



18 Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltda



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltda

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

09-2508

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO **"INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO"**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **A23L 1/305**

71. SOLICITANTE **NESTEC S.A.**

DOMICILIO **VEVEY, SUIZA**

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C.

14 ENE 2009

202099

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-002508- -00000-0000

Fecha: 2009-01-14 16:32:52 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 61

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

15 ene 2009

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: NESTEC S.A.

Dirección: Avenue Nestlé 55, CH-1800
Vevey, Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Vevey, Suiza.

Lugar de Constitución: Suiza.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: ALICIA LLOREDA RICAURTE

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 39.690.713 TP 53.215

4

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre: FRITSCHÉ, Rodolphe y SCHALLER, Raphael.

Dirección: Chemin de la Chaumény 48, CH-1814 La Tour-de-peilz y 130 Grand
Chemin, CH-1066 Epalinges.

Nacionalidad o Domicilio: Suiza.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2007/055882

Fecha: 14/06/07

Publicación Internacional No. WO 2007/144397 A1

Fecha: 21/12/07

6

Título (54)

“INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO”

7

Clasificación Internacional (51) A23L 1/305

8

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

15/06/06

(31) Número de Solicitud

06115533.9

9

Comprobante de Pago No. 08-97,198 y 09-614

Fecha: 16/12/08 y 06/01/09

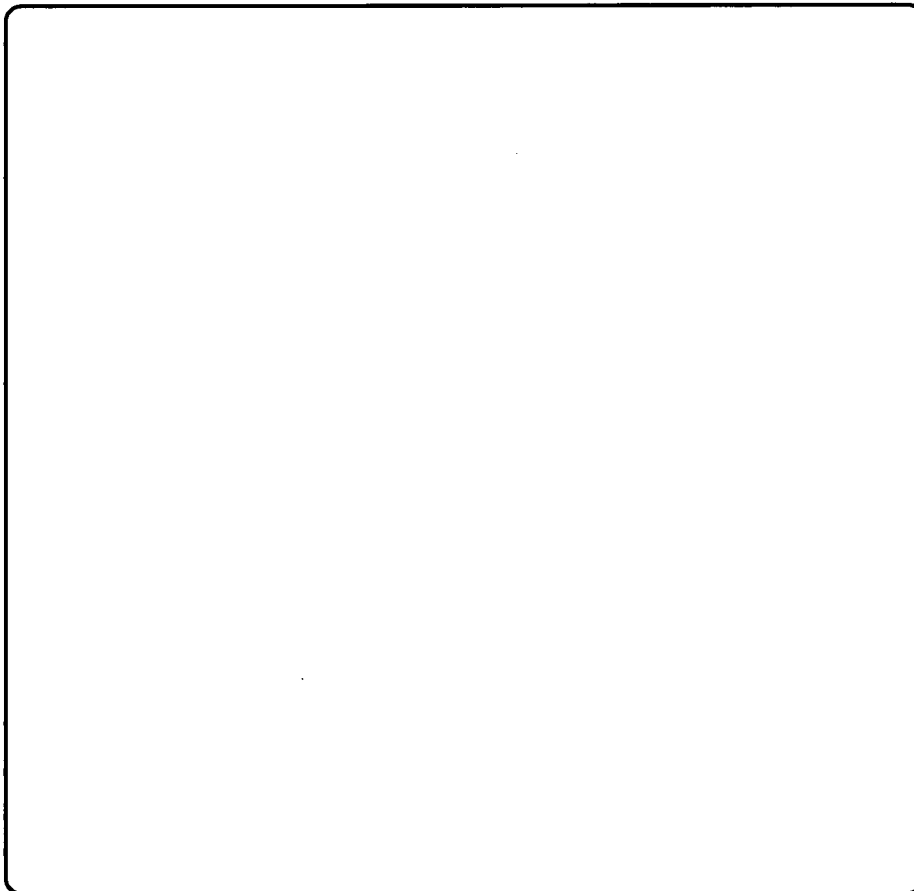
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Declaraciones. (Declaración bajo las Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii) que acreditan el traspaso de los inventores al solicitante)
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: reporte de búsqueda internacional, publicación y opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-002508- -00000-0000

Fecha: 2009-01-14 16:32:52 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 61

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 97,198
FECHA : DICIEMBRE 16 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	97134656	16/12/2008	5,270,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 614
FECHA : ENERO 6 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-002508- -00000-0000

Fecha: 2009-01-14 16:32:52 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 61

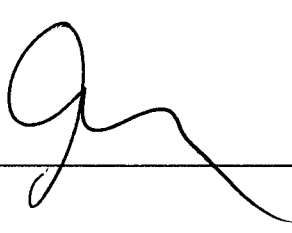
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLORED A Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	10530601	06/01/2009	5,175,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	998 VALOR COMPLEMENTO TARIFA A#0 ANTR
		TOTAL :	\$ 39,000.00

SON: TREINTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud: 14-01-09

(51) Clasificación Internacional: A23L 1/305

(71) Solicitante(s): **NESTEC S.A.**

(72) Inventor(es): FRITSCHÉ, Rodolphe y SCHALLER, Raphael.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad

(31)

No. Prioridad

(32)

Fecha

(33)

País

06115533.9

15-06-06

EP

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 15-01-09

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: **21-12-07**

Fecha de presentación de la solicitud: 14-06-07

N° publicación: **WO 2007/144397 A1**

No. de solicitud: **PCT/EP2007/055882**

(54) Título: **INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO**

AD



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ____ PCT X MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 14-01-09

(51) Clasificación Internacional: A23L 1/305

(71) Solicitante(s): NESTEC S.A.

(72) Inventor(es): FRITSCHÉ, Rodolphe y SCHALLER, Raphael.

(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE

(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	06115533.9	15-06-06	EP

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 15-01-09

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 14-06-07
No. de solicitud: **PCT/EP2007/055882**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **21-12-07**

No. Publicación : **WO 2007/144397 A1**

FIGURA CARACTERISTICA
6 x 6 cm

(54) Título:

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO

(57) Resumen:

Reivindicación número 1.-

El uso de proteínas de huevo hidrolizadas enzimáticamente con un grado de hidrólisis entre 15 y 28% en la elaboración de una composición para la inducción de tolerancia oral a proteínas de huevo en un mamífero.

TRADUCCIÓN OFICIAL No.283/04 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN FRANCÉS, EL CUAL PARA SU IDENTIFICACIÓN SE SELLA CON EL SELLO DEL TRADUCTOR. ESTA ES UNA TRADUCCIÓN OFICIAL EFECTUADA EL DIA 01 DE SEPTIEMBRE DE 2004 POR JEAN-JACQUES TURPIN, C.E.: 193849 DE BOGOTÁ, TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL SEGÚN RESOLUCIÓN No. 2680/91 DEL 19 DE DICIEMBRE DE 1991, EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA.

Autenticaciones que se hallan a continuación de un documento de poder conferido en inglés y español por **NESTEC S.A.**, una sociedad organizada y existe de conformidad con las leyes de Suiza, domiciliada en Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Suiza, y otorgado a los Doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARÍA y/o ENRIQUE ÁLVAREZ, todos domiciliados en Bogotá, Colombia, Calle 72 No. 5 – 83 (Piso 6º).

Dado el 5 de agosto de 2004. Firma ilegible de la Señora Paula Nelson, Vice-Presidente de Nestec S.A.

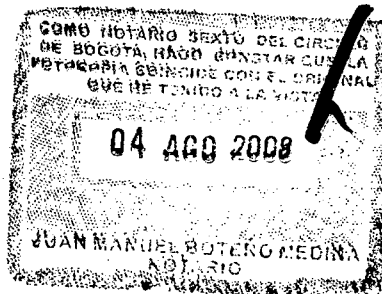
CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Legalización por parte del suscrito Notario de la firma de la Señora **Paula NELSON** quien desempeña el cargo de **Vice-Presidente** de la compañía **NESTEC S.A.**, una sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de **Suiza**, domiciliada en **Vevey (Suiza)**. Además, dicho Notario certifica que el signatario, según las leyes de **Suiza**, tiene facultad para otorgar el presente documento. Los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos el 24 de marzo de 1997, y de todo ello da fe.

Firma de Jean-Daniel RUMPF.

Sello: Jean-Daniel RUMPF – Notario. Estampilla de 4 Frs.

Traducción Oficial No.
JEAN - JACQUES H. TURPIN
Traductor e Intérprete Oficial
FRANCOIS - ESPANOL
Res. Minjusticia No. 2680/91



Legalización No. 7.135. El Notario Jean-Daniel RUMPF, en Vevey, Distrito de Vevey, Cantón de Vaud, Suiza, certifica la firma puesta en la página anterior por la Señora Paula Nelson, Directora adjunta de Nestec S.A., en Vevey, la cual compromete en forma válida con su firma individual.

Dado en Vevey, el once de agosto de dos mil cuatro. Firma ilegible del Notario.

Sello: Jean-Daniel RUMPF – Notario. Estampilla de 4 Frs.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. - País: Suiza

El presente documento público

2. - ha sido firmado por el Señor Jean-Daniel RUMPF
3. - obrando en calidad de Notario en Vevey
4. - con sello de Jean-Daniel RUMPF, Notario

CERTIFICADO

5. - En Lausana 6. - El 12 de agosto de 2004
7. - Por la Cancillería de Estado del Cantón de Vaud
8. - Bajo el número 6705
9. - Sello: Cancillería del Consejo de Estado – Libertad y Patria - Emolumento de 25 Fr.
10. - Por el Canciller de Estado, firma de P. Equey.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para confrontación y a la cual me remito.

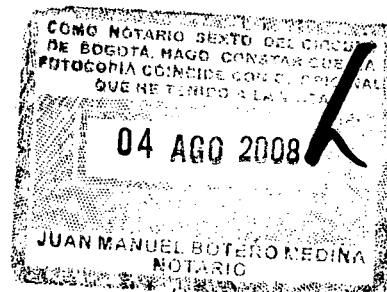
Traducción oficial No. 283/04.

Traductor: Jean-Jacques Turpin.

Bogotá, D.C., 1 de septiembre de 2004.

Traducción Oficial No. 283/04
JEAN - JACQUES H. TURPIN
Traductor e Intérprete Oficial
FRANCOIS - ESPANOL
Res. Minjusticia No. 2680/91

[Firma manuscrita]



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SEP -2 A 11: 09

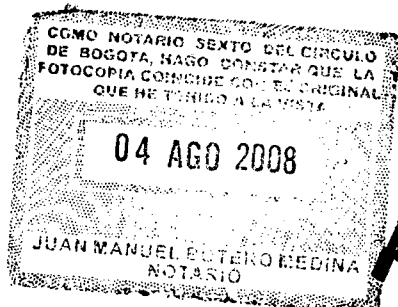
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

En Tercera

661229

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS



Los abajo firmados, **NESTEC S.A.**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza

con domicilio en **Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Suiza**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **NESTEC S.A.**, a corporation organized and existing under the laws of Switzerland.

domiciled at **Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Switzerland**

hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

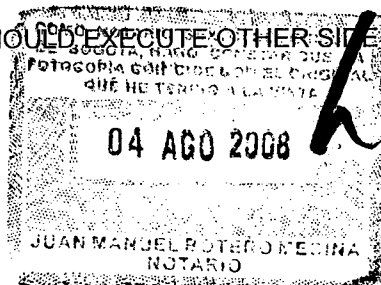
Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 5th August 2004

Paula NELSON – Vice President

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Suiza
Vevey

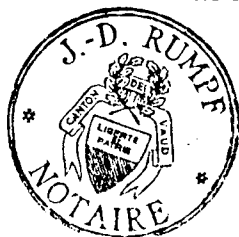
{ss

Hoy 11 de Agosto de 2004, compareció
PAULA NELSON, a quien conozco y
de quien me consta que firmó el anterior documento,
y quien debidamente juramentado declaró y dijo que
él es Vicepresidente

de NESTEC S.A., la
compañía nombrada en el documento que antecede,
una sociedad debidamente organizada y existente
conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la
ciudad de Vevey, Suiza legalmente constituida
para un período de duración que aún no ha
terminado, que ejerce su objeto social; conforme a
las leyes de Suiza, que el declarante está autorizado
por dicha Compañía para conferir este poder; que el
sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre
y en representación de la expresada Compañía, es el
sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se
confiere este instrumento está comprendido dentro
del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de
incorporación firmados en Vevey, Suiza, con fecha
24 Marzo, 1997, y certifica que de
conformidad con la legislación de dicho País, la
anterior declaración juramentada es prueba
suficiente de que los hechos sobre que ella versa son
ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

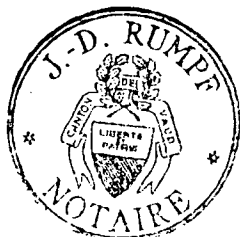
Notary Public (Notario Público).



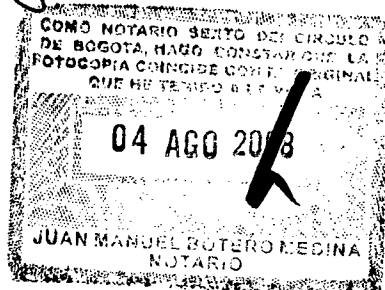
J.D. Rumpf

Légalisation No 7'135.-

Le notaire JEAN-DANIEL RUMPF, à Vevey, District de Vevey, Canton de
Vaud, Suisse, certifie authentique la signature apposée d'autre ---
part par M^{me} Paula NELSON, directrice-adjointe de la société ----
NESTEC S.A., à Vevey, qu'elle engage valablement par sa signature -
individuelle. -----
VEVEY, LE ONZE AOÛT DEUX MILLE QUATRE. -----



J.D. Rumpf



NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Switzerland
Vevey

{ss

On this 11th day of August, 2004,
personally came

Paula NELSON
to me known, and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument, who being by me
duly sworn did depose and say that he/she is the

Vice President of NESTEC S.A., the
company named within, a Corporation organized and
existing under the laws of the Switzerland, domiciled
at the City of Vevey, Switzerland legally constituted
for a period of tenure not yet expired, which exercises
its corporate purposes according to the laws of
Switzerland, that the deponent is authorized by said
Company to confer this power of attorney; that the
seal affixed hereunto by the deponent in the name
and on behalf of said Corporation is the corporate
seal thereof; and that the purpose for which this
instrument is granted is included within the corporate
purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles
of Incorporation of said Corporation executed at
Vevey, Switzerland, under date of March 24 1997
and hereby certifies that under the laws of said
County the foregoing acknowledgment is sufficient
proof that the facts therein contained are true, which
he attests.

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

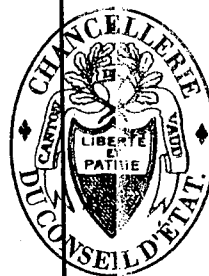
1. Pays: SUISSE

Le présent acte public

2. a été signé par Jean-Daniel Rumpf

3. agissant en qualité de notaire à Vevey

4. est revêtu du sceau/timbre de J.-D. Rumpf notaire



Attesté

5. à Lausanne

6. le 12 août 2004

7. par la Chancellerie d'Etat du Canton de Vaud

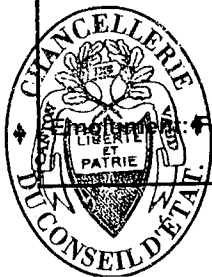
8. sous No 6705

9. Sceau/timbre:

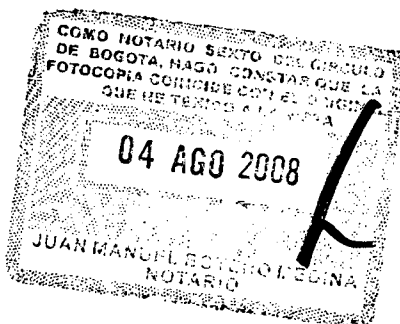
10. Signature
pr le Chancelier d'Etat:

P. Equey

P.Equey



Enregistrement: Fr. 25.-



 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A23L 1/305	
(22) Fecha de solicitud: 14-01-09		(71) Solicitante(s): NESTEC S.A.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 06115533.9	(32) Fecha 15-06-06	(33) País EP
		(72) Inventor(es): FRITSCHÉ, Rodolphe y SCHALLER, Raphael.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 15-01-09	(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 21-12-07	
	Fecha de presentación de la solicitud: 14-06-07	N° publicación: WO 2007/144397 A1	
	No. de solicitud: PCT/EP2007/055882		
(54) Título:		INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO	

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

El uso de proteínas de huevo hidrolizadas enzimáticamente con un grado de hidrólisis entre 15 y 28% en la elaboración de una composición para la inducción de tolerancia oral a proteínas de huevo en un mamífero.

PATENT COOPERATION TREATY

SDI

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

To:

Nestec S.A.
Attn: Dixon, Sarah
Av. Nestle 55
CH-1800 Vevey
SUISSE

10 SEP. 2007

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year) 11/09/2007

Applicant's or agent's file reference

NO8191WOPCT

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/EP2007/055882

International filing date
(day/month/year)

14/06/2007

Applicant

NESTEC S.A.

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Eleonora Longo

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference NO8191WOPCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2007/055882	International filing date (day/month/year) 14/06/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 15/06/2006
Applicant NESTEC S.A.		

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

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

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

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒

the international application in the language in which it was filed

☐

a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

☒

the text is approved as submitted by the applicant

☐

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

5. With regard to the **abstract**,

☒

the text is approved as submitted by the applicant

☐

the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 3

☒

as suggested by the applicant

☐

as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐

as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/055882

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A23L1/305 A61K38/01 A61P37/08

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/037357 A1 (FRITSCH RODOLPHE [CH] ET AL) 28 March 2002 (2002-03-28) paragraphs [0013], [0016], [0021] - [0025], [0027], [0034], [0038], [0042], [0044], [0045] -----	1-5
X	WO 97/00078 A (VALIO OY [FI]; ISOLAURI ERIKA [FI]; METSAENIITY LEENA [FI]; KORHONEN) 3 January 1997 (1997-01-03) page 1, lines 5-12 page 3, line 36 - page 4, line 28 page 5, lines 1-10 ----- -/--	1-5

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

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 August 2007

Date of mailing of the international search report

11/09/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Couzy, François

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/055882

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FRITSCH ET AL: "Induction of systemic immunologic tolerance to beta-lactoglobulin by oral administration of a whey protein hydrolysate" JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, MOSBY - YEARLY BOOK, INC, US, vol. 100, no. 2, August 1997 (1997-08), pages 266-273, XP005189327 ISSN: 0091-6749 page 266, column 2, paragraph 2 -----	1-5
A	EP 0 629 350 A (SANDOZ NUTRITION LTD [CH]) 21 December 1994 (1994-12-21) page 3, lines 23-29,50 -----	1-5
A	EP 0 827 697 A1 (NESTLE SA [CH]) 11 March 1998 (1998-03-11) column 3, lines 26-48 -----	1-5
A	DATABASE BIOSIS BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; Brazil. J. Med. Biol. Res. 1998, 31 (3): 381-386 1998, STRANSKY B, FARIA AMC, VAZ NM: "Oral tolerance with altered forms of ovalbumin" XP002402551 Database accession no. PREV199800276511 abstract -----	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/055882

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002037357 A1	28-03-2002	AR 028141 A1	30-04-2003
		AT 246454 T	15-08-2003
		AU 781013 B2	28-04-2005
		AU 3421000 A	07-08-2000
		BR 0007597 A	16-10-2001
		CA 2358423 A1	27-07-2000
		DE 60004325 D1	11-09-2003
		DE 60004325 T2	09-06-2004
		DK 1146794 T3	06-10-2003
		WO 0042863 A1	27-07-2000
		ES 2203435 T3	16-04-2004
		NZ 512866 A	25-10-2002
		TW 251468 B	21-03-2006
		ZA 200106787 A	18-11-2002
WO 9700078 A	03-01-1997	AT 230606 T	15-01-2003
		AU 710126 B2	16-09-1999
		AU 6127896 A	15-01-1997
		BG 63153 B1	31-05-2001
		BG 102144 A	30-12-1998
		BR 9607827 A	30-11-1999
		CA 2224320 A1	03-01-1997
		CN 1187772 A	15-07-1998
		CZ 9703997 A3	17-06-1998
		DE 69625690 D1	13-02-2003
		DE 69625690 T2	06-11-2003
		DK 833649 T3	07-04-2003
		EE 9700339 A	15-06-1998
		EP 0833649 A1	08-04-1998
		ES 2191103 T3	01-09-2003
		FI 952926 A	15-12-1996
		HK 1010081 A1	29-08-2003
		JP 11510791 T	21-09-1999
		NO 975832 A	11-12-1997
		NZ 310478 A	28-01-2000
		PL 324010 A1	27-04-1998
		RO 120243 B1	30-11-2005
		SK 171597 A3	04-11-1998
		US 6506380 B1	14-01-2003
		ZA 9605088 A	22-01-1997
EP 0629350 A	21-12-1994	AU 6471494 A	22-12-1994
		CA 2125793 A1	17-12-1994
		JP 7101873 A	18-04-1995
EP 0827697 A1	11-03-1998	AT 218812 T	15-06-2002
		DE 69621800 D1	18-07-2002
		DE 69621800 T2	02-10-2002
		ES 2176399 T3	01-12-2002
		PT 827697 T	29-11-2002

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
21 December 2007 (21.12.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/144397 A1

(51) International Patent Classification:

A23L 1/305 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
A61K 38/01 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2007/055882

(22) International Filing Date: 14 June 2007 (14.06.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

06115533.9 15 June 2006 (15.06.2006) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): NESTEC
S.A. [CH/CH]; Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): FRITSCHÉ,
Rodolphe [CH/CH]; Chemin de la Chaumény 48,
CH-1814 La Tour-de-peilz (CH). SCHALLER, Raphael
[CH/CH]; 130 Grand Chemin, CH-1066 Epalinges (CH).

(74) Agent: DIXON, Sarah; Av. Nestlé 55, CH-1800 Vevey
(CH).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

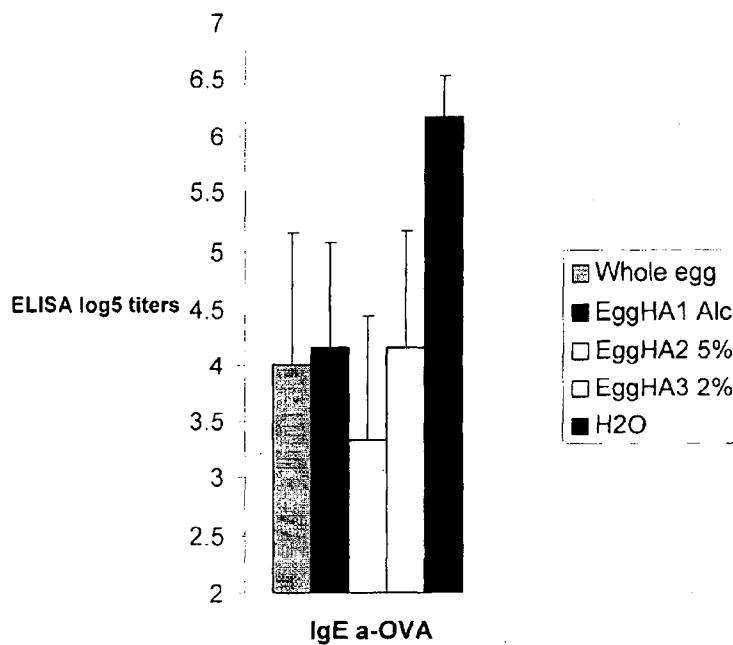
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a
patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report

[Continued on next page]

(54) Title: INDUCTION OF TOLERANCE TO EGG PROTEINS



(57) Abstract: The use of enzymatically hydrolysed egg proteins with a degree of hydrolysis between 15 and 28% in the manufacture of a composition for induction of oral tolerance to egg proteins in a mammal.

WO 2007/144397 A1

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2007/055882

International filing date (day/month/year)
14.06.2007

Priority date (day/month/year)
15.06.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A23L1/305 A61K38/01 A61P37/08

Applicant
NESTEC S.A.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Couzy, François

Telephone No. +49 89 2399-7503



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2007/055882

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-5</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-5</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-5</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item V

**Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability;
citations and explanations supporting such statement**

1. Reference is made to the following documents; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

- D1: US 2002/037357 A1 (FRITSCHÉ RODOLPHE [CH] ET AL) 28 March 2002
- D2: WO 97/00078 A (VALIO OY [FI]; ISOLAURI ERIKA [FI]; METSAENIITTY LEENA [FI]; KORHONEN) 3 January 1997
- D3: FRITSCHÉ ET AL: "Induction of systemic immunologic tolerance to beta-lactoglobulin by oral administration of a whey protein hydrolysate" JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, MOSBY - YEARLY BOOK, INC, US, vol. 100, no. 2, August 1997 (1997-08), pages 266-273, XP005189327 ISSN: 0091-6749
- D4: EP-A-0 629 350 (SANDOZ NUTRITION LTD [CH]) 21 December 1994
- D5: EP-A1-0 827 697 (NESTLE SA [CH]) 11 March 1998
- D6: DATABASE BIOSIS BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; Brazil. J. Med. Biol. Res. 1998, 31 (3): 381-386 1998, STRANSKY B, FARIA AMC, VAZ NM: "Oral tolerance with altered forms of ovalbumin" XP002402551 Database accession no. PREV199800276511

2. Novelty and inventive step

2.1 None of the cited prior art document discloses the claimed use. Indeed, in D1, which is considered to be the closest prior art document, there is no mention of egg proteins specifically. And in D6, there is no mention of a hydrolysis for the induction of tolerance, but of alternatives thereof consisting in either heat or chemical denaturation. Thus, the claimed subject-matter is new (Art. 33 (2) PCT).

2.2 The invention relates to the use of egg proteins which have been hydrolysed to 15-28% for the induction of oral tolerance to egg proteins in mammals. The closest prior art to that use is document D1, which discloses that "tolerogenic peptides can be obtained by

enzymatic hydrolysis of proteinaceous material containing the allergenic proteins that are responsible for allergies in at risk individuals" (§34). The degree of hydrolysis recommended by D1 is 10-50% (§38). Thus, D1 discloses the very principle of the invention, however not its specific application to egg proteins. There is no indication in the originally filed application that the teaching of D1 can not be simply applied to egg proteins. Thus, it is considered that the subject-matter of all claims (1-5) is derivable from D1, and therefore does **not** involve an inventive step (Art. 33 (3) PCT).

The same reasoning may be held from D2, for instance starting from an embodiment where proteins hydrolysed by a probiotic are used to induce tolerance against the corresponding intact proteins (p.3 line 36 to p.4 line 7).

2.3 The most relevant passages of the above cited documents are those mentioned in the International Search Report, to which the reader is referred.

3. The subject-matter of all claims 1-5 is industrially applicable in the sense of Art. 33 (4) PCT.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information

For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.

Amending claims under Art. 19 PCT

Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.

Filing a demand for international preliminary examination

In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT).

If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).

Filing informal comments

After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.

End of the international phase

At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).

Relevant PCT Rules and more information

Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS

CPRIENFDE

Immunodeficiency and other clinical immunology

Induction of systemic immunologic tolerance to β -lactoglobulin by oral administration of a whey protein hydrolysate

Rodolphe Fritsché, PhD, Jean Jacques Pahud, PhD, Sophie Pecquet, and Andrea Pfeifer, PhD Lausanne, Switzerland

Background: Oral administration of an antigen has been shown to suppress the specific immune response to this antigen. This approach, called oral tolerance, has been demonstrated with intact proteins in animal models for prevention of allergy and autoimmune diseases.

Objective: The purpose of this study was to determine whether oral tolerance can be induced with protein peptides. Partially hydrolyzed and extensively hydrolyzed cow's milk formulas were compared for their capacity to induce tolerance to cow's milk proteins.

Methods: Five-week-old Sprague-Dawley rats were fed cow's milk formulas ad libitum from day 1 to day 19. All animals were immunized with β -lactoglobulin and ovalbumin on day 5 and bled on day 19. Sera were analyzed for specific IgE and IgG antibodies by ELISA and for functional IgE response by in vitro mast cell mediator (tritiated serotonin) release. In vivo modulation of intestinal mast cells was analyzed by the specific release of the rat mast cell protease II, and T-cell response was determined by tritiated thymidine incorporation into lymph node lymphocytes.

Results: Oral administration of a partially hydrolyzed cow's milk formula suppresses specific serum IgE and IgG anti- β -lactoglobulin antibodies, as well as mediator release from rat mast cells and T-lymphocyte response. This suppression was shown to be antigen-specific and dose-dependent. An extensively hydrolyzed formula was unable to achieve the induction of such an oral tolerance.

Conclusion: These results support the view that partially hydrolyzed proteins are able to induce specific oral tolerance, whereas extensively hydrolyzed proteins are not. (J Allergy Clin Immunol 1997;100:266-73.)

Key words: Oral tolerance, β -lactoglobulin, whey protein, hydrolysate, IgE, mast cells

Oral administration of protein antigens induces specific immunologic hyporesponsiveness (tolerance) to these antigens. Induction of oral tolerance with intact proteins has been well documented with a number of antigens in several animal models. In addition to the first guinea pig experiments done by Wells and Osborne,¹

Abbreviations used

BLG:	β -Lactoglobulin
HEPES:	N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid
PHG:	Phosphate-HEPES-gelatin
RMCPH:	Rat mast cell protease II buffer
SDS-PAGE:	Sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis

specific oral tolerance to bovine serum albumin has been shown in a Black Norwegian rat model.² The same phenomenon has also been described in a mouse model, in particular by Hanson et al.³ More recently, oral tolerance has been established in human beings. When human volunteers were fed keyhole limpet hemocyanin, oral tolerance was observed at the T-cell compartment, assessed by reduction of antigen-specific T-cell proliferation and markedly diminished delayed-type skin test reactivity in the keyhole limpet hemocyanin-fed group.⁴

Immune regulation by the induction of oral tolerance to food antigens is thought to prevent food allergy.⁵ It has been shown that induction of oral tolerance is dependent on the age of the host,⁶ the dose of antigen administered,⁶ and the nature of the antigen. Although oral tolerance to dietary proteins has been extensively investigated with intact antigens, few studies with antigen fragments⁷ or digests⁸ have been done.

In this study we attempted to determine whether enzymatic hydrolysates of cow's milk (whey) proteins could induce oral tolerance to these proteins, when administered preventively ad libitum in rats. We selected β -lactoglobulin (BLG) as a representative protein for immune modulation studies because it is one of the most potent allergens of cow's milk⁹ and because it quantitatively represents the main whey protein fraction.

Our results show that a partially hydrolyzed formula can induce specific oral tolerance, whereas an extensively hydrolyzed formula cannot.

METHODS

Reagents

Bovine BLG (No. L-0130), *o*-phenylenediamine dihydrochloride, fish gelatin, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesul-

From Nestec Ltd, Research Center, Vers-chez-les-Blanc, Lausanne. Received for publication July 24, 1996; revised Dec. 4, 1996; accepted for publication Mar. 5, 1997.

Reprint requests: R. Fritsché, Nestec Ltd, Research Center, Vers-chez-les-Blanc, P.O. Box 44, CH-1000 Lausanne 26, Switzerland.

Copyright © 1997 by Mosby-Year Book, Inc.

0091-6749/97 \$5.00 + 0 1/1/81747

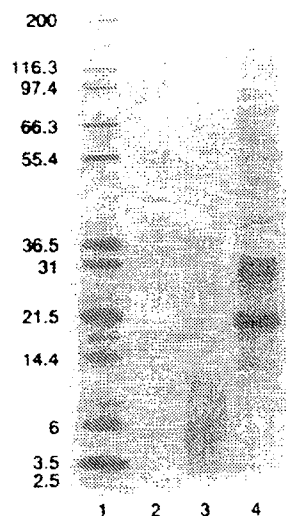


FIG. 1. Characterization of cow's milk formulas by SDS-PAGE. Lane 1, Molecular weight markers (at left of lane 1 molecular weights are indicated in kilodaltons); lane 2, ALFARE; lane 3, BEBA-HA; lane 4, NAN. All formulas were analyzed at a concentration of 0.8 mg of protein equivalent per 10 ml of solution applied.

PAGE of BEBA-HA showed mainly low molecular weight bands, and no bands were seen with ALFARE.

We also measured the allergenicity of these formulas with the help of the tritiated serotonin release assay. The level of β LG-specific IgE-mediated allergenicity of NAN, BEBA-HA, and ALFARE was determined by the capacity of these formulas to trigger tritiated serotonin release from sensitized mast cells. To test this, peritoneal mast cells from normal rats were sensitized passively in vitro with a pool of rat sera containing specific IgE anti- β LG and labeled with tritiated serotonin. Fig. 2 shows that when such mast cells are then triggered with the three formulas, different dose-dependent tritiated serotonin release curves are obtained. One can see that 1000 times more BEBA-HA than NAN, calculated on a protein equivalent basis, is needed for triggering release of the same amounts of tritiated serotonin. ALFARE has a very low triggering activity at a protein equivalent of 10 mg/ml. Calculated values of residual β LG-specific allergenicities in NAN, BEBA-HA, and ALFARE are 100, 0.1, and 0.0002 mg β LG/gm protein equivalent, respectively.

Specific antibody suppression

The three cow's milk formulas were compared for their capacity to induce antigen-specific oral tolerance. Although, as shown above, BEBA-HA is 1000

times less allergenic than NAN, we have now found (Fig. 3) that NAN and BEBA-HA have similar oral tolerizing capacities. This appears particularly at the IgE anti- β LG antibody level: NAN and BEBA-HA are able to suppress specific IgE levels over 100-fold when administered preventively ad libitum by the oral route. In contrast, ALFARE, the extensively hydrolyzed formula, has no tolerizing activity: no IgE suppression against β LG was observed when rats were fed this formula, if compared with the control group (given only water). The specific IgE anti- β LG response of animals fed NAN or BEBA-HA was significantly different ($p < 0.00001$) from the responses of those fed ALFARE or given only water. The effect of formula feeding on the IgG anti- β LG response is weaker, but the same comparative profile as that obtained for IgE modulation is observed. Differences of IgG anti- β LG responses between groups fed NAN or BEBA-HA and groups fed ALFARE or given water only were again highly significant ($p < 0.00001$). Antibody responses to ovalbumin remained unchanged in all groups.

Importance of formula concentration

In a second set of experiments, we analyzed the dose dependency for induction of oral tolerance. We found (Fig. 4) that the same doses of either the standard formula (NAN) or the partially hydrolyzed formula (BEBA-HA) are necessary to obtain similar oral tolerance. The oral ad libitum administration of these formulas at 120 gm/L induces the highest antibody suppression with an IgE anti- β LG antibody titer reduction of over 200-fold when compared with controls (water group = 0 gm/L). This difference is highly significant ($p < 0.00001$). Significant differences were observed between 120 gm/L and 12 gm/L ($p = 0.004$), 12 gm/L and 1.2 gm/L ($p = 0.0004$), 1.2 gm/L and water ($p = 0.025$). Fig. 4 also shows that at all concentrations tested, antibodies to an unrelated antigen (ovalbumin) were not suppressed by feeding of milk formulas, demonstrating that this induction of oral tolerance is allergen-specific.

Suppression of in vitro mast cell secretion

Normal peritoneal mast cells were labeled with tritiated serotonin and passively sensitized with sera of either tolerized or control rats. Sera of rats in which tolerance was induced in vivo with NAN or BEBA-HA failed to sensitize normal rat mast cells for tritiated serotonin release when triggered with β LG (Fig. 5), indicating that low levels of specific IgE anti- β LG antibodies of sera from tolerized animals are quantitatively and/or qualitatively unable to sensitize passively mast cells for β LG triggering. On the contrary, sera from rats pre-fed with ALFARE or control rats were able to sensitize mast cells, which led to tritiated serotonin release. This is because these animals were not tolerized and therefore had high specific serum IgE levels after parenteral sensitization.

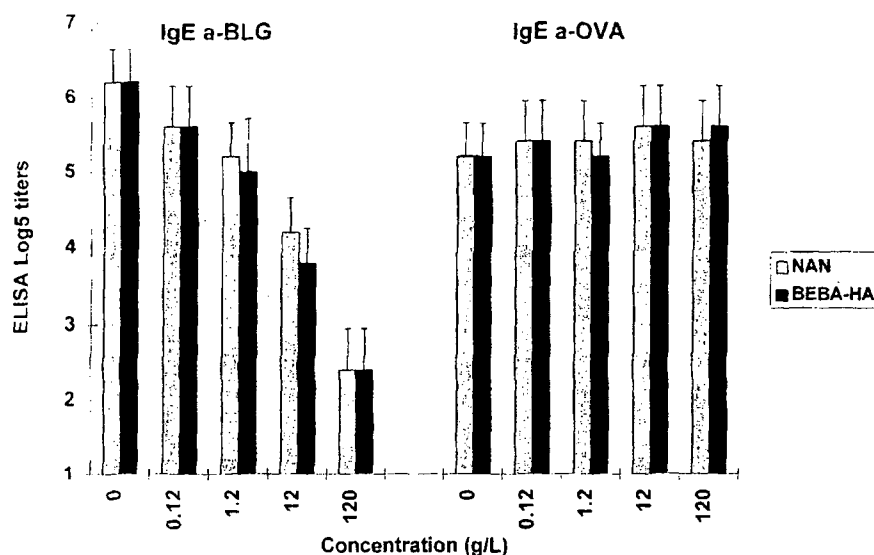


FIG. 4. Dose dependency of antibody suppression. ELISA (log5) titers of IgE anti- β LG or anti-ovalbumin antibodies in sera from rats orally tolerized with increasing doses (0 to 120 gm/L) of NAN or BEBA-HA. BLG, β -Lactoglobulin; OVA, ovalbumin.

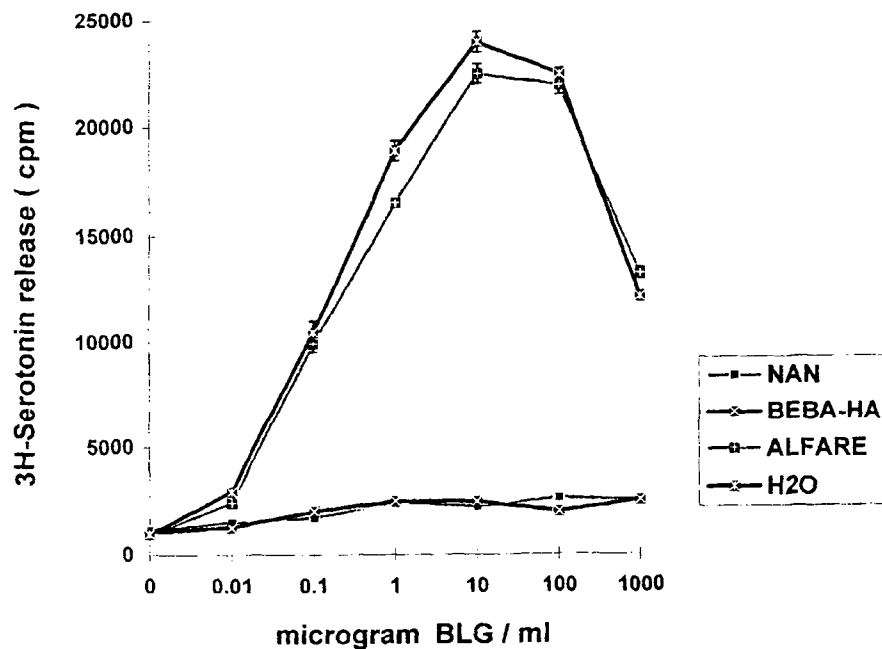


FIG. 5. In vitro suppression of mast cell response. Tritiated serotonin release from mast cells passively sensitized with sera of rats orally tolerized with NAN, BEBA-HA, ALFARE, or water. Triggering was done with β LG (0.01 to 1000 μ g/ml).

pre-fed with 120 gm/L concentrations of the three formulas or from control rats according to the experimental design. One can see on Fig. 7 that lymph node lymphocytes from rats tolerized with NAN or BEBA-HA cannot be stimu-

lated by β LG for tritiated thymidine incorporation. On the contrary, lymphocytes from rats fed with ALFARE or lymphocytes from control rats, cultivated in the presence of β LG, are stimulated according to a dose-response curve.

by intravenous administration of a conjugate made of β LG coupled to autologous IgG.¹² However, for infants "at risk" of cow's milk allergy, the oral administration of a tolerogenic preventive formula would be the preferred choice. We have shown in this study that specific anti-cow's milk protein IgE antibodies (e.g., anti- β LG) are strongly suppressed in rats orally tolerized with a partially hydrolyzed cow's milk formula. This finding is documented both by ELISA antibody determination (over 100 times IgE titer reduction) and mast cell mediator release assays in which a total suppression of passive IgE sensitization of mast cells with sera of rats tolerized by BEBA-HA feeding was observed.

Our experiments show that as far as IgE antibody formation and the mast cell response are concerned, oral tolerance to cow's milk proteins has been induced by selected cow's milk protein peptides present in the partial hydrolysate and absent in the extensively hydrolyzed formula. This is further supported by the fact that the same doses of either the standard or the partially hydrolyzed formula induce the same levels of oral tolerance. Possible traces of contaminating intact cow's milk proteins in BEBA-HA could not explain its dose-dependent tolerizing activity, which is similar to that obtained with NAN. Otherwise, low levels of NAN would have induced the same level of antibody suppression as high levels of BEBA-HA, which has not been observed in our experiments.

We also showed that the suppression of the allergic response occurred at the intestinal level when rats were orally tolerized with the partially hydrolyzed formula. The release of the specific intestinal mast cell protease RMCP II is a good indicator of mast cell sensitization and activation.¹³ Its *in vivo* modulation by oral tolerance induction demonstrates that oral tolerizing peptides of BEBA-HA also exert their specific action at the intestinal level, a common target of the cow's milk allergic reaction.

Further evidence of the tolerizing effect of the partial hydrolysate was obtained by the isolation of a tolerogenic peptide fraction of BEBA-HA (results not shown). This peptide fraction was analyzed by high-performance liquid chromatography and SDS-PAGE. It contained no intact β LG and had a molecular weight range of 2 to 10 kd.

According to Michael,⁷ an orally administered protein must be degraded by proteolytic enzymes in the digestive system to acquire immunosuppressive properties. The cow's milk protein peptides in the partially hydrolyzed formula BEBA-HA were obtained by trypsin digestion, a process similar to physiologic *in vivo* digestion. This may explain why the tryptic peptide-containing formula (BEBA-HA) was as active as the standard formula (NAN) for oral tolerance induction in our experiments.

The doses of antigen given orally for tolerance induction are very important, because T- and B-lymphocyte modulation may be different.⁴ It was shown, for example,¹⁴ that a gavage of high doses of antigen of more than 1 mg produced suppression of delayed-type hypersensi-

tivity and IgG antibody responses, whereas low doses of 0.01 to 0.05 mg of antigen did not change the IgG response but enhanced the delayed-type hypersensitivity response. In this study we showed that modulation of the specific anti- β LG antibody response was dose-dependent in the *ad libitum* feeding protocol. High concentrations (120 mg/ml) induced strong suppression, and low concentrations (0.12 mg/ml) induced little suppression.

In addition, we showed that specific oral tolerance was also induced at the T-cell level by pre-feeding with high concentrations of NAN or BEBA-HA but not with ALFARE.

Development of oral tolerance to intact proteins has been explained by several mechanisms, which include Th anergy,^{15,16} Ts activation,¹⁷⁻¹⁹ and bystander suppression.^{20,21} Feeding low doses of antigen has been claimed to favor active suppression mediated by T suppressor cells, whereas higher doses favor clonal anergy.²² The discussion as to which of these mechanisms is dominant is open, although Th anergy appears to be the most accepted mechanism, at least for induction of oral tolerance to food proteins. The experiments in this study showed that oral tolerance induction with intact or partially hydrolyzed cow's milk formula was antigen-specific, and no bystander suppression against an unrelated antigen (ovalbumin) was observed. Whether the mechanisms involved for oral tolerance induction are the same for intact proteins or peptides remains to be demonstrated because peptides may be processed differently by antigen-presenting cells than whole proteins.

It is generally accepted that breast-feeding is the best choice for prevention of cow's milk allergy in infants of atopic parents. Some authors also showed a beneficial effect of maternal diet restriction during lactation on prevalence of allergy in infants,²³ whereas others found the opposite,²⁴ namely that infants breast-fed by mothers on a restriction diet had more allergies than infants of mothers not dieting. This means that tolerogenic cow's milk proteins or peptides present in the breast milk of nondieting mothers induced oral tolerance rather than sensitization in infants. Our studies showed that tolerogenic peptides are present in partially hydrolyzed formulas and not in extensively hydrolyzed ones. Therefore when breast feeding is not possible in "at risk" infants, partially hydrolyzed formulas may be more suitable than extensively hydrolyzed formulas for inducing actively oral tolerance to cow's milk proteins.

We thank Christine Martin and Catherine Schwarz for their technical assistance.

REFERENCES

1. Wells HG, Osborne TB. The biological reactions of the vegetable proteins. *J Infect Dis* 1911;8:66-124.
2. Thomas HC, Parrott DMV. The induction of tolerance to a soluble protein antigen by oral administration. *Immunology* 1974;27:631-9.
3. Hanson DG, Vaz NM, Maia L, Hornbrook M, Lynch J, Roy C. Inhibition of specific immune responses by feeding protein antigens. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1977;55:526-32.

AN - PREV199800276511
TI - Oral tolerance induction with altered forms of ovalbumin
AB - As a T cell-dependent phenomenon, oral tolerance is not expected to depend necessarily on native configuration of antigens. We investigated the induction of oral tolerance with modified ovalbumin (Ova). Oral administration of heat-denatured (HD-Ova) and cyanogen bromide-degraded ovalbumin was less effective than native Ova in inducing oral tolerance in B6D2F1 mice. HD-Ova was effective in suppressing delayed-type hypersensitivity (DTH) reactions but did not suppress specific antibody formation. Injection of Ova directly into the stomach, but not into the ileum or cecum, suppressed subsequent immunization to DTH reactions. Gavage with protease inhibitors (aprotinin or ovomucoid) before gavage with Ova was ineffective in blocking tolerance induction. Treatment with hydroxyurea to destroy cycling cells 24 h before gavage with Ova blocked oral tolerance induction and also the possibility to passively transfer tolerance to naive recipients with the serum of mice gavaged with Ova 1 h before. The implications of these findings about oral tolerance induction are discussed.
IW - ** Major Concepts ** Immune System (Chemical Coordination and Homeostasis) ; Pharmacology
- ** Organisms ** (Muridae): B6D2F1 mouse
- ** Taxanotes ** Animals, Chordates, Mammals, Nonhuman Vertebrates, Nonhuman Mammals, Rodents, Vertebrates
- ** Super Taxa ** Rodentia, Mammalia, Vertebrata, Chordata, Animalia
- ** Chemicals and Biochemicals ** modified ovalbumin: immunologic-drug, oral
AW - ** Miscellaneous Descriptors ** delayed-type hypersensitivity reactions; immune responses; oral tolerance
PBC - 86375
PCC - 22018, Pharmacology - Immunological processes and allergy34508, Immunology - Immunopathology, tissue immunology
PUB - Brazilian Journal of Medical and Biological Research
- March, 1998
AU - Stransky B; Faria A M C; Vaz N M
AUAF - Laboratorio de Imunobiologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, ICB, UFMG, Caixa Postal 486, 31161-970 Belo Horizonte, MG, Brazil
IRN - ISSN 0100-879X
VOL - 31
NR - 3
PG - 381-386
DT - Article

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVORESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 El uso de proteínas de huevo hidrolizadas
enzimáticamente con un grado de hidrólisis entre 15 y 28%
en la elaboración de una composición para la inducción de
tolerancia oral a proteínas de huevo en el mamífero.

10

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A PROTEÍNAS DE HUEVO

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se relaciona con el uso de proteínas
5 de huevo hidrolizadas para inducir tolerancia oral a
proteínas de huevo intactas en mamíferos que probablemente
son alérgicos al huevo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Las alergias a alimentos, de las cuales la más
común es la alergia a la leche de vaca, son causadas, en la
mayoría de los casos, por una reacción a las proteínas en
el alimento. En los primeros años de vida, el sistema
inmune se está aún desarrollando y puede fallar en
15 reconocer y tolerar esas proteínas de la dieta. El
resultado es que el bebé o niño o animal joven trate las
proteínas de la dieta como una sustancia extraña y
desarrolle una respuesta alérgica a ésta. Las alergias a
alimentos pueden afectar no únicamente a humanos sino
20 también a otros mamíferos como perros y gatos.

Las células T auxiliares juegan un papel central
en la inmunidad adaptada. Las células Th1 son vitales para
la respuesta inmune mediada por células, y las células Th2
promueven inmunidad humoral. Las respuestas Th1 y Th2 son
25 contrarreguladoras, es decir que las citocinas producidas

por las células Th1 inhiben la función Th2 y viceversa. Se ha demostrado que la respuesta inmune sesgada por Th2 es crucial para el mantenimiento del embarazo exitoso y también prevalece en el nacimiento y durante los primeros 5 meses de vida. La exposición posnatal a antígenos microbianos produce preferiblemente respuestas Th1, las cuales se ha sugerido contraequilibran la producción de citocina polarizada por Th2 en neonatos. En el caso de una exposición microbiana temprana insuficiente, la producción de citocinas tipo Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) se propaga aún 10 más conduciendo a la producción de IgE y en consecuencia a enfermedad alérgica. Sin embargo, este paradigma de Th2 probó rápidamente ser insuficiente para explicar toda la inmunopatología de la enfermedad atópica y recientemente se tenía la hipótesis de que más de un incremento de la 15 activación de Th2, la etapa inicial de enfermedades atópicas podría ser consecuencia de la activación defectuosa de las células reguladoras T (Treg). Las células Treg son poblaciones de células T pequeñas capaces de 20 inducir tolerancia inmune. Han sido descritos varios subconjuntos superpuestos de células Treg (Th3, Tr1, CD4+, CD25+) que expresan citocinas supresoras (IL-10, TGF- β).

El fenómeno de la tolerancia oral es la capacidad mediante la cual la administración de antígenos por la ruta 25 oral puede ser evitada después de respuestas inmunes

sistémicas subsecuentes al mismo antígeno dada en una forma inmunogénica. Si el mecanismo de la tolerancia oral no se desarrolla lo suficiente, o si existe una interrupción en el estado fisiológico de tolerancia a ciertos antígenos, esto puede dar como resultado el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad. El mecanismo puede ser explicado como sigue: después de un primer contacto con el alérgeno, se producen anticuerpos IgE y migran hacia la superficie de los mastocitos y basófilos donde se unen a receptores específicos. Tras un segundo contacto con el alérgeno, las IgE de superficie se reticulan sobre mastocitos o basófilos conduciendo a la activación celular y liberación de mediadores químicos, incluyendo histamina. Este fenómeno conduce a efectos patológicos, como vasodilatación local o sistémica.

Usualmente, la hipersensibilidad a alimentos aparece justo después de que un animal bebé, niño o joven encuentra por primera vez un alimento. Las primeras proteínas de la dieta generalmente encontradas por bebés humanos son al menos proteínas de leche de vaca, y como se hizo notar anteriormente, la alergia a la leche de vaca es la alergia a alimentos más común. Generalmente se acepta que los bebés con alergia a la leche de vaca establecida tienen un mayor riesgo a desarrollar alergias a otras proteínas de la dieta, como proteínas de huevo y cereal,

pero aún aquellos bebés que desarrollaron exitosamente tolerancia oral a proteínas de leche de vaca pueden posteriormente desarrollar alergias a otras proteínas de la dieta como proteínas de huevo y cereal cuando esas sean
5 introducidas en la dieta en el destete.

Desde el punto de vista dietético existen dos formas de tratar una alergia establecida - cualesquier alimentos que contengan el alérgeno deben ser evitados juntos, o los alimentos deben ser tratados para disminuir
10 su potencial alérgico, por ejemplo hidrólisis exhaustiva. Las fórmulas infantiles que contienen proteínas de leche de vaca hidrolizada de manera exhaustiva (péptidos que consisten de no más de cinco aminoácidos) son elaboradas para este propósito.

15 Sin embargo, existe la necesidad de productos que ayuden a reducir el riesgo de desarrollar la alergia y promuevan el desarrollo de tolerancia a proteínas intactas, particularmente en niños que se piense estén en riesgo de lo mismo, (es decir, niños que tengan al menos un miembro
20 familiar cercano que padezca de alguna alergia). Por ejemplo, se ha propuesto alimentar parcialmente proteínas de leche de vaca hidrolizadas para inducir tolerancia oral a proteínas de leche de vaca en infantes. Fritsché et al. (J. Allergy Clin. Immunol, Vol 100, No. 2, páginas 266-273)
25 ha mostrado usando modelos con animales que los

hidrolizados enzimáticos de proteínas de leche de vaca con un grado de hidrólisis de 18% fueron capaces de inducir tolerancia oral a proteínas de leche de vaca intactas mientras que hidrolizadas con un grado de hidrólisis del 28% no. Los resultados de esos experimentos mostraron que la alimentación preventiva de ratas con esa fórmula de leche de vaca moderadamente hidrolizada, cuya alergenicidad ha sido reducida en más de 100 veces en comparación con una fórmula estándar, suprimió la liberación de IgE específica y mediador de sus mastocitos intestinales, ambos parámetros de una reacción alérgica de tipo inmediato. Este trabajo demostró que para proteínas de leche de vaca es posible definir un grado de hidrólisis enzimática, por lo que la capacidad de los péptidos para inducir tolerancia oral se mantiene mientras su alergenicidad sea reducida sustancialmente.

Han sido propuestos varios otros métodos para mejorar la inducción de tolerancia oral a proteínas de leche de vaca incluyendo la administración de probióticos como es propuesto en la WO2003/099037 o la administración de un compuesto capaz de incrementar la actividad de COX-2 como se propone en la WO02/051437. Sin embargo, se ha puesto relativamente poca atención en la inducción de tolerancia a otras proteínas de la dieta que con frecuencia provocan reacciones alérgicas como las proteínas de huevo.

En realidad, puede existir aún una necesidad más grande
dado que la alergia a las proteínas de leche de vaca
usualmente desaparece espontáneamente entre la edad de 2 a
5 años, mientras que la alergia a las proteínas de huevo
5 generalmente es más lenta en desaparecer y puede aún
persistir a través de la vida. Por lo tanto, un objetivo de
la presente invención es proporcionar un método para
inducir tolerancia oral a proteínas de huevo.

10

LA INVENCION

En consecuencia, la presente invención
proporciona el uso de proteínas de huevo hidrolizadas
enzimáticamente con un grado de hidrólisis entre 15 y 28%
en la elaboración de una composición para la inducción de
15 tolerancia oral a proteínas de huevo en un mamífero.

La invención se extiende a un método para inducir
tolerancia oral a proteínas de huevo proporcionando a un
mamífero que necesite de lo mismo una composición que
contenga una cantidad terapéutica de proteínas de huevo
20 hidrolizadas con un grado de hidrólisis de entre 15 y 28%.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la antigenicidad específica
de OVA residual de hidrolizados de huevo.

25

La Figura 2 muestra la alergenicidad reducida en

una ensayo de activación de mastocitos funcionales.

La Figura 3 muestra la capacidad de diferentes hidrolizados de proteína de huevo para suprimir una respuesta de IgE anti-proteína de huevo específica.

5 La Figura 4 muestra la capacidad de diferentes hidrolizados de huevo para desregular la activación de mastocitos intestinales.

La Figura 5 muestra que proteínas de huevo hidrolizadas exhaustivamente son incapaces de suprimir una
10 respuesta de IgE anti-proteína de huevo específica para desregular la activación de mastocitos intestinales.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

En esta especificación, los siguientes términos
15 tienen los siguientes significados:

"Grado de hidrólisis" o "DH" de una proteína significa la cantidad de nitrógeno en grupos NH_2 libres dividida por la cantidad total de nitrógeno (grupos NH y NH_2) expresado como un porcentaje.

20 "Tolerancia oral" significa un estado activo de hipersensibilidad inmunológica a antígenos distribuidos vía la ruta oral.

Todas las referencias a porcentajes son porcentajes en peso a menos que se establezca otra cosa.

25 Preferiblemente el grado de hidrólisis es entre

18 y 25%, de manera más preferible entre 23 y 25%.

La inducción exitosa de tolerancia oral a proteínas de huevo intactas usando proteínas de huevo hidrolizadas requiere descubrir un equilibrio entre la
5 antigenicidad residual de las proteínas hidrolizadas y su capacidad para inducir tolerancia oral. En general, la antigenicidad residual de las proteínas hidrolizadas deberá ser al menos 100 veces menor que la de las proteínas intactas.

10 Se encontró que las proteínas de huevo hidrolizadas que tienen un grado de hidrólisis entre 20 y 28% tienen una alergenicidad la cual se reduce en un factor de al menos 100 en comparación con las proteínas de huevo intactas de acuerdo a lo medido por la técnica descrita por
15 Fritsché et al (Int. Arch. Aller and Appl Imm., 93, 289-293, 1990).

Las proteínas de huevo pueden ser hidrolizadas enzimáticamente por procesos adecuados conocidos en la técnica. Un ejemplo de un proceso de hidrólisis adecuado es
20 una hidrólisis enzimática en dos etapas que parte de huevo entero líquido pasteurizado. El huevo líquido es calentado a una temperatura en el intervalo de 60 a 65°C durante aproximadamente 10 minutos, entonces enfriado a aproximadamente 55°C. Se agrega una proteasa como la serina
25 endoproteasa subtilisina bacteriana (vendida por ejemplo

bajo el nombre comercial de Alcalase®) y la mezcla es mantenida a aproximadamente 55°C durante al menos 2 horas para efectuar una hidrólisis parcial. Entonces la temperatura de la mezcla se eleva de 70 a 75°C y se mantiene ahí durante aproximadamente 10 minutos. La mezcla es enfriada nuevamente a aproximadamente 55°C y se agrega una cantidad adicional de enzima. La mezcla es mantenida a aproximadamente 55°C durante al menos dos horas adicionales para alcanzar el grado requerido de hidrólisis. La temperatura se eleva entonces a entre 85 y 95°C y se mantiene ahí durante un periodo de hasta 30 minutos para inactivar las enzimas y terminar la hidrólisis. El huevo hidrolizado líquido resultante puede ser usado en este estado o puede ser secado por rocío para producir un producto en polvo cuando se prefiera.

Una composición adecuada para usarse en la presente invención puede ser cualquier producto alimenticio en el cual se incorpore convencionalmente huevo entero con el huevo entero reemplazado por huevo hidrolizado en el cual las proteínas de huevo tengan un grado de hidrólisis entre 20 y 28%. El polvo de huevo hidrolizado producido como se describió anteriormente por ejemplo, puede ser usado en lugar de polvo de huevo entero en recipientes como natillas horneadas, quiches, caramelo de crema. De manera alternativa, el polvo de huevo hidrolizado puede ser

reconstituido con agua y usado para preparar platillos como omelet y huevos revueltos. El polvo de huevo hidrolizado es un ingrediente parcialmente adecuado en alimentos para bebés y niños pequeños, particularmente alimentos adecuados para usarse en las etapas iniciales de destete. Nuevamente, el polvo de huevo hidrolizado puede ser usado en lugar del polvo de huevo entero usado convencionalmente para preparar esos productos.

Como se hizo notar anteriormente, las alergias a proteínas de la dieta no están confinadas a humanos y el método de la presente invención también puede ser usado para inducir tolerancia oral a proteínas de huevo, en otros mamíferos, particularmente animales de compañía como perros y gatos. Las proteínas de huevo hidrolizadas con un grado de hidrólisis entre 15 y 28% también pueden ser usadas para reemplazar huevo entero en alimentos para animales de compañía, particularmente alimentos que se pretenda sirvan para cachorros y gatitos destetados por ejemplo.

La invención será ahora descrita mejor con referencia a los siguientes ejemplos.

Preparación de Hidrolizados de Huevo.

El material inicial fue huevo entero líquido pasteurizado, FT/OVO/0105 R, ABCD S.A., Avicole

Bretonne Cecab Distribution (Ploërmel, Francia).

Ejemplo 1

Se calentaron 30 Kg de huevo entero líquido a
5 65° C durante 10 min con la agitación a 250 rpm. Después de
enfriar a 55° C, se agregó 2% de enzimas Protamex® (lote
PW2A1006, NOVOZYMES A/S Bagsvaerd, Dinamarca) y la mezcla
fue mantenida a 55° C durante 2 horas. Después de este
primer paso de hidrólisis, se agregó 1% de enzimas
10 Flavourzyme® 1000 L (lote 400904, NOVOZYMES A/S
Bagsvaerd, Dinamarca) y la mezcla fue calentada a 75°C
durante 10 min. La mezcla fue entonces enfriada a 55° C,
se agregó 1% adicional de enzimas Flavourzyme y la mezcla
fue mantenida a 55° C durante 2 horas. Después de este
15 segundo paso de hidrólisis, la mezcla fue calentada a 90° C
durante 30 min y entonces secada por roció para obtener un
polvo de huevo hidrolizado el cual se acondicionó en una
bolsa de aluminio.

Ejemplo 2

Se calentaron 35 Kg de huevo entero líquido a
65° C durante 10 min con agitación a 250 rpm. Después de
enfriar a 55° C, se agregó 5% de enzimas Protamex® (lote
PW2A1006, NOVOZYMES A/S Bagsvaerd, Dinamarca) y la mezcla
25 fue mantenida a 55° C durante 2 horas. Después de este

primer paso de hidrólisis, se agregó 1% de enzimas Flavourzyme® 1000 L (lote 400904, NOVOZYMES A/S Bagsvaerd, Dinamarca) y la mezcla fue calentada a 75° C durante 10 min. La mezcla fue entonces enfriada a 55° C, se agregó
5 4% adicional de enzimas Flavourzyme y la mezcla fue mantenida a 55° C durante 2 horas. Después de este segundo paso de hidrólisis, la mezcla fue calentada a 90° C durante 30 min y secada por rocío para obtener un polvo de huevo hidrolizado el cual fue acondicionado en una
10 bolsa de aluminio.

Ejemplo 3

Se calentaron 30 Kg de huevo entero líquido a 65° C durante 10 min con una agitación a 250 rpm. Después
15 de enfriar a 55° C, se agregó 10% de enzimas Alcalase® 2.4 L (lote 500357, NOVOZYMES A/S Bagsvaerd, Dinamarca) y la mezcla fue mantenida a 55°C durante 2 horas. Después de este primer paso de hidrólisis, la mezcla fue calentada a 75°C durante 10 min. La mezcla fue entonces enfriada a
20 55°C, se agregó 10% adicional de enzimas Alcalase y la mezcla fue mantenida a 55°C durante 2 horas. Después de este segundo paso de hidrólisis, la mezcla fue calentada a 90°C durante 30 min y entonces secada por rocío para obtener un polvo de huevo hidrolizado el cual fue
25 acondicionado en una bolsa de aluminio.

Productos Que Contienen Huevo Entero Hidrolizado

Ejemplo 4

Un ejemplo de los ingredientes para un pudín de
5 huevo dulce que contiene huevo hidrolizado es como sigue:

	Ingrediente	%
	Leche entera (3.5% de grasa)	62.0
	Agua	24.3
10	Azúcar	5.5
	Polvo de huevo hipoalergénico	2.5
	Almidón de maíz	3.0
	Almidón de tapioca	2.0
	Sabor vainilla	0.7
15	El pudín puede ser producido por cualquier método adecuado conocido en la técnica.	

Ejemplo 5

Un ejemplo de los ingredientes para un pudín de
20 huevo salado que contiene huevo hidrolizado es el siguiente:

	Ingrediente	%
	Leche entera (3.5% de grasa)	62.0
	Agua	21.5
25	Cubos de zanahoria congelados	10.0

Polvo de huevo tipo alergénico	1.5
Almidón de maíz	3.0
Almidón de tapioca	2.0

El pudín puede ser producido por cualquier método
5 adecuado conocido en la técnica.

Ejemplo 6

Un ejemplo de los ingredientes para un producto
de pasta de huevo que contiene huevo hidrolizado es el
10 siguiente:

	Ingrediente	%
	Semolina de trigo duro	70.6
	Agua	21.6
	Polvo de huevo hipoalergénico	5.9
15	Aceite de cártamo	1.9

La pasta puede ser producida por cualquier método
adecuado conocido en la técnica.

Antigenicidad Residual de Hidrolizados de Huevo.

20 La antigenicidad residual de la ovalbúmina de
proteína (OVA) en los hidrolizados de los ejemplos
1, 2 y 3 fue determinada por inhibición por ELISA con
un antisuero antiproteína OVA de conejo policlonal. Los
pozos de placas de microtitulación fueron recubiertos
25 con 100 μ l de OVA a 50 μ g/ml en amortiguador de

carbonato-bicarbonato e incubados durante a 24 horas a 4°C. Las placas fueron lavadas 4 veces en amortiguador de PBS-Tween y los sitios sin reacción fueron bloqueados agregando 200 µl/pozo de gelatina de pescado (0.5% en
5 PBS-Tween). Las placas fueron incubadas una hora a temperatura ambiente (RT) y lavada nuevamente 4 veces en PBS-Tween.

En tubos separados, se incubaron una parte de preparación OVA estándar o muestra de prueba durante 1 hora
10 a TA con una parte de anticuerpo anti-proteína OVA de conejo (diluido 1:20'000). Después de la incubación, se agregaron 100 µl de esta mezcla de inhibición a los pozos de microtitulación recubiertos y bloqueados anteriores y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Las placas
15 fueron lavadas 4 veces en PBS-Tween. Entonces se agregó un conjugado marcado con anti-peroxidasa de conejo de cabra (0.1 ml de una dilución 1:2000), las placas fueron incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente y lavadas 4 veces en PBS-Tween. Se agregó sustrato cromogénico (0.1 ml
20 de O-fenilen-diamina). Después de 15 minutos de incubación, se leyó la densidad óptica a 492 nm sobre un lector de placas de Elisa.

Los resultados se muestran en la Figura 1 de los cuales puede observarse que la antigenicidad específica de
25 OVA de los hidrolizados de los Ejemplos 1 a 3 se redujo en

un factor de más de 10,000 en comparación con la proteína de huevo intacta.

Alergenicidad Residual de Hidrolizados de Huevo

5 Se usó un ensayo *in vitro* funcional de serotonina tritiada liberada de mastocitos de rata sensibilizados para determinar la alergenidad dependiente de IgE de una molécula antigénica (OVA) como se describió anteriormente (Fritsché et al. J. Allergy Clin. Immunol, Vol 100, No. 2, 10 páginas 266-273). De manera breve, los mastocitos fueron obtenidos de ratas Sprague-Dawley normales por lavados peritoneales en medio de Eagle modificado de Dulbecco que contiene 10% de suero de carnero fetal. Las células fueron lavadas en este medio y mantenidas durante la noche a 4°C.

15 Después de dos lavados en amortiguador de fosfato-HEPES-gelatina de pescado (PHG) pH 7.0, las células fueron suspendidas en el mismo amortiguador a 5×10^5 células/ml y diluidas con un volumen de suero de rata rico en anticuerpos IgE anti-OVA que contienen 5 $\mu\text{Ci/ml}$ de ^3H 20 serotonina. Después de la incubación a 37°C durante 2 horas, las células fueron lavadas adicionalmente 3 veces en PHG y resuspendidas en PHG a 2.5×10^5 células/ml. Los mastocitos sensibilizados fueron distribuidos en placas de microtitulación (0.1 ml/pozo) y mezclados a 0.05 ml de 25 diluciones en serie de proteínas de huevo hidrolizadas

producidas de acuerdo al Ejemplo 2 (1/10 inicialmente a 10 mg/ml). La mezcla fue incubada 60 minutos a 37°C y centrifugada. Una alícuota (0.05 ml) del sobrenadante fue mezclada con 2 ml de fluido de destellos y la liberación de ^3H fue medida usando un contador β -Packard.

Los resultados se muestran en la Figura 2 de la cual puede observarse que el huevo hidrolizado tuvo una alergenicidad muy reducida (25 μg de OVA/g de proteína equivalente) y que este bajo valor se mantuvo cuando se incorporó huevo hidrolizado en un postre tipo flan.

Inducción de Tolerancia Oral a Proteínas de Huevo Alimentando Hidrolizado de Proteína de Huevo

Se investigó la capacidad de inducción de tolerancia oral de productos de huevo usando un modelo de rata *in vivo*. A seis grupos de ratas Sprague-Dawley (6 animales/grupo) criados con una dieta libre de proteína de huevo se les dieron diferentes proteínas de huevo/hidrolizados de huevo líquidos experimentales o agua (control) *ad limitum* en sus botellas de beber y una dieta de croquetas libres de proteína de huevo sólidas de los días 1 a 19 del experimento. A los animales se les dieron los siguientes productos:

- Grupo A, polvo de huevo entero (20 g/l);
- Grupo B, polvo de huevo hidrolizado del Ejemplo 3

(120 g/l), DH 25%;

Grupo C, polvo de huevo hidrolizado del Ejemplo 2

(120 g/l) DH 23%;

Grupo D, polvo de huevo hidrolizado del Ejemplo 1

5 (120 g/l) DH 20%;

Grupo E, polvo de huevo hidrolizado ultrafiltrado del Ejemplo 3 (120 g/l) DH 31%;

Grupo F, H₂O (control).

El polvo de huevo hidrolizado ultrafiltrado
10 alimentado al Grupo E se obtuvo como sigue. El sustrato de
huevo líquido hidrolizado obtenido en el ejemplo 3 fue
microfiltrado usando un módulo de filtración (Sefiltec, FBF
0102) con un filtro de bolsa de 100 µm (PGF 51 E 02).
Después de este paso de microfiltración, el infiltrado fue
15 ultrafiltrado usando un módulo UF hecho localmente con
membranas de 4000 Daltons (ES404, PES, 4000 MWCO PCI
Membrane Systems). El infiltrado fue entonces secado por
congelamiento.

El nitrógeno total en los hidrolizados fue
20 determinado por el procedimiento de Dumas (método de Carlo
Erba). El grado de hidrólisis fue medido por el método TNBS
de acuerdo con Adler-Nissen (J. Agric. Food. Chem 1979 27:
1256-1262).

Todas las ratas fueron inmunizadas el día 5 del
25 experimento por inyección subcutánea de 0.1 mg de

Ovalbúmina + 0.2 ml de $\text{Al}(\text{OH})_3$ al 3%. El día 19, todos los animales fueron sacrificados. Se extrajo sangre y los sueros fueron analizados por anticuerpos IgE específicos (anti-Ovalbúmina) por ELISA, como se describió
5 anteriormente (Fritsché R, Bonzon M. Int Arch Allergy Appl Immunol 1990; 93: 289-93). De manera breve, se recubrieron placas de microtitulación con OVA durante 24 horas a 4°C. Las placas fueron lavadas con PBS-Tween 20 y saturadas durante 1 hora con gelatina de pescado. Después de la
10 adición de los sueros de prueba diluidos en serie (1/2) e incubación durante 2h, se agregó antisuero anti-IgE de rata de oveja. Después de 1 hora a temperatura ambiente, se agregó un segundo anticuerpo marcado con peroxidasa durante 1 hora, seguido por el sustrato (o-fenilen-diamina). La
15 densidad óptica de una fracción diluida de 1:5 de suero de rata normal a 492 nm se consideró como fondo no específico. Las concentraciones de anticuerpos específicos fueron expresadas como diluciones máximas de los sueros de prueba por encima de este valor.

20 La proteasa de mastocitos de rata (RMCPII) es liberada en la sangre después de la activación mediada por IgE de los mastocitos intestinales. El desafío oral para la liberación de RMCPII es una medida de la sensibilización de IgE o tolerización a nivel de mastocitos intestinales. Los
25 niveles de RMCPII son determinados con un equipo de ELISA

comercial (Moredum Animal Health Ltd., Edinburgh, Escocia), sobre la base del principio de prueba de emparejado en el cual el recubrimiento de la placa se hace con anticuerpo anti-RMCPII monoclonal, seguido por la adición de suero de
 5 prueba y un segundo anticuerpo policlonal anti-RMCPII de oveja acoplado a la peroxidasa de rábano.

Los resultados se muestran en las Figuras 3, 4 y 5. De la Figura 3, puede observarse que los hidrolizados de proteína de huevo de los Ejemplos 1 a 3 son capaces de
 10 suprimir las respuesta de IgE anti-proteína de huevo específica cuando se alimentan animales durante 19 días *ad libitum* en comparación con el control no tolerizado, Grupo F), lo cual indujo altos niveles de anticuerpos IgE anti-huevo. De manera más precisa, los niveles de IgE anti-
 15 OVA (expresados como log de los títulos de anticuerpos) fueron los siguientes: Grupo A, 4 ± 1.1 ; Grupo B, 4.1 ± 0.9 ; Grupo C, 3.3 ± 1.1 ; Grupo D, 4.1 ± 2.0 ; Grupo F, 6.1 ± 0.3 . Cuando se comparan los grupos, todos los grupos A a D son significativamente diferentes ($p < 0.05$) del
 20 grupo F (control).

La Figura 4 muestra también que la activación de los mastocitos intestinales es desregulada en los Grupos A, B, C y D pero no en el Grupo F (control). Los valores, expresados en μg de RMCPII/ml son los siguientes: Grupo A,
 25 0 ± 0.0 ; Grupo B, 0.6 ± 1.0 ; Grupo C, 1.2 ± 1.7 ;

Grupo D, 0.6 ± 0.8 ; Grupo F, 2.8 ± 0.7 . Cuando se comparan los grupos, todos los grupos A a D son significativamente diferentes ($p < 0.05$) del grupo F (control).

5 La Figura 5 muestra que las proteínas de huevo hidrolizadas exhaustivamente alimentadas al Grupo E no indujeron tolerancia oral a OVA de acuerdo a lo medido por la supresión de una respuesta de IgE anti-proteína de huevo específica o la desregulación de la activación de los
10 mastocitos intestinales: los niveles de IgE anti-OVA y RMCPII no son diferentes de los valores obtenidos del grupo control.

REIVINDICACIONES

1. El uso de proteínas de huevo hidrolizadas
enzimáticamente con un grado de hidrólisis entre 15 y 28%
5 en la elaboración de una composición para la inducción de
tolerancia oral a proteínas de huevo en un mamífero.

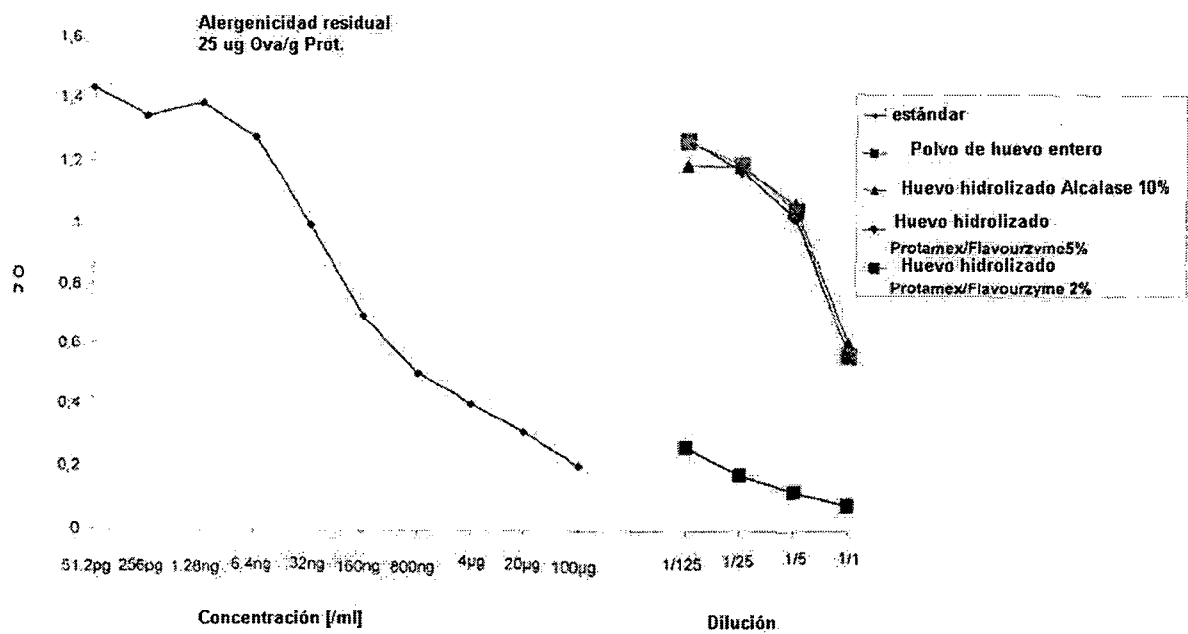
2. Uso según la reivindicación 1, donde el
mamífero es un humano.

3. Uso según la reivindicación 2, donde la
10 composición es un alimento de destete para un bebé.

4. Uso según la reivindicación 1, donde el
mamífero es un animal de compañía como un gato o un perro.

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones
precedentes, donde el grado de hidrólisis es entre 23
15 y 25%.

Figura 1



Liberación de serotonina 3H (c.p.m.)

OVA (mcg/ml)	Liberación de serotonina 3H (c.p.m.)
0	~1000
0.001	~1000
0.01	~3500
0.1	~8500
1	~11500
10	~11000

Dil. de la muestra

Dil. de la muestra	OVA (◇)	EP 1/500 (■)	EP-HA 1/5 (△)	Flan 1/500 (×)	Flan-HA 1/5 (*)
1/125	~1500	~6200	~1200	~1000	~1000
01:25	~1800	~13200	~1500	~2000	~1500
01:05	~3500	~12800	~3800	~3800	~3500
01:01	~12200	~12200	~15500	~13500	~9500

Alergenicidad residual ug OVA/g prot

↓
156'000
25 ←
15'000
25 ←

Figura 3

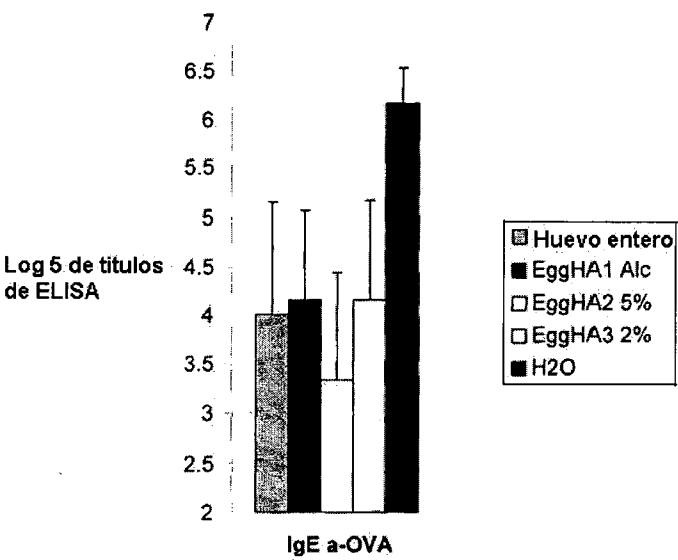


Figura 4

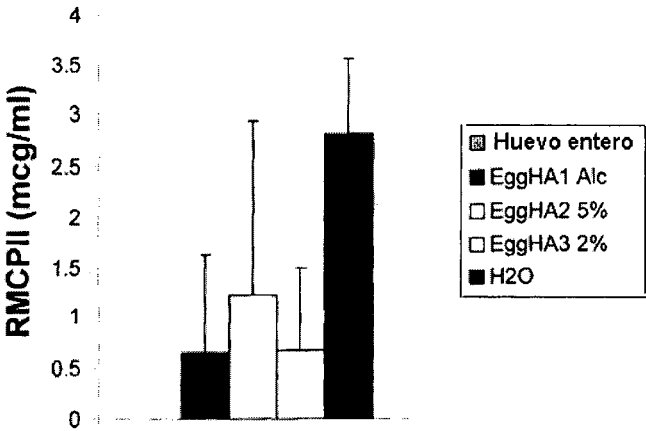
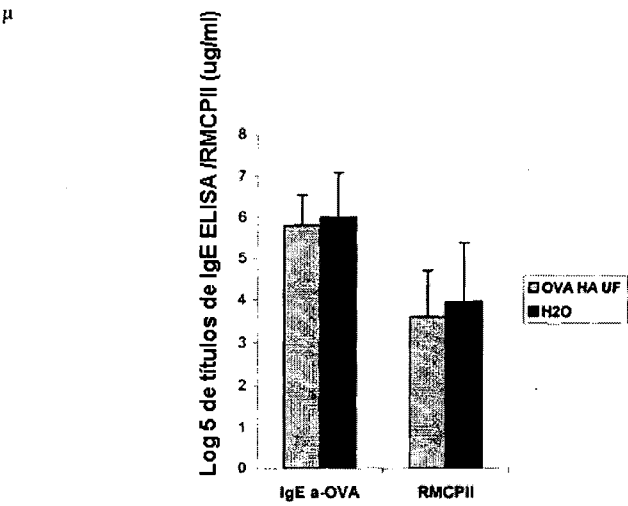


Figura 5



VIII-2-1	Declaración: Derecho de solicitar y que se otorgue una patente Declaración en cuanto al derecho del solicitante, en cuanto a la fecha de registro internacional, para solicitar y que se otorgue una patente (Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii)), en un caso en que la declaración no sea apropiada de conformidad con la Regla 4.17(iv): Nombre (APELLIDO, primer nombre)	en relación con esta solicitud internacional NESTEC S.A. tiene derecho a solicitar y a que se le otorgue una patente en virtud de lo siguiente:
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de FRITSCHÉ, Rodolphe a NESTEC S.A., con fecha 1 de Diciembre de 1985 (01.12.1985)
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de SCHALLER, Raphael a NESTEC S.A., con fecha 1 de Marzo de 2004 (01.03.2004)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to this international application NESTEC S.A. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i) v)		an assignment from FRITSCHÉ, Rodolphe to NESTEC S.A., dated 01 December 1985 (01.12.1985)
VIII-2-1(i) v)		an assignment from SCHALLER, Raphael to NESTEC S.A., dated 01 March 2004 (01.03.2004)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-002508- -00000-0000

Fecha: 2009-01-14 16:32:52 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 61



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha

14 ene / 09

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 63

2020
Bogotá D.C.,

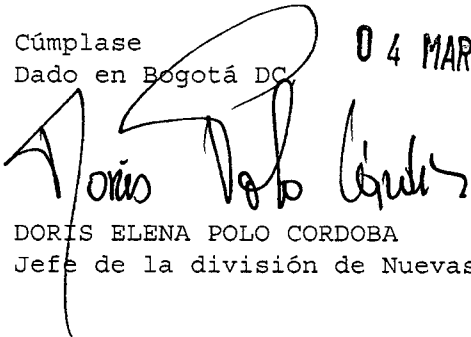
Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
NESTEC S.A.

REFERENCIA	Radicación No.	9 2508
	Solicitud internacional	PCT/EP2007/055882
	Fecha inicio fase nacional	15/01/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	7650
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cumplase
Dado en Bogotá DC.

04 MAR. 2009


DORIS ELENA POLO CORDOBA
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

jfernand