

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

E

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-116181- -00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

21. EXPEDIENTE No. _____

METABOLITOS PARA LA SALUD BUCAL Y USOS DE LOS MISMOS

54. TITULO _____

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL _____
COLGATE-PALMOLIVE COMPANY

71. SOLICITANTE _____
NEW YORK, NY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

DOMICILIO _____

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

74. APODERADO _____

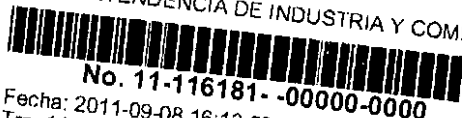
22. BOGOTÁ, D.C. _____

AS: 117.832

PETITORIO

**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-116181-00000-0000
Fecha: 2011-09-08 16:13:53
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACIONDep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 90**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:

Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE

Nombre: COLGATE-PALMOLIVE COMPANY

Dirección: 300 Park Avenue, New York, NY 10022, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América.

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓNC.C. ☐NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

Dirección: Calle 70 A #4-41, Bogotá, Colombia.

Teléfono: 744-2200

Fax: 742-2200

E-mail:

IDENTIFICACIÓNC.C. ☒NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual

Número

80.410.337 TP 57492

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sirvase indicar el número de radicación (del poder). _____

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: BARNES, Virginia, M.; TRIVEDI, Harsh, M.; XU, Tao.

Dirección: 115 Back Brook Road, Ringoes, NJ 08551, Estados Unidos de América; 134 Grantham Drive, Somerset, NJ 08873, Estados Unidos de América; 41 Jernee Drive, East Brunswick, NJ 08816 Estados Unidos de América; respectivamente.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América respectivamente.

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/039184

Publicación Internacional No. WO 2010/114537 A1

Fecha 01.04.2009

Fecha 07.10.2010

6 Título (54):METABOLITOS PARA LA SALUD BUCAL Y USOS DE LOS MISMOS**7 Clasificación Internacional (51):** _____**8 Prioridad**

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☐NO ☒**9 Comprobante de pago No. 11-75313, 11-63274, 11-75359, 11-73855, 11-33023 Fecha 05-09-2011**

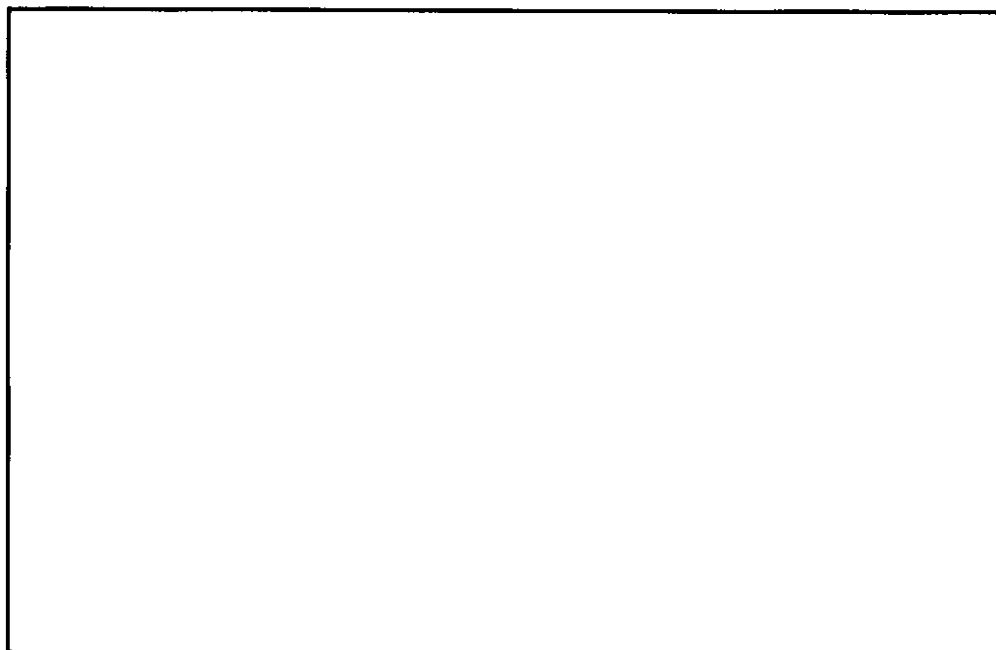
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

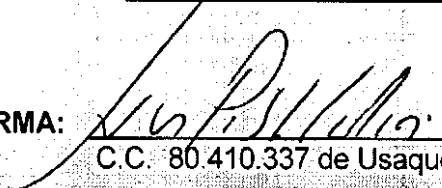
ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 571.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no esté inscrita en alguna Cámara de Comercio Colombiana.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. Fotocopia autenticada.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Fotocopia autenticada.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al español (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción de 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.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional bajo el Art. 34.
- ☒ Otros: Comprobante(s) de pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales \$ 486.000 (18*\$27.000).

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUAN PABLO CADENA SARMIENTOFIRMA: 

C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

1178323

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0075313

Bogotá D.C., Agosto 05 de 2011 - 07:00:02

RECIBIDO DE : BRIGARD NI 800.134.536

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	391765953	04/08/2011	36.912.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	VR LINDITARIO	VR CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUSTRIALES	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-116181- -00000-0000
Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

1178324

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0063274

Bogotá D.C., Junio 30 de 2011 - 08:30:19

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A. NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	430542291	29/06/2011	29.559.200.00

*** Conceptos Pagados ***

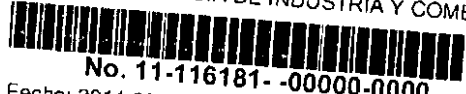
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	270.000.00	270.000.00
				\$270.000.00

SON: **DOSCIENTOS SETENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-116181-00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 379 FASE NACIONAL II
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Junio 30 de 2011 - 08:30:30

117932⁵

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0075359

Bogotá D.C., Agosto 05 de 2011 - 07:00:02

RECIBIDO DE : BRIGARD NI 800.134.536

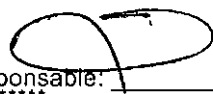
*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	391765953	04/08/2011	36.912.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr UNDITARIO	Vr CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	135.000.00	135.000.00
				\$135.000.00

SON: **CIENTO TREINTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-116181- -00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: Info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Agosto 5 de 2011 - 07:00:14

1179326

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0073855
		Bogotá D.C., Agosto 01 de 2011 - 16:58:42

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A. NI 860.047.372

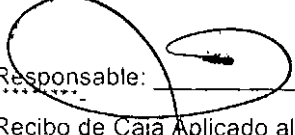
*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	456017306	01/08/2011	29.779.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	54.000.00	54.000.00
				\$54.000.00

SON: **CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-116181- -00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Agosto 1 de 2011 - 16:59:04

1178327

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0033023

Bogotá D.C., Abril 11 de 2011 - 07:12:31

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	391765975	08/04/2011	43.684.700.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	54 INFORMACION DETALLADA DE UN TRAMITE	27.000.00	27.000.00
				\$27.000.00

SON: **VEINTISIETE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-116181-00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 90

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 11 de 2011 - 07:12:40

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
7 October 2010 (07.10.2010)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2010/114537 A1(51) International Patent Classification:
G01N 33/50 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/US2009/039184(22) International Filing Date:
1 April 2009 (01.04.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant (for all designated States except US): COL-
GATE-PALMOLIVE COMPANY [US/US]; 300 Park
Avenue, New York, NY 10022 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BARNES, Virginia,
M. [US/US]; 115 Back Brook Road, Ringoes, NJ 08551
(US). TRIVEDI, Harsh, M. [US/US]; 134 Grantham
Drive, Somerset, NJ 08873 (US). XU, Tao [US/US]; 41
Jernee Drive, East Brunswick, NJ 08816 (US).(74) Agent: TRAUT, Donald, L.; Colgate-Palmolive Compa-
ny, Patent Department, 909 River Road, Piscataway, NJ
08855 (US).(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, 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, ST, 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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

WO 2010/114537 A1

(54) Title: METABOLITES FOR ORAL HEALTH AND USES THEREOF

(57) Abstract: The present invention provides various methods of using metabolite profiles correlated with periodontal disease or a health oral status for the diagnosis of periodontal disease, identification of responders and, or non-responders to therapeutic agents for periodontal disease, a method to test the efficacy of test compounds to prevent periodontal disease. The present invention also provides for a dentifrice composition containing an effective amount of a metabolite therapeutic agent which brings about a greater change in metabolite levels compared to a control dentifrice composition.

METABOLITOS PARA LA SALUD BUCAL Y USOS DE LOS MISMOS

RESUMEN DE LO REVELADO

La presente invención provee varios métodos para el uso de perfiles de metabolitos correlacionados con la enfermedad periodontal o un estado bucal saludable para el diagnóstico de la enfermedad periodontal, la identificación de respondedores y/o no respondedores a los agentes terapéuticos para la enfermedad periodontal, un método para probar la eficacia de los compuestos de prueba que previenen la enfermedad periodontal. La presente invención también provee una composición dentífrica que contiene una cantidad efectiva de un agente terapéutico de metabolitos que genera un mayor cambio en los niveles de metabolitos en comparación con una composición dentífrica de control.

METABOLITOS PARA LA SALUD BUCAL Y USOS DE LOS MISMOS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con los perfiles de expresión diferencial de los metabolitos en las enfermedades periodontales y los métodos de diagnóstico de las enfermedades periodontales en base a estos perfiles de expresión diferencial. La presente invención se relaciona además con métodos de pronóstico y/o evaluación de la eficacia de los agentes terapéuticos para las enfermedades periodontales en base a los perfiles de expresión diferencial.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las enfermedades periodontales están entre las enfermedades infecciosas más comunes en los humanos (Pihlstrom *et al.*, 2005). Además de afectar los tejidos bucales, las enfermedades periodontales también han sido asociadas con diversas enfermedades sistémicas (Seymour *et al.*, 2007). La gingivitis, la forma moderada de las enfermedades, se caracteriza por la inflamación del tejido huésped y la acumulación de la placa bacteriana alrededor del borde gingival. El tratamiento de la gingivitis por medio de prácticas de higiene bucal mejoradas puede invertir de manera significativa la condición de la enfermedad. No obstante, si no se trata, la gingivitis, puede conducir a una periodontitis más severa e irreversible, lo que involucra la pérdida progresiva del hueso alveolar alrededor de los dientes y si se deja sin tratamiento, puede conducir al aflojamiento y posterior pérdida de los dientes.

La mayor parte de las interacciones complejas entre los tejidos huésped y la bacteria en las enfermedades periodontales se producen en los epitelios de la zona de unión y crevicular. Muchas sustancias que son liberadas por la bacteria, tales como las endotoxinas, proteasas, lipasas y sialidasas, han demostrado que juegan roles significativos en el daño del tejido huésped (Smalley *et al.*, 1994). Sin embargo, la evidencia creciente sugiere que las enfermedades son también mediadas por las respuestas inflamatorias del tejido huésped a la bacteria (Van Dyke y Serhan, 2003). Bajo la activación de varias señales químicas, los tejidos huésped organizan un rango de respuestas complejas para combatir la bacteria. Los leucocitos polimorfonucleares producen niveles crecientes de especies reactivas de oxígeno (ROS) y enzimas proteolíticas. La hiperactividad de esta respuesta puede contribuir de forma inadvertida al daño del tejido huésped.

En la interfaz de los epitelios y placa bacteriana está el fluido crevicular gingival (GCF) derivado del plasma. Debido a que el GCF puede ser recolectado de manera no invasiva y es específico al sitio, es una matriz ideal para estudiar las interacciones huésped – bacteria (Embery y Waddington, 1994). Por medio del uso de una variedad de análisis bioquímicos elegidos como objetivo, se han propuesto muchos marcadores GCF potenciales para la enfermedad periodontal, incluyendo: enzimas bacterianas y huésped, endotoxinas, ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos, productos de la degradación de colágenos y huesos, inmunoglobulinas, citoquinas y hormonas (Embery y Waddington, 1994; Prapulla et al., 2007; Karthikeyan y Pradeep, 2007; Akalin et al., 2007; Pradeep et al., 2007). Sin embargo, a pesar de la abundancia de la información publicada, el amplio alcance de las interacciones huésped – bacteria y los detalles mecánicos de la progresión de la enfermedad sobre el metabolismo bioquímico celular aún carecen de claridad.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención provee un método para el diagnóstico de la salud bucal en un sujeto en el cual se recolecta una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto y se detecta un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival. El sujeto se diagnostica como teniendo una enfermedad periodontal o un estado bucal saludable sobre la base del nivel detectado del metabolito.

La presente invención también revela un método para el diagnóstico de la salud bucal en un paciente en el cual se recolecta una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto y se detecta un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival. El nivel del metabolito detectado en la muestra de fluido crevicular gingival se compara con un nivel de referencia del metabolito para de este modo generar un nivel diferencial. El nivel de referencia del metabolito corresponde a uno o más de los siguientes: nivel de referencia periodontal o nivel de referencia saludable. En una configuración, el nivel diferencial entre el metabolito detectado y el nivel de referencia periodontal se correlaciona con la enfermedad periodontal. En otra configuración, el nivel diferencial entre el metabolito detectado y el nivel de referencia saludable se correlaciona con el estado bucal saludable.

En dichas configuraciones, el metabolito detectado se puede escoger de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un

compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores.

La invención también provee un método para el pronóstico de la respuesta de un sujeto, por ejemplo, un respondedor o no respondedor, para el uso de un agente terapéutico para la enfermedad periodontal mientras se sigue un protocolo estándar para el cuidado. Se genera un perfil de metabolitos de una muestra del fluido crevicular gingival recolectada de un sujeto de prueba, en donde el perfil de metabolitos incluye la identidad del metabolito así como el nivel del metabolito. El perfil de metabolitos del sujeto de prueba se compara con un perfil de referencia del metabolito. El perfil de referencia del metabolito puede incluir uno o más de: un perfil de referencia del metabolito de un respondedor y un perfil de referencia del metabolito de un no respondedor. Los resultados de la comparación se pueden utilizar para identificar al sujeto de prueba como un respondedor o un no respondedor a los agentes terapéuticos. El perfil de referencia del metabolito se puede obtener de los sujetos quienes se beneficiaron de los agentes terapéuticos estándares, con regresión de la enfermedad periodontal o con prevención de la enfermedad periodontal. Este método se podría utilizar para determinar si un sujeto de prueba es adecuado para participar en un ensayo clínico de agente(s) terapéutico(s) de prueba.

La invención también se relaciona con un método para el pronóstico de la repuesta de un sujeto de prueba, por ejemplo, respondedor o no respondedor, al desarrollo de la enfermedad periodontal a la vez que se sigue un protocolo sin cuidado estándar. Se genera un perfil de metabolitos de la muestra del fluido crevicular gingival recolectada del sujeto, en donde el perfil de metabolito incluye la identidad del metabolito así como el nivel del metabolito. El perfil de metabolitos del sujeto de prueba se compara con un perfil de referencia del metabolito, en donde el perfil de referencia del metabolito se genera a partir de un sujeto de referencia respondedor y un sujeto de referencia no respondedor. El perfil de referencia del metabolito incluye la identidad de referencia del metabolito y el nivel de referencia del metabolito. Los resultados de la comparación se pueden utilizar para la identificación del sujeto de prueba como un respondedor o un no respondedor al desarrollo de la enfermedad periodontal.

La presente invención provee además un kit de prueba para el cuidado bucal el cual puede suministrar al usuario con una indicación del estado de la

salud bucal del usuario. El kit puede incluir una o más tiras de recolección del fluido crevicular gingival y un diagnóstico del estado de la salud bucal del sujeto. Las tiras de recolección del fluido crevicular gingival se pueden utilizar para recolectar una muestra del fluido crevicular gingival y para recuperar los metabolitos contenidos en la muestra del fluido crevicular gingival. El diagnóstico del estado de la salud bucal de un sujeto se puede basar en los métodos de la presente invención.

La presente invención provee además una composición dentrífica. La composición puede incluir una cantidad efectiva de un agente terapéutico de metabolito. El agente terapéutico realiza un cambio en los niveles de metabolito durante un periodo de tiempo de por lo menos un mes en donde el nivel de cambio del metabolito es mayor que un cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos afectado por una composición dentrífica de control.

De acuerdo incluso con otro aspecto, la presente invención provee un dentífrico indicador de metabolito y un método para el uso del mismo en donde el dentífrico incluye una composición indicadora de metabolito que presenta un indicador discernible para el usuario luego de la exposición a un metabolito y un nivel de metabolito asociado con una enfermedad periodontal. En una configuración, el indicador discernible para el usuario corresponde a un cambio en el color del dentífrico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Conforme se utiliza en todo este documento, los rangos se emplean como abreviatura para describir todos y cada uno de los valores que están dentro del rango. Cualquier valor dentro del rango se puede seleccionar como la terminación del rango. Además, todas las referencias que se citan aquí están incorporadas en la presente como referencia en su totalidad.

Definiciones:

Conforme se utiliza en la presente, el término "nivel diferencial" de un metabolito puede incluir cualquier nivel incrementado o disminuido. En una configuración, nivel diferencial quiere decir un nivel que está incrementado en: por lo menos 5%, por lo menos 10%, por lo menos 20%, por lo menos 30%, por lo menos 40%, por lo menos 50%, por lo menos 60%, por lo menos 70%, por lo menos 80%, por lo menos 90%, por lo menos 100%, por lo menos 110%, por lo

menos 120%, por lo menos 130%, por lo menos 140%, por lo menos 150% o más. En otra configuración, nivel diferencial quiere decir un nivel que está disminuido en: por lo menos 5%, por lo menos 10%, por lo menos 20%, por lo menos 30%, por lo menos 40%, por lo menos 50%, por lo menos 60%, por lo menos 70%, por lo menos 80%, por lo menos 90%, por lo menos 100% (es decir, el metabolito está ausente). Un metabolito se expresa a un nivel diferencial que es significativo desde el punto de vista estadístico (es decir, un valor p de menos de 0,05 y/o un valor p de menos de 0,10 determinado mediante el uso de la prueba T de Student, prueba T de Welch o prueba de la suma de rangos de Wilcoxon).

Conforme se utiliza en la presente, "fluido crevicular gingival" quiere decir el fluido que se encuentra alrededor del tejido gingival incluyendo la encía: la membrana mucosa, con tejido fibroso de soporte, cubriendo el borde de apoyo de los dientes de la mandíbula.

Conforme se utiliza en la presente, "gingivitis" quiere decir una irritación de las encías originada por la placa bacteriana que se acumula en pequeñas concavidades entre las encías y los dientes y por cálculos que se forman en los dientes.

Conforme se utiliza en la presente, "estado bucal saludable" quiere decir la ausencia de gingivitis y/o de la enfermedad periodontal.

Conforme se utiliza en la presente, el término "nivel" de uno o más metabolitos quiere decir la cantidad o concentración absoluta o relativa del metabolito en la muestra.

Conforme se utiliza en la presente, el término "metabolito" quiere decir cualquier sustancia que es producida por medio del metabolismo o que es necesaria para o que toma parte de un proceso metabólico en particular. El término no incluye las grandes macromoléculas, tales como las grandes proteínas (por ejemplo, proteínas con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 ó 10.000), grandes ácidos nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 ó 10.000), o grandes polisacáridos (por ejemplo, polisacáridos con pesos moleculares de más de 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 ó 10.000). El término metabolito incluye productos intermedios y moléculas de señalización en las reacciones químicas que transforman la energía derivada de los alimentos en formas utilizables incluyendo, pero no limitadas a, azúcares, ácidos grasos, aminoácidos nucleótidos, antioxidantes, vitaminas, co-factores, lípidos, productos intermedios que se forman

durante los procesos celulares y otras pequeñas moléculas.

Conforme se utiliza en la presente, "enfermedad periodontal" quiere decir una inflamación del periodontio incluyendo el tejido gingival, o tejido de la encía: el cemento, o capa externa de las raíces de los dientes, el hueso alveolar o alveolo dentario en el cual los dientes están fijados, y los ligamentos periodontales que son las fibras de tejido conectivo que corren entre el cemento y el hueso alveolar e incluye la gingivitis.

Conforme se utiliza en la presente, "nivel de referencia" de un metabolito quiere decir un nivel del metabolito que es indicativo de un estado particular de la enfermedad, estado bucal, fenotipo, o carencia de los mismos, así como también combinaciones de los estados de la enfermedad, fenotipos o carencia de los mismos. En una configuración, un nivel de referencia periodontal de un metabolito quiere decir un nivel del metabolito que es indicativo de un diagnóstico positivo de la enfermedad periodontal en un sujeto. En otra configuración, un "nivel de referencia saludable" de un metabolito quiere decir un nivel de un metabolito que es indicativo de un diagnóstico positivo de un estado bucal saludable en un sujeto.

En una configuración, un "nivel de referencia" de un metabolito puede ser uno o más de los siguientes: cantidad o concentración absoluta o relativa del metabolito, presencia o ausencia del metabolito, un rango de cantidad o concentración del metabolito, un mínimo y/o máximo de la cantidad o concentración del metabolito, un promedio de la cantidad o concentración del metabolito y/o una mediana de la cantidad o concentración del metabolito. En otra configuración, los "niveles de referencia" para las combinaciones de los metabolitos pueden ser también las relaciones de las cantidades o concentraciones absolutas o relativas de dos o más metabolitos con respecto uno del otro. Los niveles de referencia positivos o negativos apropiados de los metabolitos para un estado de enfermedad en particular, fenotipo o carencia del mismo, se pueden determinar mediante la medición de los niveles de los metabolitos deseados en uno o más sujetos adecuados, y dichos niveles de referencia pueden ser ajustados a la medida para poblaciones específicas de sujetos (por ejemplo, un nivel de referencia puede ser equiparado en edades de manera que se pueden realizar comparaciones entre los niveles de metabolitos en muestras de sujetos de una cierta edad y los niveles de referencia para un estado particular de la enfermedad, fenotipo o carencia del mismo en un grupo de cierta edad). En otra configuración, los niveles de referencia pueden ser ajustados a la

medida para técnicas específicas que se utilizan para la medición de los niveles de los metabolitos en muestras biológicas (por ejemplo, LC-MS, GC-MS, etc.), en donde los niveles de metabolitos pueden diferir en base a la técnica específica que se utilice.

En otra configuración, “un metabolito de referencia” puede incluir por lo menos un compuesto que se escoge de un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores. En otra configuración, el “metabolito de referencia” puede incluir uno o más compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. Incluso en otra configuración, los “metabolitos de referencia” pueden incluir uno o más compuestos de inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, ácido N-acetilneuramínico, ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina. Incluso en otra configuración, los “metabolitos de referencia” pueden incluir uno o más compuestos no conocidos que se mencionan en la Tabla 5.

Conforme se utiliza en la presente, el término “muestra” o “muestra biológica” quiere decir material biológico aislado de un sujeto. La muestra biológica puede incluir cualquier material biológico adecuado para la detección de los metabolitos deseados, o puede comprender material celular y/o no celular del sujeto. En una configuración, la muestra puede ser aislada de cualquier fluido crevicular gingival (GCF) adecuado.

La presente invención se relaciona con los perfiles de expresión diferencial de metabolitos en las enfermedades periodontales y con métodos que se basan en estos perfiles de expresión diferencial.

1. Perfiles de Expresión Diferencial

A. Metabolitos

Los metabolitos de la enfermedad periodontal descritos en la presente se descubrieron mediante el uso de técnicas de perfilado metabolómico. Dichas técnicas de perfilado metabolómico se describen con mayor detalle en los

Ejemplos que se exponen más adelante, así como también en la patente estadounidense No. 7,005.255 y las solicitudes de patente estadounidense inscripción Nos. 11/357.732, 10/695.265 (Publicación No. 2005/0014132), 11/301.077 (Publicación No. 2006/0134676), 11/301.078 (Publicación No. 2006/0134677), 11/301.079 (Publicación No. 2006/0134678) y 11/405.033, cuyos contenidos se incorporan en su totalidad en la presente.

Las Tablas 1 a 5 clasifican una serie de metabolitos que se correlacionan con el estado bucal saludable o la enfermedad periodontal.

Aunque las identidades de algunos de los compuestos de metabolitos y no metabolitos no son conocidos en la actualidad, dichas identidades no son necesarias para la identificación de los compuestos de metabolitos o no metabolitos en las muestras biológicas de los sujetos, ya que los compuestos "sin nombre" han sido caracterizados suficientemente por medio de técnicas analíticas que permiten dicha identificación. La caracterización analítica de todos los compuestos "sin nombre" se expone en la Tabla 5. Dichos compuestos de metabolitos y no metabolitos "sin nombre" se designan en la presente mediante el uso de la nomenclatura "Dental" seguida por un número de compuesto específico. La Tabla 5 lista un grupo de metabolitos no conocidos que se correlacionan con el estado bucal saludable o la enfermedad periodontal.

B. Perfiles de Expresión

Por lo general, los perfiles de los metabolitos se determinaron para muestras biológicas de los sujetos humanos diagnosticados con una enfermedad periodontal, así como también de los sujetos humanos saludables. Los perfiles de expresión para las muestras biológicas de los sujetos con enfermedad periodontal fueron comparados con los perfiles de expresión para los sujetos biológicos que se recolectaron de los sujetos saludables. Se identificaron aquellas moléculas o compuestos expresados diferencialmente, incluyendo aquéllos expresados diferencialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico, en los perfiles de expresión de las muestras de enfermedad periodontal comparadas con las muestras sin enfermedad.

El diseño experimental, las plataformas de perfilado de expresión del metabolito, los métodos y análisis estadísticos así como los resultados, se discuten con mayor detalle en los Ejemplos.

II. Métodos basados en los perfiles de metabolitos

En algunas de las configuraciones, la presente invención se relaciona con los métodos analíticos y de diagnóstico que se basan en los perfiles de metabolitos para las enfermedades periodontales incluyendo, pero no estando limitados a: métodos para el diagnóstico de las enfermedades periodontales, métodos para el monitoreo de la progresión/ regresión de las enfermedades periodontales, métodos para la valoración de la eficacia de las composiciones para el tratamiento de las enfermedades periodontales, métodos para el tratamiento de las enfermedades periodontales y similares. En una configuración, los perfiles de metabolitos pueden ser generados a partir de un fluido crevicular gingival de una muestra.

A. Métodos para el diagnóstico de la salud bucal o enfermedad periodontal

Un aspecto de la presente invención se relaciona con el diagnóstico del desarrollo de la enfermedad periodontal. En una configuración, el diagnóstico se puede realizar antes de la aparición de las señales clínicas del desarrollo de la enfermedad. En una configuración, la presente invención provee un método para el diagnóstico de la salud bucal en un sujeto en el cual se recolecta una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto y se detecta un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival. El sujeto es diagnosticado que tiene la enfermedad periodontal o un estado bucal saludable en base al nivel del(los) metabolito(s) detectado(s). En una configuración, el metabolito detectado es por lo menos un compuesto que se escoge de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores. En otra configuración, los metabolitos detectados pueden incluir uno o más compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En una configuración, un diagnóstico de la enfermedad periodontal corresponde a una regulación por incremento de uno o más de los siguientes compuestos: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico,

ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico. En otra configuración, un diagnóstico de la enfermedad periodontal corresponde a una regulación por disminución de uno o más siguientes compuestos: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina.

En otra configuración, la presente invención revela un método para el diagnóstico de la salud bucal en un sujeto en el cual se recolecta una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto y se detecta un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival. Los niveles de los metabolitos detectados en la muestra de fluido crevicular gingival se comparan con un nivel de referencia del metabolito en donde el nivel de referencia del metabolito se correlaciona con uno o más de los siguientes: la enfermedad periodontal o el estado bucal saludable. En una configuración, los niveles detectados de metabolito se comparan con uno o más de los siguientes: niveles de referencia periodontal y niveles de referencia saludable para ayudar en el diagnóstico o para diagnosticar si el sujeto tiene una enfermedad periodontal o un estado bucal saludable. En una configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos se pueden comparar mediante el uso de una simple comparación (por ejemplo, una comparación manual). En otra configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos en la muestra biológica también se pueden comparar utilizando uno o más análisis estadísticos (por ejemplo, prueba T, prueba T de Wech, prueba de suma de rangos de Wilcoxon, bosque de árboles aleatorios).

En una configuración, la muestra puede ser una muestra de fluido crevicular gingival que se obtiene de la cavidad bucal de un sujeto. En una configuración, el metabolito detectado puede ser un compuesto que se escoge de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores. En otra configuración, los metabolitos pueden incluir uno o más de los compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

En otra configuración, la etapa de comparación puede incluir la comparación del nivel de metabolito detectado con los niveles de referencia periodontal o niveles de referencia saludable. En una configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos en una muestra que corresponden a los niveles de referencia periodontal pueden ser uno o más de los siguientes: niveles

detectados que son los mismos que los niveles de referencia periodontal, niveles detectados que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia periodontal, niveles detectados que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia periodontal, y/o niveles detectados que están dentro del rango de los niveles de referencia periodontal. Dichos niveles detectados pueden ser indicativos de un diagnóstico de enfermedad periodontal en el sujeto. En otra configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos en una muestra que corresponden a niveles de referencia saludable pueden ser uno o más de los siguientes: niveles detectados que son los mismos que los niveles de referencia saludable, niveles detectados que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia saludable, niveles detectados que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia saludable, y/o niveles detectados que están dentro del rango de los niveles de referencia saludable. Dichos niveles detectados pueden ser indicativos de un diagnóstico de un estado bucal saludable en el sujeto.

En una configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos, que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) por el sujeto de prueba en comparación con los niveles de referencia periodontal pueden ser indicativos de un diagnóstico de enfermedad periodontal en un sujeto. En otra configuración, los niveles detectados de uno o más metabolitos que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) por el sujeto de prueba en comparación con los niveles de referencia saludable pueden ser indicativos de un diagnóstico de un estado bucal saludable en un sujeto.

En una configuración, los niveles determinantes de las combinaciones de los metabolitos detectados pueden: permitir mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la enfermedad periodontal o de un estado bucal saludable, ayudar en el diagnóstico de la enfermedad periodontal o del estado bucal saludable, y permitir mejor diferenciación entre la enfermedad periodontal y el estado bucal saludable que pueden tener metabolitos similares o superpuestos. En una configuración, las relaciones de los niveles detectados de ciertos metabolitos (y compuestos sin metabolitos) en muestras biológicas pueden: permitir mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de una enfermedad periodontal o de un estado bucal saludable, ayudar en el diagnóstico de la enfermedad periodontal o del estado bucal saludable, y permitir mejor

diferenciación del estado bucal saludable, estado bucal de gingivitis o enfermedad periodontal, una de otra y de otras enfermedades que pueden tener metabolitos similares o superpuestos.

B. Métodos para la identificación de sujetos para los ensayos clínicos

La invención también se relaciona con un método para el pronóstico de una respuesta del sujeto, por ejemplo, respondedor o no respondedor, al uso de un agente terapéutico para la enfermedad periodontal o una carencia en el uso de un agente terapéutico para la enfermedad periodontal.

Tal como se utiliza en la presente, "respondedor" quiere decir un sujeto que muestra: un decrecimiento en los niveles de metabolitos que se correlaciona con la enfermedad periodontal, un incremento en los niveles de metabolitos que se correlaciona con la enfermedad periodontal, un decrecimiento en los niveles de metabolitos que se correlaciona con el estado bucal saludable y un incremento en los niveles de metabolitos que se correlaciona con el estado bucal saludable.

Tal como se utiliza en la presente, "no respondedor" quiere decir un sujeto que no muestra cambios en los niveles de metabolitos que se correlacionan con la enfermedad periodontal o el estado bucal saludable.

1. Método para la identificación de un respondedor o no respondedor a un agente terapéutico

Un aspecto de la presente invención se relaciona con un método que se puede utilizar para determinar si un sujeto es adecuado para participar en un ensayo clínico de agente(s) terapéutico(s) de prueba para el tratamiento de la enfermedad periodontal. Durante el desarrollo de los ensayos clínicos para los agentes terapéuticos de prueba, algunos sujetos pueden no mostrar evidencia de estar respondiendo al agente terapéutico de prueba mientras se sigue un protocolo de prueba durante el periodo de tiempo del ensayo, es decir, no respondedor. Por ejemplo, un examen bucal del sujeto puede no mostrar cambios en los síntomas tales como: encías inflamadas, rojizas o sangrantes, recesión gingival, dientes flojos o separados, mal aliento, etc. Un sujeto no respondedor no es un participante deseable en un ensayo clínico porque se puede obtener, si hubiere, información limitada de la participación del sujeto no respondedor en el ensayo. Sería ventajoso poder identificar un no respondedor al inicio del ensayo clínico o durante las primeras etapas del ensayo clínico para así eliminar el sujeto

no respondedor del grupo de sujetos de prueba.

El método de la invención, que se describe a continuación, provee la identificación de los sujetos respondedores y los sujetos no respondedores a un agente terapéutico. En una configuración, el método incluye la generación de un perfil de metabolito de una muestra de fluido crevicular gingival recolectada de un sujeto de prueba mientras se sigue un protocolo de prueba, en donde el perfil de metabolitos incluye la identidad del metabolito y el nivel del metabolito y la comparación del perfil de metabolito del sujeto de prueba con un perfil de metabolito de referencia. El perfil de metabolito de referencia puede incluir uno o más de: un perfil de metabolito de un respondedor de referencia y un perfil de metabolito de un no respondedor de referencia. Los resultados de la comparación se pueden utilizar para identificar el sujeto de prueba como respondedor o no respondedor al agente terapéutico. En una configuración, la comparación se puede llevar a cabo utilizando una comparación simple (por ejemplo, una comparación manual). En otra configuración, la comparación se puede realizar utilizando uno o más análisis estadísticos (por ejemplo, prueba T, prueba T de Welch, prueba de suma de rangos de Wilcoxon y bosque de árboles aleatorios).

En una configuración, el perfil de metabolito del respondedor de referencia puede ser generado a partir de la muestra de fluido crevicular gingival de uno o más sujetos respondedores de referencia quienes mostraron la regresión de la enfermedad periodontal o la prevención de la enfermedad periodontal cuando se utilizó un dentífrico conteniendo un agente terapéutico estándar de acuerdo con un protocolo para el cuidado estándar durante la cantidad de días del protocolo para el cuidado estándar. En otra configuración, el perfil de metabolito del no respondedor de referencia puede ser generado a partir de la muestra de fluido crevicular gingival de uno o más sujetos no respondedores de referencia quienes no mostraron cambios en la enfermedad periodontal cuando utilizaron un dentífrico conteniendo un agente terapéutico estándar de acuerdo con un protocolo para el cuidado estándar durante la cantidad de días del protocolo para el cuidado estándar. El protocolo para el cuidado estándar puede incluir instrucciones, tales como, duración del cepillado, número de veces por día, cantidad de días, uso de otros productos para el cuidado bucal, etc.

El sujeto respondedor de referencia y/o el sujeto no respondedor de referencia pueden ser uno o más de los siguientes: un sujeto respondedor de referencia y/o un sujeto no respondedor de referencia identificado como teniendo un estado bucal saludable en base a la evaluación clínica por un profesional

dental, un sujeto respondedor de referencia y/o un sujeto no respondedor de referencia identificado como teniendo gingivitis en base a la evaluación clínica por un profesional dental, y un sujeto respondedor de referencia y/o un sujeto no respondedor de referencia identificado como teniendo la enfermedad periodontal en base a la evaluación clínica por un profesional dental.

En una configuración, el agente terapéutico estándar regula por disminución por lo menos un elemento que se escoge de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, ácido de N-acetilneuramínico para el sujeto de referencia. En otra configuración, el agente terapéutico estándar regula por incremento por lo menos un elemento que se escoge de: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina. Incluso en otra configuración, el agente terapéutico estándar regula por incremento o regula por disminución por lo menos un elemento de los no conocidos que se mencionan en la Tabla 5.

En una configuración, el perfil de metabolito del sujeto de prueba se puede generar a partir de una o más muestras de fluido crevicular gingival que se pueden recolectar del sujeto de prueba en una única etapa de recolección antes de iniciar un protocolo para el cuidado estándar. En otra configuración, el perfil de metabolito del sujeto de prueba puede ser recolectado a partir de una o más muestras de fluido crevicular gingival que se pueden obtener del sujeto de prueba en una única etapa de recolección después que el sujeto de prueba ha seguido un protocolo para el cuidado estándar por un número prescrito de días. En una configuración, el perfil de metabolito del sujeto de prueba se puede determinar a partir de una o más muestras de fluido crevicular gingival que se pueden recolectar del sujeto de prueba en múltiples etapas de recolección, cada etapa de recolección se produce en diferentes días después que el sujeto de prueba ha seguido un protocolo para el cuidado estándar por un número prescrito de días.

En una configuración, la identidad del metabolito del sujeto de prueba puede corresponder a un compuesto que se escoge de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores. En otra configuración, la

identidad del metabolito del sujeto de prueba puede incluir uno o más de los compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

En otra configuración, la etapa de comparación puede incluir la comparación del nivel de metabolito del sujeto de prueba con los niveles de referencia del respondedor y los niveles de referencia del no respondedor. En una configuración, los niveles de metabolitos del sujeto de prueba que pueden corresponder a los niveles de referencia de metabolitos del respondedor pueden ser uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos que son los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, niveles de metabolitos que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, niveles de metabolitos que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, y/o niveles de metabolitos que están dentro del rango de los niveles de referencia de metabolitos del respondedor. Dichos niveles de metabolitos pueden ser indicativos de una identificación del sujeto de prueba como un respondedor a los agentes terapéuticos. En otra configuración, los niveles de metabolitos del sujeto de prueba que pueden corresponder a niveles de referencia de metabolitos del no respondedor pueden ser uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos que son los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, niveles de metabolitos que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, niveles de metabolitos que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, y/o niveles de metabolitos que están dentro del rango de los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor. Dichos niveles pueden ser indicativos de un diagnóstico para una identificación del sujeto de prueba como un no respondedor a los agentes terapéuticos.

En una configuración, los niveles de metabolitos de uno o más metabolitos que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) del sujeto de prueba comparados con los niveles de referencia del respondedor pueden ser indicativos de una identificación de un sujeto como un respondedor a los agentes terapéuticos. En otra configuración, los niveles de metabolitos de uno o más metabolitos que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) del sujeto de prueba comparados con los niveles de referencia del no respondedor pueden ser indicativos de una identificación de un sujeto como un no respondedor a los agentes terapéuticos.

2. Método para la identificación de un respondedor o no respondedor al desarrollo de la enfermedad periodontal

De acuerdo con un aspecto, la presente invención provee un método que se puede utilizar para determinar si un sujeto es adecuado para participar en un ensayo clínico del(los) agente(s) terapéutico(s) para el tratamiento de la enfermedad periodontal, en donde el sujeto es susceptible al desarrollo de la enfermedad periodontal. En algunos casos, un ensayo clínico de un agente terapéutico de prueba puede ser conducido primero mediante la generación de gingivitis en una o más secciones de los dientes en la cavidad bucal de un sujeto. Esto se puede realizar utilizando un protocolo sin cuidado en donde se coloca una capa protectora en una o más secciones de los dientes de manera que la(s) sección(es) protegida(s) de los dientes no reciben ninguna forma de higiene bucal. Posterior al desarrollo de la gingivitis, el sujeto puede utilizar un agente terapéutico de prueba de acuerdo con un protocolo para el cuidado para tratar la gingivitis. En algunos casos, un sujeto puede no mostrar evidencia de gingivitis durante el periodo de tiempo del protocolo sin cuidado.

En una configuración de la presente invención, un método incluye la generación de un perfil de metabolito de la muestra de fluido crevicular gingival recolectada de un sujeto de prueba mientras sigue un protocolo estándar sin cuidado, en donde el perfil de metabolitos incluye la identidad del metabolito y el nivel de metabolitos y la comparación del perfil de metabolitos del sujeto de prueba con un perfil de referencia de metabolitos. El perfil de referencia de metabolitos puede incluir uno o más de: un perfil de referencia de metabolitos de un respondedor y un perfil de referencia de metabolitos de un no respondedor. Los resultados de la comparación se pueden utilizar para la identificación del sujeto de prueba como respondedor o no respondedor al desarrollo de la enfermedad periodontal. En una configuración, la comparación puede llevarse a cabo utilizando una comparación simple (por ejemplo, una comparación manual). En otra configuración, la comparación se puede realizar utilizando uno o más análisis estadísticos (por ejemplo, prueba T, prueba T de Welch, prueba de suma de rangos de Wilcoxon, bosque de árboles aleatorios).

En una configuración, el perfil de referencia de metabolitos del respondedor se puede obtener a partir de la muestra de fluido crevicular gingival de uno o más sujetos de referencia respondedores quienes siguieron un protocolo estándar sin

cuidado y desarrollaron la enfermedad periodontal durante la extensión de tiempo del protocolo. En otra configuración, el perfil de referencia de metabolitos del no respondedor se puede obtener de la muestra de fluido crevicular gingival de uno o más sujetos de referencia no respondedores quienes no desarrollaron la enfermedad periodontal durante la extensión de tiempo de un protocolo estándar sin cuidado. El protocolo estándar sin cuidado bucal puede incluir uno o más de los siguientes: ausencia del cepillado para un número prescrito de días, llevar una capa protectora en una o más secciones de los dientes a la vez que se cuidan las otras secciones de los dientes de acuerdo con un protocolo que describe la duración del cepillado, cantidad de cepillados por día, cantidad de días y el uso de dispositivos mecánicos para la higiene bucal.

En una configuración, el protocolo estándar sin cuidado regula por incremento por lo menos un elemento que se escoge de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico para el sujeto de referencia. En otra configuración, el protocolo estándar sin cuidado regula por disminución por lo menos un elemento que se escoge de: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina para el sujeto de referencia. Incluso en otra configuración, el agente terapéutico estándar regula por incremento o regula por disminución por lo menos un elemento de los no conocidos que se mencionan en la Tabla 5.

En una configuración, el perfil de metabolitos del sujeto de prueba se puede generar a partir de una o más muestras del fluido crevicular gingival que se pueden obtener del sujeto de prueba en una sola etapa de recolección antes de iniciar un protocolo estándar sin cuidado. En otra configuración, el perfil de metabolitos del sujeto de prueba se puede generar a partir de una o más muestras del fluido crevicular gingival que se pueden obtener del sujeto de prueba en una sola etapa de recolección después de que el sujeto de prueba ha seguido un protocolo estándar sin cuidado durante un número prescrito de días. En una configuración, el perfil de metabolitos del sujeto de prueba puede ser determinado a partir de una o más muestras del fluido crevicular gingival que se pueden obtener del sujeto de prueba en múltiples etapas de recolección, cada etapa de recolección teniendo lugar en un día diferente después de que el sujeto de prueba ha seguido un protocolo estándar sin cuidado durante un número prescrito de días.

En una configuración, la identidad del metabolito del sujeto de prueba puede corresponder a un compuesto que se escoge de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores. En otra configuración, la identidad del metabolito del sujeto de prueba puede incluir uno o más compuestos de los que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

En otra configuración, la etapa de comparación puede incluir la comparación del nivel de metabolitos con los niveles de referencia del respondedor y los niveles de referencia del no respondedor. En una configuración, los niveles de metabolitos del sujeto de prueba que pueden corresponder con los niveles de referencia de metabolitos del respondedor pueden ser uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos que son los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, niveles de metabolitos que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, niveles de metabolitos que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia de metabolitos del respondedor, y/o niveles de metabolitos que están dentro del rango de los niveles de referencia de metabolitos del respondedor. Dichos niveles de metabolitos pueden ser indicativos de una identificación del sujeto de prueba como un respondedor a un protocolo sin cuidado, por ejemplo, desarrollo de la gingivitis y/o de la enfermedad periodontal. En otra configuración, los niveles de metabolitos del sujeto de prueba que pueden corresponder a los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor pueden ser uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos que son los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, niveles de metabolitos que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, niveles de metabolitos que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor, y/o niveles de metabolitos que están dentro del rango de los niveles de referencia de metabolitos del no respondedor. Dichos niveles pueden ser indicativos de un diagnóstico de una identificación del sujeto de prueba como un no respondedor a un protocolo sin cuidado, por ejemplo, no desarrolla gingivitis y/o enfermedad periodontal.

En una configuración, los niveles de metabolitos de uno o más metabolitos

que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) por el sujeto de prueba comparados con los niveles de referencia del respondedor pueden ser indicativos de una identificación de un sujeto como un respondedor a un protocolo sin cuidado. En otra configuración, los niveles de metabolitos de uno o más metabolitos que se expresan diferencialmente (especialmente a un nivel que es significativo desde el punto de vista estadístico) por el sujeto de prueba comparados con los niveles de referencia del no respondedor pueden ser indicativos de una identificación de un sujeto como un no respondedor a un protocolo sin cuidado.

C. Métodos para la evaluación de la eficacia de un compuesto de prueba en un dentífrico

La presente invención también provee un método para la determinación de la eficiencia de un compuesto de prueba útil en el tratamiento del desarrollo de la enfermedad periodontal en un mamífero. En una configuración, el método incluye la detección de un nivel de metabolitos de post-tratamiento a partir de una muestra de fluido crevicular gingival de un sujeto después del tratamiento con un compuesto de prueba. El nivel de metabolitos de post-tratamiento puede ser comparado con uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos de pre-tratamiento del sujeto; niveles de referencia periodontal y niveles de referencia saludable. En una configuración, el método puede incluir la etapa de determinar si el compuesto de prueba regula por disminución por lo menos un elemento que se escoge de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico. En otra configuración, el método puede incluir la etapa de determinar si el compuesto de prueba regula por incremento por lo menos un elemento que se escoge de: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina. En otra configuración, el método puede incluir la etapa de determinar si el compuesto de prueba regula por incremento o regula por disminución por lo menos un elemento de los no conocidos que se mencionan en la Tabla 5.

En otra configuración, el nivel de metabolitos de pre-tratamiento se puede obtener mediante la detección de un nivel de metabolitos de pre-tratamiento de una primera muestra de fluido crevicular gingival recolectada del sujeto en un

primer punto en el tiempo. Se puede aplicar un dentífrico que contiene el compuesto de prueba en una cavidad bucal del sujeto de acuerdo con un protocolo prescrito. En un segundo punto en el tiempo después de la aplicación del dentífrico, se detecta el nivel de metabolitos de post-tratamiento de una segunda muestra de fluido crevicular gingival. El nivel de metabolitos de pre-tratamiento se puede comparar con el nivel de metabolitos de post-tratamiento. En base a esta comparación, se puede determinar la eficiencia del compuesto de prueba. En una configuración, un decrecimiento en los niveles de metabolitos de post-tratamiento comparados con los niveles de metabolitos de pre-tratamiento puede ser indicativo de que el compuesto de prueba tiene eficacia en el tratamiento de la enfermedad periodontal. En otra configuración, un incremento en los niveles de metabolitos de post-tratamiento comparados con los niveles de metabolitos de pre-tratamiento puede ser indicativo de que el compuesto de prueba tiene eficacia en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Incluso en otra configuración, la ausencia de una disminución o aumento en los niveles de metabolitos de post-tratamiento puede ser indicativo de que el compuesto de prueba no fue efectivo en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

En otra configuración, los niveles de metabolitos de post-tratamiento pueden ser comparados con uno o más de: los niveles de referencia de la enfermedad periodontal y los niveles de referencia del estado bucal saludable. En una configuración, la comparación se puede realizar mediante el uso de una comparación simple (por ejemplo, una comparación manual). En otra configuración, la comparación se puede efectuar utilizando uno o más de los análisis estadísticos (por ejemplo, prueba T, prueba T de Welch, prueba de suma de rangos de Wilcoxon, bosque de árboles aleatorios). En una configuración, los resultados de la comparación pueden ser indicativos de la eficacia del compuesto de prueba cuando los niveles de metabolitos de post-tratamiento son uno o más de los siguientes: niveles de metabolitos de post-tratamiento que son los mismos que los niveles de referencia periodontal, niveles de metabolitos de post-tratamiento que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia periodontal, niveles de metabolitos de post-tratamiento que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia periodontal, y/o niveles de metabolitos de post-tratamiento que están dentro del rango de los niveles de referencia periodontal. En otra configuración, los resultados de la comparación pueden ser indicativos de la eficacia del compuesto de prueba cuando los niveles de metabolitos de post-tratamiento son uno o más de los

siguientes: niveles de metabolitos de post-tratamiento que son los mismos que los niveles de referencia saludable, niveles de metabolitos de post-tratamiento que son sustancialmente los mismos que los niveles de referencia saludable, niveles de metabolitos de post-tratamiento que están por encima y/o por debajo del mínimo y/o máximo de los niveles de referencia saludable, y/o niveles de metabolitos de post-tratamiento que están dentro del rango de los niveles de referencia saludable.

La invención provee además un método para la identificación de un compuesto de prueba útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal en un mamífero al poner en contacto una célula con el compuesto de prueba y determinando si el compuesto de prueba regula por disminución por lo menos un elemento que se escoge de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico.

La invención provee incluso además un método para la identificación de un compuesto de prueba útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal en un mamífero al poner en contacto una célula con el compuesto de prueba y determinando si el compuesto de prueba regula por incremento por lo menos un elemento que se escoge de: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina.

La invención provee incluso además un método para la identificación de un compuesto de prueba útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal en un mamífero poniendo en contacto una célula con un el compuesto de prueba y determinando si el compuesto de prueba regula por incremento o regula por disminución por lo menos uno de los miembros no conocidos que se mencionan en la Tabla 5.

D. Kit de prueba para el cuidado bucal

La presente invención provee además un kit de prueba para el cuidado bucal que puede proporcionar al usuario una indicación del estado de su salud bucal. El kit puede incluir una o más tiras de recolección de fluido crevicular gingival y un diagnóstico del estado de salud bucal del sujeto. Las tiras de recolección de fluido crevicular gingival se pueden utilizar para recolectar una muestra de fluido crevicular gingival y para la recuperación de los metabolitos contenidos en la muestra de fluido crevicular gingival. El diagnóstico del estado

de salud bucal de un sujeto puede estar basado en los métodos de la presente invención. En una configuración, el kit puede incluir instrucciones para el uso de las tiras de recolección de fluido crevicular gingival en la recolección de una muestra. En otra configuración, el kit puede incluir direcciones para el envío de las tiras de recolección de fluido crevicular gingival con el fluido recolectado a un lugar de prueba.

E. Composición Dentífrica

La presente invención provee además una composición dentífrica. La composición puede incluir una cantidad efectiva de un agente terapéutico de metabolitos para la salud bucal. El agente terapéutico produce un cambio en los niveles de metabolitos durante un periodo de tiempo de por lo menos un mes en donde el cambio en el nivel de metabolitos es mayor que un cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos afectados por una composición dentífrica de control. En una configuración, el cambio en el nivel de metabolitos es mayor de 1% que el cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos afectados por una composición dentífrica de control. En otra configuración, el cambio en el nivel de metabolitos es mayor de 5% que el cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos afectados por una composición dentífrica de control. Incluso en otra configuración, el cambio en el nivel de metabolitos es mayor de 20% que el cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos afectados por una composición dentífrica de control. En una configuración, el dentífrico de control está sustancialmente libre de un agente terapéutico estándar. En otra configuración, el dentífrico de control contiene un agente terapéutico estándar. En otra configuración, el dentífrico de control contiene Triclosán. El dentífrico de control también puede incluir ingredientes que por lo general se encuentran en composiciones dentífricas como las descritas en la patente estadounidense No. 7.402.416, la cual se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

F. Composiciones indicadoras de metabolitos

En otro aspecto, la presente invención provee una composición bucal para indicar la presencia de metabolitos indicativos de la enfermedad periodontal. La composición bucal puede ser incluida dentro de un dentífrico tal como una crema dental, gel, enjuague bucal, hilo dental, polvo, tiras que se adhieren a las encías,

cepillo dental, etc. La composición bucal puede incluir una composición indicadora de metabolitos. En una configuración, la composición indicadora de metabolitos puede indicar la presencia de uno o más compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En otra configuración, la composición indicadora de metabolitos puede estar presente como un indicador discernible al usuario luego de la regulación por incremento de uno o más de los siguientes: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxiisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico. En otra configuración, la composición indicadora de metabolitos puede ser una regulación por disminución de uno o más de los siguientes: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina. En una configuración, la composición indicadora de metabolitos puede resultar en un indicador discernible al usuario cuando se expone a uno o más de los compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En una configuración, la composición indicadora de metabolitos puede resultar en un cambio en el color del dentífrico cuando se expone a uno o más de los compuestos señalados en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

En una configuración, el dentífrico puede incluir un gel que se adhiere al borde gingival y contiene una composición indicadora de metabolitos. En una configuración, el gel se puede aplicar a uno o más cuadrantes donde están ubicados los dientes de la cavidad bucal de un sujeto, en donde la composición indicadora de metabolitos puede resultar en la aparición de un indicador discernible al usuario cuando se expone a uno o mas de los compuestos que se señalan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En una configuración, el indicador discernible al usuario puede corresponder a un cambio en el color.

En otra configuración, el dentífrico puede incluir hilo dental recubierto con una composición indicadora de metabolitos. En una configuración, el hilo dental recubierto con una composición indicadora de metabolitos puede ser hecho pasar entre los dientes adyacentes de un usuario, en donde la composición indicadora de metabolitos puede resultar en el hilo dental que muestre un indicador discernible al usuario cuando se expone a uno o más de los compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En una configuración, el indicador discernible al usuario puede corresponder al hilo dental mostrando un cambio en el color.

Incluso en otra configuración, el dentífrico puede incluir un enjuague bucal

que contiene una composición indicadora de metabolitos. En una configuración, un usuario puede poner en contacto sus dientes con el enjuague bucal, en donde la composición indicadora de metabolitos puede resultar en una aparición de un indicador discernible al usuario del enjuague bucal cuando se expone a uno o más de los compuestos que se mencionan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5. En una configuración, el indicador discernible al usuario puede corresponder a un cambio en el color del enjuague bucal.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos describen y demuestran además algunas configuraciones dentro del alcance de la presente invención. Estos ejemplos se proporcionan solamente para fines de ilustración y no tienen la intención de limitar la presente invención, puesto que diversas variaciones de la misma son posibles sin apartarse del alcance y espíritu de la presente invención.

1. Procedimientos experimentales

A. Pacientes y Diseño Experimental

Veintidós (22) sujetos con periodontitis crónica (41% varones) de 33 a 67 años (53 ± 11) se seleccionaron a partir de una búsqueda de voluntarios en el Forsyth Institute Dental Clinic. Los sujetos tenían por lo menos 20 dientes sin corona naturales y ≥ 8 sitios con profundidad de bolsa de ≥ 5 mm y nivel de inserción clínico (CAL) de ≥ 3 mm. Los sujetos no tenían historia conocida de alergia al dentífrico para el periodo de lavado (ver a continuación). Los criterios de exclusión incluían: la presencia de aparatos de ortodoncia, función salival anormal, uso de drogas con prescripción, uso de antibióticos un mes antes del estudio o durante el mismo, uso de cualquier medicamento vendido sin receta distinto de los analgésicos, suplementos vitamínicos de uso diario, 5 o más sitios con caries dental, enfermedades de los tejidos bucales blandos o duros y condiciones sistémicas. El protocolo de estudio fue aprobado por The Forsyth Institute's Review Board y todos los sujetos de estudio firmaron un formulario de consentimiento antes de su reclutamiento. En la primera visita, los sujetos recibieron un tubo de dentífrico Colgate Regular y un cepillo de dientes y se les instruyó para usar el producto por un mínimo de 1 semana (período de lavado) antes de la visita de muestreo. Otros dispositivos mecánicos para la higiene bucal se permitieron durante el periodo de lavado, pero no otros productos para el

cuidado bucal.

B. Recolección de la muestra de fluido crevicular gingival (GCF)

Después del aislamiento de los sitios con rollos de algodón para prevenir la contaminación con la saliva, la placa supragingival se removió con una cureta, los sitios se secaron suavemente con aire y las muestras GCF se obtuvieron de 3 categorías de sitios diferentes. Por cada sujeto, se muestrearon 6 sitios saludables (H; $PD \leq 3$ mm y sin sangrado al sondaje [BOP]), 6 gingivitis (G; $PD \leq 3$ mm y BOP) y 3 periodontitis (P; $PD \geq 5$ y BOP). Las muestras GCF se recolectaron de cada sitio utilizando tiras de filtro (Periopaper®, Interstate Drug Exchange, Amityville, NY) insertadas suavemente en el orificio de la bolsa periodontal. Las tiras Periopaper se mantuvieron en su lugar durante 30 segundos y el volumen de GCF recolectado se determinó utilizando un Periotron 8000® precalibrado (Oraflow Inc., Plainview, NY). Las muestras de cada sujeto fueron agrupadas en diferentes categorías de sitios, colocadas en tubos separados Eppendorf y almacenadas a -80°C hasta el ensayo.

C. Tecnología de perfilado de la expresión de metabolitos

La tecnología de perfilado de la expresión de metabolitos se realizó conforme se describió anteriormente (Lawton et al., 2008). En resumen, se utilizó un procedimiento de extracción secuencial de cuatro etapas para recuperar los metabolitos de las tiras de recolección del GCF. Los extractos se analizaron mediante GC/MS y LC/MS. La separación cromatográfica seguida por espectros de masa de escaneo completo se llevó a cabo para registrar y cuantificar todos los iones detectables que están presentes en las muestras. Los metabolitos con estructura química conocida fueron identificados al hacer corresponder el índice de retención cromatográfica de iones y las firmas de fragmentación de los espectros de masa con los ingresos de la biblioteca de referencia creados a partir de metabolitos estándares auténticos de acuerdo con el procedimiento analítico idéntico que las muestras experimentales. Para los iones que no fueron cubiertos por los estándares, se agregaron ingresos de biblioteca adicionales sobre la base de sus firmas de ión únicas (espectros de masa y cromatográficos). Después de lo cual, estos iones pueden ser detectados y cuantificados de forma rutinaria.

D. Análisis estadístico

Los datos fueron normalizados utilizando el volumen GSF registrado mediante Periotron®. Se realizaron las pruebas ANOVA y T para comparar los datos obtenidos de los sitios saludables, con gingivitis y periodontitis. La transformación se aplicó a las concentraciones relativas observadas para cada bioquímico.

E. Resultados

Se recolectaron un total de 330 muestras de GCF individuales, resultando en 66 muestras agrupadas. Las muestras de GCF estuvieron en un rango desde 0,01 μ l hasta 1,15 μ l. Los volúmenes promedio en μ l ($\pm$ DE) para las categorías de sitios saludable, con gingivitis y periodontitis fueron: $0,18 \pm 0,10$; $0,25 \pm 0,13$ y $0,42 \pm 0,19$; respectivamente.

Las muestras se analizaron en plataformas de perfilado de metabolitos de Metabolon, Inc. Los valores cuantificados relativos para los compuestos fueron luego ajustados de acuerdo con el volumen de la muestra. Se detectaron doscientos veintiocho (228) metabolitos, de los cuales ciento tres (103) correspondían con las estructuras químicas conocidas en la biblioteca de referencia química de Metabolon. La prueba T de par correspondido se utilizó para analizar las diferencias entre los sitios saludables, con gingivitis y con periodontitis. Aproximadamente el 50% de los metabolitos detectados mostró niveles alterados entre los tres sitios ($p < 0,05$). Las estructuras químicas conocidas de correspondencia de metabolitos fueron mapeadas en sus trayectorias bioquímicas generales respectivas. El análisis ANOVA no produjo una lista de metabolitos diferentes de las pruebas T (datos no mostrados). Para la mayoría de los metabolitos con concentraciones alteradas, los niveles en los sitios con gingivitis estaban entre los niveles en sitios saludables y con periodontitis, sugiriendo que los cambios metabólicos inducidos por la gingivitis forman parte de un continuo con aquéllos de la periodontitis.

I. Ácidos nucleicos

La bacteria degrada y metaboliza los ácidos nucleicos huésped. Elevados niveles de productos finales e intermedios de la degradación de los ácidos nucleicos sugieren la aceleración de las trayectorias de degradación del ácido nucleico por medio de la infección bacteriana. El producto final de la degradación

del monofosfato de adenosina de los nucleótidos de purina (AMP) y el monofosfato de guanosina (GMP) es el ácido úrico. Los productos intermedios en la trayectoria incluyen inosina, hipoxantina, xantina, guanosina y guanina. Con referencia a la Tabla 1 a continuación, se tabulan los perfiles de expresión diferencial para los productos intermedios de la trayectoria de degradación de la purina.

Con relación a la inosina, en el presente estudio, hubo un incremento de 1,22 veces en los niveles de inosina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,63 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la hipoxantina, hubo un incremento de 1,27 veces en los niveles de hipoxantina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,65 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la xantina, hubo un incremento de 1,15 veces en los niveles de xantina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,15 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la guanosina, hubo un incremento de 1,02 veces en los niveles de guanosina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,35 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la guanina, hubo un incremento de 1,22 veces en los niveles de guanina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,66 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. La expresión incrementada – es decir, la “regulación por incremento” – de estos productos intermedios en los sitios de las enfermedades en el presente estudio indica el flujo metabólico acelerado de la trayectoria de degradación de la purina debido a la infección bacteriana.

Contrario a los incrementos de los productos intermedios, los niveles del ácido úrico en el producto final disminuyeron en los sitios de las enfermedades. Hubo una disminución de 0,92 veces en los niveles de ácido úrico entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y una disminución de 0,70 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Sin embargo, el ácido úrico es un antioxidante celular conocido y tal como se describe en la siguiente sección, existe una clara evidencia que el estrés oxidativo se intensificó también en los sitios de las enfermedades. La disminución del ácido úrico podría ser el resultado de su agotamiento luego de la purga de los radicales libres. Además, las etapas consecutivas de conversión de la hipoxantina a xantina y luego a ácido úrico son catalizadas por medio de la oxidasa de xantina. Las reacciones son acopladas con una reducción de oxígeno para generar superóxidos en forma de O_2^- y H_2O_2 .

Los cambios que se observaron aquí con la trayectoria de degradación de la purina indican que la producción incrementada de especies de oxígeno reactivo (ROS) es una consecuencia significativa derivada de la regulación por incremento de esta trayectoria por parte de las enfermedades periodontales.

Tabla 1
Compuestos de la trayectoria de degradación de los ácidos nucleicos

COMPUESTO	PROMEDIO			H vs. G		H vs. P		G vs. P	
	H	G	P	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q
Inosina	1	1,22	1,63	0,2621	0,2466	0	0,0002	0,0869	0,0715
Hipoxantina	0,96	1,22	2,54	0,0179	0,0745	0	0	0	0,0017
Xantina	1,09	1,25	2,34	0,3144	0,275	0	0	0,0001	0,0017
Guanosina	0,84	0,86	1,13	0,0432	0,1258	0,0123	0,0126	0,3739	0,1947
Guanina	0,77	0,94	1,28	0,0692	0,1447	0,0121	0,0126	0,1255	0,0891
Ácido úrico	1,21	1,11	0,85	0,0536	0,138	0,0005	0,0011	0,0398	0,046
Uridina	0,83	1	1,51	0,1479	0,1875	0,032	0,0249	0,1122	0,0816

El producto final de la degradación del monofosfato de citidina (CMP) de los nucleótidos de pirimidina y el monofosfato de uridina (UMP) es el uracilo. Un producto intermedio en la trayectoria es la uridina y su regulación por incremento en los sitios de la enfermedad indica el flujo metabólico acelerado de la trayectoria de degradación de la pirimidina debido a la infección bacteriana. Hubo un incremento de 1,20 veces en los niveles de uridina entre los sujetos con gingivitis y los saludables y un incremento de 1,82 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. El perfil de expresión diferencial para la uridina también se resumió anteriormente en la Tabla 1.

2. Antioxidantes

Las infecciones bacterianas inducen el estrés oxidativo y los niveles reducidos de antioxidantes. El glutatión juega un papel central en la defensa celular contra ROS (incluyendo iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos) y xenobióticos. En el presente estudio, los niveles tanto del glutatión reducido como del oxidado disminuyeron en los sitios con gingivitis y periodontitis. El nivel reducido de glutatión y metabolitos relacionados en la trayectoria de la biosíntesis del glutatión indica un medio ambiente de estrés oxidativo incrementado y una habilidad disminuida para la producción de glutatión que resulta de la infección bacteriana. Hubo un decrecimiento de 0,65 veces en los niveles de glutatión reducido entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un decrecimiento de 0,35 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Hubo un

decrecimiento de 0,75 veces en los niveles del glutatión oxidado entre los sujetos con gingivitis y los saludables y un decrecimiento de 0,47 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables.

Además, otros dos antioxidantes celulares importantes, el ácido ascórbico y el ácido úrico, disminuyeron también en los sitios de las enfermedades. Hubo un decrecimiento de 0,87 veces en los niveles de ácido ascórbico entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un decrecimiento de 0,39 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Tal como se discutió anteriormente, hubo un decrecimiento de 0,92 veces en los niveles de ácido úrico entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un decrecimiento de 0,70 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Los perfiles de expresión cambiados de estos metabolitos claramente demuestran un medio ambiente de estrés oxidativo en las condiciones de las enfermedades y se resumen a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2
Compuestos antioxidantes

COMPUESTO	PROMEDIO			H vs. G		H vs. P		G vs. P	
	H	G	P	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q
Glutatión-red.	2,34	1,51	0,81	0,3303	0,2821	0,0319	0,0249	0,0366	0,0456
Glutatión-ox.	1,39	1,04	0,66	0,6432	0,3963	0,0205	0,0183	0,0023	0,0070
Ácido ascórbico	1,32	1,15	0,51	0,0979	0,1516	0,0035	0,0043	0,051	0,0523
Ácido úrico	1,21	1,11	0,85	0,0536	0,138	0,0005	0,0011	0,0398	0,046

3. Aminoácidos

Consistente con la degradación de la proteína huésped debido al daño del tejido, los niveles de expresión de una variedad de metabolitos de aminoácidos y aminoácidos libres fueron incrementados por las enfermedades periodontales. Haciendo referencia a la Tabla 3 más adelante, se tabulan los perfiles de expresión diferencial para los productos intermedios de la trayectoria de degradación de la purina.

Con relación a la isoleucina, en el presente estudio, hubo un incremento de 1,21 veces en los niveles de isoleucina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,92 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la leucina, hubo un incremento de 1,12 veces en los niveles de leucina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,02 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la lisina, hubo un incremento de 1,2 veces en los niveles de lisina entre los sujetos

con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,79 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la fenilalanina, hubo un incremento de 1,09 veces en los niveles de fenilalanina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,61 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la tirosina, hubo un incremento de 1,04 veces en los niveles de tirosina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,41 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. La regulación por incremento de estos aminoácidos en los sitios de las enfermedades en el presente estudio indica la degradación de las proteínas huésped debido a la infección bacteriana.

Además, la putrescina y la cadaverina (1,5-diaminopentano), dos poliaminas y los productos finales de la degradación del aminoácido, se encontró que eran reguladas por incremento por las enfermedades periodontales. Con relación a la putrescina, hubo un incremento de 1,42 veces en los niveles de putrescina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,75 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con relación a la cadaverina, hubo un incremento de 1,43 veces en los niveles de cadaverina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,88 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Mientras que la putrescina puede ser producida tanto por las trayectorias de mamíferos como bacterianas, la cadaverina es casi exclusiva de origen bacteriano (Fothergill y Guest, 1977). La cadaverina es sintetizada a partir de la lisina por la lisina descarboxilasa bacteriana y los niveles de expresión elevados pueden indicar grados de infección bacteriana.

La única excepción a la expresión incrementada de los aminoácidos en el presente estudio fue la glutamina, que exhibió una clara disminución con la progresión de la enfermedad. Hubo una disminución de 0,84 veces en los niveles de glutamina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y una disminución de 0,60 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Una explicación posible es que la glutamina fue consumida rápidamente por la bacteria como la fuente principal de nitrógeno. Otro aminoácido portador de nitrógeno, el glutamato, también mostró disminuciones en la enfermedad, aunque sus cambios estuvieron por encima del corte estadístico (datos no mostrados). Otra explicación es que en adición a su presentación en las proteínas, la glutamina se presenta en cantidades significativas como un dipéptido de glutamina libre. La bacteria *P. ginivalis* ha sido reportada de metabolizar péptidos en vez de aminoácidos simples y este decrecimiento de la glutamina libre es consistente con

la utilización significativa de dipéptidos por la bacteria antes de su degradación en aminoácidos simples.

Tabla 3
Aminoácidos

COMPUESTO	PROMEDIO			H vs. G		H vs. P		G vs. P	
	H	G	P	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q
Isoleucina	0,91	1,1	1,75	0,0688	0,1447	0	0,0002	0,0195	0,0283
Leucina	1,01	1,13	2,04	0,0802	0,1447	0	0,0002	0,0054	0,0121
Lisina	1,00	1,2	2,79	0,1628	0,197	0	0	0,0002	0,0021
Fenilalanina	0,98	1,07	1,58	0,1005	0,1516	0	0,0002	0,0131	0,0215
Tirosina	1,01	1,05	1,42	0,375	0,2853	0,0013	0,0021	0,0166	0,0253
Putrescina	0,81	1,15	2,23	0,0126	0,0685	0	0,0001	0,0009	0,0042
Cadaverina	0,75	1,07	2,16	0,0051	0,0549	0,0003	0,001	0,0616	0,0597
Glutamina	1,32	1,11	0,79	0,2167	0,2257	0,0033	0,0043	0,0027	0,0075
Ácido 4-guanidino butanoico	0,70	1,28	1,68	0,0057	0,0549	0,0019	0,0028	0,6566	0,2792

4. Ciclo de la urea

La degradación de las proteínas en aminoácidos libera amoníaco que luego debe ser convertido por medio de los organismos en formas nitrogenadas menos tóxicas. En los humanos, el ciclo de la urea funciona para convertir el amoníaco en urea y otros productos finales. Los productos intermedios y los productos finales del ciclo de la urea, incluyendo la putrescina y el ácido 4-guanidinobutanoico, de manera significativa fueron regulados por incremento. Con referencia a la Tabla 3 antes mostrada, se tabulan los perfiles de expresión diferencial para los productos intermedios de la trayectoria de la urea. Con respecto a la putrescina, conforme se discutió anteriormente, hubo un incremento de 1,42 veces en los niveles de putrescina entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,75 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Con respecto al ácido 4-guanidinobutanoico, en el presente estudio, hubo un incremento de 1,83 veces en los niveles del ácido 4-guanidinobutanoico entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 2,33 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables.

5. Carbohidratos

Los cambios en la expresión de una variedad de metabolitos en carbohidratos y azúcares ilustran además las interacciones entre el tejido huésped y la bacteria. Con referencia a la Tabla 4 a continuación, los niveles disminuidos de tri y di-sacáridos incluyendo maltotriosa, maltosa y maltotriitol, en los sitios de

las enfermedades podría ser el resultado del consumo bacteriano de estos nutrientes dietéticos en circulación. Hubo una disminución de 0,90 veces en los niveles de maltotriosa entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y una disminución de 0,59 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Hubo una disminución de 0,93 veces en los niveles de maltosa entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y una disminución de 0,72 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. Hubo una disminución de 0,86 veces en los niveles de maltotriitol entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y una disminución de 0,43 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables.

La degradación de estos tri y di-sacáridos resulta en niveles incrementados del producto final, la glucosa. Con referencia a la glucosa, hubo un incremento de 1,35 veces en los niveles de glucosa entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 1,96 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables. La glucosa incrementada, que es altamente regulada por las trayectorias bioquímicas, resulta de este modo en la regulación por incremento del ciclo de Krebs y la expresión incrementada de los productos intermedios incluyendo α -cetoglutarato. Hubo un incremento de 1,65 veces en los niveles de α -cetoglutarato entre los sujetos con gingivitis y los saludables, y un incremento de 3,15 veces entre los sujetos con periodontitis y los saludables.

Tabla 4
Carbohidratos

COMPUESTO	PROMEDIO			H vs. G		H vs. P		G vs. P	
	H	G	P	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q	Valor p	Valor q
Maltotriosa	1,35	1,22	0,74	0,5129	0,3566	0,008	0,0015	0,0007	0,0038
Maltosa	1,2	1,11	0,86	0,7274	0,4214	0,0203	0,0183	0,0103	0,0178
Maltotriitol	1,39	1,2	0,63	0,5355	0,3621	0,0002	0,0006	0,0001	0,0017
Glucosa	1,1	1,49	2,16	0,0158	0,0705	0,0009	0,0016	0,0654	0,0601
α -cetoglutarato	0,52	0,86	1,64	0,001	0,0244	0,0013	0,0022	0,2712	0,1627

No conocidos

Se observaron también una variedad de compuestos no conocidos que mostraron una relación entre la identidad del metabolito y el nivel del metabolito para el estado bucal saludable, de gingivitis y de la enfermedad periodontal, tal como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5

COMPUESTO	H vs. G		H vs. P		G vs. P		PROMEDIO		
	Valor p	Valor q	Valor p	q	P	Q	H	G	P
Dental 10461	0,00561	0,0549	2,00E-04	7,00E-04	0,0365	0,0456	0,89	1,25	1,96
Dental 3138	0,0161	0,0705	0	2,00E-04	0,0021	0,0068	0,31	0,46	1,91
Dental 2038	0,0389	0,1218	5,00E-04	0,004	0,0082	0,0151	1,54	1,1	0,72
Dental 10864	0,7207	0,4203	0,0051	0,0058	2,00E-04	0,0021	1,37	1,09	0,56

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar salud oral en un sujeto, caracterizado porque comprende:
 - a. coleccionar una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto;
 - b. detectar un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival; y
 - c. diagnosticar al sujeto que tiene una enfermedad periodontal o estado oral saludable con base en el nivel del metabolito detectado,
en donde el metabolito detectado es al menos un compuesto elegido de: un compuesto generado por el metabolismo de aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión de glutatona, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado por el metabolismo de ácido nucleico, vitaminas y cofactores.
2. Un método para diagnosticar salud oral en un sujeto, caracterizado porque comprende:
 - a. coleccionar una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto;
 - b. detectar un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival;
 - c. comparar el nivel de metabolito detectado en la muestra de fluido crevicular gingival con un nivel de referencia de metabolito para generar un nivel diferencial, en donde el nivel de referencia de metabolito corresponde a uno más de los siguientes: nivel de referencia periodontal o nivel de referencia saludable,
en donde el metabolito detectado es al menos un compuesto elegido de: un compuesto generado por el metabolismo de aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión de glutatona, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado por el metabolismo de ácido nucleico, vitaminas y cofactores; y
 - d. basado en la comparación, diagnosticar el estado de salud oral del sujeto.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el nivel diferencial del metabolito detectado y el nivel de referencia periodontal se correlaciona con la enfermedad periodontal.
4. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el nivel diferencial del metabolito detectado y el nivel de referencia saludable se correlaciona con un estado oral saludable.
5. Un método de para monitorear la enfermedad periodontal en un sujeto que comprende:
 - a. detectar un primer nivel de al menos un metabolito en una primera muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un primero punto de tiempo;
 - b. detectar un segundo nivel de al menos un metabolito en una segunda muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un segundo punto de tiempo;
 - c. comparar el primer nivel de metabolito detectado con el segundo nivel de metabolito detectado,
en donde un nivel diferencial del segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado indica un cambio en la enfermedad periodontal del sujeto.
6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el nivel diferencial corresponde a una disminución en el segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado que indica una disminución de la enfermedad periodontal del sujeto, y en donde al menos un metabolito es al menos un miembro elegido de: inosina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
7. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el nivel diferencial corresponde a un incremento en el segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado

que indica una disminución de la enfermedad periodontal del sujeto, y en donde al menos un metabolito es al menos un miembro elegido de: ácido úrico, ácido ascórbico, y glutamina.

8. Un método para determinar una eficiencia de un compuesto de prueba útil en el tratamiento del desarrollo periodontal en un mamífero, que comprende las etapas de:

detectar el nivel de uno o metabolitos después de un tratamiento en una muestra de fluido crevicular gingival, colectada de un sujeto después del tratamiento con un compuesto de prueba,

comparar el nivel de metabolito de post-tratamiento con uno o más de los siguientes: niveles de metabolito de pre-tratamiento del sujeto, niveles de referencia periodontal y nivel de referencia saludable y,

determinar la eficiencia del compuesto de prueba con base en la comparación.

9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque el nivel de metabolito de pre-tratamiento se puede obtener por etapas que comprenden:

detectar un nivel de metabolito de pre-tratamiento de una primera muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un primer punto de tiempo; y

aplicar un dentrífico que contiene el compuesto de prueba a una cavidad oral del sujeto de acuerdo con un protocolo prescrito;

en donde el nivel de metabolito de post-tratamiento se detecta en un segundo punto de tiempo.

10. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque adicionalmente comprende: determinar si el compuesto de prueba bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.

11. El método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque

adicionalmente comprende:

determinar si el compuesto de prueba sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.

12. Un método para identificar un compuesto de prueba útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal en un mamífero, caracterizado porque el método comprende poner en contacto una célula con el compuesto de prueba y determinar si el compuesto de prueba bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
13. Un método de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque adicionalmente comprende:

determinar si el compuesto de prueba sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
14. Un método para identificar un sujeto de prueba como un respondedor o no respondedor a agentes terapéuticos mientras usa un protocolo de cuidado estándar, caracterizado porque comprende las etapas de:

generar un perfil de metabolito de una muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto de prueba, en donde el perfil de metabolitos incluye la identidad de metabolito y nivel de metabolito;

comparar el perfil de metabolito del sujeto de prueba con un perfil de metabolito de respondedor de referencia y un perfil de metabolito de no respondedor de referencia,

en donde el perfil de metabolito de respondedor de referencia se genera de un sujeto respondedor de referencia el cual muestra regresión de la enfermedad periodontal mientras usa un dentrífico que contiene un agente terapéutico estándar de acuerdo con el protocolo de cuidado estándar,

en donde el perfil de metabolito de no respondedor de referencia se

genera de un sujeto no respondedor de referencia el cual no muestra cambio en la enfermedad periodontal mientras usa un dentrífico que contiene un agente terapéutico estándar de acuerdo con el protocolo de cuidado estándar; y

con base en la comparación, identificar el sujeto de prueba como respondedor a los agentes terapéuticos o no respondedor a agentes terapéuticos.

15. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el sujeto respondedor de referencia, el agente terapéutico estándar bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
16. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque para el sujeto respondedor de referencia, el agente terapéutico estándar sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutathiona reducida, glutathiona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
17. Un método para identificar un sujeto de prueba como un respondedor o no respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal mientras sigue un protocolo no de cuidado estándar, caracterizado porque adicionalmente comprende las etapas de:
 - generar un perfil de metabolito de la muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto de prueba, en donde el perfil de metabolito incluye la identidad de metabolito y nivel de metabolito;
 - comparar el perfil de metabolito del sujeto de prueba a un perfil de metabolito de respondedor de referencia y un perfil de metabolito de no respondedor de referencia,
 - en donde el perfil de metabolito de respondedor de referencia se genera de un sujeto respondedor de referencia el cual desarrolla enfermedad periodontal mientras sigue el protocolo no de cuidado estándar,
 - en donde el perfil de metabolito de no respondedor de referencia se

genera de un sujeto no respondedor de referencia el cual no desarrolla enfermedad periodontal mientras sigue el protocolo no de cuidado estándar; y

con base en la comparación, identificar el sujeto de prueba como respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal o no respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal.

18. El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque para el sujeto respondedor de referencia, el protocolo no de cuidado estándar sobre-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
19. El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque para el sujeto no respondedor de referencia, el protocolo no de cuidado estándar bajo-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
20. Un kit para el cuidado bucal que comprende:
una o más tiras de recolección del fluido crevicular gingival para recolectar una muestra de fluido crevicular gingival y para la recuperación de los metabolitos contenidos en la muestra de fluido crevicular gingival;
un diagnóstico de la salud bucal de un sujeto en base al método de la Reivindicación 5.
21. Una composición dentífrica que comprende:
una cantidad efectiva de un agente terapéutico de metabolitos para la salud bucal, caracterizada porque el agente terapéutico genera un cambio en los niveles de metabolitos durante un periodo de tiempo de por lo menos un mes, caracterizada porque el cambio en el nivel de metabolitos es por lo menos 5 por ciento mayor que un cambio correspondiente en los niveles de referencia de metabolitos efectuados por medio de una composición dentífrica de control.

22. La composición dentífrica de la reivindicación 18, caracterizada porque el dentífrico de control contiene Triclosán.
23. Un método para la detección de metabolitos correspondiente a la enfermedad periodontal en la cavidad bucal de un sujeto que comprende las etapas de:
la aplicación de un dentífrico que contiene una composición indicadora de metabolitos a una o más secciones de prueba en la cavidad bucal, caracterizado porque dicho dentífrico contiene una composición indicadora de metabolitos que presenta un indicador discernible al usuario luego de la exposición a un metabolito y un nivel de metabolitos asociado con la enfermedad periodontal.
24. Un dentífrico indicador de metabolitos que comprende:
una composición indicadora de metabolitos que presenta un indicador discernible al usuario luego de la exposición a un metabolito y un nivel de metabolitos asociado con la enfermedad periodontal.
25. La composición dentífrica indicadora de metabolitos de acuerdo con la Reivindicación 24, caracterizada porque el indicador discernible al usuario corresponde a un cambio en el color del dentífrico indicador de metabolitos.
26. La composición dentífrica indicadora de metabolitos de acuerdo con la Reivindicación 24, caracterizada porque el metabolito es por lo menos un compuesto que se escoge de: un compuesto generado mediante el metabolismo de los aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión del glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de los lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de los carbohidratos, un compuesto generado mediante el metabolismo del ácido nucleico, vitaminas y co-factores.
27. La composición dentífrica indicadora de metabolitos de acuerdo con la Reivindicación 24, caracterizada porque el nivel de metabolitos es indicativo de la regulación por incremento de uno o más de los siguientes: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina,

ácido fenilacético, ácido α -hidroxisocaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato y ácido de N-acetilneuramínico.

28. La composición dentífrica indicadora de metabolitos de acuerdo con la Reivindicación 24, caracterizada porque el nivel de metabolitos es indicativo de la regulación por disminución de uno o más de los siguientes: ácido úrico, glutatión reducido, glutatión oxidado, ácido ascórbico y glutamina.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un método para diagnosticar salud oral en un sujeto, caracterizado porque comprende:
 - a. coleccionar una muestra de fluido crevicular gingival del sujeto;
 - b. detectar un nivel de uno o más metabolitos en la muestra de fluido crevicular gingival; y
 - c. diagnosticar al sujeto que tiene una enfermedad periodontal o estado oral saludable con base en el nivel del metabolito detectado,

en donde el metabolito detectado es al menos un compuesto elegido de: un compuesto generado por el metabolismo de aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de la urea, un compuesto generado en la conversión de glutatión, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado en el metabolismo de lípidos, un compuesto generado por el metabolismo de ácido nucleico, vitaminas y cofactores;

y en donde al menos un compuesto se selecciona de:

isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, tirosina, cadaverina, glutamina, ácido 4-guanidino-butanoico, maltotriosa, maltosa, maltotriol, α -cetoglutarato, inosina, xantina, guanosina, guanina, ácido úrico, uridina, metionina, prolina, serina, treonina, triptofano, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3 fosfato, ácido N-acetilneruamínico, ácido ascórbico.
2. Un método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa c) de diagnosticar al sujeto que tiene una enfermedad periodontal o estado oral saludable comprende:

comparar el nivel de metabolito detectado en la muestra de fluido crevicular gingival con un nivel de referencia de metabolito para generar un nivel diferencial, en donde el nivel de referencia de metabolito corresponde a uno más de los siguientes: nivel de referencia periodontal o nivel de referencia saludable;

y en donde, con base en la comparación, proporcionar un diagnóstico del estado de salud oral del sujeto.
3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el

nivel diferencial del metabolito detectado y el nivel de referencia periodontal se correlaciona con la enfermedad periodontal.

4. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el nivel diferencial del metabolito detectado y el nivel de referencia saludable se correlaciona con un estado oral saludable.
5. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el método se usa para monitorear la enfermedad periodontal en un sujeto, en donde el monitoreo comprende:
 - a. detectar un primer nivel de al menos un metabolito en una primera muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un primero punto de tiempo;
 - b. detectar un segundo nivel de al menos un metabolito en una segunda muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un segundo punto de tiempo;
 - c. comparar el primer nivel de metabolito detectado con el segundo nivel de metabolito detectado,
en donde un nivel diferencial del segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado indica un cambio en la enfermedad periodontal del sujeto.
6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el nivel diferencial corresponde a una disminución en el segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado que indica una disminución de la enfermedad periodontal del sujeto, y en donde al menos un metabolito es al menos un miembro elegido de: inosina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
7. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el nivel diferencial corresponde a un incremento en el segundo nivel de metabolito detectado con relación al primer nivel de metabolito detectado que indica una disminución de la enfermedad periodontal del sujeto, y en

donde al menos un metabolito es al menos un miembro elegido de: ácido úrico, ácido ascórbico, y glutamina.

8. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el método se usa para determinar una eficiencia de un compuesto de prueba útil en el tratamiento del desarrollo periodontal en un mamífero, en donde:
 - la muestra de fluido crevicular gingival en la cual el nivel de uno o metabolitos se detecta, se colecta de un sujeto después del tratamiento con un compuesto de prueba,
 - en donde el nivel de metabolito de post-tratamiento se compara con uno o más de los siguientes:
 - niveles de metabolito de pre-tratamiento del sujeto, niveles de referencia periodontal y nivel de referencia saludable y en donde,
 - la eficiencia del compuesto de prueba se determina con base en la comparación.
9. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque el nivel de metabolito de pre-tratamiento se puede obtener por etapas que comprenden:
 - detectar un nivel de metabolito de pre-tratamiento de una primera muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto en un primer punto de tiempo; y
 - aplicar un dentrífico que contiene el compuesto de prueba a una cavidad oral del sujeto de acuerdo con un protocolo prescrito;
 - en donde el nivel de metabolito de post-tratamiento se detecta en un segundo punto de tiempo.
10. El método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque adicionalmente comprende: determinar si el compuesto de prueba bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
11. El método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque

adicionalmente comprende:

determinar si el compuesto de prueba sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.

12. Un método para identificar un compuesto de prueba útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal en un mamífero, caracterizado porque el método comprende poner en contacto una célula con el compuesto de prueba y determinar si el compuesto de prueba bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
13. Un método de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque adicionalmente comprende:

determinar si el compuesto de prueba sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
14. Un método para identificar un sujeto de prueba como un respondedor o no respondedor a agentes terapéuticos mientras usa un protocolo de cuidado estándar, caracterizado porque comprende las etapas de:

generar un perfil de metabolito de una muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto de prueba, en donde el perfil de metabolitos incluye la identidad de metabolito y nivel de metabolito;

comparar el perfil de metabolito del sujeto de prueba con un perfil de metabolito de respondedor de referencia y un perfil de metabolito de no respondedor de referencia,

en donde el perfil de metabolito de respondedor de referencia se genera de un sujeto respondedor de referencia el cual muestra regresión de la enfermedad periodontal mientras usa un dentrífico que contiene un agente terapéutico estándar de acuerdo con el protocolo de cuidado estándar,

en donde el perfil de metabolito de no respondedor de referencia se genera de un sujeto no respondedor de referencia el cual no muestra

cambio en la enfermedad periodontal mientras usa un dentrífico que contiene un agente terapéutico estándar de acuerdo con el protocolo de cuidado estándar; y

con base en la comparación, identificar el sujeto de prueba como respondedor a los agentes terapéuticos o no respondedor a agentes terapéuticos.

15. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el sujeto respondedor de referencia, el agente terapéutico estándar bajo-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
16. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque para el sujeto respondedor de referencia, el agente terapéutico estándar sobre-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutathione reducida, glutathione oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
17. Un método para identificar un sujeto de prueba como un respondedor o no respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal mientras sigue un protocolo no de cuidado estándar, caracterizado porque adicionalmente comprende las etapas de:
 - generar un perfil de metabolito de la muestra de fluido crevicular gingival colectada del sujeto de prueba, en donde el perfil de metabolito incluye la identidad de metabolito y nivel de metabolito;
 - comparar el perfil de metabolito del sujeto de prueba a un perfil de metabolito de respondedor de referencia y un perfil de metabolito de no respondedor de referencia,
 - en donde el perfil de metabolito de respondedor de referencia se genera de un sujeto respondedor de referencia el cual desarrolla enfermedad periodontal mientras sigue el protocolo no de cuidado estándar,
 - en donde el perfil de metabolito de no respondedor de referencia se genera de un sujeto no respondedor de referencia el cual no desarrolla enfermedad periodontal mientras sigue el protocolo no de cuidado estándar;

y

con base en la comparación, identificar el sujeto de prueba como respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal o no respondedor al desarrollo de enfermedad periodontal.

18. El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque para el sujeto respondedor de referencia, el protocolo no de cuidado estándar sobre-regula al menos un miembro elegido de: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.
19. El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque para el sujeto no respondedor de referencia, el protocolo no de cuidado estándar bajo-regula al menos un miembro elegido de: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.
20. Un kit para el cuidado oral, caracterizado porque comprende:
 - una o más tiras de colección de fluido crevicular gingival para colectar una muestra de fluido crevicular gingival y para recuperar los metabolitos contenidos en la muestra de fluido crevicular gingival;
 - un diagnóstico de una salud oral del sujeto con base en el método de conformidad con la reivindicación 5.
21. Una composición dentrífica, caracterizada porque comprende:
 - una cantidad efectiva de un agente terapéutico de metabolito de salud oral, en donde el agente terapéutico efectúa un cambio en los niveles de metabolitos durante un período de tiempo de al menos un mes en donde el cambio de nivel de metabolito es al menos 5 por ciento mayor que un cambio correspondiente de niveles de referencia de metabolito efectuado por una composición dentrífica de control.
22. La composición dentrífica de conformidad con la reivindicación 21, caracterizada porque el dentrífico de control contiene Triclosan.

23. Un método para detectar metabolitos correspondiente a la enfermedad periodontal en una cavidad oral del sujeto, caracterizado porque comprende las etapas de: aplicar un dentrífico que contiene una composición indicadora de metabolito a una o más secciones de, prueba en la cavidad oral, en donde el dentrífico contiene una composición indicadora de metabolito que presenta un indicador discernible por el usuario en exposición a un metabolito y un nivel de metabolito asociado con la enfermedad periodontal.
24. Un dentrífico indicador de metabolito, caracterizado porque comprende: una composición indicadora de metabolito la cual presenta un indicador discernible por el usuario en exposición a un metabolito y un nivel de metabolito asociado con la enfermedad periodontal.
25. La composición dentrífica indicadora de metabolito de conformidad con la reivindicación 24, caracterizada porque el indicador discernible por el usuario corresponde a un cambio de color del dentrífico indicador de metabolito.
26. La composición dentrífica indicadora de metabolito de conformidad con la reivindicación 24, caracterizada porque el metabolito es al menos un compuesto elegido de: un compuesto generado por metabolismo de aminoácidos, un compuesto generado en el ciclo de urea; un compuesto generado en la conversión de glutatona; un compuesto generado en el metabolismo de lípidos; un compuesto generado en el metabolismo de carbohidratos; un compuesto generado por el metabolismo de ácido nucleico; vitaminas, y co-factores.
27. La composición dentrífica indicadora de metabolito de conformidad con la reivindicación 24, caracterizada porque el nivel de metabolito es indicativo de la sobre-regulación de uno o más de los siguientes: inosina, hipoxantina, xantina, guanosina, guanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, ácido fenilacético, ácido α -hidroxioscaproico, ácido 5-amino valérico, colina, glicerol-3-fosfato, y ácido N-acetilneuramínico.

28. La composición dentrífica indicadora de metabolito de conformidad con la reivindicación 24, caracterizada porque el nivel de metabolito es indicativo de la bajo-regulación de uno o más de los siguientes: ácido úrico, glutatona reducida, glutatona oxidada, ácido ascórbico, y glutamina.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 8207-00-WO	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA/416
International application No. PCT/US2009/039184	International filing date (day/month/year) 01.04.2009	Priority date (day/month/year)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. G01N33/50			
Applicant Colgate-Palmolive Company			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>9</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau a total of <u>7</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ 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 Article 35(2) 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			
Date of submission of the demand 01.02.2011		Date of completion of this report 02.05.2011	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Gonçalves Mauger, M Telephone No. +49 89 2399-8127 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/US2009/039184

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
 - ☒ 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 (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

Description, Pages

1-29 as originally filed

Claims, Numbers

1-28 filed with the demand for preliminary international examination

- ☐ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
 - ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
 - ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
5. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2 (e)).
6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/US2009/039184

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or Industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-20</u>
	No: Claims	<u>21-28</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-28</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-28</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

The following documents are considered to form the most relevant prior art:

- D1 US 2006/141421
- D2 TABA MARIO JR ET AL: "Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases." DENTAL CLINICS OF NORTH AMERICA JUL 2005, vol. 49, no. 3, July 2005, pages 551-571 , VI, XP009123451 ISSN: 0011-8532
- D3 CIANTAR M ET AL: "Development of an in vitro microassay for glucose quantification in submicrolitre volumes of biological fluid." JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH APR 2002, vol. 37, no. 2, April 2002, pages 79-85, XP002548092 ISSN: 0022-3484
- D4 LAMSTER IRA B ET AL: "Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases." ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES MAR 2007, vol. 1098, March 2007 (2007-03) , pages 216-229, XP002548093 ISSN: 0077-8923
- D5 WO 01/85116
- D6 JAHNGEN E G E ET AL: "High-performance liquid chromatography analysis of purine nucleosides in human gingival crevicular fluid" ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY, vol. 29, no. 8, 1 January 1984, pages 607-610, XP022869284 ISSN: 0003-9969
- D7 DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; July 2004 (2004-07) , XU TAO ET AL: "Effectiveness of a triclosan/copolymer dentifrice on microbiological and inflammatory parameters." XP002548094 Database accession no. NLM15645886
- D8 CHAPPLE I L C ET AL: "Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease." MOLECULAR PATHOLOGY : MP DEC 2002, vol. 55, no. 6, December 2002 , pages 367-373, XP002548090 ISSN: 1366-8714
- D9 ARMITAGE GARY C: "Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis." PERIODONTOLOGY 2000 2004 LNKD-PUBMED:14717858, vol. 34, 2004 , pages 109-119, ISSN: 0906-6713

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

- D10 LOOS BRUNO G ET AL: "Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid?" PERIODONTOLOGY 2000 2005 LNKD- PUBMED:16135064, vol. 39, 2005 , pages 53-72, ISSN: 0906-6713
- D11 OZMERIC NURDAN: "Advances in periodontal disease markers." CLINICA CHIMICA ACTA; INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL CHEMISTRY MAY 2004 LNKD- PUBMED:15115674, vol. 343, no. 1-2, May 2004 (2004-05) , pages 1-16, ISSN: 0009-8981
- D12 KANTARCI ALPDOGAN ET AL: "Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis" JOURNAL OF PERIODONTOLOGY, AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, CHICAGO, IL, US, vol. 74, no. 1, 1 January 2003 (2003-01-01) , pages 66-75, XP009132803 ISSN: 0022-3492
- D13 HEASMAN P A ET AL: "Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans." JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH JUL 1993 LNKD- PUBMED:8101565, vol. 28, no. 4, July 1993 (1993-07) , pages 241-247, ISSN: 0022-3484
- D14 LAMSTER I B ET AL: "The polyamines putrescine, spermidine and spermine in human gingival crevicular fluid" ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY, vol. 32, no. 5, 1 January 1987 , pages 329-333, XP026168189 ISSN: 0003-9969
- D15 BACK ET AL: "Increased leukotriene concentrations in gingival crevicular fluid from subjects with periodontal disease and atherosclerosis" ATHEROSCLEROSIS, vol. 193, no. 2, 17 July 2007 (2007-07-17) , pages 389-394, XP022233716 ISSN: 0021-9150
- D16 TSAI C C ET AL: "Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis." JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH OCT 2005 , vol. 40, no. 5, October 2005 , pages 378-384, ISSN: 0022-3484

Section V

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

- 1 The present application relates to: methods of diagnosing/monitoring periodontal disease; methods of screening compounds for treatment of periodontal disease; methods of evaluating the periodontal disease development, and an oral care kit, all of which use the level of a metabolite compound chosen from: a compound generated by amino acid metabolism, a compound generated in urea cycle; a compound generated in glutathione conversion; a compound generated in lipid metabolism; a compound generated in carbohydrate metabolism; a compound generated by nucleic acid metabolism; vitamins; and co-factors; and wherein the at least one compound is selected from: isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, tyrosine, cadaverine, glutamine, 4-Guanidinobutanoic acid, maltotriose, maltose, manotriol, alpha-ketoglutarate, inosine, xantine, guanosine, guanine, uric acid, uridine, methionine, proline, serine, threonine, tryptophan, valine, Phenylacetic acid, alpha-hydroxyisocaproic acid, 5-aminovaleric acid, choline, glycerol-3 phosphate, N-acetylneuraminic acid, ascorbic acid.

The subject-matter of the present application is based on the finding that the listed metabolite compounds are biomarkers for periodontal disease in human gingival crevicular fluid. Such a finding is not anticipated by any disclosures in known prior art documents and is thus novel. The subject-matter of claim 1 fulfills the requirements of Article 33 (2) PCT.

- 2 Methods of diagnosing/monitoring periodontal disease which use the level of metabolite compounds in gingival crevicular fluid as target/marker for periodontal disease are disclosed in the following documents:

D2 describes the use of biomarkers of oral /periodontal disease that can be identified at the tissue, cellular, and molecular levels and that are measurable in oral fluids such as saliva and gingival crevicular fluid. Biomarkers identified from these biologic fluids include microbial, host response, and connective tissue-related molecules that can target specific pathways of local alveolar bone resorption: some specific examples of metabolite compounds are presented in table 3.

The use of raised levels of the carbohydrate metabolite glucose in gingival crevicular fluid as marker for periodontal disease is shown in document D3 (pages 79-83).

In D4 (pages 218-225), the analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. The study of GCF has focused on defining the pathophysiology of periodontal disease, and identification of a potential diagnostic test for active periodontitis. The majority of markers

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

identified as potential candidates for such a test are measures of inflammation: prostaglandin E2, neutrophil elastase, and the lysosomal enzyme beta-glucuronidase.

D6 shows that Inosine monophosphate (IMP) and hypoxanthine are markers of periodontal disease state: Samples of human crevicular fluid were collected and analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC) for purine nucleotides, nucleosides and bases. The chromatograms identified specifically adenine and hypoxanthine, inosine mono phosphate (IMP) and AMP. The document specifically suggests a correlation between IMP amount in human crevicular fluid and periodontal disease state (see pages 608-610).

D8 analyses glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease: the concentrations of oxidised and reduced glutathione were determined by high performance liquid chromatography. D8 concludes that GSH values and total antioxidant capacity are reduced in chronic periodontal disease (see pages 368-370).

D9 (pages 109-112) examines over 65 gingival crevicular fluid components including host derived enzymes and their inhibitors, inflammatory mediators and host response modifiers, and tissue breakdown products has possible markers for progression of periodontitis.

D10 discloses glutathione and putrescine as components of gingival crevicular fluid for the detection of periodontitis (see pages 53- 60).

D11 shows that glutathione, glucose and leukotriene B-4 are gingival crevicular fluid markers for diagnosis of periodontal disease (see table 2 and pages 7-9).

In D12 (page 66, figure 3) crevicular fluid samples from patients were found to contain prostaglandin E2 (PGE2) and 5-LO-derived products, leukotriene B4, and the biosynthesis interaction product, lipoxin.

D13 (pages 241-243) shows changes in crevicular fluid levels of leukotriene B-4, a lipid mediator, during the development of experimental gingivitis in humans;

In D14, high levels of putrescine were detected in gingival crevicular fluid of patients with periodontal disease (see pages 329-332).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

D15 (pages 389-392) found elevated concentration of leukotrienes, the lipid derived inflammatory mediators, in the GCF of subjects with high dental plaque index, supporting an increased leukotriene formation in periodontitis; and D16 established increased lipid peroxidation in the gingival crevicular fluid in periodontitis (see page 378).

The problem addressed in the present application view of the known prior art is the provision of other metabolite markers/ targets for periodontal disease in gingival crevicular fluid. This problem is addressed by using one or more of the metabolites: isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, tyrosine, cadaverine, glutamine, 4-Guanidinobutanoic acid, maltotriose, maltose, manotriol, alpha-ketoglutarate, inosine, xanthine, guanosine, guanine, uric acid, uridine, methionine proline, serine threonine, tryptophan, valine Phenylacetic acid, alpha-hydroxyisocaproic acid, 5-aminovaleric acid, choline glycerol-3 phosphate, N-acetylneuraminic acid, ascorbic acid.

The solution to this problem proposed in claim 1 of the present application is not considered as involving an inventive step for the following reasons:

The subject-matter of the present application was restricted by the applicant to the metabolite markers not already disclosed in the prior art. The subject-matter of claim 1 consists in the selection of a panel of 23 metabolite compound biomarkers from the ones described in the application. Such a selection can only be regarded as inventive, if the selected markers present unexpected effects or properties in relation to the prior art. However, no such effects or properties are indicated in the application. Hence, no inventive step is present in the subject-matter of claim 1 (Article 33 (3) PCT).

- 3 The subject matter of claims 21-22, relating to a dentifrice composition, is anticipated by the documents D5 and D7, from the same applicant, disclosing dentifrices containing triclosan.

D5 claims an oral care composition containing a synergistic anti plaque/anti gingivitis combination of a non ionic halogenated diphenyl ether compound such as Triclosan and an extract of Magnolia Officinalis containing honokiol and magnolol (see abstract and claims).

D7 describes the effectiveness of a triclosan/copolymer dentifrice on microbiological and inflammatory parameters; a novel, multi benefit, oral-care technology based on triclosan--a broad-spectrum antibacterial agent--and a polyvinylmethylether/maleic acid copolymer. This unique combination of

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/039184

agents is found in Colgate Total, a clinically proven efficacious dentifrice for control of dental plaque and gingivitis: data are presented that demonstrate the anti-inflammatory effects of triclosan on specific cytokines, the interruption of inflammatory pathways, and the inhibition of bone resorption (see abstract).

Thus claims 21-22 are not novel (Article 33 (2) PCT).

- 4 The above comments (items 1 and 2) also apply to the subject-matter of the independent claims 1, 12, 14 and 17, and to the the claims dependent thereon (Articles 33 (2) and (3) PCT).
- 5 Although claims 1, 12, 14 and 17 have been drafted as separate independent claims, they appear to relate effectively to the same subject-matter and to differ from each other only with regard to the definition of the subject-matter for which protection is sought and/or in respect of the terminology used for the features of that subject-matter. The aforementioned claims therefore lack conciseness and as such do not meet the requirements of Article 6 PCT.
- 6 Claims 23-28 are not supported by the description as required by Article 6 PCT, as their scope is broader than justified by the description and drawings. The reasons therefor are the following: The vague statements in the description as to the possible usefulness of the metabolite indicator dentifrice, are not supported by any specific examples. The only example contained in the application relates to metabolite expression profiling technology with GC/MS and LC/MS analysis and comparison with reference library entries. No examples are given for indicator dentifrices specific compositions. The present application does not disclose indicator dentifrices in a manner sufficiently clear and complete for them to be carried out by a person skilled in the art. Therefor, the subject-matter of claims 23-28 as a whole is regarded as being merely theoretical, and does not satisfy the requirements of Article 5 PCT. Further more, the attention of the applicant is called to the contents of D1, relating to a system and method for detecting substances related to oral health: D1 relates to a low cost and portable system and method for detecting substances related to oral health. In one example embodiment, the system includes a sensor that is incorporated into an oral health care device (like a toothbrush/finger glove/ dental implement). The sensor detects bacterial and/or chemical levels that are within a mouth in order to provide an indication as to the presence of oral malodor and/or bacteria within the mouth (see abstract and claims).

Printed: 23-02-2011

CLMSPAMD

PCT/US 2009/039 184

1. Feb. 2011 10:40

Page White & Farrer

No. 2936 P. 18

PCT/US 2009/039 184 - 01-02-2011

What is claimed:

1. A method for diagnosing oral health in a subject comprising:
 - a. collecting a gingival crevicular fluid sample from the subject;
 - b. detecting a level of one or more metabolites in the gingival crevicular fluid sample; and
 - c. diagnosing the subject a having periodontal disease or healthy oral status based on the level of the detected metabolite,

wherein the detected metabolite is at least one compound chosen from: a compound generated by amino acid metabolism, a compound generated in the urea cycle, a compound generated in glutathione conversion, a compound generated in lipid metabolism, a compound generated in lipid metabolism, a compound generated by nucleic acid metabolism, vitamins and cofactors;

and wherein the at least one compound is selected from:

isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, tyrosine, cadaverine, glutamine, 4-guanidino-butanoic acid, maltotriose, maltose, maltotriol, α -ketoglutarate, inosine, xanthine, guanosine, guanine, uric acid, uridine, methionine, proline, serine, threonine, tryptophan, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3 phosphate, N-acetylnervaminic acid, ascorbic acid.
2. A method according to claim 1, wherein step c) of diagnosing the subject a having periodontal disease or healthy oral status comprises:

comparing the level of detected metabolite in the gingival crevicular fluid sample to a metabolite reference level to thereby generate a differential level, wherein the metabolite reference level corresponds to one or more of the following: periodontal reference level or healthy reference level,

and wherein, based on the comparing, providing a diagnosis of the subject's oral health status.

Printed: 23-02-2011

CLMSPAMD

PCT/US 2009/039 184

1. Feb. 2011 10:40

Page White & Farrer

No. 2936 P. 19

PCT/US 2009/039 184 - 01-02-2011

3. The method of claim 2, wherein the differential level of the detected metabolite and the periodontal reference level correlates with periodontal disease.
4. The method of claim 2, wherein the differential level of the detected metabolite and the healthy reference level correlates with healthy oral status.
5. The method of claim 1, wherein the method is used for monitoring periodontal disease in a subject, wherein the monitoring comprises:
 - a. detecting a first level of at least one metabolite in a first gingival crevicular fluid sample collected from the subject at a first point in time;
 - b. detecting second level of at least one metabolite in a second gingival crevicular fluid sample collected from the subject at a second point in time;
 - c. comparing the first detected metabolite level to the second detected metabolite level,
 wherein a differential level of the second detected metabolite level relative to the first detected metabolite level indicates a change in periodontal disease of the subject.
6. The method of claim 5, wherein the differential level corresponds to a decrease in the second detected metabolite level relative to the first detected metabolite level indicating a decrease in the periodontal disease of the subject, and wherein the at least one metabolite is at least one member chosen from: inosine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.
7. The method of claim 5, wherein the differential level corresponds an increase in the second detected metabolite level relative to the first detected metabolite level indicating a decrease in periodontal disease of the subject, and wherein the at least one metabolite is at least one member chose from: uric acid, ascorbic acid, and glutamine.

8. The method of claim 1, which method is used for determining an efficiency of a test compound useful in treating periodontal development in a mammal, wherein:
the gingival crevicular fluid sample in which the level of one or metabolites is detected, is collected from a subject after treatment with a test compound,
wherein the post-treatment metabolite level is compared to one or more of the following:
pre- treatment metabolite levels of the subject, periodontal reference levels and healthy reference level and wherein,
the efficiency of the test compound is determined based on the comparison.
9. The method of claim 8, wherein the pre-treatment metabolite level may be obtained by steps comprising:
detecting a pre-treatment metabolite level of a first gingival crevicular fluid sample collected from the subject at a first point in time; and
applying a dentifrice containing the test compound to an oral cavity of the subject according to a prescribed protocol;
wherein the post-treatment metabolite level is detected at a second point in time.
10. The method of claim 8, further comprising: determining whether the test compound down-regulates at least one member chosen from: inosine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.
11. The method of claim 9, further comprising:
determining whether the test compound up-regulates at least one member chose from: uric acid, reduced glutathione, oxidized glutathione, ascorbic acid, and glutamine.
12. A method of identifying a test compound useful in treating periodontal disease in a mammal, the method comprising contacting a cell with the test compound and determining

whether the test compound down-regulates at least one member chose from: inosine, hypoxanthine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, S-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.

13. A method of claim 12, further comprising:
determining whether the test compound up-regulates at least one member chose from: uric acid, reduced glutathione, oxidized glutathione, ascorbic acid, and glutamine.

14. A method of identifying a test subject as a responder or non-responder to therapeutic agents while using a standard care protocol, comprising the steps of:

generating a metabolite profile of a gingival crevicular fluid sample collected from the test subject, wherein the metabolite profile includes the metabolite identity and metabolite level;

comparing the metabolite profile of the test subject to a reference responder metabolite profile and a reference non-responder metabolite profile,
wherein the reference responder metabolite profile is generated from a reference responder subject which showed regression of periodontal disease while using a dentifrice containing a standard therapeutic agent according to the standard care protocol,

wherein the reference non-responder metabolite profile is generated from a reference non-responder subject which showed no change in periodontal disease while using a dentifrice containing a standard therapeutic agent according to the standard care protocol;
and

based on the comparing, identifying the test subject as responder to therapeutic agents or non-responder to therapeutic agents.

15. The method of claim 14, wherein for the reference responder subject, the standard therapeutic agent down-regulates at least one member chose from: inosine, hypoxanthine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline,

serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.

16. The method of claim 14, wherein for the reference responder subject, the standard therapeutic agent up-regulates at least one member chose from: uric acid, reduced glutathione, oxidized glutathione, ascorbic acid, and glutamine.

17. A method of identifying a test subject as a responder or non-responder to periodontal disease development while following a standard non-care protocol further comprising the steps of:

generating a metabolite profile of the gingival crevicular fluid sample collected from the test subject, wherein the metabolite profile includes the metabolite identity and metabolite level;

comparing the metabolite profile of the test subject to a reference responder metabolite profile and a reference non-responder metabolite profile,

wherein the reference responder metabolite profile is generated from a reference responder subject which developed periodontal disease while following the standard non-care protocol

wherein the reference non-responder metabolite profile is generated from a reference non-responder subject which failed to develop periodontal disease while following the standard non-care protocol; and

based on the comparing, identifying the test subject as responder to periodontal disease development or non-responder to periodontal disease development.

18. The method of claim 17, wherein for the reference responder subject, the standard non-care protocol up regulates at least one member chose from: inosine, hypoxanthine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenyl acetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.

Printed: 23-02-2011

CLMSPAMD

PCT/US 2009/039 184

1. Feb. 2011 10:41

Page White & Farrer

No. 2936 P. 23

PCT/US 2009/039 184 - 01-02-2011

19. The method of claim 17, wherein for the reference non-responder subject, the standard non-care protocol down-regulates at least one member chose from: uric acid, reduced glutathione, oxidized glutathione, ascorbic acid, and glutamine.

20. An oral care kit comprising:
 one or more gingivitis crevicular fluid collection strips for collecting a gingival crevicular fluid sample and for recovery of metabolites contained in the gingival crevicular fluid sample;
 a diagnosis of a subject's oral health based on the method of claim 5.

21. A dentifrice composition comprising:
 an effective amount of an oral health metabolite therapeutic agent, wherein the therapeutic agent effects a change in metabolite levels over a time period of at least one month wherein the change metabolite level is at least 5 percent greater than a corresponding change in metabolite reference levels effected by a control dentifrice composition.

22. The dentifrice composition of claim 21, wherein the control dentifrice contains Triclosan.

23. A method to detect metabolites corresponding to periodontal disease in a subject's oral cavity comprising the steps of: applying a dentifrice containing a metabolite indicating composition to one or more sections of, test in the oral cavity, wherein said dentifrice contains a metabolite indicating composition which presents a user discernable indicator upon exposure to a metabolite and a metabolite level associated with periodontal disease.

24. A metabolite indicating dentifrice comprising: a metabolite indicating composition which presents a user discernable indicator upon exposure to a metabolite and a metabolite level associated with periodontal disease.

25. The metabolite indicating dentifrice composition of claim 24, wherein the user discernable indicator corresponds to a change in color of the metabolite indicating dentifrice.
26. The metabolite indicating dentifrice composition of claim 24, wherein the metabolite is least one compound chosen from: a compound generated by amino acid metabolism, a compound generated in urea cycle; a compound generated in glutathione conversion; a compound generated in lipid metabolism; a compound generated in carbohydrate metabolism; a compound generated by nucleic acid metabolism; vitamins; and co-factors.
27. The metabolite indicating dentifrice composition of claim 24, wherein the metabolite level is indicative of up regulation of one or more of the following: inosine, hypoxanthine, xanthine, guanosine, guanine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, phenylacetic acid, α -hydroxyisocaproic acid, 5-amino valeric acid, choline, glycerol-3-phosphate, and N-acetylneuraminic acid.
28. The metabolite indicating dentifrice composition of claim 24 wherein the metabolite level is indicative of down regulation of one or more of the following: uric acid, reduced glutathione, oxidized glutathione, ascorbic acid, and glutamine.

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
EMILY LANG
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
EMILY LANG, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 14TH DAY OF JULY 2011
7. BY: Andrew P Sidamon-Eristoff
State Treasurer
8. NO: A431487
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



A handwritten signature in black ink, appearing to be "A. P. Sidamon-Eristoff".

Certificate Number: 121016751

Verify this certificate at
https://www1.state.nj.us/TYTR_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp

I, Michele Konrad, of COLGATE-PALMOLIVE COMPANY, do hereby declare that the copy attached hereto is a true photocopy of the assignment of International Patent Application PCT/US2009/039184 filed April 1, 2009.

Michele Konrad
Michele Konrad
Sr. Legal Assistant - Patent
Colgate-Palmolive Company

Subscribed and sworn to
Before me this 5th day
of July 2011

x Emily Lang

EMILY LANG
NOTARY PUBLIC
STATE OF NEW JERSEY
MY COMMISSION EXPIRES NOV. 30, 2013

2011 JUL 5 PM 4:16
NOTARY

ASSIGNMENT

WHEREAS, WE, Virginia M. Barnes, Harsh M. Trivedi, Tao Xu (below referred to as ASSIGNORS), residing, respectively, as set forth hereinafter, have made an invention for which application for Letters Patent was filed in the United States Patent and Trademark Office as Application Serial No. PCT/US09/39184 filed April 1, 2009 naming the ASSIGNOR(S) as inventor(s), and entitled "METABOLITES FOR ORAL HEALTH AND USES THEREOF"; and

WHEREAS, Colgate-Palmolive Company, a corporation duly organized and existing under the laws of the State of Delaware, United States of America and having its principal office and place of business at 300 Park Avenue, New York, New York 10022, and offices and place of business at 909 River Road, Piscataway, New Jersey 08855 (below referred to as "ASSIGNEE"), is desirous of obtaining the entire right, title and interest in and to the aforesaid invention and patent application and corresponding patent rights worldwide;

NOW, THEREFORE, in consideration of good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, ASSIGNOR(S), by these presents do sell, assign and transfer to ASSIGNEE, the full and exclusive right, title and interest in and to the aforesaid invention, the aforesaid Patent Application and all corresponding patent applications, all divisional, continuation, continuation-in-part, reissue, reexamination, and any additional patent applications which claim priority to the aforesaid Patent Application, and all Letters Patent or comparable rights issuing thereon in the United States and in all foreign countries, together with the right(s) of priority under the International Convention for the Protection of Industrial Property, Inter-American Convention Relating to Patents, Designs and Industrial Models, and any other international agreements to which the United States of America adheres, and the ASSIGNOR(S) hereby authorize and request the United States Commissioner of Patents and Trademarks and all foreign Patent Offices to issue all Letters Patent or comparable rights issuing on any application as aforesaid to ASSIGNEE, or to its successors, assigns or legal representatives;

ASSIGNOR(S) hereby covenant that ASSIGNOR(S) have full right to convey the entire interest herein assigned, and that ASSIGNOR(S) have not executed, and will not execute, any agreement in conflict herewith;

ASSIGNOR(S) agree to communicate to ASSIGNEE or to its successors, assigns or legal representatives any and all facts known to them or any of them respecting said invention, and without further remuneration to testify in any legal proceeding, sign all lawful papers, execute all divisional, continuation, continuation-in-part, reissue and reexamination applications, make all rightful oaths and generally do all lawful acts to aid ASSIGNEE or its successors, assigns or legal representatives to obtain and enforce proper patent protection for said invention in all countries and to enhance or perfect ASSIGNEE's title in and to the invention and patent rights therein.

ASSIGNOR(S) hereby authorize attorneys for ASSIGNEE to enter on this document any applicable serial numbers and filing dates after ASSIGNOR(S)' execution of this document.

This Assignment is effective as of: April 1, 2009,
(date of filing)

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 3 day of May 2010.

Virginia M. Barnes

Address: 115 Back Brook Road
Ringoes, New Jersey 08551

State of New Jersey
County of Middlesex

On this 3 day of May 2010 before me, a Notary Public in and for the State and County aforesaid, personally appeared the above signatory, known to me to be the person of that name, who executed the foregoing instrument in my presence.


NOTARY PUBLIC

CHRISTINE E. BRISCOE
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
I.D. # 2382679
Commission Expires 2/24/2014

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 20 day of April 2010.

Harsh M. Trivedi
Harsh M. Trivedi

Address: 30 Burniston Court
Hillsborough, NJ 08844

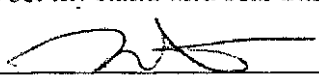
State of New Jersey
County of Middlesex

On this 20 day of April 2010 before me, a Notary Public in and for the State and County aforesaid, personally appeared the above signatory, known to me to be the person of that name, who executed the foregoing instrument in my presence.

Christine E. Priscoe
NOTARY PUBLIC

CHRISTINE E. PRISCOE
NOTARY PUBLIC NEW JERSEY
Commission Expires 2/24/2014

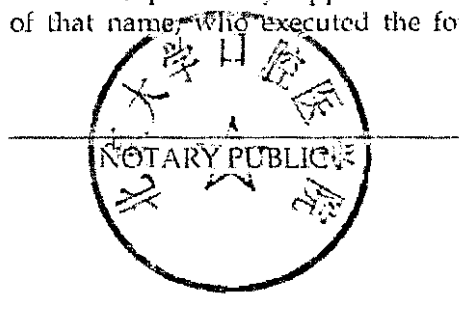
IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 12th day of April 2010


Tao Xu

Address: ~~41 Jerret Drive~~ 160 PINE ST
~~East Brunswick, NJ 08816~~ NEWTON, NJ 07860

State of
County of

On this 12th day of April 2010, before me, a Notary Public in and for the State and County aforesaid, personally appeared the above signatory, known to me to be the person of that name, who executed the foregoing instrument in my presence.



TRADUCCIÓN AL ESPAÑOL DEL DOCUMENTO DE CESIÓN A COLGATE-
PALMOLIVE COMPANY firmado por los cedentes y el cesionario.

APOSTILLA

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

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público
ha sido firmado por EMILY LANG
3. actuando en capacidad de NOTARIO PÚBLICO DE NEW JERSEY
4. lleva el sello/timbre de EMILY LANG, NOTARIO

Certificado

5. en Trenton, New Jersey
6. el 14 de julio de 2011
7. por Andrew P. Sidamon-Eristoff, Tesorero de Estado
8. No. A431487
9. Sello/timbre

10. Firma

(Firma)

Hay un sello que dice:

EL GRAN SELLO DEL ESTADO DE NEW JERSEY

Certificado Número: 121016751
Verifique este sello en línea en
https://www1.state.nj.us/TYTR_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp

8207-00-CO-01-OC

Yo, Michele Konrad de COLGATE-PALMOLIVE COMPANY, por la presente declaro que la copia anexa es una fotocopia verdadera de la cesión de la solicitud de patente internacional No. PCT/US2009/039184 presentada el 01 de abril de 2009.

(firma)

Michele Konrad
Asistente Legal Senior - Patentes
Colgate-Palmolive Company

Suscrito y jurado ante mi este 05 de julio de 2011.

(firma)

Hay un sello que dice:
EMILY LANG
Notario Público
Estado de New Jersey
Mi comisión vence el 30.Nov.2013

Hay un sello seco que dice:
EMILY LANG
Notario Público
New Jersey

CESIÓN

CONSIDERANDO QUE NOSOTROS, Virginia Barnes, Harsh M. Trivedi y Tao Xu (referidos abajo como CEDENTES) residentes respectivamente como se establece mas adelante, hemos hecho una invención para la cual se presentó una solicitud para Título de Patente de los Estados Unidos en la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos, bajo el serial No. PCT/US2009/039184 el 01 de abril de 2009, titulada METABOLITOS PARA LA SALUD BUCAL Y USOS DE LOS MISMOS; y

CONSIDERANDO QUE, Colgate-Palmolive Company, una corporación debidamente organizada y existente bajo las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América y que tiene sus oficinas principales y lugar de operación en 300 Park Avenue, New York, New York 10022, y oficinas y sede de negocios en 909 River Road, Piscataway, New Jersey 08855 (referida abajo como el "CESIONARIO") desea obtener la totalidad del derecho, título e interés en y para la invención y solicitud de patente mencionada arriba y los correspondientes derechos de patente alrededor del mundo.

AHORA POR LO TANTO, en consideración de la consideración buena y valiosa, el recibo y la suficiencia de la cual se reconocen por medio de la presente, el (los) CEDENTE(S) por la presente vende, cede y transfiere al CESIONARIO el derecho total y exclusivo, título e interés en y para la invención arriba mencionada, la mencionada Solicitud de Patente de los Estados Unidos y todas las solicitudes de patente extranjeras correspondientes, todas las divisionales, continuaciones, continuación parcial, reemisiones, reexaminaciones y cualquier solicitud de Estados Unidos adicional, que reivindique la prioridad para la mencionada solicitud de Estados Unidos, y todos los Títulos de Patente o derechos comparables que se emitan a partir de esta en los Estados Unidos y en todos los países extranjeros, junto con el(los) derecho(s) de prioridad bajo la Convención Internacional para la Protección de la Propiedad Industrial, Convención Interamericana con Relación a Patentes, Diseños y Modelos Industriales, y cualquier acuerdo internacional para el cual los Estados Unidos haga parte, y el(los) CEDENTE(S) por la presente autoriza y solicita al Comisionado de Patentes y Marcas de los Estados Unidos y todas las Oficinas de Patentes extranjeras a emitir todos los Títulos de Patentes o derechos comparables que se emitan sobre cualquier solicitud como se mencionó anteriormente al CESIONARIO, o sus sucesores, representantes legales y a quienes para tal efecto designe;

EL(LOS) CEDENTE(S), acuerda que el(los) CEDENTE(S) tiene pleno derecho para comunicar la totalidad del interés aquí cedido y que el(los) CEDENTE(S) no ha ejecutado y no ejecutará, ningún acuerdo en conflicto con el presente;

EL(LOS) CEDENTE(S) acuerda comunicar al CESIONARIO o a sus sucesores, representantes legales y a quienes para tal efecto designe, cualquiera y todos los hechos conocidos por ellos o por cualquiera de ellos respecto a dicha invención y sin remuneración adicional para testificar en cualquier proceso legal, firmar todos los papeles legales, ejecutar todas las solicitudes de divisional, continuación, continuación parcial, reemisión y reexaminación, hacer todos los juramentos correctos y en general, hacer todos los actos legales para ayudar al CESIONARIO o sus sucesores, representantes legales y a quienes para tal efecto designe, para obtener y hacer valer la protección de patente apropiada para dicha invención en todos los países y para mejorar o perfeccionar el derecho del CESIONARIO en y para la invención y derechos de patente de la misma.

EL(LOS) CEDENTE(S) por la presente autoriza a los abogados del CESIONARIO a ingresar en este documento cualquier número de serie aplicable y fechas de presentación después de la ejecución por parte del(los) CEDENTE(S) de este documento.

Esta Cesión es efectiva desde: Abril 1, 2009
(fecha de presentación)

Expediente de abogado No. 8207-00-OC

EN TESTIMONIO DE LA CUAL, he puesto mi firma y sello el 03 de mayo de 2010.

(firma)

VIRGINIA BARNES

Dirección: 115 Back Brook Road
Ringoes, New Jersey 08551 US

Estado de New Jersey

Condado de Middlesex

El 03 de mayo de 2010, ante mi, un Notario Público en y para el Estado y Condado antes mencionados, compareció personalmente el arriba firmante, a mi saber la persona de ese nombre, quien ejecutó el instrumento anterior en mi presencia.

(firma)

NOTARIO PÚBLICO

Hay un sello que dice:

CHRISTINE E. BRISCOE

Notario Público de New Jersey

Identificación No. 2382679

Mi Comisión vence el 24 de febrero de 2014

85
Expediente de abogado No. 8207-00-OC

EN TESTIMONIO DE LA CUAL, he puesto mi firma y sello el 20 de abril de 2010.

(firma)
HARSH M. TRIVEDI
Dirección: 30 Burniston Court
Hillsborough, New Jersey 08844 US

Estado de New Jersey
Condado de Middlesex

El 20 de abril de 2010, ante mi, un Notario Público en y para el Estado y Condado antes mencionados, compareció personalmente el arriba firmante, a mi saber la persona de ese nombre, quien ejecutó el instrumento anterior en mi presencia.

(firma)
NOTARIO PÚBLICO

Hay un sello que dice:
CHRISTINE E. BRISCOE
Notario Público de New Jersey
Identificación No. 2382679
Mi Comisión vence el 24 de febrero de 2014

Expediente de abogado No. 8207-00-OC

EN TESTIMONIO DE LA CUAL, he puesto mi firma y sello el 12 de abril de 2010.

(firma)
TAO XU
Dirección: 160 Pine Street
Newton, MA 02466 US

Estado de
Condado de

El 12 de abril de 2010, ante mi, un Notario Público en y para el Estado y Condado antes mencionados, compareció personalmente el arriba firmante, a mi saber la persona de ese nombre, quien ejecutó el instrumento anterior en mi presencia.

(sello)
NOTARIO PÚBLICO

FROM : BRIGARD Y CASTRO

PHONE NO. : 3802700

OCT. 29 2001 01:09PM P2

Brigard & Castro

PODER

SANTA FE DE BOGOTA - COLOMBIA

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros)

domiciliado(s) en

Nombramos a: RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S.

de Santafé de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñes, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualquier clase; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) facultamos para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para ante dichas autoridades todos los pasos necesarios para el efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de mis intereses, con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de desistir, transigir, comprometerse y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar las sustituciones. Asimismo nombramos a: RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S. domiciliados en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de

Firma

Nombre

VICE PRESIDENT & ASSOCIATE GENERAL COUNSEL
TRADEMARK

I (We)

COLGATE-PALMOLIVE COMPANY, a Delaware corporation, of 300 Park Avenue, New York, New York 10022, U. S. A.

Hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S.

of Santafé de Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; penal demands, actions of indemnities for damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures; and in other actions or similar proceedings.

To that effect they are hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kind of documents and valuables, giving the respective release or receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and to take any measures that they may deem proper, in order to safeguard the interest(s) of my (our) interest(s) and to exercise all other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm the acts, deeds and commitments on my (our) behalf, and to constitute this power in whole or in part, and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S. of Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorneys in fact, with powers to receive notifications and designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed in New York, N.Y.

this OCT 29 2001 day of 2001

Signature

Name

SCOTT E THOMPSON

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Hoy de de
personalmente compareció ante mí

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el
anterior documento, debidamente juramentado declaro
y dijo que él es

de

Sociedad legalmente constituida para un periodo de
duración que aún no ha terminado; 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 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 hace constar que tuvo a la vista las
pruebas de la existencia de la sociedad.

Estado de
con fecha

y que quien confiere el presente poder es su
representante.

Notario Público (sello)

CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL

COUNTY

Hoy de de , compareció(eron)
ante mí

a quien (es) conozco y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede y
quien(es) declara(n) que otorgan el mismo para los
fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público (sello)

LEGALIZACION POR APOSTILLA ES REQUERIDA.

On this OCT 29 2001 day of
personally appeared before me

SCOTT E THOMPSON

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 &
ASSOCIATE GENERAL COUNSEL

TRADEMARK
COLGATE-PALMOLIVE COMPANY

Which is legally constituted for a term not yet expired,
that deponent is authorized by said Company to confer
this Power of Attorney; that the seal affixed hereto
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 purpose of company.

The undersigned Notary Public attests that he has seen
the documents that prove the existence of the
company.

State of Delaware
under date of May 13, 1997

and that he (she) who grants the present power of
attorney is its Representative.

Notary Public (Seal)

ROSIE S. DIZON
Notary Public, State of New York
No. 31-4941117
Qualified in New York County
Commission Expires Aug. 15, 2002

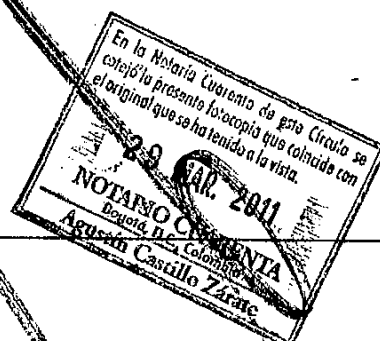
On this OCT 29 2001 day of
personally appeared before me

SCOTT E THOMPSON

who (is/are) known to me and who I attest executed
the foregoing document and he (they) declared he
(they) grant(s) the document for the uses and purposes
therein expressed.

Notary Public (Seal)

ROSIE S. DIZON
Notary Public, State of New York
No. 31-4941117
Qualified in New York County
Commission Expires Aug. 15, 2002



CLERK
NEW YORK
COUNTY

252373 Form 1

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk and Clerk of the Supreme Court of the State of New York, in and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal, DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

Rosie S. Dizon

whose name is subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment or proof, was at the time of taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, sworn and qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or oath, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office, and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand affixed my official seal this

OCT 30 2001

FEE PAID \$3.00

Norman Goodman
County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County

En la Notaría Cuarenta y dos (42) de este Circolo se
colgó la presente foto
el original que se ha
ido a la vista.
23
NOTARIO
Agustín Cuarenta
C. Colombia
Castillo Zárate

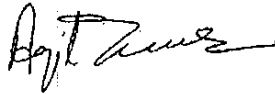
Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: **United States of America**
This public document
2. has been signed by **Norman Goodman**
3. acting in the capacity of **County Clerk**
4. bears the seal/stamp of the county of **New York**

Certified

5. At New York, New York
6. the 30th day of October 2001
7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York
8. No. NYC-9786540B
9. Seal/Stamp
10. Signature



Aqil M. Qureshi
Special Deputy Secretary of State

04135595.RSL (REV: 2/8/98)



TRADUCCIÓN SIMPLE AL ESPAÑOL del Certificado Notarial y el la apostilla que vienen junto con el poder dado por Colgate-Palmolive Company, a Delaware Corporation, domiciliada en 300 Park Avenue, New York, New York, Estados Unidos de América a Ramiro Castro Duque y/o Juan Pablo Cadena Sarmiento y/o Beatriz Jaramillo S. domiciliados en la Carrera 7 # 16-56 P. 9, Bogotá.

Certificado Notarial

Estado de New York)
) ss.
 Condado de New York)

252373

Yo, NORMAN GOODMAN, Oficial del Condado y Oficial de la Corte Suprema del Estado de New York, en y para el Condado de New York, un Tribunal de Registros, que tiene un sello por ley.

CERTIFICO POR MEDIO DE LA PRESENTE de acuerdo con la Ley Ejecutiva del Estado de New York, que

Rosie S. Dizon

cuyo nombre está suscrito al acta notarial, deposición, certificado de reconocimiento o prueba, era al momento de tomar el mismo NOTARIO PÚBLICO en y para el Estado de New York debidamente comisionado, juramentado y calificado para actuar como tal; que de acuerdo con la ley, una comisión o un certificado de este carácter oficial, con su firma autógrafa ha sido presentada en mi oficina; que al momento de tomar tal prueba, reconocimiento o juramento, estaba debidamente autorizado para tomar el mismo; que estoy bien familiarizado con la escritura de tal NOTARIO PÚBLICO o he comparado la firma en el instrumento anexo con la firma autógrafa depositada en mi oficina, y creo que tal firma es genuina.

COMO TESTIGO DE LO MISMO, he fijado al presente mi firma t mi sello oficial este

30 de Octubre de 2001

TARIFA PAGADA \$3.00

(Firma)

Oficial del Condado y Oficial de la Corte Suprema, Condado de New York



APOSTILLE

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

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
Este documento público
2. ha sido firmado por **Norman Goodman**
3. actuando en capacidad de **Oficial del Condado**
4. lleva el sello/timbre del condado de **New York**

CERTIFICADO

5. en New York, New York
6. el 30 de Octubre de 2001
7. por Secretario de Estado Encargado Especial, Estado de New York
8. No. NYC-9786540B
9. Sello/Timbre
10. Firma
(Firma)
Aquil M. Qureshi
Secretario de Estado Encargado Especial



REPÚBLICA DE COLOMBIA



GAYIRI A

ORGANIZACION ELECTORAL
REGISTRADURIA NACIONAL DEL ESTADO CIVIL

REGISTRO CIVIL DE DEFUNCION

Indicativo 5562241
Serial

Datos de la oficina de registro							
Clase de oficina:	Registraduría	Notaría	☒	Consulado	Corregimiento	Insp. de Policía	Código
País: Departamentos: Municipios: Corregimientos o Inspección de Policía							
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTA D.C. NOTARIA 32							

Datos del difunto	
Apellidos y nombres completos	
CASTRO DUQUE RAMIRO	
Documento de identificación (Clase y número)	Sexo (en Letras)
C.C. No. 170322 DE BOGOTA	MASCULINO

Datos de la defunción			
Lugar de la Defunción: País - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía			
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTA D.C.			
Fecha de la defunción		Hora	Número de certificado de defunción
Año	2004	10	04:10 PM
Mea	10	30	2094375
Luzado que profiere la sentencia		Fecha de la sentencia	
Proclamación de muerte		Año: Mes: Día:	
Documento presentado		Nombre y cargo del funcionario	
Autorización judicial	Certificado Médico	ANDRES DIAZ CAMPOS	
	☒	R.M. No. 79982662	

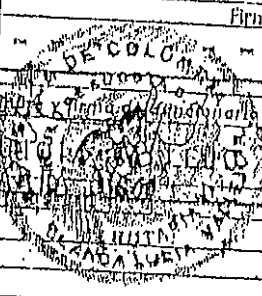
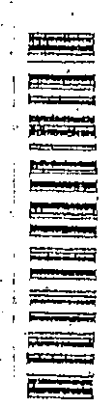
Datos del denunciante	
Apellidos y nombres completos	
EDGAR DAVID REGINO H.	
Documento de identificación (Clase y número)	Firma
C.C. No. 15.030.154 DE LORICA/ CORDOBA	

Primer testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Segundo testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Fecha de interposición	
Año	2004
Mea	1
Día	02
BLANCA	
ESPACIO PARA NOTAS	
PADRES: ALFONSO CASTRO	
MERCEDES DUQUE	

ORIGINAL PARA LA OFICINA DE REGISTRO



NOTARIO

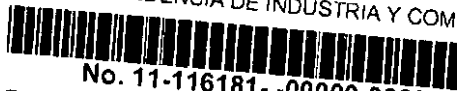
COMO SECRETARIO DELEGADO DE LA NOTARIA TREINTA Y DOS (32) DEL
CIRCULO DE BOGOTA

CERTIFICO QUE:

La presente acta es fiel copia del original tomada del registro
civil de defunciones serial indicativo número: 562281
que expido en la ciudad de Bogotá D.C. hoy: 05 NOV. 2004

NOTARIA 32 DEL C.C.
BOGOTA D.C.
SECRETARIO DELEGADO

NELSON FLORES C.
SECRETARIO DELEGADO PARA COPIAS
DECRETO 1331 DE 1989



No. 11-116181-00000-0000

Fecha: 2011-09-08 16:13:53

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Evs: 379 FASENACIONALII
Folios: 90

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTI.

☐	Indicación que se solicita 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 (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita 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 ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐