



No. 13-182600-00000-0000

Fecha: 2013-08-01 14:28:35
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 58

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: MÉTODO PARA ANALIZAR PLACA

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL G01N 27/447

71. SOLICITANTE: COLGATE-PALMOLIVE COMPANY

DOMICILIO: New York, Estados Unidos de América

74. APODERADA SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ

22. BOGOTÁ, D.C.

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 13-182600- 00000-0000 Fecha: 2013-08-01 14:28:35 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII Act. 411 PRESENTACION Folios: 58	radicación
---	---	------------

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL – PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☐ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☒ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No. PCT/US2011/024420 Fecha 11 de Febrero de 2011			
Publicación Internacional No. WO 2012/108871 A1 Fecha 16 de Agosto de 2012			
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
MÉTODO PARA ANALIZAR PLACA			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP) G01N 27/447		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
COLGATE-PALMOLIVE COMPANY			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN: 300 Park Avenue New York, No. TELÉFONO:			
CIUDAD: New York 10022, CORREO ELECTRONICO:			
PAÍS DE RESIDENCIA: Estados Unidos de América LUGAR DE CONSTITUCIÓN: Estados Unidos de América			
7	INVENTOR (ES)		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1.LAVENDER,		Stacey	Estadounidense
2.SANTARPIA, III, R.		Peter	Estadounidense
3.SULLIVAN,		Richard J.	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
DIRECCIÓN		CIUDAD	ESTADO
1.5 Singleton Drive,		Chesterfield,	New Jersey 08515,
2. 71 Woodbury Road		Edison,	New Jersey 08820,
3. 26 Brittany Court		Atlantic Highlands,	New Jersey 07716
PAÍS RESIDENCIA			
Estados Unidos de América			
Estados Unidos de América			
Estados Unidos de América			
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LÓPEZ DÍAZ		SILVANA MARIA	C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ
DIRECCIÓN Cra. 11 No. 86 – 53, Piso 6		No. TELÉFONO	6181088
CIUDAD Bogotá, D.C.		CORREO ELECTRÓNICO	notificaciones@clarkemodet.com.co.
PAÍS Colombia			
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☐ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
			(32) FECHA AAA/MM/DD

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 13-074002// 13-075514	Fecha 25/07/2013 30/07/2013
16	FIRMA DEL APODERADO :		
SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios 17		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 13		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 2		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

MÉTODO PARA ANALIZAR PLACA

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a métodos para detectar
5 amoníaco, calcio y ácidos en la placa usando electroforesis
capilar.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En el avance inicial de la caries dental, ciertas
10 bacterias en la cavidad oral metabolizan el azúcar para hacer
ácidos orgánicos como un producto. Algunos de estos ácidos
orgánicos incluyen ácido fórmico, ácido succínico, ácido
butírico, ácido propiónico, ácido acético y ácido láctico. Es
la proximidad de estas bacterias acidogénicas a la superficie
15 del diente y el contacto del ácido con la superficie que
provoca eventualmente una ruptura del esmalte o
desmineralización. La frecuencia de esta producción y
mientras, más largo es el contacto con el esmalte, es mayor el
grado de desmineralización para la progresión eventual a la
20 lesión de caries. El ácido láctico en particular se
incrementa después de que la placa se expone a una entrada de
sacarosa y se ha mostrado que es uno de los ácidos más
perjudiciales producidos por la desmineralización del diente.

Sin embargo, no todas las bacterias en la cavidad
25 oral son cariogénicas o de otra manera dañinas. El tipo de
bioflora en la boca desempeña una función significativa en el
desarrollo de cavidades generalmente en la salud oral. Por
ejemplo, la arginina y otros aminoácidos básicos se han

000002

propuesto para el uso en el cuidado oral y se cree que tienen beneficios significativos en combatir la formación de cavidades y sensibilidad dental. Se ha planteado la hipótesis de que un factor significativo en el efecto benéfico de la arginina es que la arginina y otros aminoácidos básicos se pueden metabolizar por ciertos tipos de bacterias, por ejemplo, *S. sanguis*, que no son cariogénicas y que compiten con las bacterias cariogénicas tal como *S. mutans*, para la posición en los dientes y la cavidad oral. Las bacterias arginolíticas pueden usar arginina y otros aminoácidos básicos para producir amoníaco, elevando en consecuencia el pH de su entorno, mientras que las bacterias cariogénicas metabolizan el azúcar para producir ácido láctico, que tiende a reducir el pH de la placa y desmineralizar los dientes, conduciendo finalmente a cavidades.

En el desarrollo de nuevas composiciones y métodos para el cuidado oral, puede ser deseable enfocarse en inhibir, destruir o desalentar particularmente aquellas bacterias que provocan el daño, antes que usar simplemente métodos que exterminen todas las bacterias y/o enfocarse en métodos que neutralicen o dispersen los ácidos perjudiciales.

La electroforesis capilar, por ejemplo electroforesis de zona capilar, separa la especie iónica por carga, fuerzas de fricción y radio hidrodinámico. En la electroforesis tradicional, los analitos eléctricamente cargados se mueven en un medio líquido conductor bajo la influencia de un campo eléctrico. La electroforesis capilar separa los iones con base en su relación de tamaño a carga en

el interior de un capilar pequeño relleno con un electrolito.

La electroforesis capilar se ha usado para medir ácidos en la placa. Véase, por ejemplo, Damen J.J.M., y
5 colaboradores Caries Research (2002) 36: 53-57. El documento WO 2009/100262 (incorporado en la presente a manera de referencia) da a conocer la supervisión de tanto ácido como amoníaco en la placa, pero los métodos para medir amoníaco, adaptados de un kit de diagnóstico de plasma, son
10 consumidores de tiempo, aproximadamente una semana completa. También este método no es adecuado para el uso de alto rendimiento.

En el estudio de la formación de placa y caries dental, y en el desarrollo de nuevas composiciones y métodos
15 para el cuidado oral, por lo tanto, sería útil tener un método simple, rápido, fácil de usar para medir la producción de amoníaco y opcionalmente también la acidificación de la placa, lo cual puede permitir que se evalúe la presencia y actividad benéfica de bacterias y opcionalmente también
20 cariogénicas en la placa, así como evaluar el estado de la enfermedad del paciente, y la efectividad de las composiciones y métodos para el cuidado oral. Sería útil por otra parte tener formas más eficientes de supervisar el tipo de bioflora en la boca, por ejemplo, para determinar el
25 tratamiento óptimo y para supervisar la efectividad del tratamiento.

. 000004

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención proporciona un método simple, fácil de
5 usar para medir amoníaco y/o calcio, y opcionalmente ácidos,
en una muestra de placa. El método es útil para uso de alto
rendimiento en el desarrollo de productos y métodos para el
cuidado oral mejorado, así como métodos de diagnóstico y
terapéuticos. El método comprende obtener una muestra de
10 placa y medir el amoníaco y/o calcio, y opcionalmente ácidos,
usando electroforesis capilar. Por ejemplo, en una modalidad,
el método (Método 1) comprende las etapas de:

- a. Obtener una muestra de placa;
- b. Diluir la muestra con agua;
- 15 c. Calentar la muestra, por ejemplo, suficientemente
para exterminar bacterias y liberar iones en la solución
- d. Aislar la fracción líquida de la muestra, por ejemplo
usando centrifugación y/o filtración;
- e. Combinar la fracción líquida con
 - 20 i. Un agente que permite la separación
electroforética de iones de magnesio de iones
de calcio, por ejemplo ácido
hidroxiisobutírico,
 - ii. un agente que permita la separación
25 electroforética de iones de potasio de iones
de amonio, por ejemplo éter 18-corona-6,
 - iii. Una solución amortiguadora, que comprenda un
agente básico, por ejemplo imidazol, y un

000005

agente ácido, que puedan ser opcionalmente lo mismo como uno de los agentes formador de complejo i o ii, por ejemplo, ácido hidroxiiisobutírico, por ejemplo, para amortiguar el líquido a aproximadamente pH 4-5, por ejemplo aproximadamente pH 4.3;

f. Hacer pasar el producto de la etapa e a través de un tubo capilar, en donde hay un potencial eléctrico entre un extremo del tubo capilar y el otro suficiente para inducir un flujo electroforético de iones a través del tubo;

g. Detectar los iones de amonio y/o iones de calcio en el líquido que ha pasado a través de por lo menos una porción del tubo capilar, por ejemplo, usando absorbanza ultravioleta o ultravioleta-visual, espectroscopia de masas, espectroscopia Raman de superficie mejorada, u otros medios de detección.

El Método 1 incluye de esta manera los siguientes métodos

1.1. Método 1 en donde una etapa se obtiene una placa de un paciente humano;

1.2. Método 1 o 1.1 en donde en la etapa b la placa se diluye a una concentración de aproximadamente 0.01 - 0.1 mg de placa/ml de agua, por ejemplo, aproximadamente 0.03 - 0.04 mg de placa/ml de agua;

1.3. Cualquiera de los métodos anteriores en donde en la etapa c, la muestra se calienta a 60° - 95°C, por

000006

ejemplo aproximadamente 80°C, entonces es enfría a menor que 10°C, por ejemplo aproximadamente 4°C;

1.4. Cualquiera de los métodos anteriores en donde la etapa d, la fracción se aísla al centrifugar la muestra, al remover el sobrenadante obtenido de esta manera, y al filtrar el sobrenadante;

1.5. Cualquiera de los métodos anteriores en donde la etapa e, el agente que permite la separación electroforética de iones de magnesio de iones de calcio se selecciona de ácido hidroxiisobutírico, ácido láctico, ácido malónico, y ácido tartárico;

1.6. El método anterior en donde en la etapa e, el agente que permite la separación electroforética de iones de magnesio de iones de calcio es ácido hidroxiisobutírico;

1.7. Cualquiera de los métodos anteriores en donde la etapa e, el agente que permite la separación electroforética de iones de potasio de iones de amonio se selecciona de éteres corona neutros y ciclofructanos;

1.8. El método anterior en donde en la etapa e, el agente que permite la separación electroforética de iones de potasio de iones de amonio es éter 8-corona-6;

1.9. Cualquiera de los métodos anteriores en donde en la etapa e, la solución amortiguadora comprende una base orgánica;

1.10. Cualquiera de los métodos anteriores en donde la

000007

etapa e, la solución amortiguadora comprende imidazol;

5 1.11. Cualquiera de los métodos anteriores en donde en la etapa e, la fracción líquida se combina con imidazol (por ejemplo aproximadamente 5-7 mM, por ejemplo aproximadamente 6mM), ácido hidroxiiisobutírico (por ejemplo, aproximadamente 1-2 mM, por ejemplo aproximadamente 2.5 mM), y éter 18 corona 6 (por ejemplo aproximadamente 2-3 mM, por ejemplo, aproximadamente 2.5 mM);

10 1.12. Cualquiera de los métodos anteriores en el producto de la etapa e, el pH es aproximadamente 4-5, por ejemplo aproximadamente pH 4.3;

15 1.13. Cualquiera de los métodos anteriores en donde en la etapa f, el potencial eléctrico es de aproximadamente 5 - 30 kV;

20 1.14. Cualquiera de los métodos anteriores en donde en la etapa g, el medio de detección es absorción UV-Vis.

El Método 1 puede proporcionar además opcionalmente medir el ácido en la muestra de placa, por ejemplo, Método 1 que comprende la etapa adicional para usar electroforesis capilar para medir el ácido en la muestra de placa; por ejemplo, el Método 1 que comprende las siguientes etapas

25 adicionales:

h. Separar la fracción líquida obtenida por la etapa d en una primera porción y una segunda porción,

i. Llevar a cabo las etapas e, f, y g en la primera

000008

porción,

j. Combinar una solución amortiguadora con la segunda porción, por ejemplo, ácido 2,6-piridin-dicarboxílico y bromuro de hexadeciltrimetil amonio, por ejemplo, a
5 aproximadamente pH 5-6, por ejemplo, aproximadamente pH 5.66,

k. Hacer pasar el producto de la etapa anterior a través de un tubo capilar, en donde hay un potencial eléctrico entre un extremo del tubo capilar y el otro suficiente para inducir el flujo electroforético de iones a través del tubo;

10 l. Detectar aniones ácidos, por ejemplo, aniones de lactato, succinato, acetato, y/o propionato, por ejemplo iones de lactato, en el líquido que ha pasado a través de por lo menos una porción del tubo capilar, por ejemplo, usado
absorbancia ultravioleta o ultravioleta-visual,
15 espectroscopia de masas, espectroscopia Raman de superficie aumentada, u otro medio de detección.

En otra modalidad, la invención mide los niveles de producción de amoníaco en la placa para determinar la población relativa de bacterias arginolíticas, y
20 opcionalmente mide adicionalmente los niveles de ácido láctico en la placa para determinar la población relativa de bacterias cariogénicas.

En otra modalidad, la invención cuantifica los niveles de por lo menos una bacteria arginolítica, por
25 ejemplo, *S. sanguis*, y opcionalmente por lo menos una bacteria cariogénica, por ejemplo, *S. mutans*, y por ejemplo, usa una o más de las siguientes técnicas, por ejemplo, como se describe en el documento WO 2009/100262 (incorporado en la

000009

presente a manera de referencia):

- a. la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), por ejemplo PCR de tiempo real cuantitativa, para caracterizar la bioflora en la boca, por ejemplo, en la placa o saliva;
- b. PCR de transcriptasa inversa (RT-PCR) para caracterizar la bioflora en la boca, por ejemplo, en la placa o saliva; y/o
- c. sondas de anticuerpo, por ejemplo, sondas de anticuerpo fluorescentes se usan para caracterizar la bioflora en la boca, por ejemplo, en la placa o saliva.

En otra modalidad, una muestra de placa de un paciente se evalúa usando uno de los métodos anteriores, y el tratamiento prescrito por consiguiente. Por ejemplo, los métodos de la invención son particularmente útiles para detectar cambios potencialmente perjudiciales en la ecología de la placa y de permitir el tratamiento correctivo antes de que exista una desmineralización o daño medible o significativo a los dientes.

La invención proporciona de esta manera métodos para mejorar la salud oral, por ejemplo, para reducir la acumulación de placa; tratar, aliviar o reducir la boca seca; blanquear los dientes; mejorar la salud sistémica; incluyendo salud cardiovascular, por ejemplo, reducir el potencial para infección sistémica a través de los tejidos orales; inmunizar los dientes contra bacterias cariogénicas y su efecto; limpiar los dientes y cavidad oral y/o reducir la erosión de

000010

los dientes, el método que comprende medir la bioflora de la cavidad oral, por ejemplo, usando cualquiera de los métodos anteriores, por ejemplo, Método 1, y siguientes, y se indica, administrar un producto para el cuidado oral que comprende
5 una cantidad efectiva de un aminoácido básico o sal del mismo, por ejemplo, arginina.

La invención proporciona además el uso de un aminoácido básico, en forma libre o sal, para la fabricación de un medicamento para mejorar la salud oral en un sujeto
10 cuya flora de la cavidad oral comprende niveles elevados de bacterias cariogénicas y/o niveles de lactato elevados y/o bajos niveles de bacterias arginolíticas y/o bajos niveles de producción de amoníaco en la placa, como es medido por un método de acuerdo con la presente invención, por ejemplo,
15 Método 1, y siguientes.

La invención proporciona además un método para mejorar cosméticamente la cavidad oral (en donde la mejora cosméctica puede incluir por ejemplo hacer los dientes más blancos y/o reducir la halitosis) el método que comprende
20 medir la bioflora de la cavidad oral usando un método de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, Método 1, y siguientes, y si se indica por la presencia de niveles elevados de bacterias cariogénicas y/o niveles de lactato elevados, y/o la presencia de bajos niveles de bacterias
25 arginolíticas y/o bajos niveles de producción de amoníaco en la placa, administrar un producto para el cuidado oral que comprende un aminoácido básico en forma libre o sal.

La invención proporciona además un método para

000011

evaluar la eficacia de una composición para el cuidado oral en promover bacterias arginolíticas e inhibir opcionalmente las bacterias cariogénicas que comprenden medir los niveles de amoníaco en la placa usando el Método 1, y siguientes.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es un espectro de absorbancia de UV para una muestra de placa que después de la entrada de azúcar, al medir los cationes, por ejemplo amoníaco y calcio.

10

La Figura 2 es un espectro de absorbancia UV para una muestra de placa después de la entrada y control de azúcar, al medir los aniones ácidos.

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La capacidad de la placa dental de convertir la arginina a amoníaco es un marcador de la actividad arginolítica. Ciertas bacterias tienen la capacidad de convertir arginina a amoníaco, tal como ciertas bacterias pueden convertir azúcares a ácido. Es benéfico incrementar la concentración relativa de especies arginolíticas debido a que estas bacterias crean condiciones que son desfavorables para la proliferación de bacterias cariogénicas, lo cual favorece a condiciones ácidas e incrementa el riesgo de caries. El uso diario de arginina se espera que cree un cambio en la ecología de la placa que favorezca a las bacterias arginolíticas en una manera análoga que el consumo frecuente de azúcar crea condiciones que favorecen a las bacterias

20

25

productoras de ácido. El amoníaco es una base que es capaz de neutralizar los ácidos y ayuda a mantener el pH neutro de la placa. Las condiciones de pH neutras son más desfavorables para las bacterias no patogénicas. La medición de la producción de amoníaco mide la contribución de todas las bacterias capaces de convertir arginina a amoníaco. Este método es de esta manera en algún aspecto superior a otros procedimientos para evaluar la bioflora de la placa, tal como método de PCR de tiempo real (descrito además posteriormente), que mide la concentración de bacterias arginolíticas seleccionadas y no distingue entre bacterias metabólicamente activas (vivas) e inactivas, (muertas).

Tal como la medición de los niveles de amoníaco sirve como una aproximación para medir los niveles de bacterias arginolíticas, el ácido láctico sirve como una aproximación para medir los niveles de bacterias cariogénicas. Por consiguiente, puede ser de interés medir tanto el amoníaco como lactato de la misma muestra.

Los modos de separación principales usados en la electroforesis capilar incluyen electroforesis de zona capilar, cromatografía capilar electrocinética micelar, isotacoforesis capilar, electroforesis en gel capilar, y enfoque isoeléctrico capilar. En una modalidad particular, la invención usa electroforesis de zona capilar. Generalmente, el flujo en el capilar es de ánodo a cátodo, de modo que los cationes tienden a migrar a través del capilar más rápido que el flujo electro-osmótico, mientras que los aniones se desaceleran por su carga, y entran más lentamente. Los

000013

analitos que tienen carga y tamaño similares se pueden separar usando compuestos más grandes que tienden a formar sin complejo más potentemente con un ión que otro, permitiendo en consecuencia la separación.

5 Por ejemplo, el potasio y amoníaco tienen movilidad electroforética similar en un sistema de electrolitos de imidazol. La separación es posible, sin embargo, con la adición de un éter corona neutro, por ejemplo éter 18-corona-6, o un ciclofructano. Tales compuestos forman un complejo
10 con potasio, incrementando su tamaño y desacelerando su tiempo de migración. Esto da por resultado dos tiempos de migración distintos para el amoníaco y potasio permitiendo la identificación y cuantificación pico o amoníaco.

El calcio y magnesio también co-migran a un
15 quelante débil tal como ácido hidroxiiisobutírico (HIBA) que permite la separación de estos iones. También, el HIBA cambia el orden de migración de sodio y calcio. Cuando no se agrega HIBA, el sodio migra antes que el calcio cuando el agente formador de complejo se agrega el orden se invierte. Esto es
20 ventajoso debido que cuando el sodio migra primero y está en una gran concentración y puede traslaparse con el pico de calcio, dejando el pico de calcio sin detectar. Véase el electroferograma en la Figura 1. De esta manera, esto también es una herramienta y método útiles para detectar si el calcio
25 está siendo suministrado desde un producto para el cuidado oral o, de manera inversa, si el calcio se está perdiendo por el mineral del diente en la desmineralización.

En una modalidad, el sistema amortiguador usado

000014

para el análisis de electroforesis capilar de niveles de amonio y calcio comprende imidazol, ácido hidroxiiisobutírico, y éter 18-corona-6. Este sistema incluye de esta manera dos agentes formadores de complejo para optimizar y separar la migración pico.

Ejemplo 1 - Amonio y Calcio en la Placa

Los sujetos tienen placa tomada sin higiene oral de la mañana y sin comer ni beber desde la noche anterior. Se enjuagan con una solución de sacarosa al 10% durante 2 minutos. Después de 8 minutos, la placa se recolecta al raspar la superficie(s) del diente. Las muestras de placa se recolectan sobre hielo en tubos pre-pesados, y se determina el peso de la placa. La concentración se normaliza usando agua ultrapura. La placa se diluye a una concentración aproximada final de aproximadamente 0.03-0.04 mg de placa/mL de agua y se hace girar en el agua durante 30 segundos a 4°C. La placa entonces se le aplica agitación vorticial en una solución y luego se calienta a 80°C durante 5 minutos para exterminar las bacterias y liberar los iones en la solución. La placa entonces se coloca en un baño de hielo/agua durante 5 minutos adicionales. La solución de placa entonces se centrifuga durante 15 minutos a 13,000 rpm a 4°C. El sobrenadante se remueve rápidamente y se filtra por un filtro de centrífuga de nailon de 0.2 micras durante 3 minutos a 12,000 rpm a 4°. El sobrenadante entonces ya sea se analiza por electroforesis capilar o se almacena a -80°. El sistema amortiguador usado para el análisis de electroforesis capilar

000015

es imidazol 10 mM, ácido hidroxiiisobutírico 6.0 mM, éter 18-corona-6 2.5 mM, pH 4.3.

La Figura 1 es un ejemplo del análisis electroforético capilar de la placa después de la entrada de
5 azúcar usando este método.

Ejemplo 2 - Ácido en la placa

La muestra de placa se prepara como en el ejemplo 1. El sistema amortiguador usado es diferente: ácido 2,6-
10 piridin-dicarboxílico 20 mM y bromuro de amonio de hexadeciltrimetilo 0.5 mM, pH 5.66. La Figura 2 es un ejemplo del análisis electroforético capilar de la placa, control y después la entrada de azúcar, usando este método.

Además de medir el ácido láctico en la placa, este
15 método también mide los ácidos succínicos, acéticos y propiónicos en la placa. Estos ácidos orgánicos también son importantes en el proceso de caries en la formación de lesión subsecuente. Puesto que los ácidos orgánicos tienen poco o nada de absorbancia ultravioleta (UV) la detección se logra
20 usando ácido 2,6-piridin-dicarboxílico como un electrolito de fondo (BGE). En este método de detección indirecta, el BGE tiene propiedades absorbentes UV potentes y produce una alta absorción de fondo en el detector UV. En ausencia de analitos no absorbentes, la señal de fondo es constante. Cuando los
25 analitos iónicos se introducen, desplazan los iones aditivos absorbente de UV sobre una base de carga a carga, da do por resultado un pico negativo relativo con las líneas bases de absorción UV altas. Con el análisis, la muestra se inyecta

000016

por presión durante 10 segundos a 0.5 psi. La separación se lleva a cabo a 25 kV y el capilar se termostatiza a 25°C. La longitud de onda para la detección UV indirecta se selecciona a 254 nm, y la señal con los picos negativos se invierte para
5 obtener un electroferograma más familiar para integrar y procesar. Para corregir los errores de inyección, cada muestra se lleva co la incorporación de un estándar interno de nitrato de sodio 1.5 mM, y se construye una curva de calibración usando estándares de lactato de sodio (Sigma, St.
10 Louis, MO, EUA). Con base en la relación de el área pico y el peso de la placa inicial (lactato/nitrato), se determina la concentración de lactato presente en la muestra de placa.

También se lleva a cabo un estudio clínico para someter a prueba la validez de esta metodología. El objetivo
15 del estudio es evaluar la metodología desarrollada para medir la producción de ácido en las muestras de placa al exponer la placa a un reductor ácido conocido, clorhexidina. Este estudio es un diseño monovalente. 6 sujetos quienes cumplen con los criterios de inclusión/exclusión se enroлан en el
20 estudio. Después del enrolamiento, los sujetos usan Colgate MaxFresh durante una semana. Después del período de lavado, los sujetos se enjuagan con agua durante 30 segundos para la evaluación de línea base. Después de un tiempo transcurrido de 30 minutos, los sujetos se enjuagan con una solución de
25 sacarosa al 10% durante 2 minutos, seguido por la recolección de placa 8 minutos después. Cuarenta y ocho horas después los sujetos entran para otra recolección de placa y se enjuagan con Enjuague Oral de Clorhexidina durante 30 segundos.

000017

Después de un tiempo transcurrido de 30 minutos los sujetos se enjuagan con una solución de sacarosa al 10% durante 2 minutos, seguido por la recolección de placa 8 minutos después. El proceso se repite en 24 horas. Los resultados muestran significativamente menos lactato producido en la placa que se ha expuesto al enjuague de clorhexidina ($p = 0.002$ para el tratamiento 1 y $p = 0.05$ para el tratamiento 2). Los resultados validan la metodología para medir la producción de lactato y usarla como un marcador para la producción de ácido.

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

000018

REIVINDICACIONES

1. Un método para medir amoníaco y/o calcio en
5 una muestra de placa dental, caracterizado porque comprende
obtener la muestra y medir los iones de amoníaco y/o calcio
en la placa usando electroforesis capilar.

2. El método de conformidad con la reivindicación
1, caracterizado porque comprende las etapas de

- 10 a. Obtener una muestra de placa;
- b. Diluir la muestra con agua;
- c. Calentar la muestra, por ejemplo, suficientemente
para exterminar bacterias y liberar iones en la
solución
- 15 d. Aislar la fracción líquida de la muestra,
- e. Combinar la fracción líquida con
 - i. Un agente que permita la separación
electroforética de iones de magnesio de iones
de calcio,
 - 20 ii. un agente que permita la separación
electroforética de iones de potasio de iones
de amonio, y
 - iii. Una solución amortiguadora, que comprenda un
agente básico y un agente ácido, que puedan
25 ser opcionalmente los mismos como uno de los
agentes i o ii, que permite la separación de
iones;
- f. Hacer pasar el producto de la etapa e a través de un

000019

tubo capilar, en donde hay un potencial eléctrico entre un extremo del tubo capilar y el otro suficiente para inducir un flujo electroforético de iones a través del tubo;

- 5 g. Detectar los iones de amonio y/o iones de calcio en el líquido que ha pasado a través de por lo menos una porción del tubo capilar.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque en la etapa b la placa se diluye a
10 una concentración de aproximadamente 0.01 - 0.1 mg de placa/mL de agua.

4. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 3, caracterizado porque en la etapa c, la muestra se calienta a 60° - 95°C.

15 5. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 4, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de magnesio de iones de calcio se selecciona de ácido hidroxiiisobutírico, ácido láctico, ácido malónico y ácido tartárico.

20 6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de magnesio de iones de calcio es ácido hidroxiiisobutírico.

7. El método de conformidad con cualquiera de las
25 reivindicaciones 2 - 6, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de potasio de iones de amonio se selecciona de éteres corona neutros y ciclofructanos.

000020

8. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 7, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de potasio de iones de amonio es éter 18-corona-6.

5 9. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 8, caracterizado porque en la etapa e, la fracción líquida se combina con imidazol, ácido hidroxiisobutírico, y éter 18-corona-6.

10 10. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque además comprende medir el ácido en la muestra de placa usando electroforesis capilar.

15 11. Un método para medir la población relativa de bacterias arginolíticas en la placa, caracterizado porque comprende medir los niveles de producción de amoníaco en la placa usando el método de conformidad con la reivindicación 1, y opcionalmente medir adicionalmente los niveles de ácido láctico en la placa para determinar la población relativa de bacterias cariogénicas.

20 12. Un método para mejorar la salud oral, para reducir la acumulación de placa; tratar, aliviar o reducir la boca seca; blanquear los dientes; mejorar la salud sistémica, incluyendo salud cardiovascular; inmunizar los dientes contra bacterias cariogénicas y su efecto; limpiar los dientes y cavidad oral y/o reducir la erosión de los dientes, el método
25 caracterizado porque comprende medir los niveles de amoníaco en la placa en un paciente de conformidad con el método de la reivindicación 1, y, si se indica, administrar un producto para el cuidado oral al paciente que comprende una cantidad

000021

efectiva de un aminoácido básico o sal del mismo.

13. Un método para evaluar la eficacia de una composición para el cuidado oral en promover bacterias arginolíticas e inhibir opcionalmente bacterias cariogénicas, caracterizado porque comprende medir los niveles de amonio en la placa usando el método de conformidad con la reivindicación 1.

000022

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención proporciona un método para medir amoníaco y/o calcio en una muestra de placa dental, que comprende obtener la muestra de placa y medir iones de amonio
5 y/o calcio usando electroforesis capilar, junto con métodos de diagnosis, tratamiento y clasificación con base en la evaluación de la placa.

000023

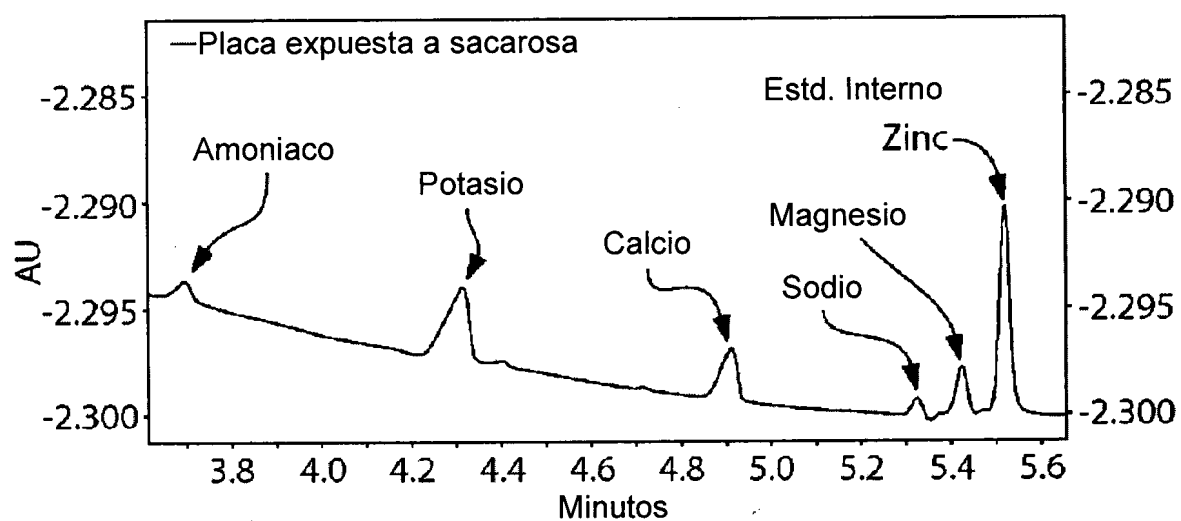


FIG. 1

000024

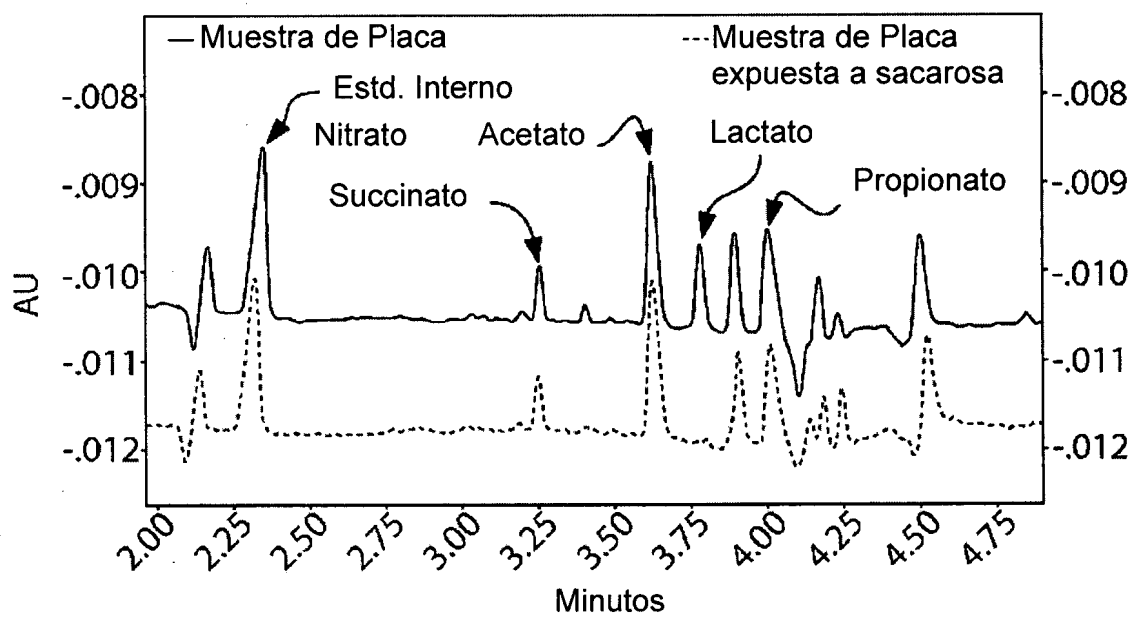


FIG. 2

000025

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

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
16 August 2012 (16.08.2012)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2012/108871 A1

- (51) International Patent Classification:
G01N 27/447 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2011/024420
- (22) International Filing Date:
11 February 2011 (11.02.2011)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (71) Applicant (for all designated States except US): **COLGATE-PALMOLIVE COMPANY** [US/US]; 300 Park Avenue, New York, New York 10022 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): **LAVENDER, Stacey** [US/US]; 5 Singleton Drive, Chesterfield, New Jersey 08515 (US). **SANTARPIA, III, R. Peter** [US/US]; 71 Woodbury Road, Edison, New Jersey 08820 (US). **SULLIVAN, Richard J.** [US/US]; 26 Brittany Court, Atlantic Highlands, New Jersey 07716 (US).
- (74) Agent: **TRAUT, Donald L.**; Colgate-Palmolive Company, Patent Department, 909 River Road, Piscataway, New Jersey 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, CL, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, 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))

(54) Title: METHODS OF ANALYZING PLAQUE

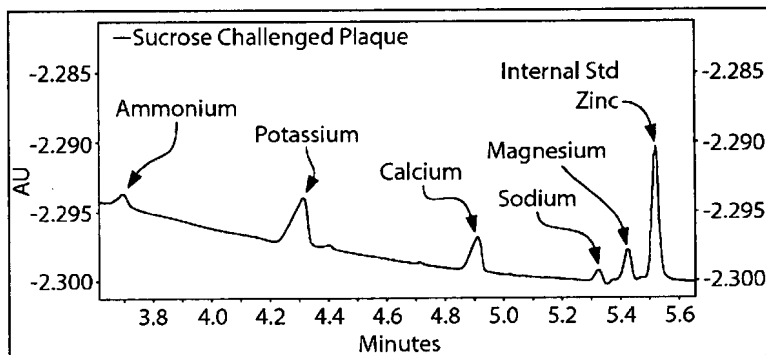


FIG. 1

(57) Abstract: The invention provides a method of measuring ammonia and/or calcium in a sample of dental plaque, comprising obtaining the sample of plaque and measuring ammonium and calcium ions using capillary electrophoresis, together with methods of diagnosis, treatment and screening based on evaluation of plaque.

000026

WO 2012/108871 A1

PATENT COOPERATION TREATY

PATENT DOCKETING

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

FAX: 00-1-732-878-7661

To:

DOCKETED BY: *[Signature]*

RECEIVED

Colgate-Palmolive

MAY 10 2013

Patent Department

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

COLGATE-PALMOLIVE COMPANY
909 River Road
PO Box 1343
Piscataway NJ 08855
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

+ VIA FACSIMILE

DOCKETED DUE DATE		Date of mailing (day/month/year)	17.05.2013
Applicant's or agent's file reference	Initials	IMPORTANT NOTIFICATION	
8629-00-WO	Agent Request Date (if noted)		
International application No. PCT/US2011/024420	International filing date (day/month/year) 11.02.2011	Priority date (day/month/year)	
Applicant Colgate-Palmolive Company			

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

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

Luukkonen, Kirsi

Tel. +49 89 2399-7957

000027



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 8629-00-WO	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEAA416
International application No. PCT/US2011/024420	International filing date (day/month/year) 11.02.2011	Priority date (day/month/year)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. G01N27/447			
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>8</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>5</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4bis, 70.2(e), 70.16 and 91.2). ☐ superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)). 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		Date of completion of this report	
29.11.2012		17.05.2013	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:		Authorized officer	
 European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465		Müller, Thomas Telephone No. +49 89 2399-2285	

000028



INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US2011/024420

Box No. 1 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) and (b))
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

1-9 as originally filed

Claims, Numbers

1-13 filed with telefax on 29-11-2012

Drawings, Sheets

1/2, 2/2 as originally filed

- ☐ 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 report has been established:
 - ☐ taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-bis) and 70.2(e)).
 - ☐ without taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91(Rules 66.4bis and 70.2(e)).

000029

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/US2011/024420

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 12

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*).

☒ no international search report has been established for the said claims Nos. 12

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b) and 13ter.2.

☒ See separate sheet for further details

000030

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/US2011/024420

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>1-11, 13</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-11, 13</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-11, 13</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

000031

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

International application No.

PCT/US2011/024420

Re Item III

- 1 A meaningful search was not possible on the basis of all claims because claim 12 is directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery. The present wording of claim 12 is directed to methods of enhancing oral health. Since both prophylactic and curative treatments of diseases are within the meaning of the word "therapy", claim 12 is not allowable (Rule 39.1 PCT).

Re Item V

- 2 Reference is made to the following documents:

- D1 WO 2009/100262 A2 (COLGATE PALMOLIVE CO [US]; SULLIVAN RICHARD [US]; DU THUMM LAURENCE [U] 13 August 2009 (2009-08-13)
- D2 DAMEN J J M ET AL: "Acidogenicity of buccal plaque after a single rinse with amine fluoride: Stannous fluoride mouthrinse solution", CRIES RESEARCH, S. KARGER AG, BASEL, CH, vol. 36, no. 1, 1 January 2002 (2002-01-01), pages 53-57, XP009153059, ISSN: 0008-6568
- D3 MARGOLIS H C ET AL: "COMPOSITION OF POOLED RESTING PLAQUE FLUID FROM CARIES-FREE AND CARIES-SUSCEPTIBLE INDIVIDUALS", JOURNAL OF DENTAL RESEARCH, vol. 67, no. 12, 1988, pages 1468-1475, XP002661534, ISSN: 0022-0345
- D4 JACKSON P E ET AL: "Capillary electrophoresis of inorganic ions and low-molecular-mass ionic solutes", TRAC, TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 12, no. 6, 1 June 1993 (1993-06-01), pages 231-238, XP026596168, ISSN: 0165-9936, DOI: 10.1016/0165-9936(93)87062-3[retrieved on 1993-06-01]
- D6 FRANCOIS C ET AL: "Effect of the concentration of 18-crown-6 added to the electrolyte upon the separation of ammonium, alkali and alkaline-earth cations by capillary electrophoresis", JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V, NL, vol. 706, no. 1, 7 July 1995 (1995-07-07), pages 535-553, XP004038905, ISSN: 0021-9673, DOI: 10.1016/0021-9673(95)00193-Q

000032

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

International application No.

PCT/US2011/024420

- 3 The present application does not meet the criteria of Article 33(3) PCT, because the subject-matter of claim 1 does not involve an inventive step, the reasons being as follows:
- 3.1 D2, cited in the application on page 2, may be regarded as being the prior art closest to the subject-matter of claim 1, and discloses acid analysis in a sample of dental plaque by capillary electrophoresis.
- In the method of D2,
- a. between 1 and 5mg plaque was sampled, and
 - b. the sample was diluted with 50µL water (page 54, right hand column, first paragraph "Plaque collection");
 - c. within 30 min. after collection the samples were heated to 80°C for 5 min. in order to kill the bacteria and to release all acids, and
 - d. the liquid fraction was isolated from the sample (page 54, right hand column, second paragraph "Extraction of Organic Acids")
 - f. passing the product through a capillary tube, using an operating buffer containing 10mM sodium phosphate, and
 - g. determining by capillary electrophoresis after calibration organic acids as their anions, chloride, pyruvate, aspartate and glutamate (page 54, right hand column, paragraph 4 "Organic Acid Analysis").
- 3.2 The subject-matter of claim 1 therefore differs from D2 in that ammonium and calcium cations are measured by a well known method of analysing a sample of dental plaque capillary electrophoresis.
- The underlying technical problem to be solved by the present invention is regarded as choosing particular cations which are to be detected in a well established method for the analysis of samples of dental plaque. The choice of ammonia and/or calcium can therefore be regarded as finding alternate analytes for the organic acid analysis in the monitoring of dental plaque.
- The formulation of this problem alone cannot be regarded as novel or inventive, because D2 already hints at certain deficiencies of the disclosed method. For example, D2 mentions explicitly that inorganic phosphate in plaque could not be measured, and that reductions in the average post-sucrose acetate and lactate concentrations, when compared with baseline concentrations, were statistically not significant (page 55, right hand column, paragraphs 3 and 4 "Discussion").

000033

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

International application No.

PCT/US2011/024420

In D2, no attempts were made to identify several unknown minor peaks, and results were presented only for the major acid anions acetate and lactate (page 54, right hand column, paragraph 4 "Organic Acid Analysis"). However, although not reported in detail in D2, the plaque samples were analysed for organic acids and for protein such as propionate, butyrate, succinate, formate, chloride, pyruvate, aspartate and glutamate were detected.

As a consequence, a skilled person, having D2, would bother to identify the unown minor peaks and try to modify at least the buffer of the electrophoretic system in order to improve the procedure of D2, in the course of normal laboratory experimentation, and arrive at the subject-matter of claim 1 without inventive activity because the separation of complex mixtures of cations by capillary electrophoresis is well established in the field, see D4, where calcium was detected in a 75 μm I.D. x 36.5 cm fused silica capillary; power supply, positive at 30 kV; electrolyte, 10 mM 4-methylbenzylamine, 15 mM lactic acid adjusted pH 4.3; detection, indirect UV at 214 nm (page 234, figure 1 and figure caption). As a consequence, the detection of cations, like ammonium or calcium, by electrophoresis as claimed in present claim 1 does not involve an inventive step.

- 3.3 On the other hand, the analysis of organic acids, inorganic anions, comprising NH_4^+ and Ca^{2+} is known from D3 (abstract). In D3 ion chromatography is employed in order to analyse plaque.
- 3.4 The subject-matter of claim 1 therefore differs from D3 in that capillary electrophoresis is employed for the analysis.
- 3.5 When starting from D3 as the closest prior art, because the same analyte and the same samples are involved, the objective problem would be to find an alternative detection method for ammonia and/or calcium.
- 3.6 A skilled person would be aware of the disclosure of D4, which is directed to the analysis of cations, and the the separation of complex mixtures of cations comprising calcium by capillary electrophoresis disclosed therein (page 234, figure 1 and figure caption). D4 further discloses CE has started to emerge as an alternative to ion chromatography (page 231, top of right hand column) and that CE offers several advantages over IC, including simplicity, reduced matrix dependence and enhanced separation efficiency (page 231, right hand column, last paragraph). As a consequence, the selection of capillary electrophoresis for the measurement of ammonia and/or calcium ions in the plaque does not involve an inventive step.

000034

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

International application No.

PCT/US2011/024420

- 4 Dependent claims 2-13 do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step (Article 33(3) PCT), because they are related to a choice of well established details, without any unexpected effect, see D2 for the steps of sample preparation (claims 2 - 4), see D4 and D6 for the details of selecting an appropriate buffer (Claims 5 - 9), see D3 for the analysis of cations and acid in a plaque sample (claim 10) and see D1 for the subject-matter of claims 11 and 13.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

- 5 The subject-matter described in paragraphs [0028] - [0030] and in figure 2 does not fall within the scope of the claims. This inconsistency between the claims and the description leads to doubt concerning the matter for which protection is sought, thereby rendering the claims unclear, Article 6 PCT.

000035

PHOTOGRAPH

ISO 9001:2000

152-5572-2

Our Ref: 8629-00-WO-OC

Your Ref:

27 November 2012

Attn. International Preliminary Examining Authority
European Patent Office
P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 Rijswijk
Netherlands

BY FAX ONLY

Dear Sirs,

Intl. Patent Appln. No. PCT/US2011/024420
Colgate-Palmolive Company

We refer to the Written Opinion dated 3 November 2011 and to the above-referenced application.

We file herewith an amended set of claims 1 to 13 to replace the claims currently on file.

Claim 1 has been amended at line 2 to recite "...and measuring ammonium and/or calcium ions...". This amendment is for consistency with line 1 of claim 1 which refers to a method of measuring ammonia and/or calcium.

The Examiner has acknowledged that the claims are novel over the prior art.

The applicant submits that the claims are also inventive over the prior art.

D2 discloses analysing buccal plaque for organic acid anions using capillary electrophoresis. There is however no disclosure or suggestion of measuring ammonia and/or calcium in a sample of dental plaque using capillary electrophoresis.

The difference between the subject-matter of claim 1 and the disclosure of D2 is therefore that the present invention provides a method for measuring ammonia

000036

Printed on 10/11/2012

ISO:RI=...

US:11/11/2012

2

and/or calcium in a sample of dental plaque. It is desirable to be able to measure ammonia and/or calcium ions in dental plaque because ammonia levels can be used as a proxy for measuring the levels of arginolytic bacteria and calcium levels can be used to monitor whether calcium is being delivered from an oral care product or being lost by tooth demineralization.

The problem addressed by the present invention is therefore the provision of a method of determining the levels of ammonium ion and calcium ions in plaque.

This problem is solved in claim 1 of the present invention by providing a method in which a sample of dental plaque is obtained and the levels of ammonium and/or calcium ions in the plaque are determined using capillary electrophoresis.

By using capillary electrophoresis to determine levels of ammonium and/or calcium ions, the invention provides a simple, easy-to-use method for measuring ammonium and/or calcium in a plaque sample. This method is useful for high-throughput use in development of improved oral care products and methods as well as diagnostic and therapeutic methods.

Nowhere in the prior art is it disclosed or suggested to use capillary electrophoresis to measure the levels of ammonium and/or calcium ions in plaque.

D1 discloses methods of measuring cariogenic and arginolytic bacteria including detecting ammonia by reaction with alpha-ketoglutarate and NADPH, and detecting bacterial DNA using real-time PCR.

D3 discloses analysing the composition of plaque fluid by ion chromatography.

D4 discloses capillary electrophoresis for detecting inorganic anions and organic acids. There is however no disclosure of detecting calcium or ammonium ions in a sample of dental plaque.

It is therefore submitted that the claims as now amended are both novel and inventive over the prior art.

000037

Printer: 30/11/2012

ISO 9001

US 201102012

3

Regarding the Examiner's comments Re Item VIII, claim 1 has been amended to refer to ammonium and/or calcium at line 2 and this claim is now submitted to be clear.

In light of the above we look forward to receiving a favourable IPRP.

Yours faithfully,

Howard C. Lee

Howard C. Lee
Colgate-Palmolive Company

000038

PCT/US 2011/024 420

CHAMBERLAIN

US 2011/024 420

PCT/US 2011/024 420 - 29-11-201

REPLACEMENT SHEET

Attorney Docket 8629-00-WO-OC

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method of measuring ammonia and/or calcium in a sample of dental plaque, comprising obtaining the sample and measuring ammonium and/or calcium ions in the plaque using capillary electrophoresis.
2. The method of claim 1 comprising the steps of
 - a. Obtaining a sample of plaque;
 - b. Diluting the sample with water;
 - c. Heating the sample sufficiently to kill bacteria and release ions into solution;
 - d. Isolating the liquid fraction of the sample;
 - e. Combining the liquid fraction with
 - i. An agent allows electrophoretic separation of magnesium ions from calcium ions,
 - ii. an agent that allows electrophoretic separation of potassium ions from ammonium ions, and
 - iii. A buffer, comprising a basic agent and an acidic agent, which may be optionally the same as one of the agents i or ii allowing ion separation;
 - f. Passing the product of step e through a capillary tube, wherein there is an electric potential between one end of the capillary tube and the other sufficient to induce electrophoretic flow of ions through the tube;
 - g. Detecting ammonium ions and/or calcium ions in liquid that has passed through at least a portion of the capillary tube.
3. The method of claim 2 wherein in step b the plaque is diluted to a concentration of about 0.01 - 0.1 mg plaque / mL water.
4. The method of any of claims 2 - 3 wherein in step c, the sample is heated to 60° - 95°C.
5. The method of any of claims 2 - 4 wherein in step e, the agent that allows separation of magnesium ions from calcium ions is selected from hydroxyisobutyric acid, lactic acid, malonic acid, and tartaric acid.
6. The method of claim 5 wherein in step e, the agent that allows separation of magnesium ions from calcium ions is hydroxyisobutyric acid.
7. The method of any of claims 2 - 6 wherein in step e, the agent that allows separation of potassium ions from ammonium ions is selected from neutral crown ethers and cyclofructans.

Patented 08/01/2013

CLAIMS

US 2011/024420 A1

PCT/US 2011/024 420 - 29-11-201

REPLACEMENT SHEET

Attorney Docket 8629-00-WO-OC

8. The method of any of claims 2 - 7 wherein in step e, the agent that allows separation of potassium ions from ammonium ions is 18 crown 6 ether.
9. The method of any of claims 2 - 8 wherein in step e, the liquid fraction is combined with imidazole, hydroxyisobutyric acid, and 18 crown 6 ether.
10. The method of claim 1 further comprising measuring acid in the plaque sample using capillary electrophoresis.
11. A method of measuring the relative population of arginolytic bacteria in plaque comprising measuring plaque ammonia production levels using the method of claim 1, and optionally additionally measuring plaque lactic acid levels to determine the relative population of cariogenic bacteria.
12. A method to enhance oral health, to reduce plaque accumulation; treat, relieve or reduce dry mouth; whiten teeth; enhance systemic health, including cardiovascular health; immunize the teeth against cariogenic bacteria and their effect; clean the teeth and oral cavity and/or reduce erosion of the teeth, the method comprising measuring the plaque ammonia levels in a patient by the method of claim 1, and, if indicated, administering an oral care product to the patient comprising an effective amount of a basic amino acid or salt thereof.
13. A method for assessing the efficacy of an oral care composition in promoting arginolytic bacteria and optionally inhibiting cariogenic bacteria comprising measuring ammonium levels in plaque using the method of claim 1.

REIVINDICACIONES

1. Un método para medir amoníaco y/o calcio en una muestra de placa dental, caracterizado porque comprende obtener la muestra y medir los iones de amoníaco y/o calcio en la placa usando electroforesis capilar.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las etapas de

a. Obtener una muestra de placa;

b. Diluir la muestra con agua;

10 c. Calentar la muestra, por ejemplo, suficientemente para exterminar bacterias y liberar iones en la solución

d. Aislar la fracción líquida de la muestra,

e. Combinar la fracción líquida con

15 i. Un agente que permita la separación electroforética de iones de magnesio de iones de calcio,

ii. un agente que permita la separación electroforética de iones de potasio de iones de amonio, y

20 iii. Una solución amortiguadora, que comprenda un agente básico y un agente ácido, que puedan ser opcionalmente los mismos como uno de los agentes i o ii, que permite la separación de iones;

25 f. Hacer pasar el producto de la etapa e a través de un tubo capilar, en donde hay un potencial eléctrico entre un extremo del tubo capilar y el otro

000041

suficiente para inducir un flujo electroforético de iones a través del tubo;

g. Detectar los iones de amonio y/o iones de calcio en la fracción líquida combinada que ha pasado a través de por lo menos una porción del tubo capilar.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque en la etapa b la placa se diluye a una concentración de aproximadamente 0.01 - 0.1 mg de placa/mL de agua.

4. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 3, caracterizado porque en la etapa c, la muestra se calienta a 60° - 95°C.

5. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 4, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de magnesio de iones de calcio se selecciona de ácido hidroxiisobutírico, ácido láctico, ácido malónico y ácido tartárico.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de magnesio de iones de calcio es ácido hidroxiisobutírico.

7. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 6, caracterizado porque en la etapa e, el agente que permite la separación de iones de potasio de iones de amonio se selecciona de éteres corona neutros y ciclofructanos.

8. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 7, caracterizado porque en la etapa e,

000042

el agente que permite la separación de iones de potasio de iones de amonio es éter 18-corona-6.

9. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2 - 8, caracterizado porque en la etapa e, la fracción líquida se combina con imidazol, ácido hidroxiiisobutírico, y éter 18-corona-6.

10. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque además comprende medir el ácido en la muestra de placa usando electroforesis capilar.

10 11. Un método para medir la población relativa de bacterias arginolíticas en la placa, caracterizado porque comprende medir los niveles de producción de amoníaco en la placa usando el método de conformidad con la reivindicación 1, y opcionalmente medir adicionalmente los niveles de ácido
15 láctico en la placa para determinar la población relativa de bacterias cariogénicas.

12. Un método para mejorar la salud oral, para reducir la acumulación de placa; tratar, aliviar o reducir la boca seca; blanquear los dientes; mejorar la salud sistémica,
20 incluyendo salud cardiovascular; inmunizar los dientes contra bacterias cariogénicas y su efecto; limpiar los dientes y cavidad oral y/o reducir la erosión de los dientes, el método caracterizado porque comprende medir los niveles de amoníaco en la placa en un paciente de conformidad con el método de la
25 reivindicación 1, y, si se indica, administrar un producto para el cuidado oral al paciente que comprende una cantidad efectiva de un aminoácido básico o sal del mismo.

13. Un método para evaluar la eficacia de una

000043

composición para el cuidado oral en promover bacterias
arginolíticas e inhibir opcionalmente bacterias cariogénicas,
caracterizado porque comprende medir los niveles de amonio en
la placa usando el método de conformidad con la
5 reivindicación 1.

000044

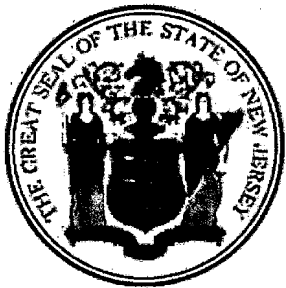
APOSTILLE

(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 27TH DAY OF JUNE 2013
7. BY: Andrew P Sidamon-Eristoff
State Treasurer
8. NO: A492022
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Handwritten signature of Andrew P. Sidamon-Eristoff.

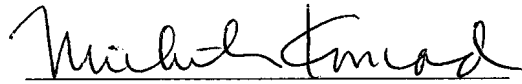
000045

Certificate Number: 128816989

Verify this certificate at

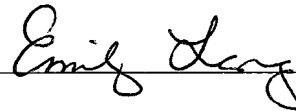
https://www1.state.nj.us/TYTR_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp

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/US2011/024420 filed February 11, 2011.



Michele Konrad
Senior Legal Assistant - Patent
Colgate-Palmolive Company

Subscribed and sworn to
Before me this 24 day
of June 2013

x 

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

000046

ASSIGNMENT

WHEREAS, WE, **Stacey LAVENDER, R. Peter SANTARPIA III and Richard J. SULLIVAN** (below referred to as ASSIGNOR(S)), 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 International Receiving Office for International Application No. PCT/US2011/024420 filed February 11, 2011, naming the ASSIGNOR(S) as inventor(s), and entitled "**METHODS OF ANALYZING PLAQUE**"; 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 08854 (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 International Patent Application and all corresponding foreign patent applications, all divisional, continuation, continuation-in-part, reissue, reexamination, and any additional United States Patent applications which claim priority to the aforesaid International 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: February 11, 2011.
(date of filing)

000047

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 7th day of April 2011.

State of New Jersey
Notary Public Commission
This is to Certify that
Brenda Matthews who resides in
ESSEX COUNTY is commissioned
a Notary Public to July 16, 2015

Stacey Lavender
Stacey Lavender

Address: 5 Singleton Drive
Chesterfield, NJ 08515

State of New Jersey
County of Middlesex

On this 7th day of April 2011, 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.

Brenda Matthews
NOTARY PUBLIC

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 16 day of December 2010.

R. Peter Santarpia III
R. Peter Santarpia III

Address: 71 Woodbury Road
Edison, NJ 08820

State of NEW JERSEY
County of MIDDLESEX

On this 16th day of December 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.

Michele Konrad
NOTARY PUBLIC

MICHELE KONRAD
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
My Commission Expires 8/18/2015 000048

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 16 day of
December 2010

Richard J. Sullivan
Richard J. Sullivan

Address: 26 Brittany Court
Atlantic Highlands, NJ 07716

State of NEW JERSEY
County of MIDDLESEX

On this 16th day of December 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.

Michele Konrad
NOTARY PUBLIC

MICHELE KONRAD
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
My Commission Expires 8/18/2015

000049

BOGOTA D.C. JULIO 19, 2013

TRADUCCION POR TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
(VERIFIQUE ANTES DE PROCEDER)

NR DE DOCKET DEL APODERADO: 8629-00-WO-OC

CESION

EN TANTO QUE nosotros **Stacey Lavender, R. Peter Santarpia III, y Richard J. Sullivan** (adelante denominados como los CEDENTES), residentes respectivamente como se indica adelante, hemos realizado un invento para el cual hemos radicado ante la Oficina de Patentes y Marcas Comerciales de Estados Unidos la solicitud Internacional Serie Nr. PCT/US2011/024420, radicada en Febrero 11, 2011 citando a los CEDENTES como los inventores, titulado

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PLACA
(METHODS OF ANALYZING PLAQUE)

EN TANTO QUE Colgate Palmolive Company, una Corporación del Estado de Delaware, Estados Unidos de América, con su oficina principal de negocios localizada en 300 Park Avenue, New York, New York, 10022, y oficinas y lugar de negocios en 909 River Road, Piscataway, New Jersey, 08855 (en adelante denominada el "CESIONARIO"), desea adquirir todo el derecho, título e interés y en para el citado invento y la solicitud de patente y los correspondientes derechos de patente a nivel mundial;



AHORA POR LO TANTO, en consideración de buena y valuable compensación cuyo recibo y suficiencia son con la presente reconocidos, los Cedentes venden, ceden y transfieren, al CESIONARIO, todo el exclusivo derecho, título e interés en y para todos los mencionados inventos, la mencionada Solicitud de Patente, y para las correspondientes solicitudes de patente, y solicitudes divisionales, continuación, continuación-en-parte, re-emisión, re-examinación, y solicitudes adicionales de patente que se atribuyan prioridad sobre las mencionada Solicitud de Patente, y todos los Certificados de Patente y derechos comparables que se expidan en los Estados Unidos y demás países extranjeros, junto con el derecho o derechos de prioridad bajo la Convención Internacional para la Protección de la Propiedad Industrial, la Convención Interamericana en relación con Patentes, Diseños y Modelos Industriales, y demás acuerdos internacionales a los cuales Estados Unidos adhiera, y los CEDENTES con la presente autorizan y solicitan al Comisionado de Patentes de los Estados Unidos, y demás Oficinas de Patentes extranjeras expedir dichos Certificados de Patente o derechos comparables sobre cualquier solicitud de acuerdo a lo arriba mencionado al citado CESIONARIO o a sus sucesores, cesionarios o representantes legales.

Los CEDENTES con la presente aceptan que los CEDENTES tienen todo el derecho para traspasar todo el interés cedido mediante la presente, y que los CEDENTES no han suscrito, ni suscribirán ningún acuerdo que pueda entrar en conflicto con la presente.

Los CEDENTES aceptan comunicar al CESIONARIO o a sus sucesores, cesionarios o representantes legales cualquiera y todos los hechos que lleguen a su conocimiento o a cualquiera de ellos con respecto del invento arriba citado, y



sin mas remuneración, testificar en cualquier proceso legal, firmar todos los documentos legales, firmar todas las solicitudes divisionales, continuación, continuación-en-parte, re-emisión, re-examinación, y solicitudes adicionales de patente, prestar todos los juramentos legales, y en general realizar todos los actos legales para que el citado CESIONARIO o sus sucesores, cesionarios o representantes legales obtengan y apliquen la correspondiente protección de patentes sobre dicho invento en todos los países, y para ampliar o perfeccionar el título del CESIONARIO sobre el invento y los derechos de patentes sobre el mismo.

Y los CEDENTES con la presente autorizan a los apoderados para el CESIONARIO registrar en este documento los números de serie que sean aplicables, y llenar la fechas después de la firma de este documento por parte de los CEDENTES.

Esta cesión entra en vigencia en Febrero 11, 2011. (fecha de radicado)

EN FE DE LO CUAL, firmo y sello con fecha Abril 01, 2011.

(HAY FIRMA)

Stacey Lavender

Dirección: 5 Singleton Drive

Chesterfield, New Jersey 08515

Estado de Nueva Jersey

Condado de Middlesex



Hoy Abril 01, 2011, ante mi, Notario Público en y para el Estado y Condado arriba citados, personalmente compareció el firmante arriba citado, conocido para mi como la persona que firmó, quien firmó el instrumento que antecede en mi presencia.

(HAY FIRMA)

NOTARIO PUBLICO

ESTADO DE NEW JERSEY

Notario Publico Comisionado

La presente es para certificar que

Brenda Matthews quien reside en el condado Essex esta comisionada como notario Público hasta Julio 16th, 2015

EN FE DE LO CUAL, firmo y sello con fecha Diciembre 16, 2010

(HAY FIRMA)

R. Peter Santarpia III

Dirección: 71 Woodbury Road

Edison, New Jersey 08820

Estado de Nueva Jersey

Condado de Middlesex

Hoy Diciembre 16, 2010, ante mi, Notario Público en y para el Estado y Condado arriba citados, personalmente compareció el firmante arriba citado, conocido para



mi como la persona que firmó, quien firmó el instrumento que antecede en mi presencia.

(FIRMADO Y SELLADO)

MICHELE KONRAD , NOTARIO PUBLICO DE NUEVA JERSEY, MI COMISION
~~EXPIRA 8/18/2015.~~

EN FE DE LO CUAL, firmo y sello con fecha Diciembre 16, 2010

(HAY FIRMA)

Richard J. Sullivan

Dirección: 26 Brittany Court
~~Atlantic Hhighlands~~

Estado de Nueva Jersey
Condado de Middlesex

Hoy Diciembre 16, 2010, ante mi, Notario Público en y para el Estado y Condado arriba citados, personalmente compareció el firmante arriba citado, conocido para mi como la persona que firmó, quien firmó el instrumento que antecede en mi presencia.

(FIRMADO Y SELLADO)

MICHELE KONRAD , NOTARIO PUBLICO DE NUEVA JERSEY, MI COMISION
~~EXPIRA 8/18/2015.~~

000054



8629-00-CO-01-OC

Yo, MICHELE KONRAD, DE COLGATE PALMOLIVE COMPANY, con la presente declaro que lo anexo a la presente es fiel fotocopia de la cesión de Solicitud de Patente Internacional PCT/US2011/024420, radicada en Febrero 11, 2011.

(FIRMADO)

MICHELE KONRAD

Asistente Legal Superior –Patentes

Colgate Palmolive Company

SUSCRITO Y JURAMENTADO ANTE MI HOY JUNIO 24, 2013

(FIRMADO Y SELLADO)

EMILY LANG, NOTARIO PUBLICO, ESTADO DE NUEVA JERSEY, MI COMISION EXPIRA NOVIEMBRE 30, 2013.

APOSTILLE

Convención de la Haya, Octubre 5, 1961

1. PAIS: **ESTADOS UNIDOS DE AMERICA**
2. ESTE DOCUMENTO PUBLICO HA SIDO FIRMADO POR EMILY LANG
3. ACTUANDO EN SU CALIDAD DE SECRETARIO DE NOTARIO PUBLICO
ESTADO DE NUEVA JERSEY
4. LLEVA EL SELLO/ESTAMPILLA DE EMILY LANG, NOTARIO



CERTIFICADO

5. EN: TRENTON, NUEVA JERSEY

6. EL DIA JUNIO 27, 2013

7. POR: ANDREW P. SIDAMON-ERISTOFF, TESORERO DEL ESTADO

8. NR. A492022

9. SELLO/ESTAMPILLA: GRAN SELLO DEL ESTADO DE NUEVA JERSEY

10. FIRMADO (HAY FIRMA)

CERTIFICADO NUMERO: 128816989

VERIFIQUE ESTE CERTIFICADO EN:

https://www1.state.nj.us/TYTR_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp

CERTIFICADO DE AUTENTICIDAD: El suscrito Traductor e Intérprete Oficial juramentado, debidamente registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia, con el presente certifica que esta es una traducción al Idioma Castellano, del documento en Inglés anexo para verificación. Cualquier reproducción anula la traducción, firma y sello.

TRAINING AND EDUCATION SERVICES

Carrera 15 Nr. 99-13 Oficina 411.

Tel. (57 1) 623 2925 Fax (57 1) 218 2308. treseser1@yahoo.com

Bogota – Colombia

FIDEL ANTONIO MURCIA MURCIA

Traductor e Interprete Oficial

Resolución No. 488/94 Ministerio de Justicia

000056



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



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0074002

Bogotá D.C., Julio 25 de 2013 - 15:20:11

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	73987	25/07/2013		8.080.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-182800- -00000-0000

Fecha: 2013-08-01 14:28:35 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 379 FASENACIONAL II
Act. 411 PRESENTACION Folios: 58

000057

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

, Julio 25 de 2013 - 15:20:13

- / -



No. 13 - 0075514

Bogotá D.C., Julio 30 de 2013 - 09:37:55

NI 83.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	63510	27/06/2013		125.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63579	27/06/2013		450.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63590	27/06/2013		175.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63615	27/06/2013		745.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
3 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	90.000.00
			<u>\$90.000.00</u>

SON: **NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsible: _____

Recibo de Gaja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-182600- -00000-0000

No. 13-182600-00000-0000
 Fecha: 2013-08-01 14:28:35
 Tra. 11 PATENTEIIII
 Act. 411 PRESENTACION
 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Eve: 379 FASENACIONALII
 Folios: 58

000058

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 Linea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Julio 30 de 2013 - 09:37:56

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	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 ☐	

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

PI02-F08 (2009-11-18)



No. 13-182600- -00000-0000

Fecha: 2013-08-01 14:28:35 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 58