

Señores

**DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Bogotá, D.C.**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-198811- -00002-0000

Fecha: 2014-11-06 11:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 7

**Re.: Expediente No. 14 198.811
Fase nacional de Solicitud
de Patente PCT a nombre de
MJN U.S. HOLDINGS LLC
Código 011 – 378 - 444**

OX

En relación con la solicitud contenida en el expediente de la referencia y, en particular, para dar respuesta a su requerimiento contenido en el Oficio No. 12285, expedido dentro del mismo y dentro del término conferido, por medio del presente escrito me permito manifestarles:

1. Mi representada considera que la presente invención puede ser comprendida y ejecutada por la persona versada en la materia técnica por cuanto la descripción es suficiente para el efecto, por lo que no se requiere que la descripción contenga el certificado de depósito del material biológico.
2. Por otra parte, en la descripción, párrafo [0019], se proporciona la información pertinente sobre el material biológico, la institución de depósito y su número de acceso.
3. Acompaño el documento que obra en poder de la solicitante sobre el Certificado de Depósito para LGG, con su correspondiente traducción.

Les solicito se sirvan agregar este escrito y su anexo al expediente.

De Ustedes Atentamente,

GERMAN CASTILLO GRAU

T.P. No. 2.978 del C.S.J.

Identification of *Lactobacillus* GG

Strain	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain GG (LGG) ATCC 53 103, a patented strain
--------	--

Origin	Human intestinal flora Isolation based on acid and bile tolerance and adhesion capacity on human intestinal cells (US Patents 4839281, 5032399)
--------	--

Phenotypic characteristics



Typical cell and colony morphology (Gram stain, MRS agar)
Production of L-lactic acid, no toxin production
Growth at 15 °C...45 °C

[illegible]

Typical API 50CHL fermentation profile, does not ferment lactose (Saxelin 1997)

Antibiotic sensitivity

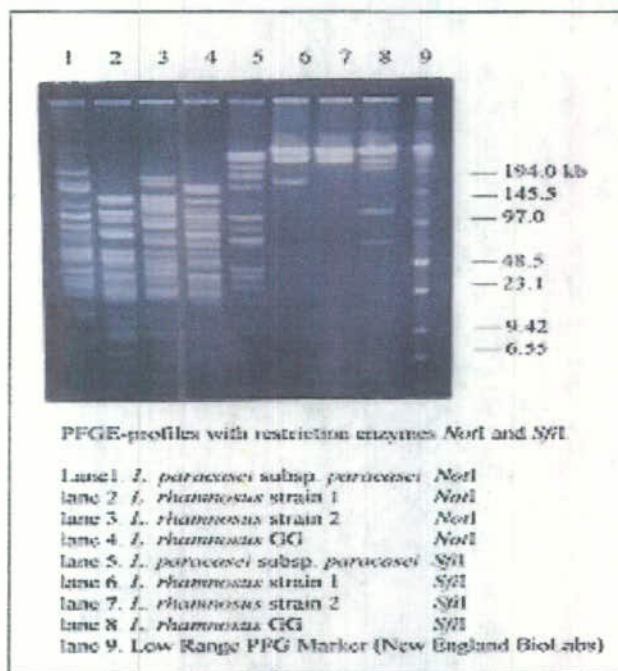
Table 1. Vancomycin resistance genes are not transmitted (Tynkkynen et al, 1998, Klein et al 2000)

1.6.2004

valios passport_identification of lactobacillus
gg.doc

R&D/Saxelin

Genotypic characteristics



A native strain, no genetic manipulation

Does not contain plasmids

PCR-based primer for species level and a typical profile in pulse-field gel electrophoresis (Figure above, Tynkkynen et al, 1999).

Genetic stability

The PFGE fingerprint has been stable during the years 1986-2003. The efficiency of adhesion is on the same level through the manufacturing processes (Elo et al, 1991) and during the years as it has been used as a golden standard in several studies (e.g. Ouwehand et al, 2002).

References

- Elo S, Saxelin M, Salminen S. Attachment of *Lactobacillus casei* strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains. *Lett Appl Microbiol* 1991;13:154-156.
- Ouwehand AC, Salminen S, Tölkö S, Roberts P, Ovaska J, Salminen E. Recent human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acid bacteria. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002;9(1):184-6.
- Saxelin M. *Lactobacillus* GG - a human probiotic strain with thorough clinical documentation. *Food Rev Int* 1997;13(2):293-313.
- Tynkkynen S, Singh KV, Varmanen P. Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to enterococcal vancomycin resistance (van) genes. *Int J Food Microbiol* 1998;41(3):195-204.
- Tynkkynen S, Satokari R, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Saxelin M. Comparison of ribotyping, randomly amplified polymorphic DNA analysis, and pulsed-field gel electrophoresis in typing of *Lactobacillus rhamnosus* and *L. casei* strains. *Appl Environ Microbiol* 1999;65(9):3908-14.

1.6.2004

valios passport_identification of lactobacillus
gg.doc

R&D/Saxelin

Table 1. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* GG

Antibiotics	Minimum inhibitory concentration (MIC) µg/ml				
	Yhtyneet Laboratoriot Ltd, Finland E-test, AB Biodisc	Vander- hoof et al., 1999	Klein et al., 2000 MD Plate Gram Positive, Radiometer	NCCLS Agar Dilution using Brucella agar + 5% SRBC Prof. Goldin Feb 4, 2004	Brain Heart Infusion Broth Dilution Prof. Goldin Feb 4, 2004
(Benzyl)penicillin	0.19	1.0	0.25		0.25
Ciprofloxacin	2.0	0.2	>4		1
Ofloxacin					2
Gentamicin	24.0		>32		
Ampicillin	0.50	0.5	1.0		1
Imipenem	2.0		2.0	2	1
Doxycycline	0.125				
Vancomycin	>258		>64		>32
Cefotaxime	4.0	4.0			
Erythromycin	0.094	0.25	0.5		
Amoxicillin/Clavulanate	0.5	0.5			
Cephalotin		16.0	4.0		
Tetracycline		2.0	<2.0		
Trimethoprim/Sulfamethoxazole		76.0	>4.0/ >76		
Oxacillin			1.0		
Clindamycin			0.5	1	0.25
Chloramphenicol			<4	>1≤8	4
Rifampin			<0.5		
Linezolid				4	
Meropenem				8	
Ertapenem				16	
Metronidazole				>16	
Moxifloxacin				1	
Trovafloxacin				0.5	
Minocycline				1	
Amp/Sulbactam 2:1				2	1
Pipercillin/Tazobactam 4 ug/ml				1	
Ticarcillin/Clavulanate 2ug/ml				8	4
Pipercillin				1	0.5
Ticarcillin				8	4
Cefoxitin				>128	
Cefotetan				>256	
Cefmetazole				>128	
Cefmetazole					128
Ceftizoxime					32
Cefoxitin					>128
Cefoperazone					16

Tabla 1. No se transmiten genes de Resistencia a Vancomicina (Tynkkynen et al, 1998, Klein et al2000)

Características genotípicas

(IMAGEN)

Estabilidad genética

Referencias

Cepa nativa, sin manipulación genética

No contiene plásmidos

Prímero basado en PCR para nivel de especies y un perfil típico en electroforesis en gel de campo de impulsos (Figura arriba, Tynkkynen et al, 1999).

La huella PFGE ha estado estable durante los años 1986-2003. La eficiencia de adhesión está al mismo nivel durante los procesos de manufactura. (Ele et al, 1991) y durante años, ya que ha sido utilizado como un estándar dorado en varios estudios (por ej: Ouwehand et al, 2002)

Elo S, Saxelin M, Salminen S. Attachment of *Lactobacillus casei* strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains. *Lett Appl Microbiol* 1991; 13:154-156.

Ouwehand AC, Salminen S, ToikkO S, Roberts P, Ovaska J, Salminen E. Recent human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acid bacteria. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002; 9(1): 1.

Saxelin M. *Lactobacillus GG* - a human probiotic strain with thorough clinical documentation. *Food Rev Int* 1997; 13(2): 293-313.

Tynkkynen S, Singh KV, Varmanen P. Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus GG* in relation to enterococcal vancomycin resistance (*van*) genes. *Int J Food Microbiol* 1998; 41(3): 195-204.

Tynkkynen S, Satokari R, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Saxelin M. Comparison of ribotyping, randomly amplified polymorphic DNA analysis, and pulsed-field gel electrophoresis in typing of *Lactobacillus rhamnosus* and *L. casei* strains. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65(9): 3908-14.

1.6.2004

R&D/Saxelin

Tabla 1. Susceptibilidad antibiótica de *Lactobacillus* GG

Antibióticos	Mínima concenton inhibitoria (MIC) ug/ml				
	Yhtyneet Laboratoriot Ltd, Finland E-test, AB Biodisc	Vander- hoof et al. 1999	Klein et al., 2000 MDPlate Gram Positive. Radiometer	NCCLS Agar Dilution using Brucella agar + 5% SRBC Prof. Goldin Feb 4, 2004	BrainHeart Infusion Broth Dilution Prof. Goldin Feb 4, 2004
{Bencyl)penicillin	0.19	1.0	0.25		0.25
Ciprofloxacin	2.0	0.2	>4		1
Ofloxacin					2
Gentamicina	24.0		>32		
Ampicillina	0.50	0.5	1.0		
Imipenem	2.0		2.0	2	
Doxyciclina	0.125				
Vancomycin	>258		>64		>32
Cefotaxime	4.0	4.0			
Eritromicina	0.094	0.25	0.5		
Amoxicillina/Clavulanato	0.5	0.5			
Cefalotina		16.0	4.0		
Tetraciclina		2.0	<2.0		
Trimetoprima/Sulfametoxazol		76.0	>4.0/>76		
Oxacillina			10		
Clindamicina			0.5		0.25
Cloramfenicol			<4	>1	4
Rifampin			<0.5		
Linezolida				4	
Meropenem				8	
Ertapenem				16	
Metronidazol				>16	
Moxitloxacin					
Trovafloracina				0.5	
Minociclina				1	
Amp/Sulbactam 2:1				2	
Pipercillin/Tazobactam 4 ug/ml				8	4
Pipercillina					0.5
Ticarcillina				8	4
Cefoxitina				>128	
Cefotetan				>256	
Cefmetazol				>128	
Cefmetazol					128
Ceftizoxima					32
Cefoxitina					>128
Cefoperazona					16