

**REPÚBLICA DE COLOMBIA**  
**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

Señores  
**EVELO BIOSCIENCES, INC.**

**TÍTULO DE LA SOLICITUD:** “VESÍCULAS EXTRACELULARES DE PREVOTELLA”  
**NÚMERO DE SOLICITUD INTERNACIONAL:** PCT/US2018/050212  
**FECHA DE PRESENTACIÓN INTERNACIONAL:** 10 de septiembre de 2018.  
**PRIORIDAD:** US 62/556,020 8 de septiembre de 2017  
US 62/632,859 20 de febrero de 2018  
US 62/668,556 8 de mayo de 2018

Como resultado del examen de patentabilidad realizado a la solicitud indicada en la referencia, atendiendo a lo consagrado en el artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le comunica que esta Dirección ha encontrado que la materia objeto de solicitud no cumple con algunos requisitos establecidos en la Decisión, con fundamento en los siguientes aspectos:

### **1. Objeto de la invención**

El problema planteado consiste en la necesidad de proporcionar vesículas bacterianas que permitan una mejor administración oral con el fin de mejorar la biodisponibilidad sistémica o en un nicho adecuado que mejore potenciar el efecto de tratamientos anticancerígenos e inmunomoduladores.

Para resolver dicho problema técnico, la solicitud en estudio plantea una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de bacterianas *Prevotella* aisladas.

### **2. Certificado de depósito de material biológico**

La solicitud no contiene la copia del certificado de depósito de material biológico y la invención corresponde a un producto o procedimiento relativo a dicho material, específicamente de la cepa de *Prevotella histicola* B 50329 (NRRL B 50329) cuyas vesículas y bacterias están comprendidas en la composición reclamada en la presente solicitud.

Por lo anterior, se le requiere allegar el documento faltante para dar cumplimiento a lo establecido por el literal j) artículo 26 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina y el numeral 1.2.2.2.1. del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio.

### **3. Reivindicaciones estudiadas**

El presente estudio se basa en el capítulo reivindicatorio del escrito bajo radicado N° NC2020/0004232 presentado el 6 de abril de 2020.

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

#### 4. Excepción de Patentabilidad

Conforme a lo establecido en el literal d) del artículo 20 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina:

*“No serán patentables:*

*(...) d) los métodos terapéuticos o quirúrgicos para el tratamiento humano o animal, así como los métodos de diagnóstico aplicados a los seres humanos o a animales.”*

Debido a lo anterior, esta oficina establece que el objeto de las reivindicaciones 55, 82 a 131, 152, 155 a 157 y 159 no es patentable, toda vez que, reclaman un método de tratamiento de una enfermedad por la administración de la composición a un ser humano o reclaman un método *in vivo* o *ex vivo* lo que involucra el ensayo con el individuo.

#### 5. De la solicitud de patente

##### 5.1. Título

De conformidad con el literal d) del artículo 27 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, el nombre de la invención de que se trata deberá reflejar el objeto y el campo industrial con el cual se relaciona la misma y ser concordante con la materia descrita y las reivindicaciones de la solicitud. El nombre no podrá referirse a nombres personales, marcas de productos o nombres de fantasía.

El título de la solicitud no refleja el objeto divulgado en la descripción y las reivindicaciones, por lo cual se sugiere el siguiente título: “COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE CÉLULAS Y VESÍCULAS EXTRACELULARES DE LA CEPA BACTERIANA *PREVOTELLA HISTICOLA* B 50329 (NRRL B 50329)”.

##### 5.2. Reivindicaciones

Teniendo en cuenta lo establecido en el artículo 30 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina:

*“Las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción. (...)”*

Esta oficina informa que,

Las reivindicaciones 1 y 2 no son claras ni concisas porque mencionan “*Una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de bacterianas Prevotella aisladas*”, “*Una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de Prevotella y bacterias Prevotella*” pero no mencionan la especie ni la cepa de *Prevotella*. Así mismo, menciona “*vesículas extracelulares (VE) de bacterianas Prevotella aisladas*” cuando debería ser “*vesículas extracelulares (VE) bacterianas aisladas de Prevotella histicola B 50329 (NRRL B 50329)*”. Se sugiere incluir la especie y la cepa con número de depósito de la cual se aíslan las vesículas de la invención de acuerdo con lo sustentado en el capítulo descriptivo y realizar las correcciones respectivas. Asimismo, solo mencionar una reivindicación independiente por categoría inventiva y las otras si son verdaderas modalidades como reivindicaciones dependientes.



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

La reivindicación 2 no es clara porque menciona “*vesículas extracelulares (VE) de Prevotella y bacterias Prevotella*” cuando debería ser “*células bacterianas y vesículas extracelulares (VE) de Prevotella*”. Se sugiere incluir el nombre de la especie y la cepa con número de depósito de donde son aisladas las vesículas de la invención de acuerdo con lo sustentado en el capítulo descriptivo y realizar las correcciones respectivas.

La reivindicación 3 no es clara porque menciona “*las partículas*” cuando debería ser “*las partículas*”, se sugiere realizar las correcciones respectivas.

En las reivindicaciones 3 a 8, los términos: “*al menos*”, “*aproximadamente*”, “*no más*”, son imprecisos, por lo cual, no permiten distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere eliminar dichos términos de las reivindicaciones. Adicionalmente, el término “*o no más*” no es limitativo, porque hace opcional la característica y no limita el alcance de la reivindicación. Se sugiere eliminar dicha expresión.

La estructura de la reivindicación 6 no permite identificar con claridad el objeto a proteger y las características que lo definen. Se recomienda presentar cada reivindicación conservando la estructura: “Preámbulo - enlace gramatical - parte característica”. El preámbulo indica cuál es el objeto de la invención, que suele coincidir con el título de la invención (aparato, proceso, composición, etc.) y las características técnicas conocidas en el estado de la técnica. De otro lado, la parte caracterizante comprende los elementos técnicos y/o procedimentales que en conjunto con el preámbulo se desean proteger y que distinguen la invención de las del estado de la técnica. Estas dos partes están separadas por el enlace gramatical “caracterizado por”, “comprendido por”, “que comprende”, “que consiste” o “que contiene”. Adicionalmente, no es posible identificar si es una reivindicación es dependiente o independiente dado que no se menciona ninguna dependencia. Se sugiere realizar las correcciones respectivas.

La reivindicación 9 no es clara porque menciona “*Una composición farmacéutica que comprende bacterias Prevotella aisladas de las VE*” pero no menciona la especie o cepa de la bacteria de acuerdo con lo soportado en el capítulo descriptivo. Adicionalmente, no es posible que las bacterias sean aisladas de VE, En este caso se considera que debería ser “*VE aisladas de bacterias*” en lugar de “*bacterias aisladas de VE*”. Se sugiere realizar las correcciones y aclaraciones respectivas, pero en ese caso, el objeto de dicha reivindicación sería el mismo que el de la reivindicación 1, por lo anterior, se sugiere eliminar la reivindicación 9.

Las reivindicaciones 10 a 12, 134, 135, 172, 173, 176 y 177 hacen referencia a tablas de la descripción, según la expresión “*las bacterias Prevotella son de una cepa de bacterias Prevotella que comprende una o más proteínas enumeradas en la Tabla*”. Se sugiere eliminar la referencia a las tablas. Así mismo, se menciona que la bacteria “*comprende una o más proteínas*” pero no menciona cuáles son las proteínas. Se sugiere realizar las correcciones y aclaraciones respectivas.

Las reivindicaciones 14, 133, 149, 174 y 178 no son concisas porque comprenden un número extenso especies del género bacteriano *Prevotella* y, por tanto, un número extenso de alternativas, lo que impide establecer claramente el alcance de la protección. Se sugiere mencionar únicamente las especies y cepas que tenga soporte en la descripción.



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

Las reivindicaciones 15 y 16 no son claras porque mencionan “*donde las VE de Prevotella y las bacterias Prevotella*” cuando debería ser “*donde las VE y las células de la bacteria Prevotella*”. Se sugiere realizar las correcciones respectivas.

La reivindicación 16 carece de sustento, dado que, menciona “*son de cepas o especies diferentes*” pero en el capítulo descriptivo no se evidencia que la composición comprenda vesículas que proceden de diferentes especies o cepas. Se sugiere limitar la reivindicación únicamente a la materia sustentada en la descripción.

En las reivindicaciones 17, 18, 179, 180 el término “*al menos*” es impreciso, por lo cual, no permite distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere eliminar dicho término.

Las reivindicaciones 17 y 179 mencionan que la cepa tiene al menos el 90% de la identidad de la secuencia 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de la cepa B 50329 de *Prevotella*, sin embargo, con un 90% de identidad hay una gran diversidad de cepas y las mismas no tienen sustento en el capítulo descriptivo, tampoco es claro cuál es la región de CRISPR con la que se muestra dicha identidad. Se sugiere eliminar los porcentajes de identidad de la cepa reclamada con la región del gen 16s cepa de *Prevotella* cepa B 50329.

Las reivindicaciones 18 y 180 mencionan que la cepa tiene al menos el 99% de identidad de la secuencia 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de la cepa B 50329 de *Prevotella*, sin embargo, con un 99% de identidad con el 16S hay una gran diversidad de cepas y las mismas no tienen sustento en el capítulo descriptivo, tampoco es claro cual la región de CRISPR con la que se muestra dicha identidad. Se sugiere eliminar los porcentajes de identidad de la cepa reclamada con la región del gen 16s cepa de *Prevotella* cepa B 50329.

las reivindicaciones 20 y 143 no son claras porque mencionan “*administración oral mejorada*”, lo cual no es una característica técnica ni de la composición ni del método reclamado. Se sugiere eliminar dichas reivindicaciones.

Las reivindicaciones 24, 32, 36, 40, 52, 57, 63, 66, 73, 78, 80 y 81 no son concisas porque comprenden un número extenso de agentes terapéuticos y antígenos y, por tanto, un número extenso de alternativas, lo que impide establecer claramente el alcance de la protección. Se sugiere agrupar dichas alternativas teniendo en cuenta que exista una razonable generalización y que cada una de dichas alternativas tenga soporte en la descripción. Además, dichas reivindicaciones carecen de sustento porque reclaman una composición que además comprenden un compuesto terapéutico adicional con un sinnúmero de opciones las cuales no han sido exploradas por el solicitante de acuerdo con lo sustentado en el capítulo descriptivo. Se sugiere agrupar dichas alternativas teniendo en cuenta que exista una razonable generalización y que cada una de dichas alternativas tenga soporte en la descripción.

La reivindicación 47 no es clara porque menciona “*en la que el vector bacteriano se selecciona del grupo que consiste en Mycobacterium bovis (BCG), Salmonella Typhimurium ssp., Salmonella Typhi ssp., esporas de Clostridium sp., Escherichia coli Nissle 1917, Escherichia coli K-12/LLO, Listeria monocytogenes y Shigella flexneri*” pero este grupo no corresponde a vectores si no a especies bacterianas. Se sugiere realizar las aclaraciones respectivas.



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

La reivindicación 49 no es clara porque menciona “se selecciona del grupo que consiste en *vaccinia, adenovirus, virus de ARN y viruela aviar con replicación defectuosa, virus de la viruela con replicación defectuosa, virus de la viruela del canario con replicación defectuosa, MVA con replicación defectuosa y adenovirus con replicación defectuosa*” pero este grupo no corresponde a vectores sino a grupo de virus. Se sugiere realizar las aclaraciones respectivas.

Las reivindicaciones 70 y 80 hacen referencia a Avastin®, Zaltrap®, Nexavar®, Sutent®, Votrient®, Stivarga®, Cometriq™, Humira®, Enbrel®, Remicade®, Cimzia®, Simpom®, Kineret®, Rituxan®, MabThera®, Orencia®, RoActemra/Actemra®, TYSABRI®, Benlysta®/LymphoStat-B®, Arzerra®, que son marcas registradas que no definen el producto, porque sus características técnicas pueden cambiar con el paso del tiempo, aunque conserve el mismo nombre. Se sugiere aclarar cuáles son las características técnicas del producto en cuestión.

En las reivindicaciones 80 y 81, la expresión: “*por ejemplo*” precediendo una característica no es limitativo, porque hace opcional la característica y no limita el alcance de la reivindicación. Se sugiere eliminar dicha expresión.

Las reivindicaciones 132 y 142 no son claras y carecen de suficiencia porque menciona “*Un método para generar una bacteria Prevotella modificada genéticamente, que comprende la introducción en la bacteria Prevotella de una modificación*” pero no menciona el tipo de modificación que se realiza sobre la bacteria, así mismo, se menciona un método que solamente tiene una etapa que es introducir la modificación a la bacteria, pero no se menciona las condiciones técnicas esenciales del método. Se sugiere incluir las características esenciales del método y la modificación realizada en la bacteria de acuerdo con lo divulgado en el capítulo descriptivo.

En las reivindicaciones 138, 144 y 151 la expresión “*menor o igual*” es imprecisa, por lo cual, no permiten distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere sustituirlos por términos precisos o rangos concretos.

La reivindicación 142 menciona “*Un método para generar una bacteria Prevotella modificada genéticamente, que comprende introducir en la bacteria Prevotella una modificación que da lugar a la producción de VE con una propiedad terapéutica mejorada por la bacteria Prevotella*” pero no menciona si el método es *in vivo* o *in vitro*, dado que si es un método *in vivo* podría tratarse de una excepción de patentabilidad. Se sugiere colocar en el preámbulo de la reivindicación la palabra “*in vitro*”.

Las reivindicaciones 132 a 151 y 153 carecen de suficiencia dado que mencionan un método para obtener una bacteria modificada de *Prevotella* que presenta una mayor producción de vesículas que solamente tiene la etapa de introducir una modificación en la bacteria, sin embargo, se trata de un método muy generalizado, por lo tanto, comprende un sinnúmero de opciones y condiciones para llegar a la bacteria modificada incluyendo evolución dirigida, crecimiento bajo condiciones de estrés, mutagénesis con químicos o con luz UV, entre otros. Pero, esto no sería reproducible dado que no es posible llegar a los mismos resultados de cualquier forma como lo indica el método y reconociendo que todos los mutantes generados de la bacteria no tendrán una mayor producción o unas vesículas cuyas características se consideran mejoradas. No se evidencia que las bacterias productoras de vesículas que muestran sustento en el capítulo descriptivo estén modificadas.



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

Las reivindicaciones 160 a 174 carecen de suficiencia dado que menciona un método para generar una mayor producción de vesículas que solamente tiene una etapa que es *“cultivar la bacteria Prevotella en condiciones de crecimiento que inducen estrés”*, sin embargo, se trata de un método muy generalizado que comprende un sinnúmero de opciones y condiciones para llegar a una mayor producción incluyendo crecimiento bajo condiciones de estrés, por presencia de diversos antibióticos y reactivos químicos, mutagénesis con químicos, exposición a luz UV, entre otros. Pero, esto no sería reproducible dado que no es posible que cualquier bacteria de cualquier cepa crecida bajo cualquier condición tengan una mayor producción de vesículas como lo indica el método.

La reivindicación 173 no es clara porque menciona *“son de una cepa de bacterias Prevotella está libre”* cuando debería ser *“son de una cepa de bacterias Prevotella que está libre”*. Se sugiere realizar las correcciones respectivas.

Las reivindicaciones 175 a 181 se refieren a *“un biorreactor”* pero este no está caracterizado de acuerdo con las características técnicas esenciales sino por su contenido. Se sugiere eliminar esta reivindicación.

Las reivindicaciones 142 a 146 no son claras porque mencionan resultados a alcanzar que no definen el método, puesto que las reivindicaciones incluirían no sólo la solución propuesta en la solicitud, sino todas las alternativas presentes o futuras que permitan llegar a ese resultado. Se sugiere eliminar los resultados a alcanzar de las reivindicaciones y reemplazar por las condiciones y características técnicas esenciales, estructurales o funcionales, que contribuyen a la obtención de ese efecto.

Los nombres científicos en el capítulo reivindicatorio no se encuentran en cursiva, se sugiere realizar las correcciones respectivas.

En consecuencia, es necesario que allegue las aclaraciones o modificaciones correspondientes para dar cumplimiento a lo establecido en el citado artículo.

### 5.3. Descripción

Revisado el capítulo descriptivo de la solicitud, este no divulga la invención de manera suficientemente clara y completa, para que una persona capacitada en la materia pueda ejecutarla, incumpliendo de esta forma lo establecido en el artículo 28 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

Siendo así, se sugiere que la descripción sea nuevamente presentada incluyendo la información establecida por el ya citado artículo de la norma comunitaria. Es decir:

*“(…) c) incluye una descripción de la invención en términos que permitan la comprensión del problema técnico y de la solución aportada, exponiendo diferencias y eventuales ventajas con respecto a la tecnología anterior”.*

Los componentes de la invención no pueden estar referenciados únicamente mediante sus marcas comerciales como ocurre con las marcas Avastin®, Zaltrap®, Nexavar®, Sutent®, Votrient®, Stivarga®, Cometriq™, Humira®, Enbrel®, Remicade®, Cimzia®, Simpom®, Kineret®, Rituxan®, MabThera®, Orencia®, RoActemra/Actemra®, TYSABRI®, Benlysta®/LymphoStat-B®, Arzerra®, Bexxar®, Campath®, Yervoy™,



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

Campath®, Arimidex®, Targretin®, Velcade®, Bosulif®, Adcetris®, Cometriq™, Kyprolis™, Erbitux®, Xalkori®, Sprycel®, Ontak®, Tarceva®, Afinitor®, Aromasin®, Faslodex®, Iressa®, Zevalin®, Gleevec®, Femara®, Tasigna®, Perjeta™, Folutyn®, Stivarga®, Rituxan®, Istodax®, Nexavar®, Sutent®, Fareston®, Herceptin®, Vesanoid®, Caprelsa®, Zelboraf®, Zolanza®, Panretin® en la página(s) 117 a 119, porque su composición puede cambiar con el paso del tiempo, aunque conserve el mismo nombre. Se sugiere aclarar cuáles son las características del producto en cuestión.

En la página 10 la descripción de las figuras 1A, 1B menciona “*intraperitoneal A*” pero no es claro a que se refiere la A. se sugiere realizar las aclaraciones pertinentes. En la figura 1C se menciona “*vía ntraperitoneal*” cuando debería ser “*vía intraperitoneal*”; en la figura 6A se menciona “*lainflamación*” cuando debería ser “*la inflamación*”;

En la página 160 se menciona “*Macaje de VE bacterianas*” cuando debería ser “*Marcaje de VE bacterianas*”,

En la página 162 se menciona “*VE bacterianAs*” cuando debería ser “*VE bacterianas*”.

En la página 182 se menciona “*ensayos de activación inmuniitaria*” cuando debería ser “*ensayos de activación inmunitaria*”.

En la página 194 se menciona “*ratones se vuleven*” cuando debería ser “*ratones se vuelven*”.

En la página 202 se menciona “*hemocultipo*” cuando debería ser “*hemocultivo*”.

En la página 203 se menciona “*la presence of diarrea*” cuando debería ser “*la presencia de diarrea*”.

En la página 204 se menciona “*un endoscopio par animales*” cuando debería ser “*un endoscopio para animales*”-

En la página 210 se menciona “*d edexametasona*” cuando debería ser “*de dexametasona*” y se menciona “*bimasa*” cuando debería ser “*biomasa*”.

En la página 213 aparece un cuadro junto a la cifra “*10 □g*” en lugar de las unidades respectivas, se sugiere realizar las correcciones respectivas. Así mismo, menciona “*sistema inmunológico*” cuando debería ser “*sistema inmunológico*”.

En la página 214 se menciona “*DT1espontáneamente*” cuando debería ser “*DT1 espontáneamente*”

En la página 226 se menciona “*aalgunos*” cuando debería ser “*algunos*”.

En la página 242 tiene la continuación de la tabla 3, donde solo se menciona el encabezado de la tabla y la palabra inmediato. Se sugiere reacomodar la tabla para que no quede la palabra “*inmediato*” sola.

En la página 227 se menciona “*yla*” cuando debería ser “*y la*”.



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

En el capítulo descriptivo se menciona un método para producir una bacteria modificada de *Prevotella* con el fin de que tenga una mayor producción de vesículas y con mejores características, el método comprende un sinnúmero de opciones y condiciones para llegar a la bacteria modificada incluyendo evolución dirigida, crecimiento bajo condiciones de estrés, mutagénesis con químicos o con luz UV, entre otros. Pero, una persona normalmente versada en la materia no podría reproducir la invención y llegar a los mismos resultados de cualquier forma como lo indica el método o realizando cualquier forma de modificación en cualquier cepa y especie, además, es de resaltar que no todos los mutantes generados de la bacteria por un proceso de mutagénesis aleatoria tendrán una mayor producción o unas vesículas cuyas características se consideran mejoradas o con una característica terapéutica mejorada. No se evidencia que las bacterias productoras de vesículas que muestran sustento en el capítulo descriptivo estén manipuladas dado que las bacterias mencionadas son naturales.

En la descripción se menciona un método de crecimiento de una bacteria de *Prevotella* para aumentar la producción de vesículas extracelulares, haciendo crecer la bacteria bajo condiciones de estrés, sin embargo, se trata de un método muy generalizado que comprende un sinnúmero de opciones y condiciones para llegar a una mayor producción incluyendo evolución dirigida, crecimiento bajo condiciones de estrés, mutagénesis con químicos, exposición a luz UV, entre otros. Pero, esto no sería reproducible dado que no es posible que cualquier bacteria crecida bajo cualquier condición tengan una mayor producción de vesículas como lo indica el método.

Se debe tener en cuenta que, de acuerdo con el artículo 34 de la citada Decisión, dicha modificación no podrá ampliar la divulgación inicial; por lo que, en caso de agregar nuevos elementos en la solicitud, la descripción modificada no será aceptada.

#### 5.4. Dibujos

De conformidad con lo establecido por el artículo 28 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, los dibujos de la solicitud no cumplen los requisitos necesarios para darle claridad a la invención, se indica que estos deberán ser elaborados siguiendo las reglas del dibujo técnico con trazos de color negro, numerados individual y consecutivamente y que deben contener números de referencia para designar cada una de las piezas o elementos mecánicos o eléctricos, en cortes o vistas de manera que se muestren todos los detalles de la invención.

Las figuras 6A y 6B mencionan en el eje Y “*incial*” cuando debería ser “*inicial*”, así mismo, en el eje X menciona “*CFU*” cuando la sigla en español es “*UFC*”.

#### 5.5. Listado de secuencias

De conformidad con lo establecido por el artículo 28 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la solicitud se refiere a secuencias de nucleótidos o aminoácidos en el capítulo descriptivo. Se sugiere presentar el listado de secuencias en un documento aparte al capítulo descriptivo.

### 6. Unidad de invención

Conforme a lo establecido por el artículo 25 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, teniendo en cuenta que el concepto común es una composición



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) bacterianas de *Prevotella* y, dado que, este se encuentra divulgado en el estado de la técnica, específicamente en el documento Prado, R. M., *et al.*<sup>1</sup> , la solicitud carece de unidad de invención debido a que reclama más de un grupo inventivo sin la presencia de características o elementos técnicos nuevos e inventivos que sean comunes a todas las invenciones.

Por lo tanto, la invención presenta diferentes conceptos técnicos inventivos así:

Grupo inventivo 1: Composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares aisladas de la bacteria *Prevotella histicola* B 50329 (NRRL B 50329), además de un compuesto terapéutico adicional o composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares y bacterias de *Prevotella histicola* B 50329 (NRRL B 50329), además un compuesto terapéutico adicional (Reivindicaciones 1 a 54 y 56 a 81, parcialmente).

Grupo inventivo 2: Composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares aisladas de la bacteria *Prevotella melanogenica*, además de un compuesto terapéutico adicional (Reivindicaciones 1, 10 a 12, 14, 17 a 19, 20 a 54 y 56 a 81, parcialmente).

Grupo inventivo 3: Composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares y bacterias de *Prevotella melanogenica*, además de un compuesto terapéutico adicional (Reivindicaciones 2 a 8, 10 a 13, 14, 15, 16, 17 a 19, 20 a 54 y 56 a 81, parcialmente).

7. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha para determinar el estado de la técnica es el 8 de septiembre de 2017, que corresponde a la fecha de presentación de la solicitud de prioridad.

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta, se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud

| Ítem | Documento                                                                            | Título                                                                                                                                                                      | Fecha de publicación |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| D1   | Prado, R. M., <i>et al.</i><br><i>Conference: Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology.</i> | “Protein content and activity of outer membrane vesicles produced by <i>Prevotella ruminicola</i> ”                                                                         | Junio de 2014        |
| D2   | US8617536B2                                                                          | “ <i>Prevotella histicola</i> preparations and the treatment of autoimmune conditions”                                                                                      | 23 de agosto de 2012 |
| D3   | Madeira, H. M., <i>et al.</i><br><i>Applied and Environmental Microbiology</i>       | “Biochemical and mutational analysis of a gingipain-like peptidase activity from <i>Prevotella ruminicola</i> B(1)4 and its role in ammonia production by ruminal bacteria” | Febrero de 1997      |
| D4   | Baart, G. J., <i>et al.</i><br><i>Vaccine-</i>                                       | “Scale-up for bulk production of vaccine against meningococcal disease”                                                                                                     | 26 de junio de 2007  |

<sup>1</sup>Prado, R. M., *et al.*, (2014). Protein content and activity of outer membrane vesicles produced by *Prevotella ruminicola* Conference: Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology. Recuperado desde: [https://www.researchgate.net/publication/305315761\\_Protein\\_content\\_and\\_activity\\_of\\_outer\\_membrane\\_vesicles\\_produced\\_by\\_Prevotella\\_ruminicola](https://www.researchgate.net/publication/305315761_Protein_content_and_activity_of_outer_membrane_vesicles_produced_by_Prevotella_ruminicola)



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

|    |                                                            |                                                                                                                                                      |                     |
|----|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| D5 | US7384645B2                                                | “Outer membrane vesicles from gram negative bacteria and use as a vaccine”                                                                           | 10 de junio de 2008 |
| D6 | De Waterbeemd <i>et al.</i> Vaccine                        | “Improved OMV vaccine against <i>Neisseria meningitidis</i> using genetically engineered strains and a detergent-free purification process. Vaccine” | 5 de Julio de 2020  |
| D7 | Takumi, S., <i>et al.</i> Free radical biology & medicine, | “Oxygen induces mutation in a strict anaerobe, <i>Prevotella melaninogenica</i> ”                                                                    | 15 de mayo de 2008  |
| D8 | Teles, R. F. B                                             | “Production of outer membrane vesicles by the human pathogen <i>Burkholderia cenocepacia</i> : purification and preliminary characterization”        | 2016                |

D1<sup>2</sup> divulga una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares aisladas de la cepa ATCC19189 de *Prevotella ruminicola* y buffer TM, donde la composición está libre de células y de contaminación (Pág. 2. Secciones – Materials and Methods y Results, Figs. 1 y 6 a 9).

D2<sup>3</sup> divulga una composición farmacéutica que comprende células de la cepa B 50329 (NRRL 50329) de *Prevotella histicola* y que está diseñada para su administración oral para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como esclerosis múltiple y artritis reumatoidea e inflamación (Pág. 17, summary, Reivs. 1 a 18).

D3<sup>4</sup> divulga un método de mutagénesis química para obtener mutantes defectuosos de la actividad peptidasa de la cepa bacteriana de *Prevotella ruminicola* B(1)4 (Abstract).

D4<sup>5</sup> divulga el diseño de un biorreactor para la producción a granel de una vacuna comprendiendo vesículas extracelulares de *N. meningitidis*, este está realizado para un volumen de 1,2 m3, equipado con un impulsor de turbina para la dispersión de gas, complementado con un bombeo ascendente y un rompedor de espuma de placa giratoria para contener la espuma en el biorreactor (Todo el documento).

D5<sup>6</sup> divulga una composición farmacéutica que comprende vesículas bacterianas extracelulares obtenidas desde bacterias del género *Neisseria* y compuestos biológicamente activos, además métodos para elaboración de dichas composiciones (Reivs. 1 a 4, Págs. 7 a 9, Abstract).

D6<sup>7</sup> divulga un método para la manipulación genética de cepas de la especie bacteriana *Neisseria meningitidis* con el fin de mejorar el rendimiento en la producción de vesículas

<sup>2</sup>Prado, R. M., *et al.*, (2014). Protein content and activity of outer membrane vesicles produced by *Prevotella ruminicola* Conference: Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology. Recuperado desde: [https://www.researchgate.net/publication/305315761\\_Protein\\_content\\_and\\_activity\\_of\\_outer\\_membrane\\_vesicles\\_produced\\_by\\_Prevotella\\_ruminicola](https://www.researchgate.net/publication/305315761_Protein_content_and_activity_of_outer_membrane_vesicles_produced_by_Prevotella_ruminicola)

<sup>3</sup><https://patentimages.storage.googleapis.com/25/85/85/517dfd492635f2/US8617536.pdf>

<sup>4</sup>Madeira, H. M., *et al.* (1997). Biochemical and mutational analysis of a gingipain-like peptidase activity from *Prevotella ruminicola* B (1)4 and its role in ammonia production by ruminal bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 63(2), 670–675. Recuperado desde: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9023945/>

<sup>5</sup>Baart, G. J., *et al.* (2007). Scale-up for bulk production of vaccine against meningococcal disease. *Vaccine*, 25(34), 6399–6408. Recuperado desde: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X07006809?via%3Dihub>

<sup>6</sup><https://patentimages.storage.googleapis.com/6c/fa/0e/9637a5e6a1cf63/US7384645.pdf>

<sup>7</sup>De Waterbeemd *et al.* (2010). Improved OMV vaccine against *Neisseria meningitidis* using genetically engineered strains and a detergent-free purification process. *Vaccine*, 28(30), 4810 – 4816. Recuperado desde: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa\\_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6\\_mc7Ryq213YBJ-\\_U3HiFP4KIS7IYRx7\\_\\_7PjEkxyOc2Z8mz8W-zittNpA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6_mc7Ryq213YBJ-_U3HiFP4KIS7IYRx7__7PjEkxyOc2Z8mz8W-zittNpA)

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

extracelulares y mejorar las características de estas con el fin de ser incluidas en una composición farmacéutica como una vacuna sin agregación y protección cruzada que proporciona protección contra *N. meningitidis* serogrupo B y que es potencialmente segura y efectiva para su uso en humanos (Abstract).

D7<sup>8</sup> divulga un método para la obtención de mutantes modificados genéticamente de una cepa de *Prevotella melaninogenica* GAI 5490 el cual consiste en cultivar la bacteria en condiciones de crecimiento que inducen estrés como es el caso de exposición a oxígeno o a etil metanosulfonato, donde la cepa fue expuesta a oxígeno por burbujeo en una tasa de 100 ml/mon por 10 segundos o mediante la adición de una concentración de 0,5% v/v de etil metanosulfonato bajo condiciones de anaerobiosis (Págs. 1859 – 1860, sección - Materials and methods).

D8<sup>9</sup> divulga una método para mejorar la producción de vesículas extracelulares de una cepa de *Burkholderia cenocepacia*, el cual consiste en exponer las células bacterianas a condiciones de estrés durante su crecimiento como es el caso de disponibilidad reducida de oxígeno lo cual conduce a un rendimiento de VE de 1,5 mg/L en comparación con un rendimiento de 0,9 mg/L en condiciones normales de oxígeno (Pág. 24, Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by *B. cenocepacia* K56-2, Tabla 4.2).

8. Examen de Patentabilidad

De acuerdo con lo establecido en el artículo 14 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, en el cual se establecen los requisitos de patentabilidad objeto de la solicitud en estudio, esta Oficina presenta a continuación el análisis de los requisitos de patentabilidad.

8.1. Novedad

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 1 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “Una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de bacterianas *Prevotella* aisladas. (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                                                          | D1                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de bacterianas <i>Prevotella</i> aisladas. | Una composición farmacéutica que comprende (Pág. 2, sección – materials and method. Results). vesículas extracelulares (VE) aisladas de bacterias de <i>Prevotella</i> (todo el documento). |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 1 no es nueva.

Adicionalmente, D1 menciona que la composición comprende buffer TM donde el

<sup>8</sup>Takumi, S., et al. (2008). Oxygen induces mutation in a strict anaerobe, *Prevotella melaninogenica*. *Free radical biology & medicine*, 44(10), 1857–1862. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18343236/>  
<sup>9</sup>Teles, R. F. B. (2016). Production of outer membrane vesicles by the human pathogen *Burkholderia cenocepacia*: purification and preliminary characterization. Thesis to obtain the Master of Science Degree. *Técnico Lisboa*, pp, 51. Recuperado desde: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt>



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

rendimiento de las vesículas como peso seco fue de 1,05% cuando se partió de un cultivo en medio Hobson’s M2 o 0,97% cuando se partió de buffer TM, así mismo, dichas vesículas pueden ser inmunomarcadas con oro para fosfatasa alcalina y se obtuvieron en una composición limpia y libre de células (Pág. 2, sección – results, Figs. 6 a 10). D1 también divulga un método de obtención de las vesículas que involucra el cultivo de la cepa de *Prevotella ruminicola* ATCC19189, centrifugación, filtración y ultracentrifugación (Fig. 1).

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 2 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “Una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares (VE) de *Prevotella* y bacterias *Prevotella* (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                         | D2                                                                                                      |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Una composición farmacéutica que comprende         | Una composición farmacéutica que comprende (Reivs. 1 a 18).                                             |
| vesículas extracelulares (VE) de <i>Prevotella</i> | Sobrenadantes de cultivo de la cepa <i>Prevotella histicola</i> B 50329 (Págs. 17 y 18, Reivs. 1 a 18). |
| y bacterias <i>Prevotella</i> .                    | Células de la bacteria <i>Prevotella histicola</i> B 50329 (Págs., 17 y 18, Reivs. 1 a 18).             |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 2 no es nueva.

Adicionalmente, D2 menciona que la composición comprende el sobrenadante del cultivo de la cepa *Prevotella histicola* B 50329 y las células de dicha cepa que pueden estar vivas, muertas o atenuadas en una concentración 1 x 10<sup>7</sup> a 1x 10<sup>11</sup> UFC, diseñada para su administración oral (Pág. 18, Col. Izq).

Las reivindicaciones dependientes 3 a 8 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 9 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “Una composición farmacéutica que comprende bacterias *Prevotella* aisladas de las VE (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                             | D2                                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Una composición farmacéutica que comprende bacterias <i>Prevotella</i> | Una composición farmacéutica que comprende bacterias <i>Prevotella</i> (Todo el documento). |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 9 no es nueva.

Adicionalmente, D2 menciona que la composición comprende células de la cepa B 50329 (NRRL 50329) de *Prevotella histicola* y que está diseñada para su administración oral para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como esclerosis múltiple y artritis reumatoidea e inflamación, donde además se incluye el sobrenadante de cultivo (Pág.

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

18, Col. Izq), y las células de *Prevotella* en la composición pueden estar vivas, muertas o atenuadas en una concentración 1 x 10<sup>7</sup> a 1x 10<sup>11</sup> UFC (Pág. 18, Col. Izq).

Las reivindicaciones dependientes 10 a 18 y 20 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 132 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “*Un método para generar una bacteria Prevotella modificada genéticamente, que comprende la introducción en la bacteria Prevotella de una modificación que da como resultado una producción incrementada de VE (...)*”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                                    | D3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Un método para generar una bacteria <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende | Un método para generar una bacteria de <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende (Abstract, Págs. 670 y 671, sección - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B14)                                                                                                                                           |
| la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación                          | la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2) |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 132 no es nueva.

Adicionalmente, D3 menciona que el método de generación de la bacteria modificada es mutagénesis química donde se obtienen mutantes defectuosos de la actividad peptidasa de la cepa bacteriana de *Prevotella ruminicola* B (1)4 (Abstract). Donde un cultivo de la bacteria fue crecido por la adición de etil metanosulfonato (EMS9 a una concentración de 0,05% (vol/vol) durante 5, 10, 15, 30, 45 y 60 min en condiciones de anaerobiosis, posteriormente, se lavaron las células para eliminar el agente químico de mutagénesis y se resuspendieron en medio fresco para después ser plaqueadas en medio de cultivo EM-agar y determinar el número de células viables, donde las colonias obtenidas fueron usadas para seleccionar mutantes deficientes de gly-arg-Mnase por un ensayo de cribado (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagénesis of *P. ruminicola* B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants).

Las reivindicaciones dependientes 133 a 138 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 142 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “*Un método para generar una bacteria Prevotella modificada genéticamente, que comprende introducir en la bacteria Prevotella una modificación que da lugar a la producción de VE con una propiedad terapéutica mejorada por la bacteria Prevotella (...)*”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                                    | D3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Un método para generar una bacteria <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende | Un método para generar una bacteria de <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende (Abstract, Págs. 670 y 671, sección - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B14)                                                                                                                                           |
| la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación                          | la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2) |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 142 no es nueva.

Adicionalmente, D3 menciona que el método de generación de la bacteria modificada es mutagénesis química donde se obtienen mutantes defectuosos de la actividad peptidasa de la cepa bacteriana de *Prevotella ruminicola* B (1)4 (Abstract). Donde un cultivo de la bacteria fue crecido por la adición de etil metanosulfonato (EMS9 a una concentración de 0,05% (vol/vol) durante 5, 10, 15, 30, 45 y 60 min en condiciones de anaerobiosis, posteriormente, se lavaron las células para eliminar el agente químico de mutagénesis y se resuspendieron en medio fresco para después ser plaqueadas en medio de cultivo EM-agar y determinar el número de células viables, donde las colonias obtenidas fueron usadas para seleccionar mutantes deficientes de gly-arg-Mnase por un ensayo de cribado (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagénesis of *P. ruminicola* B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants).

Las reivindicaciones dependientes 143 a 154 y 158 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 175 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “*Un biorreactor que comprende bacterias Prevotella (...)*”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES | D4                                  |
|----------------------------|-------------------------------------|
| Un biorreactor             | Un biorreactor (Todo el documento). |

De acuerdo con la comparación realizada anteriormente se concluye que la materia de la reivindicación 175 no es nueva.

Adicionalmente, D4 divulga que el porcentaje de vesículas obtenido en el biorreactor es 70% por encima de la densidad celular (Fig. 3, Pág. 6405, sección - 3.4. Biomass growth, substrate consumption and product quality).

Las reivindicaciones dependientes 176 a 181 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

8.2. Nivel Inventivo

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 21 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, donde la composición comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional.(...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                     | D1                                                                                            | D5                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Una composición farmacéutica que comprende                                     | Una composición farmacéutica que comprende (Pág. 2, sección – materials and method. Results). | Una composición farmacéutica que comprende (Reivs. 1 a 4).                                                                                   |
| vesículas extracelulares (VE) de bacterianas <i>Prevotella</i> aisladas.       | vesículas extracelulares (VE) aisladas de bacterias de <i>Prevotella</i> (todo el documento). | vesículas extracelulares (VE) bacterianas aisladas (Reivs. 1 a 4).                                                                           |
| donde la composición comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional. | No menciona                                                                                   | en la que la composición comprende además un compuesto terapéutico adicional (Págs. 6 y 7, Sección, summary of invention; Pág. 8, Col. Der). |

D1 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 21, ya que divulga una composición farmacéutica que comprende vesículas extracelulares aisladas de la cepa ATCC19189 de *Prevotella ruminicola* y buffer TM, donde la composición está libre de células y de contaminación (Pág. 2. Secciones – Materials and Methods y Results, Figs. 1 y 6 a 9).

Además, D1 divulga que la composición comprende buffer TM donde el rendimiento de las vesículas como peso seco fue de 1,05% cuando se partió de un cultivo en medio Hobson’s M2 ó 0,97% cuando se partió de buffer TM, así mismo, dichas vesículas pueden ser inmunomarcadas con oro para fosfatasa alcalina y se obtuvieron en una composición limpia y libre de células (Pág. 2, sección – results, Figs. 6 a 10). D1 también divulga un método de obtención de las vesículas que involucra el cultivo de la cepa de *Prevotella ruminicola* ATCC19189, centrifugación, filtración y ultracentrifugación (Fig. 1).

La diferencia entre la invención definida entre la reivindicación 21 y la composición divulgada en D1, consiste en que comprende un agente terapéutico adicional.

No hay evidencia de que el incluir un agente terapéutico adicional en la composición de *Prevotella* proporcione una composición con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que una composición de vesículas extracelulares de *Prevotella* con buen rendimiento y calidad ya había sido previsto en dicho documento (Pág. 2. Secciones – Materials and Methods y Results, Figs. 1 y 6 a 9).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar la composición conocida en D1 para proporcionar una composición alternativa?

Sin embargo, el incluir un agente terapéutico adicional en una composición de vesículas extracelulares bacterianas ya está descrito en D5 que se refiere a una composición farmacéutica que comprende vesículas bacterianas extracelulares obtenidas desde

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

bacterias del género *Neisseria* y compuestos biológicamente activos, además métodos para elaboración de dichas composiciones (Reivs. 1 a 4, Págs. 7 a 9, Abstract).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir un agente terapéutico adicional como lo enseña D5 en la composición de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 21. Por lo cual se considera obvia.

Además, D5 menciona que el compuesto terapéutico adicional es un antígeno o puede ser un componente biológicamente activo, distinto de un antígeno que se selecciona del grupo: adyuvantes solubles, citocinas, agentes inmunomoduladores, productos farmacéuticos, excipientes, proteínas, polipéptidos y agentes de farmacológica o farmacéuticamente activos (Pág. 7, Col. Izq y Pág, 8, Col. der).

Las reivindicaciones dependientes 22 a 54 y 56 a 81 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo a la composición de la reivindicación 21, por lo cual se considera que carece de nivel inventivo.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 139 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: *“El método de una cualquiera de las reivindicaciones 132 a 138, donde el método comprende una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE. (...)”*. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                                                                  | D3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | D6                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Un método para generar una bacteria <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende                               | Un método para generar una bacteria de <i>Prevotella</i> modificada genéticamente, que comprende (Abstract, Págs. 670 y 671, sección - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B14)                                                                                                                                           | Un método para generar una bacteria modificada genéticamente que comprende (Fig. 1A, Pág. 4811 y 4812 sección – 2. Materials and Methods).                                                                                       |
| la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación                                                        | la introducción en la bacteria <i>Prevotella</i> de una modificación (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2) | La introducción en la bacteria una modificación (Fig. 1A, Pág. 4811 y 4812 sección – 2. Materials and Methods).                                                                                                                  |
| donde el método comprende una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE. | No menciona                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | donde el método comprende una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE (Fig. 1A, Pág. 4811 y 4812 sección – 2. Materials and Methods, Págs. 4813 y 4814, sección - Results). |

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

D3 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 139, ya que divulga un método de mutagénesis química para obtener mutantes defectuosos de la actividad peptidasa de la cepa bacteriana de *Prevotella ruminicola* B (1)4 (Abstract). Donde un cultivo de la bacteria fue crecido por la adición de etil metanosulfonato (EMS9 a una concentración de 0,05% (vol/vol) durante 5, 10, 15, 30, 45 y 60 min en condiciones de anaerobiosis, posteriormente, se lavaron las células para eliminar el agente químico de mutagénesis y se resuspendieron en medio fresco para después ser plaqueadas en medio de cultivo EM-agar y determinar el número de células viables, donde las colonias obtenidas fueron usadas para seleccionar mutantes deficientes de gly-arg-Mnase por un ensayo de cribado (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagénesis of *P. ruminicola* B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants).

La diferencia entre la invención definida entre la reivindicación 139 y el método de D3, consiste en que el método comprende una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE.

No hay evidencia de incluir una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE proporcione un método con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D3, puesto que un método para obtener una bacteria modificada genéticamente de *Prevotella* ya había sido previsto en dicho documento (Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of *P. ruminicola* B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el método conocido en D3 para proporcionar un método alternativo?

Sin embargo, el incluir que el método de obtención de una bacteria modificada genéticamente comprenda una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de VE ya está divulgado en D6 que se refiere a un método para la manipulación genética de cepas de la especie bacteriana *Neisseria meningitidis* con el fin de mejorar el rendimiento en la producción de vesículas extracelulares y mejorar las características de estas con el fin de ser incluidas en una composición farmacéutica como una vacuna sin agregación y protección cruzada que proporciona protección contra *N. meningitidis* serogrupo B y que es potencialmente segura y efectiva para su uso en humanos (Abstract, Págs. 4811 y 4812, sección – 2. Materials and methods).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir una selección de bacterias mutagenizadas usando un ensayo que detecta una mayor producción de vesículas como lo enseña el documento D6 para cepas de *Neisseria* en el método de *Prevotella* de D3, para así llegar al objeto de la reivindicación 139. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente, D6 menciona que el método comprende permite la introducción en la bacteria que conduce a una mayor producción de las VE para lo cual se logra la determinación del rendimiento en la producción de vesículas (Págs. 4811 y 4812 – sección – OMV purification processes), así como la determinación de la toxicidad, la composición, el tamaño y la agregación de las vesículas, y su efecto sobre la inmunogenicidad (Págs. 48 y 4812, sección 2. Materials and Methods). Mostrando baja



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

toxicidad para las vacunas que comprenden VE desde mutantes bacterianos ΔRdOMV (extracción usando detergente), las cuales además general alta inmunogenicidad y tienen un mayor rendimiento en la producción de VE (Pág. 4813, sección – 3.2. Toxicity and functional immunogenicity, Figs. 2A y 3A, Tabla 2).

Además, de que métodos para generar mutaciones por inserción de una modificación genética en una bacteria de *Prevotella* están ampliamente descritas en la literatura<sup>10</sup>. Así mismo, está ampliamente divulgado en la literatura que diferentes condiciones de estrés conducen a un mayor rendimiento en la producción de vesículas extracelulares bacterianas lo cual conduce a que una forma de obtener bacterias genéticamente modificadas que llevan a dicha características es el uso de evolución dirigida o mediante mutagénesis<sup>11</sup>.

Las reivindicaciones dependientes 140 a 141 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo a la composición de la reivindicación 139, por lo cual se considera que carece de nivel inventivo.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 160 (Radicado N° NC2020/0004232 del 6 de abril de 2020) refiere a: “Un método de cultivo de una bacteria *Prevotella* para una mejor producción de VE, comprendiendo el método cultivar la bacteria *Prevotella* en condiciones de crecimiento que inducen estrés (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

| CARACTERÍSTICAS ESENCIALES                                                                            | D7                                                                                                                                                     | D8                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Un método de cultivo de una bacteria <i>Prevotella</i> para una mejor producción de VE, comprendiendo | Un método de cultivo de una bacteria <i>Prevotella</i> para generar mutaciones (Abstract)                                                              | Un método de cultivo de una bacteria que comprende (Pág. 24, Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by <i>B. cenocepacia</i> K56-2)                                                                                       |
| el método cultivar la bacteria <i>Prevotella</i> en condiciones de crecimiento que inducen estrés     | el método cultivar la bacteria <i>Prevotella</i> en condiciones de crecimiento que inducen estrés (Págs. 1859 – 1860, sección - Materials and methods) | Cultivar una bacteria de <i>Burkholderia</i> bajo condiciones de estrés que da como resultado una mayor producción de las VE (Pág. 24, Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by <i>B. cenocepacia</i> K56-2, Tabla 4.2). |

D7 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 160, ya que divulga un método para la obtención de mutantes modificados genéticamente de una cepa de *Prevotella melaninogenica* GAI 5490 el cual consiste en cultivar la bacteria en condiciones de crecimiento que inducen estrés como es el caso de exposición a oxígeno o a etil metanosulfonato, donde la cepa fue expuesta

10 Takumi, S., et al. (2008). Oxygen induces mutation in a strict anaerobe, *Prevotella melaninogenica*. *Free radical biology & medicine*, 44(10), 1857–1862. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18343236/>

11McBroom, A. J., & Kuehn, M. J. (2007). Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. *Molecular microbiology*, 63(2), 545–558. Recuperado desde: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa\\_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6\\_mc7Ryq213YBJ-\\_U3HiFP4KIS7IYRx7\\_\\_\\_7PjEkxyOc2Z8mz8W-zittNpA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6_mc7Ryq213YBJ-_U3HiFP4KIS7IYRx7___7PjEkxyOc2Z8mz8W-zittNpA)

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

a oxígeno por burbujeo en una tasa de 100 ml/min por 10 segundos o mediante la adición de una concentración de 0,5% v/v de etil metanosulfonato bajo condiciones de anaerobiosis (Págs. 1859 – 1860, sección - Materials and methods).

Además, D7 divulga las muestras que habían sido expuestas al oxígeno se utilizaron para la detección de mutaciones en el gen *rpoB*, donde a partir de 66 mutantes resistentes a rifampicina hubieron 32 que tenían cambios en un solo nucleótido que condujeron a los cambios en aminoácidos Gln474 a Lys, His487 a Asn, Asp477 a Tyr, Ala483 a Asp, y Ser492 a Tyr (Tabla 1).

La diferencia entre la invención definida entre la reivindicación 160 y el método de D7, consiste en que las condiciones de crecimiento bajo estrés deben conducir a una mayor producción de vesículas.

No hay evidencia de que el crecimiento de la bacteria bajo condiciones de estrés proporcione un método con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D7, puesto que un método para obtener una bacteria con un genotipo y fenotipo diferente a la cepa silvestre de *Prevotella* ya había sido previsto en dicho documento (Págs. 1859 – 1860, sección - Materials and methods, Tablas 1 y 2, Fig. 5).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el método conocido en D7 para proporcionar un método alternativo?

Sin embargo, el incluir el crecimiento de una cepa bacteriana bajo condiciones de estrés para obtener una mayor producción de vesículas extracelulares ya está divulgado en D8 que refiere a un método para mejorar la producción de vesículas extracelulares de una cepa de *Burkholderia cenocepacia*, el cual consiste en exponer las células bacterianas a condiciones de estrés durante su crecimiento como es el caso de disponibilidad reducida de oxígeno lo cual conduce a un rendimiento de VE de 1,5 mg/L en comparación con un rendimiento de 0,9 mg/L en condiciones normales de oxígeno (Pág. 24, Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by *B. cenocepacia* K56-2, Tabla 4.2).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir una etapa de crecimiento bajo condiciones de estrés de una bacteria como lo enseña el documento D8 en el método de D7, para así llegar al objeto de la reivindicación 160. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente, D8 menciona que la condición de estrés podría ser por condiciones limitadas de oxígeno, por concentraciones inhibitoria de sales, estrés oxidativo, temperatura, exposición a productos químicos, entre otros (Pág. 5) y que la purificación exitosa de EVs de la cepa de *B. cenocepacia* AU1054 permitió la realización de una evaluación preliminar de los efectos citotóxicos en las células huésped tanto *in vitro* en células epiteliales bronquiales, e *in vivo*, con *Galleria melonella* donde los ensayos *in vivo* no revelaron efectos citotóxicos en las larvas de las cantidades de EVs utilizadas (Págs. 31 y 32, sección - 4.8 Cytotoxicity assays, Fig. 4.14, Tabla. 4.3).

Además, está ampliamente divulgado en la literatura que diferentes condiciones de estrés conducen a un mayor rendimiento en la producción de vesículas extracelulares



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

bacterianas lo cual conduce a que una forma de obtener bacterias genomanipladas que llevan a dicha características es el uso de evolución dirigida o mediante mutagénesis<sup>12</sup>.

Las reivindicaciones dependientes 161 a 174 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo a la composición de la reivindicación 160, por lo cual se considera que carece de nivel inventivo.

9. Conclusión

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

| Ítem | Documento                                                           | Reivindicaciones afectadas | Requisito que afecta |
|------|---------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| D1   | Prado, R. M., et al. Conference: Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology. | 1                          | Novedad              |
|      |                                                                     | 21 a 54 y 56 a 81          | Nivel inventivo      |
| D2   | US8617536B2                                                         | 2 a 18 y 20                | Novedad              |
| D3   | Madeira, H. M., et al. Applied and Environmental Microbiology       | 132 a 138, 142 a 154 y 158 | Novedad              |
|      |                                                                     | 139 a 141                  | Nivel inventivo      |
| D4   | Baart, G. J., et al. Vaccine-                                       | 175 a 181                  | Novedad              |
| D5   | US7384645B2                                                         | 21 a 54 y 56 a 81          | Nivel inventivo      |
| D6   | De Waterbeemd et al. Vaccine                                        | 139 a 141                  | Nivel inventivo      |
| D7   | Takumi, S., et al. Free radical biology & medicine,                 | 160 a 174                  | Nivel inventivo      |
| D8   | Teles, R. F. B                                                      | 160 a 174                  | Nivel inventivo      |

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

Si como respuesta a este requerimiento, el solicitante modifica el capítulo reivindicatorio, deberá observar las instrucciones contenidas en el numeral 1.2.2.1.1., del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única de esta Superintendencia. De igual forma, deberá tener presente que de conformidad con el literal a) del numeral 1.2.2.5.1. de la norma ibidem, será necesario acreditar el pago de la tasa por concepto de modificación a solicitudes en trámites, de conformidad con el valor establecido en la resolución de tasas vigentes.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 6.2 del Capítulo Sexto del Título I de la Circular Única, informándoles que contra el mismo no procede recurso alguno en actuación administrativa.

<sup>12</sup>McBroom, A. J., & Kuehn, M. J. (2007). Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. *Molecular microbiology*, 63(2), 545–558. Recuperado desde: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa\\_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6\\_mc7Ryq213YBJ-\\_U3HiFP4KIS7IYRx7\\_\\_7PjEkxyOc2Z8mz8W-ziitNpA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10006183?casa_token=MnFqUt2XHAoAAAAA:N6emyDsKiU7q4yZv6_mc7Ryq213YBJ-_U3HiFP4KIS7IYRx7__7PjEkxyOc2Z8mz8W-ziitNpA)

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232



Edna Marcela Ramirez Orozco  
**DIRECTORA DE NUEVAS CREACIONES**



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

**INFORME DE BÚSQUEDA**  
**EXAMEN DE PATENTABILIDAD**

|                                                            |   |                                            |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
|------------------------------------------------------------|---|--------------------------------------------|---|-----------|------------------------------------|----------------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------|--|
| Solicitud No.                                              |   | Examen de patentabilidad                   |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| NC2020/0004232                                             |   | 1°                                         | X | 2°        |                                    | 3°                                     |              | Revoca                                                |  |
| Solicitud Internacional No.                                |   | Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO) |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| PCT/US2018/050212                                          |   | 10 de septiembre de 2018                   |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| Fecha de determinación estado de la técnica<br>(DD/MM/AÑO) |   |                                            |   | Prioridad |                                    |                                        | Presentación |                                                       |  |
| 08/09/2017                                                 |   |                                            |   | X         |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| Solicitante                                                |   |                                            |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| EVELO BIOSCIENCES, INC.                                    |   |                                            |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| Reivindicaciones que no son objeto de búsqueda por:        |   |                                            |   |           |                                    |                                        |              |                                                       |  |
| Art. 14                                                    | - | Art. 15                                    | - | Art. 20   | 55, 82 a 131, 152, 155 a 157 y 159 | Art. 25 (Falta de unidad de invención) |              | 1 a 54 y 56 a 81, 132 a 154 y 160 a 181, parcialmente |  |

|                                             |                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CRITERIOS DE BÚSQUEDA                       |                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Reivindicaciones objeto de búsqueda         | 1 a 54, 56 a 81                                                                                                                                                                                                                                 |
| Palabras clave utilizadas                   | Bacterial extracellular vesicles, pharmaceutical composition, culture method, <i>Prevotella histicola</i> , <i>Prevotella melanogenica</i> , directed evolution, mutagenesis, bacteria transformation, vesicles production, bioreactor, cancer. |
| Clasificaciones utilizadas para la búsqueda | CIP: C07K 14/195, C12R 1/01, A61K 35/74, C12N 1/20                                                                                                                                                                                              |

|                                                                                                                     |                                                                       |                                                 |                                        |                                           |                                               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES<br>(Documentos patente, Literatura no patente (LNP): Artículos, catálogos, etc.) |                                                                       |                                                 |                                        |                                           |                                               |
| Informes de búsqueda / Bases de datos consultadas                                                                   | N° de solicitud de patente / N° de patente / Autor LNP <sup>(1)</sup> | Fecha de Publicación /Presentación (DD/MM/AAAA) | Reivindicaciones /Secuencias afectadas | Citas relevantes del estado de la técnica | Categoría del documento citado <sup>(2)</sup> |
| PATBASE                                                                                                             | WO2014122232                                                          | 14/08/2014                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20160120818                                                         | 05/05/2016                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | CA2949644                                                             | 26/11/2015                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20160095941                                                         | 07/04/2016                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20100015212                                                         | 21/01/2010                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | WO2016140540                                                          | 09/06/2016                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20060166344                                                         | 27/07/2006                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US7384645                                                             | 10/06/2008                                      | 21 a 54 y 56 a 81                      | Abstract, Reivs. 1 a 4, Págs. 7 a 9       | Y                                             |
|                                                                                                                     | US20080063665                                                         | 13/03/2008                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US7628995B2                                                           | 08/12/2009                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20120213833                                                         | 23/08/2012                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20160113972                                                         | 28/04/2016                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20160143961                                                         | 26/05/2016                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US2012159658                                                          | 21/06/2012                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
|                                                                                                                     | US20070087017                                                         | 19/04/2007                                      | -                                      | -                                         | A                                             |
| US6812023                                                                                                           | 02/11/2004                                                            | -                                               | -                                      | A                                         |                                               |

Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

|                              |                                       |            |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                      |   |
|------------------------------|---------------------------------------|------------|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
|                              | US20120213833                         | 23/08/2012 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20160113972                         | 28/04/2016 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20050100559                         | 12/05/2005 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20130065861                         | 14/03/2013 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20150152484                         | 04/06/2015 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20160113972                         | 28/04/2016 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20160120818                         | 05/05/2016 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20130017219                         | 17/01/2013 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | US20100015212                         | 21/01/2010 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
| GOOGLE                       | Prado, R. M., <i>et al.</i> ,         | 06/2014    | 1                          | Todo el documento                                                                                                                                                                                                                                                    | X |
|                              |                                       |            | 21 a 54 y 56 a 81          | Pág. 2. Secciones – Materials and Methods y Results, Figs. 1 y 6 a 9                                                                                                                                                                                                 | Y |
|                              | Teles, R. F. B                        | 2016       | 160 a 174                  | Pág. 24, Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by <i>B. cenocepacia</i> K56-2 Sección 4.3.3 Evaluation of the effect of different growth conditions in the OMVs yields by <i>B. cenocepacia</i> K56-2, Tabla 4.2. | Y |
|                              | Macdonald, I. A., & Kuehn, M. J.      | 07/2013    | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
| PUBMED                       | Muraca, M., <i>et al.</i>             | 05/2015    | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
| PUBMED/<br>SCIENCE<br>DIRECT | Kim, J. H., <i>et al.</i>             | 04/2015    | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | de Waterbeemd <i>et al.</i>           | 05/07/2010 | 139 a 141                  | Págs. 4811 - 4813, secciones – 2. Materials and Methods y 3.2. Toxicity and functional immunogenicity, Figs. 1A, 2A y 3A, Tabla 2)                                                                                                                                   | Y |
| PUBMED/<br>GOOGLE            | Madeira, H. M., <i>et al.</i>         | 02/1997    | 132 a 138, 142 a 154 y 158 | Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2               | X |
|                              |                                       |            | 139 a 141                  | Abstract, Págs. 670 y 671, secciones - EMS mutagenesis of <i>P. ruminicola</i> B1(4) y Selection of Gly-Arg-MNase-deficient mutants; Págs. 671 a 673, secciones - Survival, mutation frequency, and isolation of Gly-ArgMNase-deficient, Tablas. 1 y 2               | Y |
|                              | McBroom, A. J., & Kuehn, M. J.        | 06/2007    | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | Klimentová, J., & Stulík, J           | 01/2015    | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | Takumi, S., <i>et al.</i>             | 15/05/2008 | 160 a 174                  | Abstract, Págs. 1859 – 1860, sección - Materials and methods                                                                                                                                                                                                         | Y |
|                              | Baart, G. J., <i>et al.</i>           | 26/06/2007 | 175 a 181                  | Fig. 3, Pág. 6405, sección - 3.4. Biomass growth, substrate consumption and product quality                                                                                                                                                                          | X |
|                              | Chutkan, H., <i>et al.</i>            | 2013       | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |
|                              | Bitto, N. J., & Kaparakis-Liaskos, M. | 16/06/2017 | -                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                    | A |



Oficio N° 11010 de 14 de julio de 2022

Ref. Expediente N° NC2020/0004232

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |             |                              |   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------|---|
| GOOGLE/<br>PATBASE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | US8617536    | 23/08/2012                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2 a 18 y 20 | Págs. 17 y 18, Reivs. 1 a 18 | X |
| GOOGLE<br>PATENTS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | WO2014152484 | 25/09/2014                                                                                                                                                                                                                                                                      | -           | -                            | A |
| <div>(<sup>1</sup>) Cita completa literatura no patente (LNP)</div> <div>Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Volumen(Número), pp-pp.</div> <div>O</div> <div>Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Recuperado de <a href="http://xxxxxxx">http://xxxxxxx</a>.</div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |              | Prado, R. M., <i>et al.</i> , (2014). Protein content and activity of outer membrane vesicles produced by <i>Prevotella ruminicola</i> Conference: Rowett-INRA 2014 Gut Microbiology.                                                                                           |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Madeira, H. M., <i>et al.</i> (1997). Biochemical and mutational analysis of a gingipain-like peptidase activity from <i>Prevotella ruminicola</i> B(1)4 and its role in ammonia production by ruminal bacteria. <i>Applied and environmental microbiology</i> , 63(2), 670–675 |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | McBroom, A. J., & Kuehn, M. J. (2007). Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. <i>Molecular microbiology</i> , 63(2), 545–558.                                                                                        |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Baart, G. J., <i>et al.</i> (2007). Scale-up for bulk production of vaccine against meningococcal disease. <i>Vaccine</i> , 25(34), 6399–6408.                                                                                                                                  |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Klimentová, J., & Stulík, J. (2015). Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. <i>Microbiological Research</i> , 170, 1 – 9.                                                                                                |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | de Waterbeemd <i>et al.</i> (2010). Improved OMV vaccine against <i>Neisseria meningitidis</i> using genetically engineered strains and a detergent-free purification process. <i>Vaccine</i> , 28(30), 4810 – 4816.                                                            |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Takumi, S., <i>et al.</i> (2008). Oxygen induces mutation in a strict anaerobe, <i>Prevotella melaninogenica</i> . <i>Free radical biology &amp; medicine</i> , 44(10), 1857–1862.                                                                                              |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Kim, O.Y, <i>et al.</i> (2017). Bacterial outer membrane vesicles suppress tumor by interferon-γ-mediated antitumor response. <i>Nat Commun</i> , 20;8(1): 626.                                                                                                                 |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Teles, R. F. B. (2016). Production of outer membrane vesicles by the human pathogen <i>Burkholderia cenocepacia</i> : purification and preliminary characterization. Thesis to obtain the master of science Degree. <i>Técnico Lisboa</i> , pp, 51.                             |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Muraca, M., <i>et al.</i> (2015). Gut microbiota-derived outer membrane vesicles: under-recognized major players in health and disease?. <i>Discovery medicine</i> , 19(106), 343–348.                                                                                          |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Kim, J. H., <i>et al.</i> (2015). Gram-negative and Gram-positive bacterial extracellular vesicles. <i>Seminars in cell &amp; developmental biology</i> , 40, 97–104.                                                                                                           |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Macdonald, I. A., & Kuehn, M. J. (2013). Stress-induced outer membrane vesicle production by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Journal of bacteriology</i> , 195(13), 2971–2981.                                                                                               |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Chutkan, H., <i>et al.</i> (2013). Quantitative and qualitative preparations of bacterial outer membrane vesicles. <i>Methods in molecular biology</i> (Clifton, N.J.), 966, 259–272.                                                                                           |             |                              |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |              | Bitto, N. J., & Kaparakis-Liaskos, M. (2017). The Therapeutic Benefit of Bacterial Membrane Vesicles. <i>International journal of molecular sciences</i> , 18(6), 1287.                                                                                                         |             |                              |   |
| <div>(<sup>2</sup>) Categorías de documentos citados</div> <div><div><div>“A” Documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</div><div>“E” Solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</div><div>“L” Documento citado para llamar la atención sobre por ejemplo, dudas acerca de una reivindicación de prioridad o para determinar la fecha de publicación de otra cita, siempre van acompañados de una explicación, por la cual se citan.</div><div>“O” Documento del tipo actas de conferencia, este tipo de documentos siempre estará acompañado por otra letra que indique la pertinencia del documento, por ejemplo, O,X, O,Y o bien O,A.</div><div>“P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</div></div><div><div>“T” Documento publicado en fecha posterior a la de presentación o la de prioridad de la solicitud internacional y no entra en conflicto con dicha solicitud, pero puede ser útil para la mejor comprensión del principio o teoría en que se basa la invención, o para demostrar que el razonamiento o los hechos en los que se basa dicha invención son incorrectos.</div><div>“X” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</div><div>“Y” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</div></div></div> |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |             |                              |   |
| Fecha del reporte de búsqueda: (20/06/2022)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |             |                              |   |