDA CON BASE EN BACILLUS THURINGIENSIS VAR ISRAESENSIS Y SU RESPECTIVO PROCESO DE FABRICACION**

La presente invención se relaciona con una formulación bioinsecticida seca con base en las entomotoxinas del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* la cual presenta una actividad larvicida eficaz, práctica, y económica contra los insectos dípteros. Este producto presenta una buena estabilidad durante su almacenaje, y contienen agentes adictivos ecológicamente seguros, logrando la disponibilidad del componente activo en la cantidad suficiente para así obtener la actividad larvicida mencionada.

### **FUNDAMENTOS DE LA INVENCION**

De manera general, el exterminio de insectos especialmente aquellos perjudiciales a la agricultura, silvicultura y salud pública incluye la aplicación de insecticidas químicos. Sin embargo, existen muchas desventajas relacionadas con el uso de esta clase de productos.

Los insecticidas químicos poseen un amplio espectro de acción, siendo letales no solamente para los insectos a los cuales están destinados, sino también a los que presentan algunos beneficios para las áreas de agricultura, silvicultura y salud pública. Además, tales insecticidas son frecuentemente tóxicos para los animales y para el hombre, contaminando el ambiente. Vale decir también que, generalmente, los insectos se vuelven resistentes a los insecticidas químicos, después de sus repetidas aplicaciones, y esto, por lo tanto, es muy desventajoso para el exterminio que se desea obtener.

Por lo tanto, el empleo de bioinsecticidas ha ido más allá de lo esperado, convirtiéndose en otra estrategia para el combate de estos insectos dañinos.

Los bioinsecticidas hacen uso de los agentes patógenos naturales, o drogas producidas por estos agentes patógenos, para combatir los insectos de la manera más

efectiva y selectiva, cuando se compara con los insecticidas químicos, en la medida en que ellos tienen un espectro de acción menor, matando solamente los insectos a los que están destinados. Tienen ellos también la ventaja de degradarse en la naturaleza, y de esta manera, no son dañinos al ambiente.

Un bioinsecticida, ampliamente empleado en control biológico de insectos que producen enfermedades, es el *Bacillus thuringiensis* (Bt). El Bt es una bacteria gram-positiva móvil, que se puede encontrar en la naturaleza bajo la forma de bastoncitos ("batonnettes"). Estos microorganismos proporcionan entomotoxinas letales para los insectos, como las inclusiones de cristales paraesporales obtenidas durante el periodo de esporulación, lo que origina la muerte de los insectos después de su ingestión.

Estas inclusiones pueden cambiar en cuanto a la forma, número y composición, siendo elaboradas de una o más proteínas denominadas delta-endotoxinas que pueden oscilar entre 27-140 kDa. En el tracto gastrointestinal de los insectos, estas proteínas sufren degradaciones alcalinas y enzimáticas y dan origen a paresis sistémica e intestinal, causando la muerte del insecto. Las delta endotoxinas son fácilmente degradadas y difieren de las otras sustancias tóxicas en razón a que ellas tienen un efecto tóxico específico. En otras palabras, ellas no golpean organismos diferentes a los que están destinadas (Heimpel, A.M.; Ann. ver Entomology 12, 287-322, 1967. Höfte and Whiteley, Microbiological Reviews 53, 242-255, 1989).

Entre las cepas de *Bacillus thuringiensis* aisladas de la naturaleza, la variedad *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (Bti) ha sido comúnmente utilizada en el combate de insectos dípteros, cuyo exterminio es muy importante para la salud pública (Payne et al, US 5 888 976, 1999). Tales insectos son capaces de transmitir la fiebre amarilla y el dengue, transmitida por el *Aedes aegypti*.

Una utilización práctica, económica y efectiva de los bioinsecticidas, como aquellos obtenidos del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, está íntimamente relacionada con la cantidad de componente activo presente en las formulaciones bioinsecticidas, tales como en la formulación completa.

Las formulaciones bioinsecticidas comúnmente utilizadas pueden proporcionar una biomasa de Bti, o sus esporas o sus entomotoxinas aisladas. Además, es indispensable que muestren una buena estabilidad (vida de almacenamiento) y, de esta manera, deben incluir en su composición sustancias capaces de evitar la degradación del componente activo mediante agentes químicos, biológicos, físicos y naturales (luz del sol, por ejemplo).

El documento BR PI 8900938-0 reporta composiciones bioinsecticidas hechas de bacterias amilolíticas y proteolíticas del género bacillus, letales a los insectos de diferentes clases. Ellos involucran una composición bioinsecticida hecha de *Bacillus thuringiensis var israelensis*, tóxica a los insectos dípteros y conocida por proporcionar líquidos insertes, junto con la biomasa activa, tal como sorbitol, glicerol, toluol, dándole al producto una consistencia pastosa.

Mientras tanto, una formulación pastosa presenta una alta gravedad específica. De esta manera, esta tiende a permanecer sobre el fondo de área de aplicación. Este hecho representa un inconveniente, especialmente en el caso de los insectos objetivo que se alimentan y reproducen en áreas cercanas a la superficie (como los insectos dípteros), una vez que el componente activo no permanece disperso en el medio durante el tiempo necesario para una acción completa.

El documento de patente WO 98/28984 sugiere una composición, letal para las larvas de los insectos, como los dípteros, suministrado como un granulado congelado. Sin embargo, por su propia condición física, tal formulación no es efectiva en lugares con climas cálidos (donde existe un desarrollo enorme de insectos como los dípteros), una vez que el componente activo no se dispersa lo suficiente para una acción completa. Además, esta formulación no es práctica en razón a que requiere pequeñas temperaturas para su almacenamiento y transporte.

De esta manera, con el fin de conseguir una actividad larvicida efectiva, es necesario utilizar formulaciones bioinsecticidas que proporcionen un alto desempeño de dispersión de los componentes activos en las áreas de aplicación. De esta forma, se

hace más fácil aplicar la dosis correcta, o en otras palabras, la dosis letal de bioinsecticida.

Pero, mientras se preparan las composiciones bioinsecticidas, es muy importante tener en cuenta no solo la biología del insecto objetivo, sino su hábitat, en razón a que las condiciones ambientales (temperatura, pH, presencia de metales, materiales sólidos en suspensión, gravedad específica, y otras) pueden cambiar el desempeño de estas composiciones. Por lo tanto, las características de las formulaciones, tales como la forma física y el vehículo son muy importantes para la efectividad del principio activo.

Además, se necesitan formulaciones bioinsecticidas caracterizadas, no solo por un alto grado de dispersión relativo al componente activo en las áreas de reproducción y alimentación de los insectos objetivo, sino también porque ellas sean fáciles de almacenar, empacar, transportar, y utilizar.

Las formulaciones bioinsecticidas secas han sido una forma alternativa de escogencia para resolver estos problemas, en razón a que ellas son fáciles de almacenar, empacar, llevar a las áreas infestadas (aún aquellas de difícil acceso), y luego utilizar, cumpliendo todos los requisitos relacionados con alta homogeneización del componente activo en las áreas de aplicación.

El documento DE 41 33 889 se relaciona con un bioinsecticida seco suministrado como tabletas efervescentes, que son utilizadas contra insectos del tipo díptero. Mientras tanto, a pesar de que el componente activo es suministrado homogéneamente, no existen aditivos que hagan posible su permanencia en el ambiente garantizando un 100% de muerte de las larvas, aún durante algún tiempo después de la aplicación del producto.

Una formulación capaz de matar el 100% de las larvas con un mínimo de desempeño en el área es de capital importancia para conseguir una actividad larvicida efectiva. Esta acción de largo plazo del componente activo, junto con un alto grado de dispersión, y el área de aplicación, y consecuentemente de fácil administración de la

dosis correcta hacen inferior el número de aplicaciones necesarias. Este hecho significa un factor importante desde los puntos de vista económico y práctico, especialmente para los lugares de difícil acceso.

Los documentos de patente EP 761 096 y US 5 560 909 son ejemplos de cómo lograr formulaciones secas de bioinsecticidas elaboradas del género de bacteria *Bacillus*, capaz de permanecer en las áreas de alimentación y reproducción de los insectos objetivo, tales como los dípteros, haciendo fácil la acción a largo plazo del componente activo, dando lugar a un control biológico efectivo de los insectos, aún en el caso de que estos objetivos sean larvas de mosquito. Mientras tanto, tales formulaciones proporcionan, entre otros, compuestos de polímero no biodegradables. Tal hecho significa una amenaza para el ambiente.

De esta forma, se hace indispensable la fabricación de una formulación de bioinsecticida seco, que tenga aditivos portadores adecuados, que sean capaces de lograr un control biológico efectivo de los insectos dípteros por medio de una acción a largo plazo del componente activo esparcido en el área de aplicación, pero, por sobre todo, no causando riesgos al ambiente ecológico. De esta forma, se hará posible lograr un bioinsecticida con tan importantes calificaciones, no solo por su acción práctica, económica y efectiva sino también por ser ecológicamente seguro.

### **RESUMEN DE LA INVENCION**

El principal propósito de la presente invención es lograr una composición bioinsecticida seca con base en entomotoxinas de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, que se caracteriza por ser práctico, económico y eficaz en el control de insectos dípteros, siendo, al mismo tiempo, ecológicamente seguro.

De esta forma, el principal objetivo de esta invención es lograr una formulación de bioinsecticida seco, que comprende:

- a) Entomotoxinas, puras o no de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*.
- b) Secadores químicos.

- c) Agentes dispersantes.
- d) Agentes aglutinantes/humectantes.
- e) Protectores contra luz solar y
- f) Opcionalmente: diluyentes, lubricantes y agentes neutralizantes.

Una primer modalidad de esta invención se relaciona con una formulación bioinsecticida suministrada como a un polvo seco, o tabletas, que comprende aditivos que llevan las entomotoxinas, puras o no, seleccionadas de tal forma que logren una alta dispersión del componente activo en el área de aplicación, pero que no conlleven riesgos para el ambiente.

Una segunda modalidad de esta invención se relaciona con los procedimientos para la obtención de una formulación bioinsecticida, delineada por las siguientes fases:

- I. Desarrollo del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* por medio de la fermentación de un medio de crecimiento adecuado, donde los metabolitos/nutrientes no consumidos no son dañinos para el ambiente y se pueden utilizar a escala industrial.
- II. La recuperación de la biomasa tóxica o sus esporas, o solo entomotoxinas conseguidas en la fase (I) por medio de un proceso adecuado de recuperación, capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas (puras o no).
- III. Adición secuencial de secadores químicos, y otros aditivos a la biomasa tóxica, o a las esporas, o solo a las entomotoxinas recuperadas como se mencionó en la fase (II). Ocasionalmente, el cumplimiento de una fase de deshidratación entre la adición de secadores químicos y los otros aditivos.
- IV. La deshidratación de la mezcla conseguida en la fase (III), por medio de un proceso capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas, puras o no, con el fin de obtener una formulación suministrada como un polvo seco.
- V. La adición opcional de aditivos, tales como agentes diluyentes, lubricantes, y neutralizantes al polvo seco conseguido en la fase (IV), con el fin de obtener las tabletas.

### **DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION**

El principal objetivo de esta invención es lograr una formulación seca que consiste de entomotoxinas de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, que presenta una actividad larvicida efectiva contra insectos dípteros, y que se caracteriza por ser práctica, económica y sin daño para el ambiente.

Para un entendimiento más completo, se establecen a continuación, los significados de los términos utilizados en esta invención:

1. **Actividad larvicida efectiva:** es capaz de matar el 100% de las larvas con un mínimo de tiempo de permanencia en el área de aplicación; teniendo una buena estabilidad durante el almacenamiento (vida de almacenamiento), manteniendo prácticamente sin cambio la actividad larvicida inicial, que comprende componentes capaces de evitar la degradación del componente activo mediante acción física, química, y biológica producida por los agentes naturales en las áreas de aplicación; comprendiendo aditivos que producen la disponibilidad del componente activo en cantidad suficiente dentro de la esfera mayor de acción posible (por ejemplo, agentes dispersantes, sustancias que incrementan el efecto humectante).
2. **Actividad larvicida económica:** resulta de su efectividad en el control biológico de insectos dípteros, lo que conduciría a una más fácil administración de la dosis correcta, y a una acción de largo plazo del componente activo, reduciendo el número de aplicaciones.
3. **Actividad larvicida práctica:** se emplea en lugares difíciles de llegar siendo fácilmente almacenada, empacada, y transportada a los lugares infestados.
4. **Sin daño para el ambiente (ecológicamente seguro):** significa sin cambio para el balance ecológico, actuando de forma selectiva (letal solamente para los insectos objetivo, y sin daño para otros que existan en el área de aplicación); siendo degradable durante un tiempo adecuado, no originando la deposición de detritus, tóxicos a la fauna y flora en el área de aplicación; no causan nubosidad, con el fin de evitar el posible desbalance en la oxigenación del ambiente; no proporciona metabolitos y/o nutrientes no consumidos durante la elaboración de la biomasa tóxica, lo cual sería dañino a la fauna y flora en el área de aplicación.

El aislamiento y crecimiento del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* se puede hacer en aquellas condiciones conocidas, publicadas en la literatura técnica, así como la fase de fermentación, para obtener la biomasa activa.

Mientras tanto, el medio de fermentación debe proporcionar:

- a) Sustancias fuentes de nitrógeno, seleccionadas del grupo que consiste de residuos industriales ricos en proteínas, proteínas de soja, urea, extracto de levadura.
- b) Sustancias fuentes de carbono, seleccionadas del grupo que consiste de manitol, dextrosa, y sucrosa.
- c) Sustancias fuentes de micronutrientes, seleccionadas de mezclas de sales que incluyen  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$ .
- d) Cloruro de sodio, empleado para mantener la viabilidad celular.

La selección del medio de crecimiento más adecuado es de capital importancia para lograr un bioinsecticida a escala industrial. Adicionalmente, en el caso de formulaciones cuya entomotoxina no está purificada, (aislada), los componentes de crecimiento medio deben ser escogidos de tal forma que su permanencia no sea dañina para el ambiente.

En la presente invención, los componentes de crecimiento medio se seleccionan de tal forma que satisfagan la proporción entre la posibilidad de utilización a escala industrial, y la minimización de los efectos letales causados por los residuos de fermentación.

Para el cumplimiento de esta invención, el medio de crecimiento de escogencia se hace de: amino-fétil (1,5-3,0% p/p), proteína de soja (1,0-1,5% p/p), urea (0,1-0,2% p/p), manitol (0,6-0,8% p/p), cloruro de sodio (0,1-0,2% p/p) además de una combinación de sales (0,05-0,08% p/p) de acuerdo con la tabla 1.

**Tabla 1:**  
**Componentes y sus respectivas concentraciones en la mezcla de sales.**

| Componentes        | Concentración (% p/p) |
|--------------------|-----------------------|
| Mg SO <sub>4</sub> | 65,1 %                |
| Mn SO <sub>4</sub> | 4,4 %                 |
| Zn SO <sub>4</sub> | 4,4 %                 |
| Fe SO <sub>4</sub> | 4,4 %                 |
| Ca SO <sub>4</sub> | 21,7%                 |

En tales condiciones, la viabilidad celular es  $1,8-3,8 \times 10^{10}$  cfu (unidades formadoras de colonias)/ml.

Al final de la fermentación, el material sólido resultante y que resulta de la biomasa tóxica incluye entomotoxinas Bti, esporas, células modificadas y sin cambio, así como también residuos sólidos provenientes de la fermentación y los metabolitos resultantes.

En la presente invención, tanto la biomasa tóxica de Bti, como sus esporas o solo las entomotoxinas puras se pueden utilizar como formulaciones bioinsecticidas, siendo recuperadas mediante métodos comúnmente utilizados, en razón a que ellas no son dañinas para la efectividad del componente activo (entomotoxina), siendo este punto o no.

La biomasa tóxica, por ejemplo, se puede recuperar a través de la técnica de centrifugación, en los procedimientos con membranas (entre otros).

Después de la recuperación de las entomotoxinas de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, puras o no, se comienza a desarrollar la formulación de bioinsecticida seco, suministrado como un polvo seco, que proporciona:

- a) Entomotoxinas puras o no, *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*
- b) Secadores químicos.
- c) Agentes dispersantes
- d) Agentes aglutinantes/humectantes
- e) Protectores contra luz solar

De esta forma la biomasa activa de Bti, o sus esporas recuperadas, o aún sus entomotoxinas purificadas se mezclan con los secadores químicos, seleccionados de diatomita, bentonita, fosfato de calcio, sílice calcinado, (por ejemplo, Cab-o-sil®), tierras de diatomáceas, calcita, arcilla, sílice, caolín, dolomita, leucita, y montmorilonita.

En una modalidad preferida de la presente invención, los secadores químicos escogidos son: dolomita, bentonita, fosfato de calcio, y Cab-o-sil®. Tales secantes están, de preferencia, en una proporción de 0,1-10% p/p.

De esta forma, los agentes dispersantes como metilcelulosa, el alginato de amonio y calcio, el alginato de sodio, la lactosa, la carboximetilcelulosa, las celulosas, bentonita se emplean junto con agentes aglutinantes/humectantes como, por ejemplo, estearatos de polioxietilenos (como Mirj 45®) lauril sulfato de sodio, y monooleato de sorbitanos depolioxietilenos.

El componente activo de la presente invención (entomotoxinas Bti puras o no) también está protegida contra degradación originada por luz solar. Tal protección se puede obtener mezclando el principio activo con agentes solubles en agua. De forma alternativa, las partículas del componente activo se pueden recubrir por agentes protectores tales como  $TiO_2$ , como se muestra en el documento WO 98/15183.

Los agentes de dispersión y aglutinantes utilizados en una modalidad preferida de la presente invención son, respectivamente, metilcelulosa Mirj®. Como referencia, ellos están presentes en una proporción de 0,1-10% p/p.

La mezcla de la biomasa activa, o esporas, o aún entomotoxinas puras con aditivos se deben hacer de forma secuencial, seguido por deshidratación. Entre las etapas de adición de los secadores químicos y otros aditivos (agentes dispersantes, aglutinantes/humectantes y protectores contra la luz), que puede llevar a una fase de deshidratación.

Esta deshidratación se puede hacer por medio de técnicas conocidas de secado y se suponen aplicadas a escala industrial, tales como secado con o sin ventilación forzada, secado mediante vaporizador/rociador rotativo, secado por enfriamiento y otros, evitando siempre la degradación del componente activo por cuneta de altas temperaturas.

La mezcla final es entonces molida hasta obtener el polvo seco, cuyo tamaño de partícula debe estar entre malla 50-100 y un grado de humedad de aproximadamente 5-15% p/p. para el logro de esta invención los rangos de escogencia son de malla 60-80 y 9-11% p/p para tamaño de partícula y humedad, respectivamente.

En esta invención la formulación bioinsecticida suministrada como polvo, que proporciona una actividad tóxica entre 500 y 1500 TTU (Unidades Internacionales Tóxicas)/mg expresadas en polvo seco, es una de las aplicaciones de escogencia para el control biológico de insectos dípteros. Expresado en términos de biomasa, esta actividad tóxica es equivalente a  $10^8$  hasta  $10^{12}$  ufc (unidades formadoras de colonias)/g de biomasa tóxica.

Pero, en una modalidad preferida de esta invención, tales formulaciones bioinsecticidas son dispensadas como tabletas de 100 a 200 mg (hechas a partir de polvo seco, mencionado anteriormente), que comprende:

- a) Entomotoxinas, puras o no de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*.
- b) Secadores químicos.
- c) Agentes dispersantes.
- d) Agentes aglutinantes/humectantes.
- e) Protectores contra luz solar
- f) Agentes diluyentes, lubricantes y neutralizantes.

Así, la formulación dispensada como polvo seco, esto es, la formulación hecha por medio de mezclar los componentes de (a) hasta (e) se pone junta con varios aditivos, tales como agentes neutralizantes, diluyentes y lubricantes, etc.

Entre los agentes neutralizantes y diluyentes uno puede encontrar el bicarbonato de sodio, celulosas micronizadas (Avicel®), u otras celulosas, lactosa monohidratada, apatita, manitol granulado, arcilla calcinada, caolín, leucita, talco, etc. Como lubricantes, uno puede mencionar los polietilenglicoles (PEG), con peso molecular entre 2000 y 6000, y el ácido esteárico.

En una modalidad preferida de esta invención, los agentes neutralizantes y diluyentes seleccionados son el bicarbonato de sodio, Avicel®, y la lactosa monohidratada (de preferencia en una proporción de 10-70% p/p) y el agente lubricante corresponde al PEG 6000 (de preferencia dentro del rango entre 1-5% p/p).

En la presente invención, los componentes activos están dentro de 5 a 25% del peso final de la formulación, dispensado como tabletas.

En una modalidad preferida de esta invención, las tabletas muestran una formulación de acuerdo con la tabla 2.

**Tabla 2:**  
**Formulación de tabletas:**

| Componentes           | Porcentaje (% p/p) |
|-----------------------|--------------------|
| Componente activo     | 10,0-20,0          |
| Celulosa micronizada  | 52,0-47,0          |
| Lactosa monohidratada | 18,0-15,5          |
| Bicarbonato de sodio  | 18,0-16,0          |
| PEF 6000 Atomizado    | 2,0-1,5            |

La presente invención se describe en detalle de acuerdo con los siguientes ejemplos. Es importante y necesario poner de manifiesto que, que la presente invención no concierne solamente a estos ejemplos, sino que también incluye cambios y modificaciones al interior de los límites que esta trabaja.

#### **Ejemplo 1:**

**Obtención de la biomasa activa de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*:**

La sepa de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, IPS 82 fue empleada para obtener la biomasa activa.

La tabla 3 muestra el medio de fermentación usado.

**Tabla 3:**  
**Medio de fermentación:**

| Materia prima    | Porcentaje (% p/p) |
|------------------|--------------------|
| Amino-fertil*    | 1,5                |
| Proteína de soja | 1,5                |
| Urea             | 0,1                |
| Manitol          | 0,7                |
| Cloruro de sodio | 0,2                |
| Mezclas de sales | 0,06               |

\* Restos industriales ricos en proteínas.

La fermentación fue llevada a cabo bajo 33° C durante 24 horas. Los ensayos fueron desarrollados en una escala de 50 ml, en frascos Erlenmeyer de 250 ml, bajo agitación en un agitador, dentro de un rango de 150 a 270 rpm.

La viabilidad adecuada de células fue de  $3,8 \times 10^{10}$  ufc (unidades formadoras de colonias)/ml.

## **Ejemplo 2:**

**Recuperación de la biomasa activa del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*:**

Después de la fase de fermentación, el material sólido (que involucra la proteína Bti cristal), sus esporas, sus células rotas e intactas, lo mismo que sólidos restantes que se derivan del medio de fermentación) fueron recuperados por medio de un método de bioseparación por medio de membrana vortex.

Las condiciones operacionales de este proceso se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4:**  
**Parámetros operacionales – método de bioseparación por membrana vortex.**

| Membrana | M x 10 - poliacrilonitril |
|----------|---------------------------|
| Flujo    | 125 m/s                   |
| Presión  | 23-26 psi                 |
| Torsión  | 11-14 psi                 |
| Rotación | 2000 rpm                  |
| tiempo   | 180 minutos               |

Por medio de este procedimiento uno ha obtenido un 20% de producción sobre l volumen inicial de masa activa.

**Ejemplo 3:**

La formulación bioinsecticida dispensada como polvo seco:

La biomasa recuperada de acuerdo con el procedimiento mencionado en el ejemplo anterior, fue mezclada con secadores químicos de diatomita, bentonita, fosfato de tricalcio y Caab-o-sil®, en las cantidades mostradas en la tabla 5.

**Tabla 5:**  
**Cantidad de biomasa activa y secadores químicos, empleados en la formulación dispensada como polvo seco.**

| Sustancia         | Cantidad |
|-------------------|----------|
| Biomasa activa    | 400 ml   |
| Diatomita         | 4 g      |
| Bentonita         | 2 g      |
| Fosfato tricalcio | 2 g      |
| Cab-o-sil®        | 4 g      |

La diatomita, bentonita, fosfato de tricalcio y Cab-o-sil® fueron molidos y homogeneizados. Esta mezcla fue agregada a la masa activa Bti, bajo agitación constante. La mezcla resultante fue secada en una estufa bajo 37° C.

Después de 36 horas, el polvo seco fue molido para obtener un polvo fino y homogéneo (llamado P) que pesó 27,29 g. después de esta etapa, se agregaron 0,5458 g (2% del peso de P) de metilcelulosa, previamente molida al polvo seco. La mezcla resultante fue entonces homogeneizada.

De manera separada, se calentó 0,2729 g (1% total de peso de P) de Mirj® en un baño de agua hasta su fusión completa, agregándose paso a paso 50 ml de agua destilada, bajo agitación vigorosa. A esta solución se agregó Eusolex 6007® como filtro de sol.

Entonces, la solución anterior fue vertida lentamente sobre el polvo seco P mezclado con la metilcelulosa. La mezcla resultante fue homogeneizada y colocada en una estufa bajo 30° C durante 24 horas.

El polvo seco resultante (cerca de 26,7 g), con un grado de humedad de 10,83% p/p, fue molido y tamizado por medio de un tamiz de malla 70.

La concentración celular, estimada por medio de la técnica de placas de conteo, fue de  $7 \times 10^{11}$  UFC (unidades formadoras de colonias)/g de biomasa tóxica.

Así, hemos obtenido la formulación bioinsecticida con base en el *Bacillus thuringiensis var israelensis*, dispensado como un polvo seco, llamada P<sub>1</sub>.

#### **Ejemplo 4**

**Formulación bioinsecticida dispensada como tabletas:**

El polvo seco (P<sub>1</sub>), obtenido en el ejemplo anterior, fue mezclado con los diluyentes Avicel PH102 y lactosa monohidratada, con el bicarbonato de sodio (agente neutralizante), y también con PEG6000 atomizado (lubricante). Esta mezcla de polvo fue colocada bajo compresión giratoria, y de ahí salieron tabletas de bioinsecticida.

Hemos obtenido tabletas de 20 o 15 mg que comprenden polvo seco P<sub>1</sub> como componente activo.

20

Las tablas 6 y 7, muestran las cantidades de agentes empleados para obtener entre 1 y 600 tabletas, respectivamente.

**Tabla 6:**  
**Agentes adyuvantes empleados en el procedimiento de compresión de tabletas de 20 mg de componente activo**

|                                           |                    | Cantidades       |                  |
|-------------------------------------------|--------------------|------------------|------------------|
| Agentes adyuvantes                        | Porcentual (% p/p) | Una tableta (mg) | 600 tabletas (g) |
| P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> concentrado | 16,67              | 20,00            | 12,00            |
| Avicel PH 102                             | 48,32              | 57,99            | 34,79            |
| Lactosa monohidratada                     | 16,67              | 20,00            | 12,00            |
| Bicarbonato de sodio                      | 16,67              | 20,00            | 12,00            |
| PEG 6000 atomizado                        | 16,67              | 2,01             | 1,21             |

**Tabla 7:**  
**Agentes adyuvantes empleados en el procedimiento de compresión de tabletas de 15 mg de componente activo.**

|                                           |                    | Cantidades       |                  |
|-------------------------------------------|--------------------|------------------|------------------|
| Agentes adyuvantes                        | Porcentual (% p/p) | Una tableta (mg) | 600 tabletas (g) |
| P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> concentrado | 12,50              | 15,00            | 9,00             |
| Avicel PH 102                             | 50,74              | 6,089            | 36,53            |
| Lactosa monohidratada                     | 17,50              | 21,00            | 12,60            |
| Bicarbonato de sodio                      | 17,50              | 21,00            | 12,60            |
| PEG 6000 atomizado                        | 1,76               | 2,11             | 1,27             |

**Ejemplo 5:**

Ensayos contra larva de mosquito Aedes aegypti

Las tabletas con contenido de 20 y 15 mg de componente activo fueron ensayadas en cuanto a su actividad larvicida contra el mosquito *Aedes aegypti*.

Por cada 10 litros de agua, se colocó una tableta. Entonces, por introducción periódica de larvas de *Aedes aegypti*, uno ha estimado su porcentaje de mortalidad.

Los resultados para ambas tabletas revelaron que las cantidades respectivas de componente activo mostraron una actividad larvicida efectiva, dando un 100% de mortalidad de larvas, lo que permaneció durante 19 días, por lo menos, en áreas bajo luz solar, y 28 días en áreas bajo sombra.

### **REIVINDICACIONES**

1. Una formulación bioinsecticida con base en entomotoxinas obtenidas del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* con actividad tóxica contra insectos dípteros caracterizada por ser suministrada por un polvo seco con una actividad tóxica que está entre 500 a 1500 ITU (Unidades de Toxicidad Internacionales)/mg de polvo seco, teniendo de otro lado aditivos tales como secadores químicos, dispersantes, agentes aglutinantes/humectantes y protectores contra la luz solar, lo que hace fácil la permanencia del componente activo en el área de aplicación durante por lo menos 10 días, manteniendo estable su actividad tóxica durante por lo menos 6 meses, sin causar daño al ecosistema.
2. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la entomotoxina Bti se presenta bajo una forma impura como biomasa tóxica o esporas Bti.
3. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la entomotoxina Bti se presenta bajo una forma aislada como biomasa tóxica o esporas Bti.
4. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los secadores químicos han sido seleccionados entre tierras diatomáceas, calcita, arcilla, sílice, caolín, diatomita, bentonita, dolomita, fosfato de calcio, leucita, montmorillonita, y sílice calcinada.
5. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 4 en donde los secadores químicos están entre 0,1 a 10% p/p de diatomita, 0,1 a 10% de p/p de bentonita, 0,1 a 10% de p/p de fosfato de calcio y 0,1 a 10% p/p de sílice calcinado.
6. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los agentes dispersantes han sido seleccionados a partir de alginato de

calcio y alginato de amonio, alginato de sodio, lactosa, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, celulosas y bentonita.

7. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 6 en donde el agente dispersante es la metilcelulosa, presente entre 0,1 a 10% p/p.
8. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los agentes aglutinantes/humectantes han sido seleccionados entre laurilsulfato de sodio, monoleato de polioxietilenos, sorbitanes y estearatos de polioxietilenos.
9. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 8 en donde los estearatos de polioxietilenos están presentes en un rango entre 0,1 a 10% p/p.
10. La formulación bioinsecticida con base en entomotoxinas tomadas del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* con actividades tóxicas contra insectos dípteros, caracterizada porque es dispensada o suministrada como tabletas con una composición entre 5 a 25% de la reivindicación 1 y agentes neutralizantes, diluyentes y lubricantes.
11. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 10 en donde los agentes neutralizantes y diluyentes han sido seleccionados entre bicarbonato de sodio, apatita, manetol granulado, celulosa micronizada u otras celulosas, lactosa monohidratada, caolín, leucita y talco.
12. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el agente neutralizante es el bicarbonato de sodio presente en un rango entre 10 a 70% p/p y los agentes diluyentes son celulosa micronizada y lactosa monohidratada, ambos en un rango entre 10 a 70% p/p.

13. La formulación bioinsecticida de acuerdo con la reivindicación 10 en donde el agente lubricado es polietilenglicol 6000 que está presente en un rango entre 1 a 5% p/p.

14. Procedimiento de preparación de una formulación bioinsecticida con actividad tóxica contra insectos dípteros caracterizada por las siguientes fases:

- I. Desarrollo del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* por medio de la fermentación de un medio de crecimiento adecuado, donde los metabolitos/nutrientes no consumidos no son dañinos para el ambiente y se pueden utilizar a escala industrial.
- II. La recuperación de la biomasa tóxica o sus esporas, o solo entomotoxinas conseguidas en la fase (I) por medio de un proceso adecuado de recuperación, capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas (puras o no).
- III. Adición secuencial de secadores químicos, y otros aditivos a la biomasa tóxica, o a las esporas, o solo a las entomotoxinas recuperadas como se mencionó en la fase (II). Ocasionalmente, el cumplimiento de una fase de deshidratación entre la adición de secadores químicos y los otros aditivos.
- IV. La deshidratación de la mezcla conseguida en la fase (III), por medio de un proceso capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas, puras o no, con el fin de obtener una formulación suministrada como un polvo seco.
- V. La adición opcional de aditivos, tales como agentes diluyentes, lubricantes, y neutralizantes al polvo seco conseguido en la fase (IV), con el fin de obtener las tabletas.

15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14 en donde el medio de fermentación incluye:

- I. Medida de nitrógeno: una o más sustancias seleccionadas a partir del grupo que consiste de residuos industriales ricos en proteínas, proteínas de soja, urea, extracto de levadura.

- II. Medida de carbono: una o más sustancias seleccionadas a partir del grupo que consiste de manitol, dextrosa, y sucrosa.
- III. Medida de micronutrientes: mezclas de sales que incluyen  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$ .
- IV. Cloruro de sodio, empleado para mantener la viabilidad celular.

16. El proceso de acuerdo con la reivindicación 15 en donde los componentes del medio de fermentación comprenden 1,5 a 3,0% p/p de aminofétil, 1,0 a 1,5% p/p de proteína de soja, 0,1 a 0,2% de p/p de urea, 0,6 a 0,8% p/p de manitol, 0,1 a 0,2% p/p de cloruro de sodio y 0,5 a 0,08 p/p de uan mezcla de sales constituidas por 65,1% p/p de  $\text{MgSO}_4$ , 4,4% p/p de  $\text{MnSO}_4$ , 4,4% p/p de  $\text{ZnSO}_4$ , 4,4% p/p de  $\text{FeSO}_4$  y 21,7% p/p de  $\text{CaCl}_2$ .

17. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14 en donde la recuperación de la biomasa tóxica ha sido llevada a cabo por bioseparación con membrana vortex.

18. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14 en donde los otros aditivos son agentes de dispersión, aglutinantes/humectantes y protectores contra la luz solar.

19. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14 en donde la fase de deshidratación ha sido llevada a cabo entre las etapas de adición de los secadores químicos y los otros aditivos.

20. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14 en donde la deshidratación ha sido llevada a cabo en una estufa bajo 30° C.

21. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14 en donde las tabletas han sido obtenidas por compresión giratoria.

**22. El proceso de acuerdo con la reivindicación 18 en donde la adición de protectores contra la luz solar ha sido llevada a cabo por medio de una mezcla simple o por medio de un tratamiento del tipo recubrimiento.**

## **RESUMEN**

El principal objetivo de la presente invención es suministrar una composición seca de bioinsecticida con base en entomotoxinas de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, que se caracteriza por su practicabilidad, economía y eficacia para controlar insectos dípteros, siendo, al mismo tiempo segura ecológicamente.

Así, el objetivo principal de esta invención es obtener una formulación seca de bioinsecticida, que comprende:

- a) entomotoxinas, puras o no, de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*;
- b) secadores químicos;
- c) agentes de dispersión;
- d) agentes aglutinantes/humectantes
- e) protectores contra la luz solar; y
- f) opcionalmente agentes diluyentes lubricantes y neutralizantes.

Una primera modalidad de esta invención se relaciona con una formulación de bioinsecticida suministrada como un polvo seco, o como tabletas, que comprende aditivos que llevan las entomotoxinas, puras o no, seleccionadas de manera que se suministre una alta dispersión del componente activo en el área de aplicación, sin conllevar riesgos al ambiente.

Una segunda modalidad de esta invención se relaciona con los procedimientos para obtención de una formulación bioinsecticida, delineada de acuerdo con las siguientes fases:

- I. Desarrollo del *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* por medio de la fermentación de un medio de crecimiento adecuado, donde los metabolitos/nutrientes no consumidos no son dañinos para el ambiente y se pueden utilizar a escala industrial.

- II. La recuperación de la biomasa tóxica o sus esporas, o solo entomotoxinas conseguidas en la fase (I) por medio de un proceso adecuado de recuperación, capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas (puras o no).
- III. Adición secuencial de secadores químicos, y otros aditivos a la biomasa tóxica, o a las esporas, o solo a las entomotoxinas recuperadas como se mencionó en la fase (II). Ocasionalmente, el cumplimiento de una fase de deshidratación entre la adición de secadores químicos y los otros aditivos.
- IV. La deshidratación de la mezcla conseguida en la fase (III), por medio de un proceso capaz de mantener la actividad tóxica de las entomotoxinas, puras o no, con el fin de obtener una formulación suministrada como un polvo seco.
- V. La adición opcional de aditivos, tales como agentes diluyentes, lubricantes, y neutralizantes al polvo seco conseguido en la fase (IV), con el fin de obtener las tabletas.

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

|                                                         |                                                                                                                                                     |                                                                              |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br><b>P1184</b>   | FOR FURTHER ACTION<br>see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below. |                                                                              |
| International application No.<br><b>PCT/BR 01/00063</b> | International filing date (day month year)<br><b>24 May 2001 (24.05.2001)</b>                                                                       | (Earliest) Priority Date (day month year)<br><b>24 May 2000 (24.05.2000)</b> |
| Applicant<br><b>FUNDACAO OSWALDO CRUZ - GIOCROUZ</b>    |                                                                                                                                                     |                                                                              |

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box II).

4. With regard to the title.

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract.

☐ the text is approved as submitted by the applicant

☒ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.: \_\_\_\_\_

☐ as suggested by the applicant

☐ None of the figures.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention

## Box III TEXT OF THE ABSTRACT (Continuation of item 5 of the first sheet)

The principal aim of the present invention is to afford a bioinsecticide dry composition based on entomotoxines of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, which is characterized by its practicability, economy and efficacy in controlling Dipteral insects, being, at the same time, ecologically safe.

A second embodiment of this invention is related to the proceedings for obtention of bioinsecticide formulation, delineated by the following phases:

I. Development of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* by means of fermentation in a suitable growth medium.

II. the recovery of toxical biomass, or its spores, or only entomotoxines gotten in the phase (I).

III. Sequential addition of chemical dryers, and other additives to the toxical biomass, or to the spores, or only to the entomotoxines recovered as mentioned in phase (II).

IV. Dehydration of the blend gotten in phase (III).

V. Optional addition of additives, as diluents, lubricants, and neutralizing agents to the dry powder gotten in the phase (IV), in order to obtain the tablets.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/BR 01/0006330  
31

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC<sup>7</sup>: A01N 63/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC<sup>7</sup>: A01N 63/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPIL; STN:CAS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                         | Relevant to claim No. |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X        | EP 0235875 A1 (NOVO INDUSTRI A/S)<br>9 September 1997 (09.09.97)<br><i>examples: claims.</i>                                               | 1-13                  |
| A        | WO 98/28984 A1 (N. BECKER et al.)<br>9 September 1998 (09.09.98)<br><i>claims.</i>                                                         | 1-13                  |
| A        | DE 4133889 A1 (N. BECKER) 15 April 1993 (15.04.93)<br><i>the whole document.</i>                                                           | 1-13                  |
| A        | JP 03 127706 A (TOAGOSEI CHEM IND CO LTD). Patent<br>abstracts of Japan Vol. 15, No. 322 (C-861),<br>23 August 1991 (23.08.91) (abstract). | 14-22                 |
|          | ----                                                                                                                                       |                       |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents

..A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance..I" earlier application or patent but published on or after the international  
filing date..I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)..O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means..P" document published prior to the international filing date but later than  
the priority date claimed..I" later document published after the international filing date or priority  
date and not in conflict with the application but cited to understand  
the principle or theory underlying the invention..X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive step  
when the document is taken alone..Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such combination  
being obvious to a person skilled in the art

..&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 September 2001 (06.09.2001)

Date of mailing of the international search report

21 November 2001 (21.11.2001)

Name and mailing address of the ISA AI

Austrian Patent Office

Kohlmarkt 8-10; A-1014 Vienna

Facsimile No. 1/53424/535

Authorized officer

HOFBAUER

Telephone No. 1/53424/225

Form PCT/ISA 210 (second sheet) (July 1998)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/BR 01/00063

31  
32

| Patent document cited<br>in search report |    |         | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) |    | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|----|---------|---------------------|----------------------------|----|---------------------|
| DE                                        | A1 | 4133584 | 15-04-1993          | none                       |    |                     |
| DE                                        | C2 | 4133584 | 25-08-1994          |                            |    |                     |
| EP                                        | A  | 2384571 | 04-04-1997          | AD                         | A1 | 87145/87            |
| FI                                        | B1 | 454771  | 23-05-1990          | FR                         | A  | 8700022             |
|                                           |    |         |                     | DE                         | C0 | 3762751             |
|                                           |    |         |                     | DE                         | A0 | 6256/86             |
|                                           |    |         |                     | DE                         | A  | 6256/86             |
|                                           |    |         |                     | DE                         | B  | 162620              |
|                                           |    |         |                     | DE                         | C  | 162620              |
|                                           |    |         |                     | GR                         | A0 | 8600190             |
|                                           |    |         |                     | GR                         | A0 | 8700116             |
|                                           |    |         |                     | GR                         | A1 | 2184446             |
|                                           |    |         |                     | GB                         | T3 | 3000513             |
|                                           |    |         |                     | IL                         | A0 | 81171               |
|                                           |    |         |                     | IT                         | A  | 84052               |
|                                           |    |         |                     | IT                         | B  | 84052               |
|                                           |    |         |                     | IT                         | A  | 8605842             |
| JP                                        | A2 | 4127700 | 01-05-1992          | none                       |    |                     |
| KR                                        | A1 | 8628000 | 06-07-1990          | AT                         | A1 | 78677/88            |
|                                           |    |         |                     | DE                         | C1 | 16654652            |
|                                           |    |         |                     | EP                         | A1 | 648256              |
|                                           |    |         |                     | EP                         | A1 | 670650              |
|                                           |    |         |                     | FR                         | B1 | 670140              |
|                                           |    |         |                     | FR                         | A6 | 6604200             |
|                                           |    |         |                     | US                         | BA | 6303117             |

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
29 November 2001 (29.11.2001)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 01/89297 A2

(51) International Patent Classification<sup>7</sup>: A01N  
(21) International Application Number: PCT/BR01/00063  
(22) International Filing Date: 24 May 2001 (24.05.2001)  
(25) Filing Language: English  
(26) Publication Language: English  
(30) Priority Data:  
PI 0003314-6 24 May 2000 (24.05.2000) BR  
(71) Applicant (for all designated States except US): FUN-  
DAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ [BR/BR];  
Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, CEP-21045-900 Rio  
de Janeiro, RJ (BR).

(72) Inventors; and  
(75) Inventors/Applicants (for US only): GOMES  
SANCHES, Elizabeth [BR/BR]; Rua Alfrede Volpi,  
260, Apto. 403, Recreio, Rio de Janeiro, RJ (BR).  
BATISTA DA SILVA, Ana, Cristina [BR/BR]; Rua  
Cristóvão Penha, 45, Apto. 101, Piedade, Rio de Janeiro,  
RJ (BR). ABREU CAMPOS, Flávia, Maria [BR/BR];  
Rua Conde de Bonfim, 838, Apto. 702, Tijuca, Rio de  
Janeiro, RJ (BR). PINHEIRO ROBERG, Renata, Alves  
[BR/BR]; Barão de Pirassununga, 42, Casa 7/302, Tijuca,  
Rio de Janeiro, RJ (BR). DE ASSUNÇÃO, Fernando,

Justino [BR/BR]; Rua Engenheiro Paula Lopes, 631,  
Bangu, Rio de Janeiro, RJ (BR).

(74) Agent: FERNANDES DE ALMEIDA, Kátia; Bhering,  
Almeida & Associados, Rua Beneditinos, 16, 11º andar,  
CEP-20081-050 Rio de Janeiro, RJ (BR).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU,  
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,  
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian  
patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European  
patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE,  
IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GW, MI, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished  
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-  
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: A BIOINSECTICIDE FORMULATION CONSISTING OF BACILLUS THURINGIENSIS VAR ISRAELENsis, AND  
ITS CONCERNING MANUFACTURE PROCEEDINGS

(57) Abstract: The principal aim of the present invention is to afford a bioinsecticide dry composition based on entomotoxines of *Bacillus thuringiensis var israelensis*, which is characterized by its practicability, economy and efficacy in controlling Dipteran insects, being, at the same time, ecologically safe. Thus, the principal objective of this invention is to get a bioinsecticide dry formulation, comprising: (a) entomotoxines, pure or not, of *Bacillus thuringiensis var israelensis*; (b) chemical dryers; (c) dispersing agents; (d) agglutinant/humectant agents; (e) protectors against sunlight; and (f) optionally, diluent, lubricant and neutralizing agents. A first embodiment of this invention is related to a bioinsecticide formulation dispensed as dry powder, or tablets, comprising additives carrying the entomotoxines, pure or not, selected in way to afford a high dispersion of the active component in the application area, but bringing about no risks to the environment. A second embodiment of this invention is related to the proceedings for obtention of bioinsecticide formulation, delineated by the following phases: I) Development of *Bacillus thuringiensis var israelensis* by means of fermentation in a suitable growth medium, where the not spent metabolites/nutrients are not harmful to the environment and they may be used in an industrial scale. II) The recovery of toxical biomass, or its spores, or only entomotoxines gotten in the phase (I) by means of a suitable process of recuperation, able to keep the toxical activity of entomotoxines (pure or not). III) Sequential addition of chemical dryers, and other additives to the toxical biomass, or to the spores, or only to the entomotoxines recovered as mentioned in phase (II). Occasionally, the accomplishment of a dehydration phase between joining the chemical dryers and the other additives. IV) Dehydration of the blend gotten in phase (III), by means of process able to keep the toxical activity of entomotoxines pure or not, in order to obtain a formulation dispensed as dry powder. V) Optional addition of additives, as diluents, lubricants, and neutralizing agents to the dry powder gotten in the phase (IV), in order to obtain the tablets.

WO 01/89297 A2

REPÚBLICA DE COLOMBIA



# NOTARÍA CUARENTA Y UNA DEL CÍRCULO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.

Carrera 12 No. 93-26

Tels.: 621 4451/61/71/81/91 - 2186087 - 256 7730 - Fax: 218 6082.

PRIMERA- Copia de la Escritura Pública No. -1785-

de fecha: 13 de JULIO- de 19 98

## ACTO

"PROTOCOLIZACION".

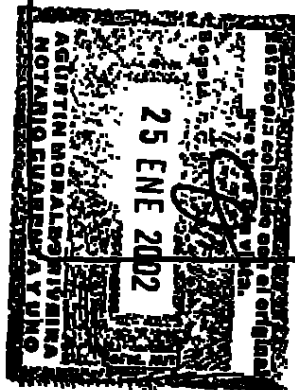
## OTORGANTES

LAURA MICHELSEN NIÑO".

AGUSTÍN MORALES RIVEIRA

NOTARIO

Miembro del Colegio de Notarios de Colombia



Stella Comp.6 MICHELSE.170

35 35  
AA 3125362



ESCRITURA PUBLICA NUMERO: [1785] - MIL  
SETECIENTOS OCHENTA Y CINCO.

OTORGADA EN LA NOTARIA CUARENTA Y UNA  
(41) DEL CIRCULO DE SANTA FE DE BOGOTA,  
DISTRITO CAPITAL.

FECHA DE OTORGAMIENTO: TRECE (13) DE

JULIO

DE MIL NOVECIENTOS NOVENTA Y OCHO (1998).

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION

PERSONAS QUE INTERVIENEN EN EL ACTO: LAURA MICHELSEN NIÑO

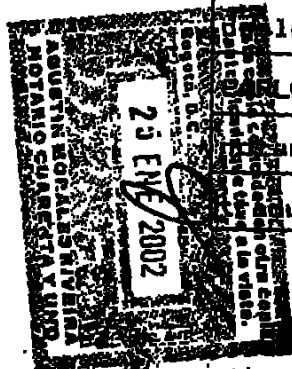
Dentro del Circulo Notarial del Distrito Capital de Santa Fe de Bogotá, Departamento de Cundinamarca, República de Colombia, en donde queda radicada la Notaria Cuarenta y Una (41) de la circunscripción mencionada y cuyo titular es AGUSTIN MORALES RIVEIRA.

Comparecieron con minuta escrita: LAURA MICHELSEN NIÑO, mujer, mayor de edad, de nacionalidad Colombiana, domiciliada en esta ciudad, de estado civil casado, identificada con la cédula de ciudadanía número 39.783.287 expedida en Usaquén y manifestó: PRIMERO: Que presenta para su protocolización el siguiente documento: i) El instrumento debidamente otorgado el día veintitres (23) de abril de mil novecientos noventa y ocho (1998), por ELOI DE SOUZA BARCIA en nombre y representación de la sociedad FUNDACAO OSWALDO CRUZ Sociedad constituida y existente de acuerdo a las leyes de Brasil, con domicilio en la ciudad de Rio de Janeiro, Brasil, contentivo del nombramiento como representantes para asuntos de Propiedad Industrial e Intelectual y contra la competencia legal a los abogados FERNANDO TRIANA, LAURA MICHELSEN, JUAN CARLOS URIBE Y JUAN PABLO TRIANA, y ii) Las certificacionesariales y consulares, junto con sus respectivasducciones oficiales, debidamente legalizado ante el

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO ALGUNO PARA EL USUARIO

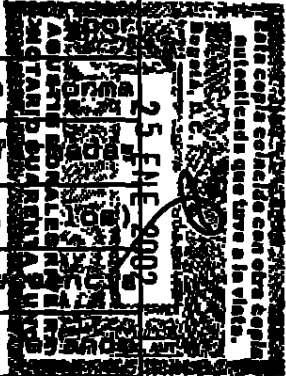
NOTARIA 41 DE SANTA FE DE BOGOTA

2010103 27



|                                                                |
|----------------------------------------------------------------|
| Ministerio de Relaciones Exteriores.                           |
| "(HASTA AQUI LA MINUTA ESCRITA PRESENTADA POR EL(LA) (LOS)     |
| COMPARECIENTE(S)                                               |
|                                                                |
|                                                                |
|                                                                |
|                                                                |
|                                                                |
| ADVERTENCIAS                                                   |
| El Notario advirtió a los comparecientes: 1) Que las           |
| declaraciones emitidas por ellos deben obedecer a la verdad;   |
| 2) Que son responsables penal y civilmente en el evento que    |
| se utilice este instrumento con fines fraudulentos o           |
| ilegales; 3) Que se abstiene de dar fe sobre el querer o       |
| fuerzo interno de los comparecientes que no se expresó en este |
| documento; 4) Que igualmente dejo expresa constancia sobre     |
| la importancia de la inscripción de la escritura en el evento  |
| que sea necesario, a la mayor brevedad posible en la entidad   |
| competente. 5) Por último les advierte que la                  |
| protocolización de documentos no da mayor fuerza o             |
| autenticidad de la que tienen dichos documentos.               |
|                                                                |
|                                                                |
|                                                                |
| OTORGAMIENTO Y AUTORIZACION                                    |
| El documento precedente fue leído en forma legal por el(la,    |
| los) compareciente(s) quien(es) previa revisión minuciosa, y   |
| no obstante las advertencias anteriores imparte(n) su          |
| aprobación al verificar que no hay ningún error                |
| encontrar que expresa(n) su(s) voluntad(es) en                 |
| fidedigna. El Notario da fe que las declaraciones f            |
| por la(s) parte(s), fueron aprobadas por el(la,                |
| compareciente(s) de conformidad a la ley y en conse            |
| autoriza con su firma la presente escritura pública            |
| constancia que les advirtió sobre las relaciones que el        |

ALUMNO  
RECIBIÓ LA FECHA DE  
NOTARIA AL DE ANTES DE



AA 3125363



presente acto genera.

LA PRESENTE ESCRITURA PUBLICA SE  
EXTENDIO EN LAS HOJAS DE PAPEL NOTARIAL  
NUMEROS AA 3125362- 363.

EN CONSTANCIA SE FIRMA COMO APARECE EN LA HOJA DE PAPEL  
NOTARIAL NUMERO AA 3129679  
DERECHOS NOTARIALES \$ 6.900 , RECAUDO PARA LA  
SUPERINTENDENCIA DE NOTARIADO Y REGISTRO \$1.710, y PARA EL  
FONDO NACIONAL DE NOTARIADO \$1.710. RESOLUCION 0037 DEL 15 DE  
ENERO DE 1998.

Se protocolizan los documentos anexos a esta escritura  
pública. - SE PROTOCOLIZAN LOS DOCUMENTOS ANTES MENCIONADOS

ADRIANA ESTHER LAURISTIA CASARE  
SECRETARIA  
DECRETO 1544 DE 1994  
NOTARIA 41 DE SAN JUAN DE BOGOTA  
oficina privada

23 ENE 2002

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO ALGUNO PARA EL USUARIO

TRADUCCION OFICIAL 286-98 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN IDIOMA  
INGLES

28  
37

N. de la T.: Se traducen las autenticaciones adjuntas a un poder escrito en idiomas Inglés y Español, otorgado en la ciudad Rio de Janeiro, Brasil, el 23 de Abril de 1998, a favor de los doctores FERNANDO TRIANA, LAURA MICHELSEN, JUAN CARLOS URIBE y JUAN PABLO TRIANA, por Eloi de Souza Garcia, en nombre y representación Fundação Oswaldo Cruz sociedad domiciliada en Avenida Brasil, 4365 - Castelo Mourisco - 5º andar Mangunhos, Rio de Janeiro.

N. del T.: La firma de Eloi de Souza Garcia fue autenticada ante André Luis Perira Pinto el 15 de Mayo de 1998

N. del T.: La firma de André Luis Perira Pinto en el documento antes traducido fue legalizado ante el Consulado de Colombia en Rio de Janeiro, el 18 de Junio de 1998, No. 44/98. Pagado el impuesto de timbre y derechos consulares por US\$100.00. La firma del Cónsul Francisco Jordan Peñaranda fue reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Bogotá el 10. de Julio de 1998 mediante Sello No. 250917 suscrito por el Ministro de Relaciones Exteriores de Legalizaciones.

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DEL DOCUMENTO ANTES DE SU TRADUCCION QUE PARA IDENTIFICACION SE SELLA POR LA SUSCRITA TRADUCCION OFICIAL ESTE 3 DE JULIO DE 1998.

PILAR GAMBOA MORALES  
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL  
RESOLUCION No. 1937 DEL  
MINISTERIO DE JUSTICIA

*Pilar Gamboa Morales*  
Pilar Gamboa Morales  
Resolución 1937 de 1991  
Ministerio de Justicia  
C.C. 39.682.927 de Usaquén

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO  
98 JUL - 6/11:12  
JEFE DE LEGALIZACIONES  
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

ADRIAN. ECH. SEC. ETAT. NOTARIA 41 DE SANTIAGO DE BOGOTA  
DEFECTO 1234 DE 1998  
MINISTERIO DE RELACIONES  
EXTERIORES  
158159  
GOYA FIRMA ANTES DE SU TRADUCCION  
DOCUMENTO DE IDENTIFICACION  
LAS FUNCIONES DE IDENTIFICACION





TRIANA, URIBE & MICHELSEN

## POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned ELOI DE SOUZA GARCIA  
in representation FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
domiciled in Av. Brasil, 4365 - Castelo Mourisco - 59 andar-Mangunhos / Rio de Janeiro  
in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby  
appoint **FERNANDO TRIANA**, tpa. No. 45.265 c.c. No. 79.154.036; **LAURA MICHELSEN**, tpa. No.  
67.897 c.c. No. 39.783.287; **JUAN CARLOS URIBE**, tpa. No. 54.493 c.c. No. 79.159.313 and **JUAN**  
**PABLO TRIANA**, tpa. 63.077 c.c. No. 79.487.222; domiciled at Calle 93 B No. 12-48 (204), Santafé de  
Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as  
our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint  
attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of  
temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second or third alternate  
representative is to replace the first or second one, or when the second or third is to replace the principal  
one. In such cases, the principal representative, shall state his intention not to act as representatives  
through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public  
Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall  
suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place.  
When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second or third  
alternate in their turn cases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the  
first or second or third alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The  
exercise of the representation by the first or second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys-at-law so that they may  
obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which  
purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or  
without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, in all matters  
concerning the following: a) Obtainment of patents, models and designs; the registration of marks and  
trade slogans; the deposit of commercial names and trade emblems; the obtainment of the declaration  
and authorization of denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile,  
voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Obtainment of plant  
variety protection; c) Obtainment of functioning licenses, health registrations and any other petition  
before the sanitary or administrative authorities; d) Obtainment of copyright registrations for any type of  
artistic, literary, scientific, musical, video, films, video games, choreography works, software or any  
other production in the artistic, scientific or literary fields capable of being reproduced or expressed by  
any means known now or in the future; Registration of agreements related with the execution or transfer  
of intellectual property rights; Deposit of names of periodic publications and television programs;  
Obtention of reduced postal tariff; e) Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, writ of  
mandamus, granting of licenses; and in general the civil, penal and administrative suits relating to all  
those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters  
they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist,  
cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a Power of Attorney.

ADRIAN: ELLI...  
SECRETARIA  
DECRETO 1546 DE 1994  
NOTARIA 41 DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ

Given and signed this April 23, 1998

RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Eloi Souza Garcia

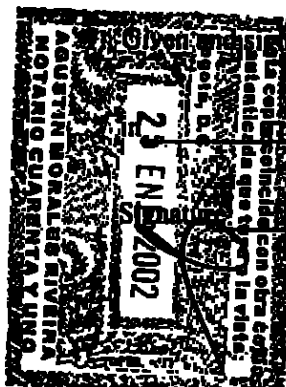
Dr. ELOI DE SOUZA GARCIA  
Presidente do FIOCRUZ

Calle 93B No. 12-48 (204) Bogotá, Colombia

Tels.: (57-1) 611 4292 - 621 5810 - 621 7360 Fax.: (57-1) 611 4209

E-mail: juribe@comcel.com

**PILAR GAMBOA MORALES**  
TRANSCRIPCION E INTERPRETE OFICIAL  
BOGOTÁ, COLOMBIA  
BOGOTÁ, COLOMBIA



ESCRITÓRIO DE REPRESENTAÇÃO NO RIO DE JANEIRO

SEÇÃO CONSULAR - RJ

Reconheço verdadeira a assinatura

Infra - Supra - Retiro

de André Luis Pereira Pinto.

JARE - Seção Consular RJ, em 21/05/98

Edilson Urquy

Cartório da 11ª C.R.C.F.M. - Tabelionato. Avenida Nova York, 17  
Sonenceco. Registrador e Notário: Gerson Botelho. Reconheço por  
seelhanza a firma de: ELOI DE SOUZA GARCIA  
No: 705.0  
Rio de Janeiro, 15 de Maio de 1998, con. por:  
Fa testemunho \_\_\_\_\_ da verdade.

Giovana Pinto Freitas - E. Substituta

Valor: 1.85

PODER

ANDRÉ LUIS PEREIRA PINTO  
3.º SUBSTITUTO  
11.ª CIRC. R.C.P.N. e TAB



Yo (nosotros), abajo suscrito(s) ELOI DE SOUZA GARCIA

en representación de FUNDACÃO OSWALDO CRUZ

domiciliado(s) en Av. Brasil, 4365 - Castelo Mourisco - 50 andar - Manginhos/Rio de Janeiro  
por el presente nombro (nombramos) a FERNANDO TRIANA, tpa. No. 45.265 c.c. No. 79.154.036;  
LAURA MICHELSEN, tpa. No. 67.897 c.c. No. 39.783.287; JUAN CARLOS URIBE, tpa. No. 54.493  
c.c. No. 79.159.313 y JUAN PABLO TRIANA, tpa. 63.077 c.c. No. 79.487.222; domiciliados en la  
Calle 93 B No. 12-48 (204), Santafé de Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el  
parágrafo 1ro. del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como  
suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial  
con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer  
representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo  
de aquel. La misma regla se aplicará cuando el segundo y tercer representantes suplentes hayan de  
reemplazar al primero, al segundo o al principal. En tales casos, el representante principal, o el primero,  
o segundo suplente, o tercer suplente en su caso, o todos ellos, declararán su intención de no ejercer la  
representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro  
Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el  
certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar.  
Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo o  
tercer suplente, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso,  
asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por  
el primero o segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi  
(nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo(amos) a los dichos  
apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no  
jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, en  
todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos  
industriales, el registro de marcas y de lemas comerciales; el depósito de nombres comerciales y enseñanzas;  
la obtención de la declaración y de la autorización de denominaciones de origen; su renovación, traspaso,  
cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos;  
b) Obtención de la protección para variedades vegetales; c) Obtención y tramitación de todo lo  
relacionado con licencias de funcionamiento, registros sanitarios y cualquier otra petición ante las  
autoridades sanitarias o administrativas; d) Obtención del registro de derechos de autor para cualquier  
tipo de obra artística, literaria, científica, musical, videográfica, cinematográfica, coreográficas, o  
cualquier otra producción, en el campo artístico, científico, o literario capaz de ser reproducido o  
expresado por cualquier medio conocido ahora o por conocer en el futuro; Registro de contratos  
relacionados con la ejecución o transferencia de derechos intelectuales; Depósito de nombres de  
publicaciones periódicas y de programas de televisión; Obtención de tarifa postal reducida; e) Las  
acciones de oposición, de cancelación, de nulidad, de medidas cautelares, de tutela, de concesión de  
licencias y en general los procesos civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos  
relacionados con todos estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan; Y  
para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar,  
admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y ratificar los actos de agentes  
oficiosos.

Dado y firmado hoy 23 DE ABRIL DE 1998.

en RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Firma

Eloi de Souza Garcia

Dr. ELOI DE SOUZA GARCIA  
Presidente da FIOCRUZ



PILAR GAMBOSI MORA

REGULAMENTO DE INTERPRETE OFICIAL  
DECRETO Nº 1137 DE 1974  
MINISTÉRIO DE JUSTIÇA

38  
39



# CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

CONSULADO DE COLOMBIA  
No. 44/98.

El Suscrito Cónsul General de Colombia en Rio de Janeiro, visto los documentos presentados por los interesados, CERTIFICA: Que el Señor ANDRE LUIS PEREIRA PINTO, quien como Escribiente Sustituto de la Notaría 110. de Rio de Janeiro, Brasil, autenticó la firma del signatario del poder precedente, ejercía en la fecha las funciones indicadas y su firma corresponde a la registrada en este Consulado.

Que la Compañía FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, es una sociedad constituida de acuerdo con las leyes del Brasil y cumple su objetivo conforme a las mismas.

Que el Señor ELÓY DE SOUZA GARCIA, quien en su caracter de PRESIDENTE de la citada Compañía, confiere el poder precedente y cuya firma fué autenticada ante la Notaría 110. de Rio de Janeiro, Brasil, es su representante legal en este país.

El Cónsul no asume responsabilidad por el contenido de este documento.

Rio de Janeiro, 18 de junio de 1998.



*[Firma manuscrita]*  
**FRANCISCO JORDAN PEÑARANDA**  
Cónsul General de Colombia.

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE  
US\$ 6,00 (SEIS DÓLARES)  
PAGADO DERECHOS CONSULARES  
US\$ 100,00 (CIEN DÓLARES)

MINISTERIO DE RELACIONES  
EXTERIORES  
25.9.98  
Cada firma aparece en el  
DOCUMENTO DE SEPENA  
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO  
98 JUL -11 PM 11:06  
DESE-DE-EL-CA-12-20-98  
SANTAFÉ DE BOGOTÁ, D.C.

ADJUNTA EL INICIO  
SECRETARIA  
DECRETO 1554 DE 1994  
NOTARIA 41 DE SANTA FE DE BOGOTÁ

25 ENE 2002  
AGUSTIN MORALES RIVERA  
NOTARIO GUAYNITA Y UNO

COLOMBIA

DE COLOMBIA

AA 3129679



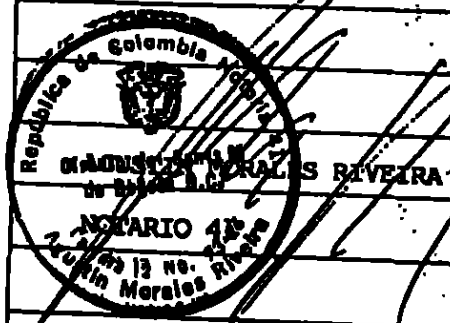
|                                    |                     |
|------------------------------------|---------------------|
| HOJA NUMERO                        | TRES                |
| DE LA ESCRITURA PUBLICA NUMER      | 1785                |
| DEL                                | 13 DE JULIO DE 1998 |
| VIENE DE LA HOJA DE PAPEL NOTARIAL |                     |
| NUMERO AA.                         | 3125363             |

La siguiente firma se recepciono  
el dia 13 JUL 1998 (Art. 8 Decr. 2148/83)

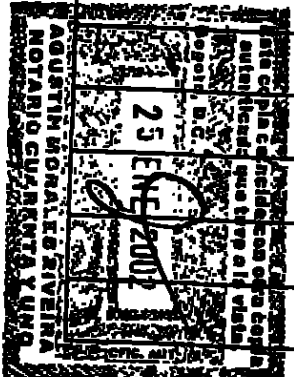
*Michelle N*

LAURA MICHELSEN NIÑO  
c.c. 39785287 DE VOTO INDICE DERECHO

EL NOTARIO



ADRIANA ESTIBAL...  
SECRETARIA  
DECRETO 1244  
NOTARIA 41 DE SANTIAO DE LOS CABALLEROS



ESTE PAPEL NO TIENE COSTO ALGUNO PARA EL USUARIO

40  
41

HOJA NUMERO -----SIETE----- ( 07 ) (ULTIMA)

ES -----PRIMERA----- ( 01 ) COPIA (FOTOCOPIA) TOMADA  
DE SU ORIGINAL CONFORME AL ARTICULO 79 DEL DECRETO 960 DE 1970.

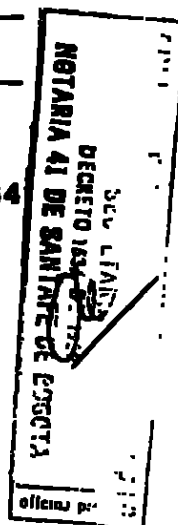
SE EXPIDE EN -----SIETE----- 07 )HOJAS  
UTILES CON DESTINO A : "LAURA MICHELSEN NIÑO".

"-----"

COPIA AUTORIZADA POR LA SECRETARIA DE CONFORMIDAD AL DECRETO 1534  
DE 1989.

DERECHOS RESOLUCION No. 0037 DEL 15 DE ENERO DE 1998.

SANTAPE DE BOGOTA D.C. "JULIO 14 DE 1998".



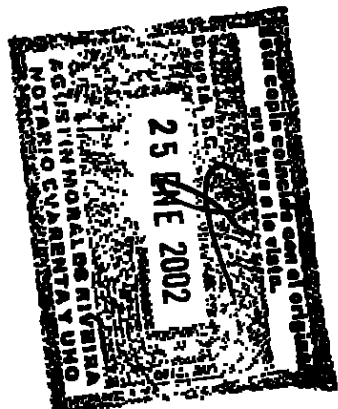
NOTA : CUALQUIER CAMBIO O MODIFICACION QUE SE REALICE SOBRE ESTAS  
COPIAS SIN LA AUTORIZACION E INTERVENCION DEL NOTARIO CONFORME A  
LA(S) LEY(ES) ES ILEGAL Y UTILIZARLA(S) PUEDE CAUSAR SANCION PENAL.

LA SECRETARIA



ADRIANA ESTHER BAUTISTA BASABE

NOTARIA 41 DEL CIRCULO DE SANTAPE DE BOGOTA D.C.



REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

USUARIO RADICADOR

PATENTE DE INVENCION [ ]

MODELO DE UTILIDAD

[ ] [ ]

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [ ] [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ] [ ]
- Descripción de la invención [ ] [ ]
- Dibujos de ser estos pertinentes [ ] [ ]
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas [ ] [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA

[ ] [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial. [ ] [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. [ ] [ ]
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño . [ ] [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. [ ] [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA

[ ] [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. [ ] [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. [ ] [ ]
- Representación gráfica del esquema de trazado [ ] [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. [ ] [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA

[ ] [ ]

Firma Responsable

Fecha: \_\_\_\_\_

Carrera 13 No. 27-00 Piso 2 mezzanino  
Conmutador: 352 08 40  
Fax: 350 52 20 e-mail: info@sic.gov.co  
Bogotá D.C. - Colombia



2020  
Bogotá, D.C.,

**Doctor:**  
**LAURA MICHELSEN NIÑO**  
**Apoderado**  
**FIOCRUZ**

**Oficio N° 05739**

|                |                                   |                         |
|----------------|-----------------------------------|-------------------------|
| <b>ASUNTO:</b> | <b>Radicación N°</b>              | <b>02-06152</b>         |
|                | <b>Solicitud Internacional</b>    | <b>PCT/BR2001/00063</b> |
|                | <b>Fecha inicio fase nacional</b> | <b>24/02/2002</b>       |
|                | <b>Trámite</b>                    | <b>011</b>              |
|                | <b>Evento</b>                     | <b>379</b>              |
|                | <b>Actuación</b>                  | <b>430</b>              |
|                | <b>Folios</b>                     | <b>001</b>              |

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- ☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 28-k) Decisión 486).
- ☐

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

  
**ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL**  
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, 25 JUL. 2003.