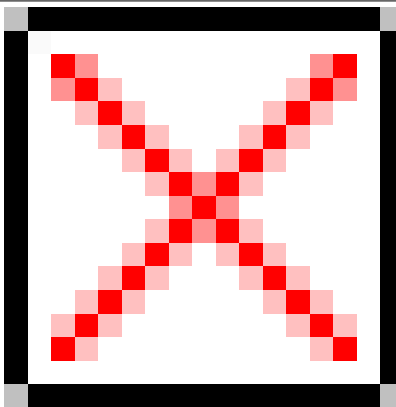


DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT



1	Título de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE Y LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL			
2	Datos del Solicitante		
Nombre:		CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER	Dirección Electrónica:
			notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:		8700 Beverly Boulevard	Domicilio/País de constitución:
			ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - CALIFORNIA - LOS ANGELES
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE			

Número:		4097815-	
3	Solicitantes		
Apellidos - Nombres o Razón Social		Tipo	Identificación
1.	CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER	NN	4097815
4	Datos del Inventor		
Nombre:		Mark PIMENTEL	Dirección Electrónica: notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:		9805 Burgen Avenue	Domicilio/País de constitución: ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - CALIFORNIA - LOS ANGELES
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica			
Número:		-	
5	Inventor(es)		
Apellidos - Nombres		Domicilio	
1.	PIMENTEL Mark	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	
2.	CHANG Christopher	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	
6	Datos Inventor(es)		
País de Residencia		Departamento/Estado	Ciudad
Dirección			
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	LOS ANGELES
9805 Burgen Avenue			

2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	LOS ANGELES	3207 Castle Heights Drive
----	---------------------------	------------	-------------	---------------------------

7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:		CARRERA 11 NO. 86-53, PISO 6	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 66783790-				
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/US2014/059957	Fecha Solicitud:	09/10/2014
Número Publicacion:		WO 2015/054529	Fecha Publicacion:	16/04/2015
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO	
1.	(33) País de origen ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Codigo del país US	(31) No. Solicitud 61/888,658	(32) Fecha 09/10/2013
10	Reivindicaciones			
Número reivindicaciones:		21	Pago Reivindicaciones:	Si
11	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

12 Documentos Anexos

☒ Reivindicaciones

☒ Descripción

☒ Dibujos y/o Figuras

☒ Resumen

☐ Certificado Depósito Material Biológico

☐ Uso de Conocimiento tradicional

☒ Listado de secuencias

☐ Artes finales 12 x 12 cm

☐ Poderes, si fuere el caso

☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad

☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad

☒ Otros Anexos

**DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DEL INTESTINO
IRRITABLE Y LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL**

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención se refiere al diagnóstico y
tratamiento del síndrome del intestino irritable.

ANTECEDENTES

10

La siguiente descripción incluye información que puede ser
útil para la comprensión de la presente invención. No se
reconoce que la información proporcionada en la presente
sea técnica previa o pertinente a la invención actualmente
15 reivindicada o que cualquier publicación a la que se hace
referencia específica o implícita sea técnica previa.

20

El diagnóstico del síndrome del intestino irritable (IBS)
ha sido un diagnóstico de exclusión o un diagnóstico en
función de los síntomas presentes en un paciente. Además
cuando los pacientes presentan síntomas gastrointestinales,
distinguir el síndrome del intestino irritable (IBS) de
otros tipos de dolencias gastrointestinales, tales como la
enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) (por ejemplo,

colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn), puede ser difícil o puede requerir procedimientos invasivos para descartar la IBD. Actualmente en la técnica, no hay medios de diagnóstico del IBS o para distinguir el IBS de otros 5 trastornos de disfunción intestinal. La convención requiere usualmente pruebas invasivas que tienen riesgos inherentes, altos costos y morbilidad para los pacientes.

Por consiguiente, sigue existiendo una necesidad en la 10 técnica de métodos y sistemas para diagnosticar el IBS y para distinguir entre IBS y IBD, particularmente, de formas menos invasivas.

COMPENDIO DE LA INVENCION

15

Las siguientes modalidades y aspectos de estas se describen y se ilustran junto con composiciones y métodos ilustrativos de ejemplo, que no limitan el alcance.

20 Varias modalidades proporcionan un método de diagnóstico del IBS, y opcionalmente la selección de un tratamiento para el IBS u opcionalmente la administración de una terapia para IBS, que comprende proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico con

respecto al IBS; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; y determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

Varias modalidades proporcionan un método para distinguir entre el IBS y la IBD, y opcionalmente la selección de un tratamiento para el IBS u opcionalmente la administración de una terapia para IBS, que comprende proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la IBD; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; y determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT, o determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, analizar la muestra biológica puede comprender: poner en contacto la vinculina o fragmentos de

esta con la muestra biológica; poner en contacto el CdtB o un fragmento de este con la muestra biológica, donde los anticuerpos anti-vinculina y/o anti-CdtB se unen específicamente a la vinculina o fragmento de esta y/o el CdtB o el fragmento de este en la muestra biológica; y medir los niveles de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CdtB en la muestra biológica.

En varias modalidades, se puede determinar que el sujeto tiene IBS si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es 25 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, se puede utilizar la densidad óptica (OD, por sus siglas en inglés) para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT, y cuando la diferencia de la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD of anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se puede determinar que el sujeto tiene IBS.

En varias modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se puede determinar que el sujeto tiene IBS.

En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina puede ser un anticuerpo que se une específicamente a la

vinculina. En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina puede ser un anticuerpo que se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con los residuos contiguos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 de vinculina o la SEQ ID NO.:7.

10 En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina puede ser un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido que comprende los residuos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con
15 los residuos contiguos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 de vinculina o la SEQ ID NO.:7.

En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT puede ser un
20 anticuerpo que se une específicamente a la subunidad CdtB de CDT.

En varias modalidades, la secuencia de aminoácidos de CdtB puede ser una toxina distensora citoletal B de

Campylobacter jejuni (SEQ ID NO: 5).

En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT puede ser un anticuerpo que se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 5.

El método de la reivindicación 10, donde la secuencia de aminoácidos de CdtB es la toxina distensora citoletal B de Campylobacter coli (SEQ ID NO: 1). En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT puede ser un anticuerpo que se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1.

15

En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT puede ser un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido que comprende los residuos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 con al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con los residuos contiguos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 de CdtB.

20

En varias modalidades, el método puede comprender además

seleccionar un tratamiento de IBS para el sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

En varias modalidades, el método puede comprender además
5 administrar una terapia de IBS al sujeto si se determina
que el sujeto tiene IBS.

Varias modalidades proporcionan un sistema de tratamiento
de IBS que comprende: una muestra biológica aislada de un
10 sujeto que necesita un diagnóstico con respecto a IBS; y
uno o más ensayos para detectar un nivel de anticuerpos
anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para
diagnosticar el IBS.

15 Varias modalidades proporcionan un sistema para distinguir
entre el IBS y la IBD, que comprende: una muestra biológica
aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico para
distinguir entre el IBS y la IBD; y uno o más ensayos para
detectar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel
20 de anticuerpos anti-CDT para distinguir entre el IBS y la
IBD.

En varias modalidades, el sistema puede comprender además
una máquina para determinar una presencia de IBS cuando el

nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, el sistema puede comprender además
5 un elemento de salida o de visualización para visualizar si el paciente tiene el IBS, y/o para visualizar si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

10 Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes de la siguiente descripción detallada, junto con las figuras adjuntas, que ilustran, a modo de ejemplo, varias características de modalidades de la invención.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

Los ejemplos de modalidades se ilustran en las figuras de referencia. Se pretende que las modalidades y las figuras descritas en la presente sean consideradas a modo
20 ilustrativo en vez de taxativo.

La Figura 1 representa la densidad óptica de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la densidad óptica de los anticuerpos anti-CDTB (OD_{CTB}) de conformidad con varias

modalidades de la presente invención.

La Figura 2 representa la diferencia entre la densidad
óptica de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la
5 densidad óptica de los anticuerpos anti-CDTB (OD_{CDTB}) de
conformidda con varias modalidades de la presente
invención.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

10

Todas las referencias mencionadas en la presente se
incorporan mediante referencia en su totalidad como si se
establecieran por completo. A menos que se indique lo
contrario, los términos técnicos y científicos utilizados
15 en la presente tienen el mismo significado según lo
entiende comúnmente un experto en la técnica a la que
pertenece la presente invención. Singleton *et ál.*,
Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3.^a ed.,
Revised, J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2006); y Sambrook
20 y Russel, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4.^a ed.,
Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY
2012), proporcionan al experto en la técnica una guía
general de varios de los términos utilizados en la presente
solicitud. Como referencias sobre cómo preparar los

anticuerpos, véase D. Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* 2nd ed. (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY, 2013); Kohler y Milstein, (1976) Eur. J. Immunol. 6: 511; Queen et ál. patente estadounidense N.º 5,585,089; y
5 Riechmann et ál., Nature 332: 323 (1988); patente estadounidense N.º 4,946,778; Bird, Science 242:423-42 (1988); Huston et ál., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); Ward et ál., Nature 334:544-54 (1989); Tomlinson I. y Holliger P. (2000) Methods Enzymol, 326,
10 461-479; Holliger P. (2005) Nat. Biotechnol. Sep;23(9):1126-36).

Un experto en la técnica podrá reconocer muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la
15 presente, que se podrían utilizar en la práctica de la presente invención. En efecto, la presente invención no se encuentra de ninguna manera limitada por los métodos y materiales descritos.

20 "Anticuerpo" o "anticuerpos" tal como se usan en la presente incluyen anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, variantes de anticuerpos tales como Fv de cadena simple (recombinante), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos y

fragmentos de anticuerpos inmunológicamente activos.

“Se une específicamente” tal como se usa en la presente se refiere a la acción de un anticuerpo que se une a su antígeno y que se pretende que excluya la unión no específica de bajo nivel que se puede producir entre proteínas aleatorias. “Se une específicamente” tal como se usa en la presente no pretende y no implica que el anticuerpo no se unirá a ninguna proteína que no sean las proteínas o polipéptidos tal como se describen en la presente debido a que los anticuerpos pueden presentar una reacción cruzada con cualquier proteína que incluye el epítipo correspondiente.

El “síndrome del intestino irritable grave” tal como se usa en la presente se refiere al síndrome del intestino irritable (IBS) que se remitió o podría haberse remitido a un centro de cuidados terciarios, un especialista en IBS o un especialista en movilidad.

20

Los inventores han determinado que CdtB no parece estar actuando de manera simple a través de toxicidad directa sino, en su lugar, a través de la reacción cruzada de los anticuerpos con respecto a CdtB con la proteína

hospedadora, vinculina. La vinculina es una proteína de unión a la actina citoplásmica de 117 kDa que es un componente clave de las adhesiones focales y uniones adherentes, que median el enlace entre las integrinas o
5 cadherinas respectivamente y el el citoesqueleto de actina.

En función de estas observaciones patofisiológicas en un modelo animal, los inventores creen que la exposición a CdtB producen autoinmunidad a la vinculina en función del
10 mimetismo celular. En la presente se describe la evaluación de la eficacia de detectar estos eventos como una prueba para el IBS en humanos.

El estudio de la presente muestra que cuando los
15 anticuerpos anti-vinculina son mayores que los anticuerpos anti-CdtB se indica la presencia del IBS y se distingue el IBS de la IBD. Si bien no se pretende limitarse a ninguna teoría particular, los inventores creen que cuando los anticuerpos anti-vinculina son mayores que los anticuerpos
20 anti-CdtB también se indica la gravedad del IBS que experimentan los pacientes. Los pacientes con IBS en el estudio que se describe en la presente se observaron en centros de cuidados terciarios, que implican considerablemente la gravedad de la afección. Los pacientes

no se remiten comúnmente a centros de cuidados terciarios o buscan tratamientos en estos a menos que sus afecciones sean graves. Comúnmente estos recibirían un cuidados personales o tratamientos de un médico de cuidados
5 primarios. Adicionalmente, estos pacientes tiene probabilidad alta de rechazar algunas terapias para el IBS, lo que usualmente garantiza una remisión a un centro de cuidados terciarios.

10 Diagnóstico

Varias modalidades de la presente invención proporcionan métodos, ensayos y sistemas para diagnosticar el IBS y distinguir el IBS de la IBD.

15

Métodos

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método de diagnóstico del IBS, que comprende: proporcionar
20 una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico con respecto al IBS; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y

el nivel de anticuerpos anti-CDT; y determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

5 Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método para distinguir entre el IBS y la IBD, que comprende: proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la IBD; analizar la muestra biológica para determinar un
10 nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; y determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor
15 que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, el ensayo comprende agregar vinculina o un fragmento de esta, tal como se describe en la presente, y CdtB o un fragmento de esta, tal como se
20 describe en la presente, a una muestra biológica de un paciente que necesita una determinación con respecto a IBS, donde los anticuerpos anti-vinculina y/o anti-CdtB (si se encuentran presentes en la muestra biológica) se unen específicamente a la vinculina o fragmento de esta y a la

CdtB o fragmento de esta en la muestra biológica; medir los niveles de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CdtB en la muestra biológica; e identificar si el sujeto tiene IBS si el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En varias modalidades, el ensayo s puede realizar en dos ensayos separados, uno para detectar el nivel de anticuerpos anti-vinculina y uno para detectar el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En varias modalidades el ensayo puede ser un único ensayo que detecta tanto anticuerpos anti-vinculina como anticuerpos anti-CdtB.

En varias modalidades, se determina que el sujeto tiene IBS si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, el grado del nivel de anticuerpos anti-vinculina que es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente se puede describir el porcentaje en relación con el valor predictivo

positivo. En algunas modalidades, el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS adicionales con respecto a
5 pacientes con IBD para determinar sus niveles de anticuerpos anti-vinculina y anti-CDT

En determinadas modalidades, la densidad óptica (OD) se utiliza para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y
10 anticuerpos anti-CDT. Por lo tanto, cuando la diferencia entre la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD de los anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o
15 0,6 se determina que el sujeto tiene IBS. En determinadas modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, el grado de $OD_V - OD_{CDT}$ proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente
20 se puede describir el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS

adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT

- 5 En varias modalidades, se recubre una placa de 96 pocillos durante la noche o >16 horas a alrededor de 4 °C en una caja humedecida con alrededor de 100 µl/pocillo de antígeno (vinculina o CdtB) a alrededor de 1,2 µg/ml en BBS, el pH aproximado es de 8,2. Se recubre un pocillo adicional, con
- 10 cada muestra solo con BBS para determinar los antecedentes no específicos que se deben al suero que se sustraerá del pocillo recubierto con antígeno. Los pocillos se lavan alrededor de 3 veces con aproximadamente 250µl/pocillo de PBS-T al 0,05 %. Los pocillos se bloquean con alrededor de
- 15 200 µl/pocillo de alrededor de BSA al 3 % en PBS durante a alrededor de 1 hora a temperatura ambiente en una caja humedecida. Los sueros se diluyen hasta una dilución de 1:16 utilizando BSA a alrededor de 3 % en PBS. Se agrega alrededor de 100 µl/pocillo de suero; u se incuba durante 1
- 20 hora a temperatura ambiente en una caja humedecida. Los pocillos se lavan alrededor de 3 veces con aproximadamente 250 µl/pocillo de PBS-T al 0,05 %. Se agrega alrededor de 100 µl/pocillo de un anticuerpo secundario a alrededor de 1:10.000 conjugado con HRP diluido en BSA a alrededor de 3

% en PBS. Se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente en la caja humedecida. Los pocillos se lavan alrededor de 6 con aproximadamente 250 μ l/pocillo de PBS-T al 0,05 %, se agregan 100 μ l/pocillo de solución de sustrato de TMB (TMB
5 ultra de 1 etapa - sustrato de ELISA, Pierce, 34028). La placa se lee inmediatamente en un lector de placas (por ejemplo, BioTek Synergy HT) utilizando un protocolo de absorbancia a alrededor de 370 nm; y se permite que se desarrolle durante alrededor de 90 min (el ensayo se
10 estanca a alrededor de 60 min.).

En varias modalidades, el IBS puede ser C-IBS, D-IBS, A-IBS (también conocido por M-IBS). En varias modalidades, el IBS es IBS grave. En varias modalidades, el IBS es C-IBS
15 grave, D-IBS grave o A-IBS grave.

En varias modalidades, los anticuerpos anti-CDT son anticuerpos are anti-CdtB.

20 En varias modalidades, los ensayos comprenden vinculina o un fragmento de esta tal como se describe en la presente y CdtB un fragmento de esta tal como se describe en la presente como el antígeno para detectar los anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB.

Sistemas

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un
5 sistema de tratamiento de IBS que comprende: una muestra
biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico
con respecto a IBS; y uno o más ensayos para detectar un
nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de
anticuerpos anti-CDT para diagnosticar el IBS.

10

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un
sistema para distinguir entre el IBS y la IBD, que
comprende: una muestra biológica aislada de un sujeto que
necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la
15 IBD; uno o más ensayos para detectar un nivel de
anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-
CDT para distinguir entre el IBS y la IBD.

En varias modalidades, estos sistemas comprenden además una
20 máquina para determinar una presencia de IBS cuando el
nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel
de anticuerpos anti-CDT.

En varias modalidades, el sistema comprende un elemento de

salida o de visualización para visualizar si el paciente tiene el IBS, y/o para visualizar si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

5

En varias modalidades, el sistema determina que el sujeto tiene IBS si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 10 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT. En varias modalidades, el grado del nivel de anticuerpos anti-vinculina que es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la 15 presencia de IBS. En la presente se puede describir el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de 20 pacientes con IBS adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anticuerpos anti-vinculina y anti-CDT

En determinadas modalidades, la densidad óptica (OD) se

utiliza para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT. Por lo tanto, cuando la diferencia entre la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD de los anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, el sistema determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o 0,6 el sistema determina que el sujeto tiene IBS. En determinadas modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, el grado de $OD_V - OD_{CDT}$ proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente se puede describir el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT

20

En varias modalidades, el IBS puede ser C-IBS, D-IBS, A-IBS (también conocido por M-IBS). En varias modalidades, el IBS es IBS grave. En varias modalidades, el IBS es C-IBS grave, D-IBS grave o A-IBS grave.

En varias modalidades, los anticuerpos anti-CDT son anticuerpos are anti-CdtB.

5 En varias modalidades, los ensayos comprenden vinculina o un fragmento de esta tal como se describe en la presente y CdtB un fragmento de esta tal como se describe en la presente como el antígeno para detectar los anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB.

10

Sistemas y métodos de implementación por máquinas/computadora no humana

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un
15 medio legible por computadora no transitorio que comprende instrucciones para ejecutar los métodos de la presente invención, tal como se describe en la presente.

En determinadas modalidades, los métodos de la invención
20 implementan un programa informático por ejemplo, para comparar los niveles de anticuerpos anti-vinculina y los niveles de anticuerpos anti-CDT. Por ejemplo, se puede utilizar un programa informático no transitorio para llevar a cabo los algoritmos que se describen en la presente.

Se pueden utilizar numerosos tipos de sistemas informáticos para implementar los métodos analíticos de esta invención de acuerdo con el conocimiento procesado por un experto en la técnica informática y/o bioinformática.

Se pueden cargar diversos componentes de software en la memoria durante el funcionamiento de dicho sistema informático. Los componentes de software pueden comprender tanto los componentes de software estándares en la técnica como los componentes especiales de la presente invención. Los métodos de la invención también se pueden programar o modelar en paquetes de software matemático que permite la entrada simbólica de ecuaciones y la especificación de procesamiento de alto nivel, que incluye la utilización de algoritmos específicos, lo que libera a un usuario de la necesidad de programar los algoritmos y ecuaciones individuales en forma de procedimiento. Dichos paquetes incluyen, por ejemplo, Matlab de Mathworks (Natick, Mass.), Mathematica de Wolfram Research (Champaign, Ill.) o S-Plus de MathSoft (Seattle, Wash.). En determinadas modalidades, la computadora comprende una base de datos para el almacenamiento de los niveles de anticuerpos anti-vinculina y los niveles de anticuerpos anti-CDT. Se puede acceder a

dichos perfiles almacenados y utilizarlos para comparar los niveles de anticuerpos anti-vinculina y los niveles de anticuerpos anti-CDT en la muestra hasta en niveles de control conocidos, si corresponde.

5

Además de los sistemas informáticos y las estructuras programáticas de ejemplo que se describen en la presente, otros sistemas informáticos y estructuras programáticas alternativos resultarán rápidamente evidentes para el experto en la técnica. Por lo tanto, se pretende que dichos sistemas alternativos, que no se apartan del sistema informático y las estructuras programáticas que se describen anteriormente ni en espíritu ni en alcance, estén comprendidos dentro de las reivindicaciones adjuntas.

15

Una vez que un técnico o profesional de laboratorio o un grupo de técnicos o profesionales de laboratorio determinan el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT, el mismo u otro técnico o profesional de laboratorio (o grupo) puede analizar uno o más ensayos para determinar si el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT o si $OD_v - OD_{CDT}$ es mayor que 0,0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o 0,6 y luego determinar que el sujeto tiene IBS o IBS grave.

En varias modalidades, en la presente se proporciona medio de almacenamiento legible por computadora no transitorio, que comprende: un módulo de almacenamiento de datos que
5 contiene datos de una muestra que comprende un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; un módulo de detección para detectar el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; un módulo de comparación que compara los datos
10 almacenados en el módulo de almacenamiento de datos con datos de referencia y/o datos de control, o un módulo de comparación para comparar el nivel de anticuerpos anti-vinculina con el nivel de anticuerpos anti-CDT y para proporcionar un contenido de comparación, y un módulo de
15 salida que muestra el contenido de comparación al usuario, donde un indicio de que el sujeto tiene IBS se muestra cuando el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT, o cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o 0,6.

20

En varias modalidades, los datos de control comprenden datos de pacientes que no tienen IBS. En varias modalidades, los datos de control comprenden datos de pacientes que no tienen IBD. En varias modalidades, los

datos de control comprenden datos de pacientes que tienen IBS. En varias modalidades, los datos de control comprenden datos de pacientes que tienen IBD.

5 Las modalidades de la invención se pueden describir a través de módulos funcionales, que se definen mediante instrucciones ejecutables por computadora registradas en un medio legible por computadora no transitorio y que hace que una computadora realice etapas de un método cuando se
10 ejecuta. Los módulos se segregan por función, en virtud de la claridad. Sin embargo, debería entenderse que no es necesario que los módulos/sistemas correspondan a bloques discretos de código y las funciones descritas se pueden llevar a cabo mediante la ejecución de varias partes del
15 código almacenadas en varios medios y que se ejecutan en varios momentos. Además, debería apreciarse que los módulos pueden realizar otras funciones, por lo tanto, los módulos no se limitan a tener funciones o conjuntos de funciones particulares.

20

El medio de almacenamiento legible por computadora no transitorio puede ser cualquier medio tangible disponible al que se puede acceder mediante una computadora. Los medios de almacenamiento legibles por computadora incluyen

medios tangibles volátiles y no volátiles, extraíbles y no extraíbles implementados en cualquier método o tecnología para el almacenamiento de información tales como instrucciones legibles por computadora, estructuras de datos, módulos programáticos u otros datos. Los medios de almacenamiento legibles por computadora incluyen, de modo no taxativo, RAM (memoria de acceso aleatorio), ROM (memoria de solo lectura), EPROM (memoria de solo lectura programable borrrable), EEPROM (memoria de solo lectura programable borrrable eléctricamente), memoria flash u otra tecnología de memorias, CD-ROM (memoria de solo lectura en disco compacto), DVDs (discos versátiles digitales) u otros medios de almacenamiento óptico, casetes magnéticos, cinta magnética, disco magnético de almacenamiento u otros medios de almacenamiento, otros tipos de memoria volátil y no volátil, y otro tipo de medio tangible que puede utilizarse para almacenar la información deseada y al que se puede acceder mediante una computadora que incluye cualquier combinación adecuada de los anteriores.

20

Los datos legibles por computadora comprendidos en uno o más de los medios legibles por computadora no transitorios pueden definir instrucciones, por ejemplo, como parte de uno o más programas que, como resultado de ser ejecutados

por una computadora, hacen que la computadora realice una o más de las funciones que se describen en la presente, y/o varias modalidades, variaciones y combinaciones de estas. Estas instrucciones se pueden escribir en cualquiera de los

5 múltiples lenguajes de programación, por ejemplo, Java, J#, Visual Basic, C, C#, C++, Fortran, Pascal, Eiffel, Basic, lenguaje ensamblador COBOL, y similares, o cualquiera de las diversas combinaciones de estos. El medio legible por computadora en el cual se comprenden dichas instrucciones

10 puede residir en uno o más de cada uno de los componentes de un sistema, o un medio de almacenamiento legible por computadora descrito en la presente se puede distribuir a través de uno o más de dichos componentes.

15 El medio legible por computadora se pueden transportar de modo que las instrucciones almacenadas en este se puedan descargar en cualquier recurso informático para implementar los aspectos de la presente invención que se describen en la presente. Además, debería apreciarse que las

20 instrucciones almacenadas en el medio legible por computadora, que se describieron anteriormente, no se limitan a las instrucciones comprendidas como parte de un programa de aplicaciones que se ejecuta en una computadora hospedadora. En su lugar, las instrucciones pueden estar

representadas como cualquier tipo de código informático (por ejemplo, software o microcódigo) que se puede emplear para programar una computadora para implementar aspectos de la presente invención. Las instrucciones ejecutables por
5 computadora pueden estar escritas en cualquier idioma informático adecuado o en una combinación de varios lenguajes. Los expertos en la técnica conocen los métodos biológicos computacionales básicos y estos se describen, por ejemplo, en Setubal y Meidanis *et ál.*, Introduction to
10 Computational Biology Methods (PWS Publishing Company, Boston, 1997); Salzberg, Searles, Kasif, (Ed.), Computational Methods in Molecular Biology, (Elsevier, Amsterdam, 1998); Rashidi y Buehler, Bioinformatics Basics: Application in Biological Science and Medicine (CRC Press,
15 Londres, 2000) y Ouelette y Bzevanis Bioinformatics: A Practical Guide for Analysis of Gene and Proteins (Wiley & Sons, Inc., 2.^a ed., 2001).

Los módulos funcionales de determinadas modalidades de la
20 invención, incluyen, por ejemplo, un módulo de medición, un módulo de almacenamiento, un módulo de comparación y un módulo de salida. Los módulos funcionales se pueden ejecutar en uno o múltiples computadoras, o mediante el uso de una o múltiples redes informáticas. El módulo de

medición tiene instrucciones ejecutables por computadora para proporcionar, por ejemplo, información de expresión en forma legible por computadora.

- 5 El módulo de medición puede comprender cualquier sistema para detectar los niveles de anticuerpos anti-vinculina o anticuerpos anti-CDT.

La información determinada en el sistema de determinación
10 se puede leer mediante el módulo de almacenamiento. Tal como se usa en la presente se pretende que el "módulo de almacenamiento" incluya cualquier aparato de computación o procesamiento u otro dispositivo configurado o adaptado para almacenar datos o información. Los ejemplos de
15 aparatos electrónicos adecuados para utilizarse con la presente invención incluyen aparatos informáticos independientes, redes de telecomunicaciones de datos, que incluyen redes de área local (LAN), una red de área amplia (WAN), Internet, Intranet y Extranet, y sistemas de
20 procesamiento informático distribuidos o locales. Los módulos de almacenamiento también incluyen, de modo no taxativo: medios de almacenamiento magnéticos, tales como disquete, medios de almacenamiento en disco duro, unidades flash, cinta magnética, medios de almacenamiento ópticos

tales como CD-ROM, DVD, medios de almacenamiento electrónicos tales como RAM, ROM, EPROM, EEPROM y similares, discos duros en general e híbridos de estas categorías tales como medios de almacenamiento magnéticos/ópticos. El módulo de almacenamiento se adapta o configura para que se registre en este la información del nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT. Dicha información se puede proporcionar en formato digital que se pueda transmitir y leer de manera electrónica, por ejemplo, mediante Internet, en una unidad flash, mediante USB bus universal en serie o mediante cualquier otro modo de comunicación adecuado.

Tal como se usa en la presente, "almacenado" se refiere a un proceso para codificar información en el módulo de almacenamiento. Los expertos en la técnica pueden adoptar fácilmente cualquiera de los métodos conocidos en el presente para registrar información en medios conocidos para generar productos que comprenden la información del nivel de anticuerpo anti-vinculina y el nivel de anticuerpo anti-CDT.

En una modalidad, los datos de referencia almacenados en el módulo de almacenamiento que se leerán mediante el módulo

de comparación son, por ejemplo, datos de pacientes que no tienen IBS, datos de pacientes que no tienen IBD, datos de pacientes que tienen IBS y/o datos de pacientes que tienen IBD.

5

El "módulo de comparación" puede usar una variedad de formatos programas de software disponibles para la comparación operativa para comparar los datos de unión determinados en el módulo de medición para las muestras de referencia y/o los datos de referencia almacenados. En una modalidat, el módulo de comparación se configura para utilizar técnicas de patrones de reconocimiento para comparar la información de una o más entradas con uno o más patrones de datos de referencia. El módulo de comparación se puede configurar utilizando software comercialmente disponible o gratis para comparar los patrones, y se puede optimizar para las comparaciones de datos particulares que se llevan a cabo. El módulo de comparación proporciona información legible por computadora relacionada, por ejemplo, con los niveles de anticuerpo anti-vinculina y/o los niveles de anticuerpo anti-CDT.

20

El módulo de comparación, o cualquier otro módulo de la invención, puede incluir un sistema operativo (por ejemplo,

UNIX) en el cual se ejecuta un sistema de gestión de bases de datos relacional, una aplicación de internet y un servidor de internet. La aplicación de internet incluye el código ejecutable necesario para generar declaraciones de lenguaje de bases de datos (por ejemplo, declaraciones del lenguaje de consulta estructurado (SQL)). Generalmente, los ejecutables incluirán las declaraciones de SQL. Además, la aplicación de internet incluye un archivo de configuración que contiene indicaciones y direcciones sobre las diversas entidades de software que comprenden el servidor así como las diversas bases de datos internas y externas a las que se debe acceder para atender las solicitudes de los usuarios. El archivo de Configuración dirige las solicitudes de recursos del servidor al hardware adecuado, de ser necesario si el servidor se distribuye entre dos o más computadoras separadas. En una modalidad, el servidor de internet respalda un protocolo TCP/IP. A veces se hace referencia a las redes locales como esta como "Intranets". Una ventaja de dichas Intranets es que estas permiten la comunicación fácil con las bases de datos de dominio público que residen en internet (por ejemplo, los sitios web de GenBank o Swiss Pro). Por lo tanto, en una modalidad particular de la presente invención, los usuarios pueden acceder directamente a los datos (mediante hipervínculos,

por ejemplo) que residen en bases de datos en Internet utilizando una interfaz HTML proporcionada por los buscadores web y los servidores web.

- 5 El módulo de comparación proporciona un resultado de comparación legible por computadora que puede procesarse de forma legible por computadora mediante criterios predefinidos, o criterios definidos por un usuario, para proporcionar un contenido basado en parte en el resultado
- 10 de comparación que se puede almacenar y salir tal como lo solicite el usuario mediante el uso de un módulo de salida.

El contenido basado en el resultado de comparación, puede ser los niveles de anticuerpo anti-vinculina en comparación

15 con los niveles de anticuerpo anti-CDT.

En varias modalidades de la invención, el contenido basado en el resultado de comparación se visualiza en un monitor de computadora. En varias modalidades de la invención, el

20 contenido basado en el resultado de comparación se visualiza a través de n medio imprimible. El módulo de visualización puede ser cualquier dispositivo adecuado configurado para recibir desde una computadora la información legible por computadora y presentársela a un

usuario. Los ejemplos no taxativos incluyen, por ejemplo, computadoras de uso general tales como las que se basan en procesadores de tipo Intel PENTIUM, procesadores Motorola PowerPC, Sun UltraSPARC, Hewlett-Packard PA-RISC, 5 cualquiera de los diversos procesadores comercializados por Advanced Micro Devices (AMD) de Sunnyvale, California, o cualquier otro tipo de procesador, dispositivos de pantalla visual tales como pantallas planas, tubos de rayos catódicos y similares, así como impresoras para 10 computadoras de varios tipos.

En una modalidad, se utiliza un buscador de sitios web para proporcionar una interfaz de usuario para visualizar el contenido en función del resultado de la comparación. 15 Debería entenderse que se pueden adaptar otros módulos de la invención para tener una interfaz de buscador web. A través del buscador web, un usuario puede construir solicitudes para recuperar datos a partir del módulo de comparación. Por lo tanto, el usuario comúnmente señalará y 20 cliqueará elementos de la interfaz de usuario tales como botones, menús desplegables, barras de desplazamiento y similares empleados convencionalmente en interfaces gráficas de usuario.

Muestras biológicas

Los ejemplos de muestras biológicas incluyen, de modo no taxativo, fluidos corporales, sangre entera, plasma, heces, aspiración o fluidos intestinales, y aspiración o fluidos estomacales, suero, líquido cefalorraquídeo (CSF, por sus siglas en inglés), orina, transpiración, saliva, lágrimas, secreciones pulmonares, aspiración de mama, fluidos de la próstata, fluido seminal, raspaje del cérvix, líquido amniótico, fluido intraocular, mucosa y humedad en la respiración. En modalidades particulares del método o sistema, la muestra biológica puede ser sangre entera, plasma sanguíneo, suero sanguíneo, heces, aspiración o fluidos intestinales o aspiración o fluidos estomacales. En determinadas modalidades, la muestra biológica es sangre entera. En determinadas modalidades, la muestra biológica es suero. En determinadas modalidades, la muestra biológica es plasma.

20 *Anticuerpos anti-vinculina*

En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina detectado en estos métodos, ensayos o sistemas es un anticuerpo que se une a la vinculina.

En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina.

10 En otra modalidad, el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 15 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende o consiste en 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina.

En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a la SEQ ID NO:7.

En varias modalidades, el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de la SEQ ID NO:7.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de la SEQ ID NO:7.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende o consiste en 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de la SEQ ID NO:7.

Los residuos contiguos de vinculina o la SEQ ID NO:7 incluyen aquellos que comienzan en cualquier aminoácido y terminan en cualquier aminoácido de vinculina o de la SEQ

ID NO:7.

Secuencia de proteínas de vinculina (SEQ ID NO:7):

```

5  MPVFHTRTIESILEPVAQQISHLVIMHEEGEVDGKAIPDLTAPVAAVQAAVSNLVRVGK
   ETVQTTEDQILKRDMPPAFIKVENACTKLVQAAQMLQSDPYSPARDYLIDGSRGILSG
   TSDLLLTTFDEAEVRKIIRVCKGILEYLTVAEVVETMEDLVITYTKNLGPGMTKMAKMIDE
   RQQELTHQEHVMLVNSMNTVKELLPVLISAMKIFVTTKNSKNQGIEEALKNRNFTVEK
   MSAEINEIIRVLQLTSWDEDAWASKDTEAMKRALASIDSKLNQAKGWLDRDPSASPGDAG
10 EQAIRQILDEAGKVGELCAGKERREILGTCKMLGQMTDQVADLRARGQGSSPVAMQKAQ
   QVSQGLDVLTAKVENAARKLEAMTNSKQSIAKKIDAAQNWLADPNGGPEGEEQIRGALA
   EARKIAELCDDPKERDDILRSLGEISALTSKLADLRRQGKGDSPEARALAKQVATALQN
   LQTKTNRAVANSRPAKAAVHLEGKIEQAQRWIDNPTVDDRGVGQAAIRGLVAEGHRLAN
   VMMGPYRQDLLAKCDRVDQLTAQLADLAARGESESPQARALASQLQDSLKDLKARMQEA
15 MTQEVSDVFSDTTTPIKLLAVAATAPPDAPNREEVFDERAANFENHSGKLGATAEKAAA
   VGTANKSTVEGIQASVKTARELTPQVVSAARILLRNPGNQAAAYEHFETMKNQWIDNVEK
   MTGLVDEAIDTKSLLDASEEAIKKDLCKKVAMANIQPQMLVAGATSIARRANRILLVA
   KREVENSEDPKFREAVKAASDELSTISPMVMDAKAVAGNISDPGLQKSFLDSGYRILG
   AVAKVREAFQPQEPDFPPPPDLEQLRLTDELAPPKPPLPEGEVPPPRPPPPPEEKDEEF
20 PEQKAGEVINQPMMAARQLHDEARKWSSKGNDIIAAAKRMALLMAEMSRLVRGGSGTK
   RALIQCAKDIAKASDEVTRLAKEVAKQCTDKRIRTNLLQVCERIPTISTQLKILSTVKA
   TMLGRTNISDEESEQATEMLVHNAQNLMQSVKETVREAEAASIKIRTDAGFTLRWVRKT
   PWYQ

```

Anticuerpos anti-CDT

En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT es un anticuerpo que se une específicamente a CDT. Las secuencias
 5 de aminoácidos de CDT son conocidas en la técnica.

En una modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une a un epítipo en el dominio de unión al receptor de CDT.

10 En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la subunidad CdtA de CDT. En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la subunidad CdtB de CDT. En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la subunidad CdtC de CDT.

15

Un ejemplo de la secuencia de aminoácidos CdtB es la toxina distensora citoletal B de *Campylobacter jejuni*, que tiene la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 5).

20 SEQ ID NO:5 (CdtB de *Campylobacter jejuni*):

MKKIICLFLSFNLA FANLENFNVGTWNLQGSSAATESKWSVSVRQLVSGANPLDILMIQ
 EAGTLPR TATPTGRHVQQGGTPIDEYEWNLGTL SRPDRVFIYYSRV DVGANRVNLAIVS
 RMQAE EVIVLPPPTTVSRPIIGIRNGNDAFFNIHALANGGTDVGAIITAVDAHFANMPQ

VNWMIAGDFNRDPSTITSTVDRELANRIRVVFPTSATQASGGTLDYAITGNSNRQQTYT
PPLLAAILMLASLRSHIVSDHFPVNFRKF

Otro ejemplo de la secuencia de aminoácidos CdtB es la
5 toxina distensora citoletal B de *Campylobacter coli*, que
tiene la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 1) y la
secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO:2),

SEQ ID NO:1 (secuencia de aminoácidos de CdtB de
10 *Campylobacter Coli*):

MKKIVFLILSFNVLFAALENYNTGTWNLQGSSAATESKWNVSIRQLITGANPMDVLAVQ
EAGVLPSTAMMTPRQVQPVGVGIPHEHYIWNLGSVSRPSSVYIYYSRVDVGANRVNLAI
VSRVQADEVFVLPPPTVASRPIIGIRIGNDAFFNIHALASGGNDAGAIVA AVDMFFRNR
15 PDINWMILGDFNRESGALVTLLDPDLRARTRVVPPSSSTQTSGRTIDYAITGNSNTAAL
YNPPPIVAAILALEGLRTFLASDHFPVNFRRP

SEQ ID NO:2 (secuencia de ácidos nucleicos de CdtB de
Campylobacter Coli):

20

atgaaaaaaaa	tagtattttt	gattttaagt	tttaatgtat	tatttgccgc
tttagaaaat	tacaacaccg	gaacttgga	tttgcaaggc	tcatcagctg
caactgaaag	caaatggaat	gtagtagataa	gacaactcat	aaccggtgca
aatcctatgg	atgttttagc	tgttcaagaa	gcggggggtt	tacctagtag

```

agctatgatg  actcctagac  aggtacaacc  cgtgggcgtg  ggtattccta
tacatgaata      catatggaat      ttaggctctg      tatcaagacc
tagctctggt  tatatatatt  attctagagt  ggatgtagga  gcaaatacgtg
tgaatttagc  tatcgtttagc  agagtgcagg  cggatgaagt  ttttgtttta
5  cccctccaa   cagttgcttc   aagacctatt  ataggcatac  gcataggcaa
tgatgctttt  ttcaatatac  acgctctagc  aagtggggga  aatgacgcag
gagccattgt      cgctgctgtg      gatatgtttt      ttagaaatag
acctgatatt  aattggatga  ttttaggcga  ttttaataga  gaatcaggcg
ccttagtaac  cttgctagat  cctgacttaa  gagcacgcac  tcgcgtagtt
10 gttccgcctt  cttctacgca  aacaagtgga  agaacgattg  attatgctat
cactggaaat  tccaacactg  cagctttata  caaccacca  ccgatagttg
cgattttagc      tttagaagga      ttaagaacct      ttttggcttc
agatcatttt  cctgtaaatt  ttagaagacc  ttag

```

15 Por consiguiente, en una modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la SEQ ID NO:5 (CdtB de C. jejuni). En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a

20 la SEQ ID NO: 5.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la SEQ ID NO:1 (CdtB de C. coli). En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une

específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1.

5 En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 17 residuos de CdtB (por ejemplo, 17 residuos de las SEQ. ID NO: 1 o 5). En una modalidad, el péptido con 17 residuos tiene la siguiente secuencia: LDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:3).

10

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 17 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 17 residuos contiguos de CdtB (por
15 ejemplo, 17 residuos contiguos de las SEQ. ID NO: 1 o 5). En una modalidad, los 17 residuos de CdtB tienen la siguiente secuencia: LDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:3).

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une
20 específicamente a un polipéptido que comprende 17 residuos que tienen al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 17 residuos contiguos de CdtB (por ejemplo, 17 residuos de las SEQ. ID NO: 1 o 5). En una modalidad, los 17 residuos contiguos de CdtB tienen

la siguiente secuencia: LDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:3).

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 18 residuos que tiene la
 5 siguiente secuencia: CLDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:4). La cisteína en el extremo N se agregó a la SEQ ID NO:3 a los fines de la conjugación.

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une
 10 específicamente a un polipéptido que comprende 18 residuos que tienen al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con CLDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:4).

15 En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,
 20 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de CdtB (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de la SEQ ID NO:1 o 5). En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8,

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22
 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22
 5 residuos contiguos de CdtB (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de la SEQ ID NO:1 o 5). Los residuos contiguos de la SEQ ID NO:1 incluyen aquellos que comienzan en cualquier aminoácido y terminan en cualquier aminoácido de la SEQ ID
 10 NO:1. Los residuos contiguos de la SEQ ID NO:5 incluyen aquellos que comienzan en cualquier aminoácido y terminan en cualquier aminoácido de la SEQ ID NO:5.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une
 15 específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos contiguos de LDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:3) (por ejemplo,
 20 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos contiguos de la SEQ ID NO:3). En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96

%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos contiguos de la SEQ ID NO:3 (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 residuos contiguos de la SEQ ID NO:3). Los
5 residuos contiguos de la SEQ ID NO: 3 incluyen aquellos que comienzan en cualquier aminoácido y terminan en cualquier aminoácido de la SEQ ID NO: 3.

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une
10 específicamente a un péptido con 17 residuos codificado por la secuencia génica de CdtB. En modalidades particulares, el anticuerpo purificado se une específicamente a un péptido con 17 residuos codificado por la SEQ ID NO: 2. En diversas modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une
15 específicamente a un péptido con 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos codificado por la SEQ ID NO: 2. En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 14,
20 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos codificados por la SEQ ID NO: 2. En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos

que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos codificados por la SEQ ID NO: 2.

5

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptidocodificado por la secuencia de ácidos nucleicos que tiene la siguiente secuencia: CTTGATTATGCAATTACAGGAAATTCAAATAGACAACAAACCTATACTCCA (SEQ ID NO:6), que codifica el péptido con 17 aminoácidos de la SEQ ID NO. 3. En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende un péptido codificado por la SEQ ID NO:6.

15 En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la CdtB purificada a partir de E. coli que sobreexpresa un ORF de CdtB de longitud casi completa. (Véase Infection and Immunity, diciembre de 2000, p. 6535-6541, Vol. 68, N.º 12 , que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia como si se estableciera por completo.)

Ensayos

En varias modalidades de los métodos y sistemas que se describen en la presente, el ensayo es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), que incluye, de modo no taxativo, ELISA indirecto, ELISA sándwich, ELISA
5 competitivo y ELISA múltiples y portátiles.

En varias modalidades de los métodos y sistemas que se describen en la presente, el ensayo es un ensayo para detectar el nivel de anticuerpos anti-vinculina. El ensayo
10 puede comprender: un primer reactivo (por ejemplo, el antígeno) para que reaccione con la muestra biológica si la muestra biológica comprende el anticuerpo anti-vinculina (si no se encuentran presentes los anticuerpos anti-vinculina, entonces el primer reactivo no reaccionará en la
15 muestra biológica, pero aún así el primer reactivo se encuentra presente en el ensayo), un segundo reactivo (por ejemplo, anticuerpo secundario) para que reaccione con el anticuerpo anti-vinculina o un segundo reactivo, para que reaccione con el primer reactivo y un sustrato (por
20 ejemplo, para que reacciones con el segundo reactivo y produzca una señal). En varias modalidades, el primer reactivo es vinculina, SEQ ID NO:7 o un fragmento de este, tal como se describe en la presente. En varias modalidades, el segundo reactivo comprende un marcador para producir una

señal que indique la presencia del anticuerpo anti-vinculina. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluróforo, un punto cuántico, una enzima, peróxido de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En varias modalidades, el marcador es una enzima que reaccionará con el sustrato. En varias modalidades, el primer reactivo se encuentra en una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato cromogénico (por ejemplo, 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB), 3,3'-Diaminobencidina (DAB), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato quimioluminiscente (por ejemplo, ECL).

En varias modalidades, el ensayo comprende un primer reactivo para que reaccione con el anticuerpo anti-vinculina. En varias modalidades, el primer reactivo comprende un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-vinculina. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluróforo, un punto cuántico, una enzima, peróxido de

rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En varias modalidades, el primer reactivo se encuentra en una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos). En varias modalidades, el ensayo comprende además un sustrato para que reaccione con el marcador en casos donde el marcador requiera un sustrato para producir la señal; por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

10

En varias modalidades, el ensayo es un ensayo para determinar el nivel de anticuerpos anti-CDT. El ensayo puede comprender: un primer reactivo para que reaccione con la muestra biológica si la muestra biológica comprende el anticuerpo anti-CDT (si no se encuentran presentes los anticuerpos anti-CDT, entonces el primer reactivo no reaccionará en la muestra biológica, pero aún así el primer reactivo se encuentra presente en el ensayo), un segundo reactivo (por ejemplo, anticuerpo secundario) para que reaccione con el anticuerpo anti-CDT o un segundo reactivo, para que reaccione con el primer reactivo y un sustrato. En varias modalidades, el primer reactivo es CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas tal como se describe en la presente. En varias modalidades, el

20

segundo reactivo comprende un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-CDT. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluróforo, un punto cuántico, una enzima, 5 peróxido de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En varias modalidades, el marcador es una enzima que reaccionará con el sustrato. En varias modalidades, el primer reactivo se encuentra en 10 una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato cromogénico (por ejemplo, 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB), 3,3'-Diaminobencidina (DAB), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) 15 (ABTS). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato quimioluminiscente (por ejemplo, ECL).

En varias modalidades, el ensayo comprende un primer reactivo para que reaccione con el anticuerpo anti-CDT. En 20 varias modalidades, el primer reactivo comprende un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-CDT. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluróforo, un punto cuántico, una enzima, peróxido de rábano picante (HRP, por

sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En varias modalidades, el reactivo se encuentra en una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos).

5 En varias modalidades, el ensayo comprende además un sustrato para que reaccione con el marcador en casos donde el marcador requiera un sustrato para producir la señal; por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

10 En varias modalidades, el ensayo es un ensayo para determinar el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT. El ensayo puede comprender: un primer reactivo y un segundo reactivo para que reaccionen con la muestra biológica si la muestra biológica
15 comprende el anticuerpo anti-vinculina y/o el anticuerpo anti-CDT (si no se encuentran presentes los anticuerpos anti-vinculina, entonces el primer reactivo no reaccionará en la muestra biológica, pero aún así el primer reactivo se encuentra presente en el ensayo; o si no se encuentran
20 presentes los anticuerpos anti-CDT, entonces el segundo reactivo no reaccionará en la muestra biológica, pero aún así el segundo reactivo se encuentra presente en el ensayo), un tercer reactivo y un cuarto reactivo (por ejemplo, anticuerpos secundarios) para que reaccionen con

el anticuerpo anti-vinculina, el anticuerpo anti-CDT, o un tercer reactivo para que reaccione con el primer reactivo, y cuarto reactivo para que reaccione con el segundo reactivo, y un sustrato. En varias modalidades, el primer
5 reactivo es vinculina o un fragmento de este. En varias modalidades, el segundo reactivo es CDT o un fragmento de este. En varias modalidades, el tercer reactivo y/o el cuarto reactivo comprenden un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-
10 vinculina. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluróforo, un punto cuántico, una enzima, peróxido de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En
15 varias modalidades, el marcador es una enzima que reaccionará con el sustrato. En varias modalidades, el primer reactivo se encuentra en una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato cromogénico (por
20 ejemplo, 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB), 3,3'-Diaminobencidina (DAB), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). En varias modalidades, el sustrato es un sustrato quimioluminiscente (por ejemplo, ECL).

En varias modalidades, el ensayo comprende un primer reactivo para que reaccione con el anticuerpo anti-vinculina y un segundo reactivo para que reaccione con el anticuerpo anti-CDT. En varias modalidades, el primer reactivo y/o el segundo reactivo comprenden un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-vinculina. En varias modalidades, el marcador es un radiomarcador, un cromóforo, un fluoróforo, un punto cuántico, una enzima, peróxido de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), una fosfatasa alcalina (AP, por sus siglas en inglés), biotina o una combinación de estos. En varias modalidades, el reactivo se encuentra en una fase sólida (por ejemplo, placa, placa de múltiples pocillos). En varias modalidades, el ensayo comprende además un sustrato para que reaccione con el marcador en casos donde el marcador requiera un sustrato para producir la señal; por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

20

En varias modalidades, la detección del nivel de anticuerpo anti-vinculina o el nivel de anticuerpo anti-CDT se realiza en una muestra biológica obtenida del sujeto. En otra modalidad, la detección del nivel de anticuerpo anti-

vinculina o el nivel de anticuerpo anti-CDT se realiza en una muestra de sangre, suero o heces obtenida del sujeto. El experto en la técnica entenderá rápidamente los métodos y sistemas que pueden utilizarse para detectar el nivel de anticuerpo anti-vinculina o el nivel de anticuerpo anti-CDT. Estos métodos y sistemas incluyen de modo no taxativo ELISA, inmunohistoquímica, citometría de flujo, hibridación con fluorescencia *in situ* (FISH), radioinmunoensayos y purificación por afinidad.

10

En varias modalidades, se utiliza vinculina, la SEQ ID NO: 7 o un fragmento de estas (tal como se describió anteriormente) se utiliza como un reactivo (por ejemplo, recolector, trampa) para unir los anticuerpos anti-vinculina (si se encuentran presentes).

15

En determinadas modalidades, la detección del nivel de un anticuerpo que se une específicamente a la vinculina, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta puede realizarse mediante el contacto de la vinculina, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta a la muestra biológica obtenida del sujeto para aislar el anticuerpo que se une específicamente a la vinculina, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta.

20

En varias modalidades, el fragmento de vinculina o SEQ ID NO: 7 puede ser de los fragmentos que se describen en la presente. A modo de ejemplo, una matriz de afinidad que comprende vinculina, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta
5 puede unirse a un soporte sólido; puede ponerse en contacto la muestra biológica con la matriz de afinidad para producir un complejo de matriz de afinidad/anticuerpo (si el anticuerpo se encuentra presente); el complejo de matriz de afinidad/anticuerpo puede separarse de resto de la
10 muestra biológica; y el anticuerpo puede liberarse de la matriz de afinidad. En otro ejemplo, un marcador (por ejemplo, marcador fluorescente) puede colocarse en la vinculina, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta; la vinculina marcada, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta
15 puede ponerse en contacto con una muestra biológica para permitir que el anticuerpo (si se encuentra presente) se una específicamente a la vinculina marcada, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta. En varias modalidades, la vinculina marcada, SEQ ID NO: 7 o un fragmento de esta puede
20 separarse y analizarse en busca de su unión al anticuerpo.

En varias modalidades, CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, se utiliza como un reactivo (por ejemplo,

recolector, trampa) para unir los anticuerpos anti-CDT (si se encuentran presentes).

En determinadas modalidades, la detección del nivel de un anticuerpo que se une específicamente a CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, o un fragmento de estos; se puede realizar al poner en contacto CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describió en la presente, con la muestra biológica obtenida del sujeto para aislar el anticuerpo que se une específicamente a CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas tal como se describe en la presente.

15

En varias modalidades, los fragmentos de CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 son aquellos que se describen en la presente. A modo de ejemplo, una matriz de afinidad que comprende CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, puede unirse a un soporte sólido; puede ponerse en contacto la muestra biológica con la matriz de afinidad para producir un complejo de matriz de afinidad-anticuerpo (si el anticuerpo se encuentra presente); el complejo de

20

matriz de afinidad-anticuerpo puede separarse de resto de la muestra biológica; y el anticuerpo puede liberarse de la matriz de afinidad. En otro ejemplo, un marcador (por ejemplo, marcador fluorescente) puede colocarse en CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, o un fragmento de estos; las CDT, CdtA, CdtB, CdtC marcadas, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, pueden ponerse en contacto con una muestra biológica para permitir que el anticuerpo (si se encuentra presente) se una específicamente a las CDT, CdtA, CdtB, CdtC, marcadas, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas tal como se describe en la presente. En varias modalidades, las CDT, CdtA, CdtB, CdtC marcadas, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 o un fragmento de estas, tal como se describe en la presente, puede separarse y analizarse en busca de su unión al anticuerpo.

En varias modalidades, el ensayo comprende agregar vinculina o un fragmento de esta, tal como se describe en la presente, y CdtB o un fragmento de esta, tal como se describe en la presente, a una muestra biológica de un paciente que necesita una determinación con respecto a IBS, donde los anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB (si se

encuentran presentes en la muestra biológica) se unen específicamente a la vinculina o fragmento de esta y a la CdtB o fragmento de esta en la muestra biológica; medir los niveles de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CdtB en la muestra biológica; e identificar si el sujeto tiene IBS si los niveles de unión de los anticuerpos de anti-vinculina es mayor que los niveles de unión de los anticuerpos anti-CdtB.

10 Selección de la terapia

Métodos

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método para seleccionar una terapia para el IBS, que comprende: proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico con respecto al IBS; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT; y seleccionar una terapia para el IBS

cuando se determina la presencia del IBS.

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método para seleccionar una terapia para el IBS:
5 proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre IBS e IBD; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos
10 anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT; y seleccionar una terapia para el IBS cuando se determina la presencia del IBS.

15

El estudio de las muestras biológicas se puede realizar tal como se describe en la presente.

En varias modalidades, se determina que el sujeto tiene IBS
20 si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT. En varias modalidades, el

grado del nivel de anticuerpos anti-vinculina que es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente se puede describir el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anticuerpos anti-vinculina y anti-CDT

En determinadas modalidades, la densidad óptica (OD) se utiliza para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT. Por lo tanto, cuando la diferencia entre la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD de los anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o 0,6 se determina que el sujeto tiene IBS. En determinadas modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, el grado de $OD_V - OD_{CDT}$ proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente

se puede describir el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT

- 10 La selección de un tratamiento tal como se utiliza en la presente, incluye, de modo no taxativo, la selección, elección, prescripción, consejo, recomendación, instrucción o asesoramiento al sujeto con respecto al tratamiento.
- 15 En varias modalidades, el método comprende además administrar la terapia para tratar el IBS.

En varias modalidades, la terapia seleccionada o administrada es una terapia tal como se describe en la presente. En varias modalidades, la terapia seleccionada o administrada es una terapia disponible en el momento de la presente invención. En varias modalidades, la terapia disponible comprende además administrar el transcurso de una terapia con antibióticos para tratar el IBS. En varias

modalidades, la terapia es una terapia para el IBS disponible en la técnica previa. En varias modalidades, la terapia disponible es una terapia experimental para el IBS, por ejemplo, una terapia sometida a la aprobación de la FDA para el tratamiento del IBS.

En varias modalidades, el estudio de la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT se puede realizar tal como se describe en la presente.

En varias modalidades, el sujeto puede ser un sujeto que presenta uno o más síntomas del IBS; por ejemplo, constipación, diarrea, distensión abdominal, dolor abdominal.

En varias modalidades, el IBS puede ser C-IBS, D-IBS, A-IBS (también conocido por M-IBS). En varias modalidades, el IBS es IBS grave. En varias modalidades, el IBS es C-IBS grave, D-IBS grave o A-IBS grave.

En varias modalidades, los anticuerpos anti-CDT son anticuerpos are anti-CdtB.

Los ejemplos de antibióticos incluyen, de modo no taxativo, aminoglicósidos (por ejemplo, amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomicina, tobramicina, paromomcina), ansamicinas (por ejemplo, 5 geldanamicina, herbimicina), carbacefem (por ejemplo, loracarbef), carbapenemas (por ejemplo, ertapenem, doripenem, imipenem, cilastatina, meropenem), cefalosporinas (por ejemplo, primera generación: cefadroxil, cefazolina, cefalotín o cefalotina, cefalexina; 10 segunda generación: cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima; tercera generación: cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona; cuarta generación: cefepima; quinta 15 generación: ceftobiprole), glycopeptides (por ejemplo, teicoplanina, vancomicina), macrólidos (por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina), monobactamas (por ejemplo, aztreonam), 20 penicilinas (por ejemplo, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina, ticarcilina), polipéptidos antibióticos (por ejemplo, bacitracina,

colistina, polimixina b), quinolonas (por ejemplo, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina), rifamicinas (por ejemplo, rifampicina o
5 rifampina, rifabutina, rifapentina, rifaximina), sulfonamidas (por ejemplo, mafenida, prontosil, sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilamida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-trimoxazol, "tmp-smx"), y tetraciclinas (por ejemplo,
10 demeclociclina, doxyciclina, minociclina, oxytetraciclina, tetraciclina) así como arsfenamina, cloramfenicol, clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, isoniazid, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida,
15 combinación de quinupristina/dalfopristina, y tinidazol, o una combinación de estos. En varias modalidades, los antibióticos son una combinación de rifaximina y neomicina. En varias modalidades, los antibióticos son una combinación de rifaximina y doxiciclina. En varias modalidades, los
20 antibióticos son una combinación de rifaximina y metronidazol.

En varias modalidades, los antibióticos son antibióticos no absorbibles. Los ejemplos de antibióticos no absorbibles

incluyen, de modo no taxativo, rifaximina, neomicina, Bacitracina, vancomicina, teicoplanina, ramoplanina y paramomicina.

5 Los ejemplos de terapias para IBS adicionales incluyen suplementos de fibras (por ejemplo, METAMUCIL, CITRUCEL), laxantes osmóticos (por ejemplo, leche de magnesia, polietilenglicol), medicamentos antidiarreicos (por ejemplo, loperamida (IMODIUM), aglutinantes del ácido biliar (e.g., cholestyramine (PREVALITE), colestipol (COLESTID) o colesevelam (WELCHOL), medicamentos anticolinérgicos y antispasmódicos (por ejemplo, hiosciamina (LEVSIN) y diciclomina (BENTYL), medicamentos antidepresivos (por ejemplo, antidepresivo tricíclico (por ejemplo, imipramina (TOFRANIL) o nortriptilina (PAMELOR)) o un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (SSRI) (por ejemplo, fluoxetina (PROZAC, SARAFEM) o paroxetina (PAXIL)), Alosetrona (LOTIRONEX) y Lubiprostona (AMITIZA). Las terapias recientes para el tratamiento de IBS con constipación incluyen secretagogos tales como lubiprostona (un activador del canal de cloruro (AMITIZA)) y linaclotida (un agonista de la guanilato ciclasa C (LINZESS)).

Dilución de las muestras biológicas y antígenos

En varias modalidades, cuando se determina la presencia o un nivel de anticuerpos anti-vinculina, se utiliza la proteína vinculina o un fragmento de esta, tal como se describe en la presente, como el antígeno a alrededor de 1,2 µg/ml de concentración. En otras modalidades, la concentración puede ser de alrededor de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 o 2,0 µg/ml de concentración.

En varias modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:16 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8, 1:9, 1:10; 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17; 1:18, 1:19, 1:20, 1:22, 1:24, 1:26, 1:28, 1:30, 1:32, 1:34, 1:36, 1:38, 1:40, 1:42, 1:44, 1:46 o 1:48 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8 a 1:48 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos

anti-vinculina.

En varias modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:32 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8, 1:10, 1:12; 1:16, 1:20, 1:24, 1:30, 1:36, 1:48 o 1:64 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8 a 1:64 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:5 a 1:10, 1:10-1:25, 1:25-1:50, 1:50-1:100, 1:100-1:200, 1:200-1-3:00, 1:300-1:400, 1:400-1:500, 1:500-1:600 o 1:600-1:100 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina.

20

En varias modalidades, cuando se determina la presencia o un nivel de anticuerpos anti-CdtB, se utiliza la proteína CdtB o un fragmento de esta, tal como se describe en la presente, como el antígeno a alrededor de 1,2 µg/ml de

concentración. En otras modalidades, la concentración puede ser de alrededor de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 o 2,0 µg/ml de concentración.

5

En varias modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:16 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CDT. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8, 1:9, 1:10; 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17; 1:18, 1:19, 1:20, 1:22, 1:24, 1:26, 1:28, 1:30, 1:32, 1:34, 1:36, 1:38, 1:40, 1:42, 1:44, 1:46 o 1:48 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:8 a 1:48 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB.

20 En varias modalidades, se utiliza una dilución de 1:512 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:128, 1:256, 1:768 o 1:1024 de la muestra

biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:100, 1:150, 1:200, 1:250, 1:300, 1:350, 1:400, 1:500, 1:550; 1:600, 1:650, 1:700, 1:750, 1:800, 1:850, 1:900, 1:950 o 1:1000 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:100 - 1:1000 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB. En otras modalidades, se utiliza una dilución de alrededor de 1:5 a 1:10, 1:10-1:25, 1:25-1:50, 1:50-1:100, 1:100-1:200, 1:200-1:300, 1:300-1:400, 1:400-1:500, 1:500-1:600 o 1:600-1:100 de la muestra biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB.

En varias modalidades, si la dilución de la muestra biológica es diferente para la determinación del nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CdtB, y se utiliza la OD, entonces habrá un ajuste en la diferencia en OD.

Tratamientos

Varias modalidades proporcionan métodos para el tratamiento del IBS.

5

En varias modalidades, el método puede comprender medir para determinar la presencia de anticuerpos anti-vinculina que es mayor que la presencia de anticuerpos anti-CDT en una muestra biológica obtenida de un sujeto; y administrar
10 al sujeto una terapia para el IBS.

En varias modalidades el método puede comprender proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico con respecto al IBS; analizar la
15 muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la presencia del IBS cuando el nivel de
20 anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT; y administrar una terapia para el IBS cuando se determina la presencia del IBS.

En varias modalidades el método puede comprender

proporcionar una muestra biológica de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la IBD; analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos de anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT; y administrar una terapia para el IBS cuando se determina la presencia del IBS.

El estudio de las muestras biológicas se puede realizar tal como se describe en la presente.

En varias modalidades, se determina que el sujeto tiene IBS si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT. En varias modalidades, el grado del nivel de anticuerpos anti-vinculina que es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT proporciona un valor predictivo positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente se puede describir el porcentaje en relación

con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el porcentaje en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS
5 adicionales con respecto a pacientes con IBD para determinar sus niveles de anticuerpos anti-vinculina y anti-CDT

En determinadas modalidades, la densidad óptica (OD) se
10 utiliza para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT. Por lo tanto, cuando la diferencia entre la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD de los anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades,
15 cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 o 0,6 se determina que el sujeto tiene IBS. En determinadas modalidades, cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS. En varias modalidades, el grado de $OD_V - OD_{CDT}$ proporciona un valor predictivo
20 positivo con respecto a la presencia de IBS. En la presente se puede describir el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo. En algunas modalidades, el valor de $OD_V - OD_{CDT}$ en relación con el valor predictivo positivo se puede calcular mediante el examen de pacientes con IBS

adicionales con respecto a controles o de pacientes con IBS
adicionales con respecto a pacientes con IBD para
determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos
anti-CDT

5

En varias modalidades, la terapia administrada es una
terapia tal como se describe en la presente. En varias
modalidades, la terapia administrada es una terapia
disponible en el momento de la presente invención. En
10 varias modalidades, la terapia disponible comprende además
administrar el transcurso de una terapia con antibióticos
para tratar el IBS. En varias modalidades, la terapia es
una terapia disponible en la técnica previa.

15 En varias modalidades, el estudio de la muestra biológica
para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un
nivel de anticuerpos anti-CDT se puede realizar tal como se
describe en los métodos y sistemas de la presente
invención.

20

En varias modalidades, el sujeto puede ser un sujeto que
presenta uno o más síntomas del IBS; por ejemplo,
constipación, diarrea, distensión abdominal, dolor
abdominal.

En varias modalidades, el IBS puede ser C-IBS, D-IBS, A-IBS (también conocido por M-IBS). En varias modalidades, el IBS es IBS grave. En varias modalidades, el IBS es C-IBS grave, 5 D-IBS grave o A-IBS grave.

En varias modalidades, los anticuerpos anti-CDT son anticuerpos are anti-CdtB.

10 En varias modalidades, el método puede comprender proporcionar un agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina y administrar el agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina a un sujeto que lo necesita para neutralizar o inhibir el 15 anticuerpo anti-vinculina.

En varias modalidades, el agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina es un polipéptido capaz de unirse al anticuerpo anti-vinculina y neutralizar o inhibir 20 su función.

En varias modalidades, el agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina es un polipéptido capaz de unirse a un sitio de unión al antígeno del anticuerpo anti-

vinculina. Si bien no se pretende que se limiten a una teoría en particular, los inventores creen que estos polipéptidos pueden servir como señuelos para el anticuerpo anti-vinculina. En varias modalidades, los polipéptidos son pentapéptidos CDT tal como se describió en Lucchese y Delfino (*Developing an anti-Campylobacter jejuni vaccine*. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2012; Early Online: 1-6), que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia como se se estableciera por completo.

En varias modalidades, el agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina es una molécula pequeña capaz de unirse al anticuerpo anti-vinculina y neutralizar o inhibir su función.

En varias modalidades, el agente neutralizante o inhibidor del anticuerpo anti-vinculina es una pequeña molécula capaz de unirse a un sitio de unión al antígeno del anticuerpo anti-vinculina.

En varias modalidades, el método puede comprender proporcionar un agente para cambiar la vinculina de un estado inactivo a un estado activo y administrar el agente

a un sujeto que lo necesite para tratar el IBS.

En varias modalidades, el agente para cambiar la vinculina de un estado inactivo a un estado activo es una molécula
5 pequeña capaz de activar la vinculina.

En varias modalidades, el método puede comprender proporcionar un agonista de vinculina y administrar el agonista de vinculina a un sujeto que lo necesita para
10 tratar el IBS. En determinadas modalidades, el agonista de vinculina puede ser un péptido activador de vinculina (VAP) tal como se describió en Nelson et ál., *Vinculin Activators Target Integrins from Within the Cell to Increase Melanoma Sensitivity to Chemotherapy*, Mol Cancer Res Junio 2011 9;
15 712 (published online April 1, 2011), que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia como si se estableciera por completo. En varias modalidades, los VAP pueden ser los residuos 500-633 de la proteína invasina IpaA de *Shigella*.

20

La secuencia de proteínas de IpaA de *Shigella*:

MHNVNNTQAP	TFLYKATSPS	STEYSELKSK	ISDIHSSQTS	LKTPASVSEK
ENFATSFNQK	CLDFLFSSSG	KEDVLRISIYS	NSMNAYAKSE	ILEFSNVLYS

	LVHQNGLNFE	NEKGLQKIVA	QYSELIKDK	LSQDSAFGPW	SAKNKKLHQL
	RQNIHRLAL	LAQQHTSGEA	LSLGQKLLNT	EVSSFIKNNI	LAELKLSNET
	VSSLKLDDLV	DAQAKLAFDS	LRNQRKNTID	SKGFGIGKLS	RDLNTVAVFP
	ELLRKVLNDI	LEDIKDSHPI	QDGLPTPPED	MPDGGPTPGA	NEKTSQFVIH
5	YHINNDNRTY	DNRVFDNRVY	DNSYHENPEN	DAQSPTSQTN	DLLSRNGNSL
	LNPQRALVQK	VTSVLPHSIS	DTVQTFANNS	ALEKVFNHTP	DNSDGIGSDL
	LTSSQERSA	NNSLSRGHRP	LNIQNSSTTP	PLHPEGVTSS	NDNSSDTTKS
	SASLSHRVAS	QINKFNSNTD	SKVLQTDFLS	RNGDTYLTRE	TIFEASKKVT
	NSLSNLISLI	GTKSGTQERE	LQEKSKDITK	STTEHRINNK	LKVTDANIRN
10	YVTETNADTI	DKNHAIYEKA	KEVSSALSKV	LSKIDDTSAE	LLTDDISDLK
	NNNDITAENN NIYKAAKDVT TSLSKVLKNI NKD (SEQ ID NO:8)				

En varias modalidades, el método puede comprender proporcionar un activador de vinculina y administrar el

15 activador de vinculina a un sujeto que lo necesita para tratar el IBS. En determinadas modalidades, el activador de vinculina puede ser talina, f-actina, a-catenina o combinaciones de estas.

20 En varias modalidades, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un excipiente farmacéuticamente aceptable junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de los agentes descritos en la presente. "Excipiente farmacéuticamente aceptable"

significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que en general es segura, no tóxica y deseable, e incluye excipientes que son aceptables tanto para uso veterinario como para uso farmacéutico humano. Dichos excipientes pueden ser sólidos, líquidos, semisólidos o, en el caso de una composición en aerosol, gaseosos.

En varias modalidades, las composiciones farmacéuticas de conformidad con la invención se pueden formular para su administración a través de cualquier vía de administración. "Vía de administración" puede hacer referencia a cualquier pasaje de administración conocido en la técnica que incluye, de modo no taxativo, aerosol, vía nasal, oral, transmucosa, transdérmica o parenteral. La administración "transdérmica" puede lograrse utilizando una crema o ungüento tópico o por medio de un parche transdérmico. Mediante la vía de administración, las composiciones farmacéuticas a base de los compuestos de acuerdo con la invención pueden formularse para tratar la piel y membranas mucosas y se encuentran en forma de ungüentos, cremas, leches, pomadas, polvos, almohadillas impregnadas, soluciones, geles, sprays, lociones o suspensiones. También puede encontrarse en forma de microesferas o nanoesferas o

vesículas de lípidos o vesículas de polímeros o parches de polímeros e hidrogeles que permiten una liberación controlada. Estas composiciones por vía tópica pueden encontrarse en forma anhidro o en forma acuosa, según la

5 indicación clínica. "Parenteral" hace referencia a una vía de administración que generalmente se encuentra asociada a la inyección, que incluye intraorbital, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardiaca, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar,

10 intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterina, intravenosa, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, transmucosal o transtraqueal. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden encontrarse en forma de soluciones o suspensiones para infusión o para

15 inyección, o como polvos liofilizados. A través de la vía enteral, las composiciones farmacéuticas pueden encontrarse en forma de comprimidos, cápsulas de gel, comprimidos recubiertos con azúcar, jarabes, suspensiones, soluciones, polvos, gránulos, emulsiones, microesferas o nanoesferas o

20 vesículas de lípidos o vesículas de polímero que permiten la liberación controlada. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden encontrarse en forma de soluciones o suspensiones para infusión o para inyección.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también pueden contener cualquier portador farmacéuticamente aceptable. "Portador farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en la presente, hace
5 referencia a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable que se encuentra implicado en llevar o transportar un compuesto de interés de un tejido, órgano o parte del cuerpo a otro tejido, órgano o parte del cuerpo. Por ejemplo, el portador puede ser un relleno
10 líquido o sólido, diluyente, excipiente, solvente o material encapsulante, o una combinación de estos. Cada componente del portador debe ser "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de que debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación. También debe ser
15 adecuado para su uso en contacto con todo tejido u órgano con el que pueda entrar en contacto, es decir que no debe suponer un riesgo de toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad o cualquier otra complicación que supere en forma excesiva sus ventajas terapéuticas.

20

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también se pueden encapsular, comprimir o preparar en una emulsión o jarabe para la administración oral. Los portadores sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables

se pueden agregar para mejorar o estabilizar la composición o para facilitar la preparación de la composición. Los portadores líquidos incluyen jarabe, aceite de maní, aceite de oliva, glicerina, solución salina, alcoholes y agua. Los portadores sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio, dihidrato, terra alba, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, acacia, agar o gelatina. El portador también puede incluir un material de liberación sostenida tal como gliceril monoestearato o gliceril diestearato, solo o con una cera.

Las preparaciones farmacéuticas se elaboran siguiendo técnicas convencionales de farmacia que implican molienda, mezcla, granulación y compresión, cuando sea necesario, para formas de comprimidos, o molienda, mezcla y relleno para formas de cápsula de gelatina dura. Cuando se utiliza un portador líquido, la preparación se encontrará en la forma de jarabe, elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. Dicha formulación líquida se puede administrar directamente por vía oral o como relleno de una cápsula de gelatina blanda.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden administrar en una cantidad terapéuticamente

eficaz. La cantidad terapéuticamente eficaz exacta es aquella cantidad de la composición que proveerá los resultados más eficaces en términos de eficacia de tratamiento en un sujeto dado. Esta cantidad variará en
5 función de una variedad de factores que incluyen, de modo no taxativo, las características del compuesto terapéutico (que incluyen actividad, farmacocinética, farmacodinámica y biodisponibilidad), el estado fisiológico del sujeto (que incluye edad, sexo, tipo y etapa de la enfermedad, estado
10 físico general, capacidad de respuesta a una dosis dada y tipo de medicación), la naturaleza del portador o portadores farmacéuticamente aceptables en la formulación y la vía de administración. Un experto en la técnica clínica y farmacológica será capaz de determinar una cantidad
15 terapéuticamente eficaz a través de experimentación rutinaria, por ejemplo, mediante el control de la respuesta de un sujeto a la administración de un compuesto o el consiguiente ajuste de la dosis. Por pautas adicionales, véase Remington: The Science and Practice of Pharmacy
20 (Gennaro ed. 20.^a edición, Williams & Wilkins PA, EUA) (2000).

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención reivindicada y no se interpretarán como limitantes del alcance de la invención. En la medida en que se mencionan los materiales específicos, es meramente con fines ilustrativos y no se pretende limitar la invención. Un experto en la técnica puede desarrollar medios o reactivos equivalentes sin poner en práctica la capacidad inventiva y sin separarse del alcance de la invención.

10 *Ejemplo 1 - Medición de los anticuerpos anti-vinculina y
anti-CDTB*

ETAPA 1 - Inmovilización del antígeno: Se recubre cada placa de 96 pocillos durante la noche (>16 horas) a 4 °C en una caja humedecida con 100 µl/pocillo de antígeno (vinculina o CdtB) a 1,2 µg/ml en BBS, el pH aproximado es de 8,2. Se recubre un pocillo adicional, con cada muestra solo con BBS para determinar los antecedentes no específicos que se deben al suero que se sustraerá del pocillo recubierto con antígeno.

ETAPA 2 - Lavado #1 - Los pocillos se lavaron 3 veces con aproximadamente 250 µl/pocillo de PBS-T al 0,05 %

ETAPA 3 - Bloqueo - Los pocillos se bloquean con 200 μ l/pocillo de BSA al 3 % en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente en una caja humedecida.

5 ETAPA 4 - Preparación y distribución del suero - los sueros se diluyen hasta una dilución de 1:16 utilizando BSA al 3 % en PBS. Se agregó 100 μ l/pocillo de suero. Se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en la caja humedecida.

10

ETAPA 5 - Lavado #2 - Los pocillos se lavaron 3 veces con aproximadamente 250 μ l/pocillo de PBS-T al 0,05 %

ETAPA 6 - Creación y distribución de solución secundaria -
15 se agregaron 100 μ l/pocillo de un anticuerpo secundario 1:10.000 conjugado a HRP diluido en BSA al 3 % en PBS. Se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en la caja humedecida.

20 ETAPA 7 - Lavado #3 - Los pocillos se lavaron 6 veces con aproximadamente 250 μ l/pocillo de PBS-T al 0,05 %

ETAPA 8 - Detección - Se agregó 100 μ l/pocillo de solución de sustrato de TMB (Ultra TMB de 1 etapa - sustrato de

ELISA, Pierce, 34028). La placa se leyó inmediatamente en un lector de placas (BioTek Synergy HT) utilizando un protocolo de absorbancia a 370 nm; y se permitió que se desarrollara durante 90 min (el ensayo se estancó a
 5 alrededor de los 60 min.).

Ejemplo 2

Se tomaron muestras de sangre de los siguientes sujetos y
 10 se analizaron para determinar los niveles de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDTB. Sujetos saludables: 26 sujetos consecutivos quienes después de llenar un cuestionario no presentaban síntomas intestinales. Sujetos con IBD: 30 sujetos (15 CD y 15 UC). Se demostró IBD
 15 mediante endoscopia sin terapia inmunomoduladora. Sujetos con IBS: 162 sujetos (100 de Beth Israel y 62 de Cedars-Sinai); criterio de Rome positivo. Los resultados se muestran en las Tablas a continuación. PPV = valor predictivo positivo

20

Tabla 1. Diferencia entre OD_V y OD_{CDTB}

	En comparación con saludables			En comparación con IBD		
Umbral de OD _V -OD _{CDT}	Sensibilidad	Especificidad	PPV	Sensibilidad	Especificidad	PPV
>0,6	20	100	100	20	93	94

5

10 Los resultados se analizaron adicionalmente para el control
de la IBD cuando se utilizó un supuesto de que 10 % de los
pacientes con IBD tiene IBS. Se midió la tasa de anticuerpo
positivo en el IBS y se aplicó al 10 % de los pacientes con
la IBD (es decir, se los quitó del análisis.

15

Tabla 2A y 2B. Control para el IBS en pacientes con IBD

20

Tabla 2A.

vinculina	En comparación con IBD		
Umbral de OD	Sensibilidad	Especificidad	PPV
>1,0	30	85	92
>0,8	59	70	92

5

Tabla 2B.

10		En comparación con IBD		
	Umbral de $OD_V - OD_{CDT}$	Sensibilidad	Especificidad	PPV
	>0,6	20	96	97
	>0,2	41	93	97
15	>0,1	48	89	96
	>0	48	89	96

Varias modalidades de la invención se describen
 anteriormente en la Descripción Detallada. Mientras estas
 20 descripciones describen directamente las modalidades
 anteriores, se entenderá que los expertos en la técnica
 pueden concebir modificaciones y/o variaciones a las
 modalidades que se muestran y describen en la presente.
 Cualesquiera modificaciones o variaciones que estén

comprendidas en el ámbito de esta descripción pretenden estar incluidas allí también. Salvo que se observe lo contrario, los inventores pretenden que a las palabras y frases en la memoria descriptiva y reivindicaciones se les
5 adjudique los significados comunes y habituales para los expertos en la técnica de la/s técnica/s aplicable/s.

La descripción anterior de varias modalidades de la invención conocida para el solicitante que ahora presenta
10 la solicitud fue presentada y se pretende para los fines de la ilustración y descripción. La presente descripción no pretende ser exhaustiva ni limitar la invención a la forma precisa descrita y muchas modificaciones y variaciones son posibles en vistas de las enseñanzas anteriores. Las
15 modalidades descritas sirven para explicar los principios de la invención y su aplicación práctica y para permitirle a otros expertos en la técnica usar la invención en varias modalidades y con varias modificaciones adecuadas para el uso particular contemplado. Por lo tanto, se pretende que
20 la invención no esté limitada a las modalidades particulares descritas para realizar la invención.

Mientras se han mostrado y descrito modalidades particulares de la presente invención, será obvio para los

expertos en la técnica que, en función de las enseñanzas de la presente, se pueden realizar cambios y modificaciones sin separarse de esta invención y sus aspectos más amplios, y, por lo tanto, las reivindicaciones adjuntas comprenderán
5 en su alcance todos dichos cambios y modificaciones conforme al espíritu y alcance verdaderos de esta invención. Los expertos en la técnica entenderán que en general los términos usados en la presente pretenden generalmente ser términos "abiertos" (por ejemplo, el
10 término "incluye" se interpretará como "incluye de modo no taxativo", el término "tiene" se interpretará como "tiene al menos", etc.).

REIVINDICACIONES

SE REIVINDICA LO SIGUIENTE:

- 5 1. Un método para diagnosticar el IBS, y opcionalmente
seleccionar un tratamiento para el IBS u opcionalmente
administrar una terapia para el IBS, que comprende
proporcionar una muestra biológica de un sujeto que
necesita un diagnóstico con respecto al IBS;
- 10 analizar la muestra biológica para determinar un nivel de
anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-
CDT;
determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos
anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; y
- 15 determinar la presencia del IBS cuando el nivel de
anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de
anticuerpos anti-CDT.
2. Un método para distinguir entre el IBS y la IBD, y
- 20 opcionalmente seleccionar un tratamiento para el IBS u
opcionalmente administrar una terapia para el IBS, que
comprende
proporcionar una muestra biológica de un sujeto que
necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la

IBD;

analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; y

- 5 determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT, o determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT.

10

3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el estudio de la muestra biológica comprende:

poner en contacto la vinculina o un fragmento de esta con la muestra biológica;

- 15 poner en contacto la CdtB o un fragmento de esta con la muestra biológica, donde los anticuerpos anti-vinculina y/o anti-CdtB se unen específicamente a la vinculina o el fragmento de esta y/o la CdtB o el fragmento de esta en la muestra biológica; y

- 20 medir los niveles de anticuerpos anti-vinculina y los anticuerpos anti-CdtB en la muestra biológica.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde se determina que el sujeto tiene IBS si el nivel de

anticuerpos anti-vinculina es 25 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,
5 donde se utiliza la densidad óptica (OD, por sus siglas en inglés) para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT, y cuando la diferencia de la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_v) y la OD of anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se determina que el sujeto
10 tiene IBS.

6. El método de la reivindicación 5, donde cuando $OD_v - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS.
15

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a la vinculina.

20 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de

homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina o la SEQ ID NO:7.

5 9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con
10 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina o la SEQ ID NO:7.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,
15 donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la subunidad CdtB de CDT.

11. El método de la reivindicación 10, donde la secuencia de aminoácidos de CdtB es la toxina distensora citoletal B
20 de *Campylobacter jejuni* (SEQ ID NO: 5).

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con la SEQ ID NO: 6.

96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 5.

13. El método de la reivindicación 10, donde la secuencia de aminoácidos de CdtB es la toxina distensora citoletal B
5 de *Campylobacter coli* (SEQ ID NO: 1).

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1.
10

15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos de la CdtB.
15

20 16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que comprende además seleccionar un tratamiento de IBS para el sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,

que comprende además administrar una terapia para el IBS al sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

18. Un sistema para diagnosticar el IBS, que comprende:

5 una muestra biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico con respecto al IBS; y

uno o más ensayos para detectar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para diagnosticar el IBS.

10

19. Un sistema para distinguir entre el IBS y la IBD, que comprende:

una muestra biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la IBD; y

15 uno o más ensayos para detectar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para distinguir entre el IBS y la IBD.

20. El sistema de cualquiera de las reivindicaciones 18-

20 19, que comprende además una máquina para determinar una presencia de IBS cuando el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

21. El sistema de cualquiera de las reivindicaciones 18-

20, que comprende además un elemento de salida o de visualización para visualizar si el paciente tiene el IBS, y/o para visualizar si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

RESUMEN

La presente invención describe métodos, ensayos y sistemas para diagnosticar, seleccionar y tratar el síndrome del
5 intestino irritable (IBS) en función del nivel de anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB en un sujeto. El IBS se puede distinguir de la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) utilizando los métodos, ensayos y sistemas que se describen en la presente.

REIVINDICACIONES

SE REIVINDICA LO SIGUIENTE:

- 5 1. Un método para diagnosticar el IBS, y opcionalmente
seleccionar un tratamiento para el IBS u opcionalmente
administrar una terapia para el IBS, que comprende
proporcionar una muestra biológica de un sujeto que
necesita un diagnóstico con respecto al IBS;
- 10 analizar la muestra biológica para determinar un nivel de
anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-
CDT;
determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos
anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT; y
- 15 determinar la presencia del IBS cuando el nivel de
anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de
anticuerpos anti-CDT.
2. Un método para distinguir entre el IBS y la IBD, y
- 20 opcionalmente seleccionar un tratamiento para el IBS u
opcionalmente administrar una terapia para el IBS, que
comprende
proporcionar una muestra biológica de un sujeto que
necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la

IBD;

analizar la muestra biológica para determinar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT; y

- 5 determinar la presencia del IBS cuando el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT, o determinar la diferencia entre el nivel de anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-CDT.

10

3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el estudio de la muestra biológica comprende:

poner en contacto la vinculina o un fragmento de esta con la muestra biológica;

- 15 poner en contacto la CdtB o un fragmento de esta con la muestra biológica, donde los anticuerpos anti-vinculina y/o anti-CdtB se unen específicamente a la vinculina o el fragmento de esta y/o la CdtB o el fragmento de esta en la muestra biológica; y

- 20 medir los niveles de anticuerpos anti-vinculina y los anticuerpos anti-CdtB en la muestra biológica.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde se determina que el sujeto tiene IBS si el nivel de

anticuerpos anti-vinculina es 25 % mayor o más que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,
5 donde se utiliza la densidad óptica (OD, por sus siglas en inglés) para medir el nivel de anticuerpos anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT, y cuando la diferencia de la OD de los anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la OD of anticuerpos anti-CDT (OD_{CDT}) es mayor que 0, se determina que el sujeto
10 tiene IBS.

6. El método de la reivindicación 5, donde cuando $OD_V - OD_{CDT}$ es mayor que 0,2, se determina que el sujeto tiene IBS.
15

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a la vinculina.

20 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina es un anticuerpo que se une específicamente a un péptido con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de

homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina o la SEQ ID NO:7.

5 9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-vinculina se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con
10 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos contiguos de vinculina o la SEQ ID NO:7.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,
15 donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a la subunidad CdtB de CDT.

11. El método de la reivindicación 10, donde la secuencia de aminoácidos de CdtB es la toxina distensora citoletal B
20 de *Campylobacter jejuni* (SEQ ID NO: 5).

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con

96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 5.

13. El método de la reivindicación 10, donde la secuencia de aminoácidos de CdtB es la toxina distensora citoletal B
5 de *Campylobacter coli* (SEQ ID NO: 1).

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a una secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1.
10

15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un polipéptido que comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 residuos de la CdtB.
15

20 16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que comprende además seleccionar un tratamiento de IBS para el sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2,

que comprende además administrar una terapia para el IBS al sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

18. Un sistema para diagnosticar el IBS, que comprende:

5 una muestra biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico con respecto al IBS; y

uno o más ensayos para detectar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para diagnosticar el IBS.

10

19. Un sistema para distinguir entre el IBS y la IBD, que comprende:

una muestra biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la IBD; y

15 uno o más ensayos para detectar un nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para distinguir entre el IBS y la IBD.

20. El sistema de cualquiera de las reivindicaciones 18-

20 19, que comprende además una máquina para determinar una presencia de IBS cuando el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

21. El sistema de cualquiera de las reivindicaciones 18-

20, que comprende además un elemento de salida o de visualización para visualizar si el paciente tiene el IBS, y/o para visualizar si el nivel de anticuerpos anti-vinculina es mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

RECEIVED

JAN 14 2015

NIXON PEABODY LLP
PCT

To: LINDA B. HUBER
NIXON PEABODY LLP
GAS COMPANY TOWER
555 WEST FIFTH STREET, 46TH FLOOR
LOS ANGELES, CA 90013

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

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference 65472-454WO0	Date of mailing (day/month/year) 08 JAN 2015
International application No. PCT/US 14/59957	International filing date (day/month/year) 09 October 2014 (09.10.2014)
Applicant CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.
Filing of amendments and statement under Article 19:
 The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):
When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.
How? Directly to the International Bureau of WIPO preferably through ePCT or on paper to, 34 chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: +41 22 338 82 70
For more detailed instructions, see PCT Applicant's Guide, International Phase, paragraphs 9.004 – 9.011.
2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ **With regard to any protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
 - ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with any request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. These comments will be made available to the public after international publication. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established.

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

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for **entry into the national phase** before those designated Offices. In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months. For details about the applicable time limits, Office by Office, see www.wipo.int/pct/en/texts/time_limits.html and the *PCT Applicant's Guide*, National Chapters.

Within **19 months from the priority date**, the applicant may request that a supplementary international search be carried out by a different International Searching Authority that offers this service (Rule 45bis.1). The procedure for requesting supplementary international search is described in the *PCT Applicant's Guide*, International Phase, paragraphs 8.006-8.032.

Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer Lee W. Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774
---	---

Form PCT/ISA/220 (July 2014)

ATTORNEY: SD/L Huber

ACTION: Article 19 **DUE:** 3-8-15

ACTION: written Opn. **DUE:** 8-9-15

DOCKETED BY: JA **DATE:** 1-14-15

VERIFICATION BY: _____ **DATE:** _____

* Supp. disclosure Due: 2-8-15

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 65472-454W00	FOR FURTHER ACTION		see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/US 14/59957	International filing date (<i>day/month/year</i>) 09 October 2014 (09.10.2014)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 09 October 2013 (09.10.2013)	
Applicant CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER			

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

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

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

1. Basis of the report

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

☒ the international application in the language in which it was filed.

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

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

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

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (see Box No. II).

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

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

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

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

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

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 2

☒ as suggested by the applicant.

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

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/59957

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:

a. (means)

☐

on paper

☒

in electronic form

b. (time)

☒

in the international application as filed

☐

together with the international application in electronic form

☒

subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/59957

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 21
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/59957

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 39/40, G01N 33/00, G01N 33/554, A01N 37/18 (2014.01)

CPC - A61K 38/00, G01N 33/564, G01N 33/56911

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(8): A61K 39/40, G01N 33/00, G01N 33/554, A01N 37/18 (2014.01)

CPC: A61K 38/00, G01N 33/564, G01N 33/56911

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 424/150.1, 435/7.92, 435/7.32, 514/2.3Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, Google Patents, Google Scholar, Google Web, search terms: IBS, CdtB, cytolethal distending toxin B, anti-CDT, anti-vinculin, Campylobacter, anti-vinculin antibody, diagnosis, prognosis, serum, biological sample, optical density (OD), system, machine, plate reader, ELISA, detection, irritable bowel syndrome, desiring diagnosis, distinguish,

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	Morales et al. Antibodies to Cytolethal Distending Toxin B and Auto-Antibodies to Human Vinculin Are Elevated in IBS Subjects. Gastroenterology (May 2013) Volume 144, Issue 5, S-914, abstract Tu 2056, abstract	18-20 ----- 1-17
Y	US 2011/0305704 A1 (PIMENTAL et al.) 15 December 2011 (15.12.2011) para [0008], [0051]-[0053], [0059], [0082], [0084], [0087], SEQ ID NOs: 1, 5	1-17
Y	US 2004/0018528 A1 (MORIMOTO et al.) 29 January 2004 (29.01.2004), SEQ ID NO: 181	8, 9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

17 December 2014 (17.12.2014)

Date of mailing of the international search report

08 JAN 2015

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

To: LINDA B. HUBER NIXON PEABODY LLP GAS COMPANY TOWER 555 WEST FIFTH STREET, 46TH FLOOR LOS ANGELES, CA 90013
--

Date of mailing (day/month/year) 08 JAN 2015
--

Applicant's or agent's file reference 65472-454WO0	FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below
--	--

International application No. PCT/US 14/59957	International filing date (day/month/year) 09 October 2014 (09.10.2014)	Priority date (day/month/year) 09 October 2013 (09.10.2013)
---	---	---

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC(8) - A61K 39/40, G01N 33/00, G01N 33/554, A01N 37/18 (2014.01) CPC - A61K 38/00, G01N 33/564, G01N 33/56911

Applicant CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER
--

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

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

2. **FURTHER ACTION**

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

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

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

Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Date of completion of this opinion 17 December 2014 (17.12.2014)	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774
---	--	--

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 14/59957

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed.
☐ a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

2. ☐ 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 43bis.1(a))

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:

a. (means)

- ☐ on paper
☒ in electronic form

b. (time)

- ☒ in the international application as filed
☐ together with the international application in electronic form
☒ subsequently to this Authority for the purposes of search

4. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US 14/59957

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

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. 21

because:

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

☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 21 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

because claim 21 is a dependent claim and is not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

☐ 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 said claims Nos. 21

☐ 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 Searching 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 Searching 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 Rule 13ter 1(a) or (b).

☐ See Supplemental Box for further details.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 14/59957

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

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-20	YES
	Claims	NONE	NO
Inventive step (IS)	Claims	NONE	YES
	Claims	1-20	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-20	YES
	Claims	NONE	NO

2. Citations and explanations:

Claims 18-20 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over the article entitled "Antibodies to Cytolethal Distending Toxin B and Auto-Antibodies to Human Vinculin Are Elevated in IBS Subjects." by Morales et al. (hereinafter "Morales").

Regarding claim 18, Morales teaches diagnosis of IBS comprising an isolated biological sample from a subject and an assay detecting a level of anti-vinculin antibodies and a level of anti-CDT antibodies (abstract "In this study, we ... determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS and inflammatory bowel disease (IBD). ... serum samples were obtained ... An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4.g of recombinant vinculin or 0.4.g/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells and incubated for 90 minutes. The wells were washed and then secondary antibodies were added to each well. The optical density (OD) measures were determined using a plate reader. ... Both anti-CdtB and autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects and are seen to be elevated in IBS compared to controls and IBD. The detection of anti-CdtB and anti-vinculin suggest new clues to the diagnosis and pathophysiology of IBS"). Morales does not expressly recite that said diagnosing with said assays and plate reader is a system, however, an artisan of ordinary skill would find it obvious that a plate reader is a system for collecting and recording values such as OD values from antigen coated plates such as the ELISA assay plates of Morales. Morales does not expressly teach that subjects tested desire a diagnosis regarding IBS, however, an artisan of ordinary skill would have readily appreciated that the system of Morales would be valuable for use as a diagnostic product for said subjects desiring said diagnosis.

Regarding claim 19, Morales teaches a system for distinguishing between IBS and IBD, comprising: an isolated biological sample from a subject (abstract "we ... determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS and inflammatory bowel disease (IBD). ... serum samples were obtained."); and one or more assays to detect a level of anti-vinculin antibodies and a level of anti-CDT antibodies to distinguish between IBS and IBD (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4.g of recombinant vinculin or 0.4.g/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells and incubated for 90 minutes. The wells were washed and then secondary antibodies were added to each well. The optical density (OD) measures were determined using a plate reader. ... Both anti-CdtB and autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects and are seen to be elevated in IBS compared to controls and IBD."). Morales does not expressly teach that subjects desired a diagnosis to distinguish between IBS and IBD, however, an artisan of ordinary skill would have found it obvious that Morales' system (i. e., ELISA and plate reader) would be valuable for use as a diagnostic product in distinguishing IBS from IBD in subjects desiring said diagnosis.

Regarding claim 20, Morales further teaches a machine for determining a presence of IBS when the level of anti-vinculin antibodies is higher than the level of anti-CDT antibodies (abstract "The optical density (OD) measures were determined using a plate reader."). A plate reader is an automated machine for collecting and recording values such as OD values from assays such as ELISA assays. An artisan of ordinary skill would have found it obvious that such a machine could be used to compare OD values between specified wells and record relative levels as part of a pre-set program, and to record those samples wherein the level of anti-vinculin antibodies is higher than the level of anti-CDT antibodies.

-----SEE FIRST SUPPLEMENTAL BOX TO CONTINUE-----

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US 14/59957

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Box V No. (2) Citations and Explanations:

Claims 1-7 and 10-17 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over US 2011/0305704 A1 to Pimentel et al (hereinafter 'Pimentel') in view of Morales.

Regarding claim 1, Pimentel teaches method of diagnosing IBS, and optionally selecting a treatment for IBS or optionally administering an IBS therapy (para [0082] "a method for diagnosing IBS", para [0084] "the ... determinations may be used to direct the treatment for the subject. ... a subject with the likely presence of IBS or a likelihood of having IBS may be treated with one or more therapies for IBS. ... For example, antibiotics such as rifaximin and neomycin can be used to treat IBS"), comprising providing a biological sample from a subject desiring a diagnosis regarding IBS (para [0008] "a method, comprising: obtaining a biological sample from a subject ... in need of a diagnosis regarding irritable bowel syndrome (IBS)"); assaying the biological sample for a level of anti-CDT antibodies (para [0087] "tests may be performed on the subject (e.g., on biological samples from the subject) to further correlate or confirm the results to diagnose whether the subject has IBS ... for example, the presence or absence of anti-CDT"). Pimentel does not expressly teach assaying the biological sample for a level of anti-vinculin antibodies, however, Morales teaches said assaying of both anti-CDT and anti-vinculin antibodies (abstract "In this study, we ... determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS and inflammatory bowel disease (IBD)."); determining the difference between the level of anti-vinculin antibodies and the level of anti-CDT antibodies (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4.ug of recombinant vinculin or 0.4.ug/mL of purified CdtB per well. ... The optical density (OD) measures were determined using a plate reader. In plates coated with CdtB, the mean OD for IBS serum was 1.89 +/- .12. This was significantly greater than for subjects with IBD (1.35 +/- .22) ... In plates coated with vinculin, the mean OD for IBS serum was 0.53 +/- .07. This was significantly greater than for subjects with IBD (0.1 +/- .09) (P, 0.05)."). Morales does not expressly teach determining the presence of IBS when the level of anti-vinculin antibodies is higher than the level of anti-CDT antibodies, however, Morales teaches that anti-vinculin antibodies are substantially higher in IBS patient sera than in IBD patient sera (0.53 OD vs 0.21 OD, or 2.52 fold higher in IBS vs. IBD), whereas anti-CBD antibodies are only 1.40 fold higher in IBS patient sera than in IBD patient sera (1.89 OD in IBS sera vs. 1.35 in IBD). Morales further teaches that vinculin antibodies appear to result from auto-antibodies following gastroenteritis (abstract "Recent data support that irritable bowel syndrome (IBS) can develop after gastroenteritis. In an animal model of post-infectious IBS, ... antibodies to CdtB bind neurological elements in the gut wall including interstitial cells of Cajal (ICC) and ganglia through a process of molecular mimicry/ autoimmunity. The protein on these nerves to which this mimicry occurs was found to be vinculin ... Both anti-CdtB and autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects and are seen to be elevated in IBS compared to controls and IBD. The detection of anti-CdtB and anti-vinculin suggest new clues to the diagnosis and pathophysiology of IBS. This is the first study to link acute gastroenteritis to an autoimmune process in IBS."). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine Morales' use of comparing levels of anti-vinculin antibodies and anti-CDT in IBS vs. IBD with Pimentel's use of the presence of anti-CDT antibodies for distinguishing IBS and selecting a treatment for IBS, because the use of a two predictive biomarkers (anti-vinculin and anti-CDT serum antibodies) could improve the predictive power of Pimentel's diagnostic method. Furthermore, as taught by Morales, autoimmune anti-vinculin antibodies the level of anti-vinculin antibodies is 2.52-fold higher in IBS vs. IBD, which is greater than the 1.40-fold increase of anti-CdtB in IBS vs. IBD. Thus, based on Morales teaching, an artisan of ordinary skill would have readily appreciated that the use of an elevated level of autoimmune anti-vinculin antibodies vs. anti-CDT antibodies could be used for determining the presence of IBS.

Regarding claim 2, Pimentel teaches distinguishing IBS, and optionally selecting a treatment for IBS or optionally administering an IBS therapy, comprising: providing a biological sample from a subject desiring a diagnosis (para [0084] "the ... determinations may be used to direct the treatment for the subject. ... a subject with the likely presence of IBS or a likelihood of having IBS may be treated with one or more therapies for IBS. ... For example, antibiotics such as rifaximin and neomycin can be used to treat IBS", para [0087] "tests may be performed on the subject (e.g., on biological samples from the subject) to further correlate or confirm the results to diagnose whether the subject has IBS ... for example, the presence or absence of anti-CDT" [antibodies]), comprising providing a biological sample from a subject desiring a diagnosis regarding IBS (para [0008] "a method, comprising: obtaining a biological sample from a subject ... in need of a diagnosis regarding irritable bowel syndrome (IBS)"). Pimentel does not expressly teach distinguishing between IBS and IBD by assaying the biological sample for a level of anti-vinculin antibodies and a level of anti-CDT antibodies, however, Morales teaches such assaying (abstract "In this study, we ... determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS and inflammatory bowel disease (IBD)."). Morales further teaches determining the difference between the level of anti-vinculin antibodies and the level of anti-CDT antibodies (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4.ug of recombinant vinculin or 0.4.ug/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells and incubated for 90 minutes. The wells were washed and then secondary antibodies were added to each well. The optical density (OD) measures were determined using a plate reader. In plates coated with CdtB, the mean OD for IBS serum was 1.89 +/- .12. This was significantly greater than for subjects with IBD (1.35 +/- .22) ... In plates coated with vinculin, the mean OD for IBS serum was 0.53 +/- .07. This was significantly greater than for subjects with IBD (0.2 1 +/- .09) (P, 0.05)."). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine Morales' use of anti-vinculin antibodies and anti-CDT with Pimentel's use of anti-CDT antibodies alone for distinguishing IBS and selecting a treatment for IBS, such as antibiotics taught by Pimentel, because the use of multiple biomarkers (both vimentin and CDT serum antibodies) could improve the predictive power of Pimentel's diagnostic method.

SEE NEXT SUPPLEMENTAL BOX TO CONTINUE

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US 14/59957

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Box V No. (2) Citations and Explanations:

Regarding claims 3, Morales further teaches that assaying the biological sample comprises: contacting vinculin or a fragment thereof to the biological sample; contacting CdtB or a fragment thereof to the biological sample, wherein antivinculin and/or anti-CdtB antibodies specifically bind to the vinculin [recombinant protein] and/or the [purified] CdtB in the biological sample (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4 ug of recombinant vinculin or 0.4 ug/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells and incubated for 90 minutes. The wells were washed and then secondary antibodies were added to each well. ... Both anti-CdtB and autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects"); and measuring the levels [titers] of the anti-vinculin antibodies and the anti-CdtB antibodies in the biological sample (abstract "In this study, we ... determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS and inflammatory bowel disease (IBD).").

Regarding claims 4, Morales further teaches comparing anti-vinculin and anti-CdtB antibodies in subjects having IBS or IBD (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4 ug of recombinant vinculin or 0.4 ug/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells ... The optical density (OD) measures were determined using a plate reader. In plates coated with CdtB, the mean OD for IBS serum was 1.89 +/- .12. This was significantly greater than for subjects with IBD (1.35 +/- .22) ... In plates coated with vinculin, the mean OD for IBS serum was 0.53 +/- .07. This was significantly greater than for subjects with IBD (0.21 +/- .09) (P, 0.05)."). Morales does not expressly teach that the subject is determined to have IBS if the level of anti-vinculin antibodies is 25% or more higher than the level of anti-CDT antibodies, however, Morales teaches that anti-vinculin antibodies are substantially higher in IBS patient sera than in IBD patient sera: 0.53 OD vs 0.21 OD, or, the level of anti-vinculin antibodies in IBS are 252% of the level in IBD patient sera, whereas the level of anti-CdtB antibodies in IBS patient sera are 140% of the level in IBD patient sera (1.89 OD in IBS sera vs. 1.35 in IBD). Based on Morales teaching, an artisan of ordinary skill would have found it obvious that IBS patient sera contains a greater increase in the level of anti vinculin antibodies (252% of IBD) that is 25% or more than the increase in level of anti-CdtB antibodies (140% of IBD).

Regarding claims 5 and 6, Morales further teaches using optical density (OD) to measure the level of anti-vinculin antibodies and anti-CDT antibodies (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with either 0.4 ug of recombinant vinculin or 0.4 ug/mL of purified CdtB per well. Serum from each subject was added to the wells ... optical density (OD) measures were determined using a plate reader. In plates coated with CdtB, the mean OD for IBS serum was 1.89 +/- .12. This was significantly greater than for subjects with IBD (1.35 +/- .22) ... In plates coated with vinculin, the mean OD for IBS serum was 0.53 +/- .07. This was significantly greater than for subjects with IBD (0.21 +/- .09) (P, 0.05)."). Morales further teaches that anti-vinculin antibodies are autoimmune antibodies (abstract "Recent data support that irritable bowel syndrome (IBS) can develop after gastroenteritis. In an animal model of post-infectious IBS, ... antibodies to CdtB bind neurological elements in the gut wall including interstitial cells of Cajal (ICC) and ganglia through a process of molecular mimicry/ autoimmunity. The protein on these nerves to which this mimicry occurs was found to be vinculin ... Both anti-CdtB and autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects and are seen to be elevated in IBS compared to controls and IBD. The detection of anti-CdtB and anti-vinculin suggest new clues to the diagnosis and pathophysiology of IBS. This is the first study to link acute gastroenteritis to an autoimmune process in IBS."). Morales does not expressly teach that when the difference between the OD of anti-vinculin antibodies (ODv) and OD of anti-CDT antibodies (ODcDT) is greater than 0.2, the subject is determined to have IBS, however, Morales teaches that anti-vinculin antibodies are substantially higher in IBS patient sera than in IBD patient sera (0.53 OD vs 0.21 OD, or 2.52 fold higher in IBS vs. IBD), whereas anti-CBD antibodies are only 1.40 fold higher in IBS patient sera than in IBD patient sera (1.89 OD in IBS sera vs. 1.35 in IBD). The 2.52 fold rise in autoimmune anti-vinculin antibodies in IBS serum compared to IBD serum in recombinant vinculin coated wells is markedly higher than the 1.40 fold rise of anti-CDT antibodies in IBS serum compared to IBD serum in CdtB coated wells. An artisan of ordinary skill would have found it obvious that experimentation with parameters of the assay could better reflect the 2.52-fold vs 1.4-fold increase of autoimmune anti-vinculin antibodies vs anti-CdtB antibodies in patient sera, such as using purified vinculin known to react with patient antibodies or vinculin fragments rather than Morales' recombinant vinculin. An artisan of ordinary skill would be motivated to experiment with an assay that would reflect the elevated increase of anti-vinculin antibodies (2.52 fold) vs. anti-CDT antibodies (1.4 fold) in patient sera taught by Morales, because a simple assay done in a plate reader with an OD readout that accurately predicts IBS vs. IBD would be a valuable, marketable diagnostic product.

Regarding claim 7, Morales further teaches that the anti-vinculin antibody is an antibody that binds specifically to vinculin (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with ... 0.4 ug of recombinant vinculin ... anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects", an anti-vinculin antibody would bind specifically to recombinant vinculin.).

-----SEE NEXT SUPPLEMENTAL BOX TO CONTINUE-----

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 14/59957

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Box V No. (2) Citations and Explanations:

Regarding claim 10, Morales further teaches that the the the anti-CDT antibody binds specifically to the CdtB subunit of CDT (abstract "In this study, we ...determine the titers of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in the serum of subjects with IBS").

Regarding claim 11, Pimentel further teaches that the CdtB amino acid sequence is Campylobacter jejuni cytolethal distending toxin B (SEQ ID NO: 5) (para [0052] "the purified antibody binds specifically to SEQ ID NO:5 (CdtB of C. jejuni)."). SEQ ID NO: 5 of Pimentel has 100% to the claimed SEQ ID NO: 5.

Regarding claim 12, Pimentel further teaches that the CdtB amino acid sequence is Campylobacter jejuni cytolethal distending toxin B (SEQ ID NO: 5) (para [0052] "the purified antibody binds specifically to SEQ ID NO:5 (CdtB of C. jejuni). ...the purified antibody binds specifically to an amino acid sequence at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to SEQ ID NO: 5"). SEQ ID NO: 5 of Pimentel has 100% to the claimed SEQ ID NO: 5.

Regarding claim 13, Pimentel further teaches that the CdtB amino acid sequence is Campylobacter coli cytolethal distending toxin B (SEQ ID NO: 1) (para [0051] "Another example of a CdtB amino acid sequence is Campylobacter coli cytolethal distending toxin B, which has the amino acid sequence (SEQ ID NO: 1)"). SEQ ID NO: 1 of Pimentel has 100% to the claimed SEQ ID NO: 1.

Regarding claim 14, Pimentel further teaches that the anti-CDT antibody binds specifically to an amino acid sequence at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to SEQ ID NO: 1 (para [0053] "In another embodiment, the purified antibody binds specifically to SEQ ID NO:1 (CdtB of C. coli). In various embodiments, the purified antibody binds specifically to an amino acid sequence at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to SEQ ID NO: 1."). SEQ ID NO: 1 of Pimentel has 100% to the claimed SEQ ID NO: 1.

Regarding claim 15, Pimentel further teaches that the anti-CDT antibody binds specifically to a polypeptide comprising 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 residues that has at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% homology with 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 contiguous residues of CdtB (para [0059] "the purified antibody binds specifically to a 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 residue peptide that has at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% homology with 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 contiguous residues of CdtB (e.g., 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 contiguous residues of SEQ ID NOs:1 or 5)."). SEQ ID NO: 5 of Pimentel has 100% to the claimed SEQ ID NO: 5.

Regarding claim 16, Pimentel further teaches selecting an IBS treatment for the subject if the subject is determined to have IBS (para [0082] "a method for diagnosing IBS", para [0084] "the ... determinations may be used to direct the treatment for the subject. ... a subject with the likely presence of IBS or a likelihood of having IBS may be treated with one or more therapies for IBS ... One of ordinary skill in the art will be able to select an available treatment for IBS").

Regarding claims 17, Pimentel further teaches administering an IBS therapy [e.g. using an IBS therapy to treat] to the subject if the subject is determined to have IBS (para [0084] "the ... determinations may be used to direct the treatment for the subject. ... a subject with the likely presence of IBS or a likelihood of having IBS may be treated with one or more therapies for IBS ... For example, antibiotics such as rifaximin and neomycin can be used to treat IBS ... rifaximin can be used to treat diarrhea-predominant IBS, and a rifaximin/neomycin combination can be used to treat constipation-predominant IBS").

Claims 8 and 9 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Pimentel in view of Morales, further in view of US 2004/0018528 A1 to Morimoto et al. (hereinafter 'Morimoto').

Regarding claims 8 and 9, Morales further teaches that the anti-vinculin antibody is an antibody that binds specifically to recombinant vinculin (abstract "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was created by coating 96 well plates with ... 0.4ug of recombinant vinculin ... anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects ... autoimmune anti-vinculin antibodies are detectable in IBS subjects and are seen to be elevated in IBS compared to controls and IBD."). Morales does not expressly teach that said antibodies bind to a 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 residue peptide that has at least 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% homology with 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, or 22 contiguous residues of vinculin, or SEQ ID NO:7, however, an artisan of ordinary skill would have readily appreciated that serum antibodies that recognize proteins typically recognize peptides of at least 5 residues, and that recombinant vinculin would comprise at least 22 contiguous residues of vinculin, at or near 100% homology to the claimed protein vinculin, which is known in the art, as taught, for example, by Morimoto, which discloses the 1066 amino acid human vinculin (SEQ ID NO: 181) having 100% match to the claimed SEQ ID NO: 7. It would have been obvious to an artisan of ordinary skill to claim the vinculin protein taught by Morimoto for use in detecting Morales' anti-vinculin antibodies in diagnostic products used to identify subject with IBS.

Claims 1-20 have industrial applicability as defined by PCT Article33(4) because the subject matter can be made or used in industry.



(51) International Patent Classification:

A61K 39/40 (2006.01) G01N 33/554 (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01) A01N 37/18 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2014/059957

(22) International Filing Date:

9 October 2014 (09.10.2014)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/888,658 9 October 2013 (09.10.2013) US

(71) Applicant: CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER
[US/US]; 8700 Beverly Boulevard, Los Angeles, California 90048 (US).(72) Inventors: PIMENTEL, Mark; 9805 Burgen Avenue,
Los Angeles, California 90034 (US). CHANG, Christoph-
er; 3207 Castle Heights Drive, Los Angeles, California
90034 (US).(74) Agents: HUBER, Linda, B. et al.; Nixon Peabody LLP,
Gas Company Tower, 555 West Fifth Street, 46th Floor,
Los Angeles, California 90013 (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, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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.

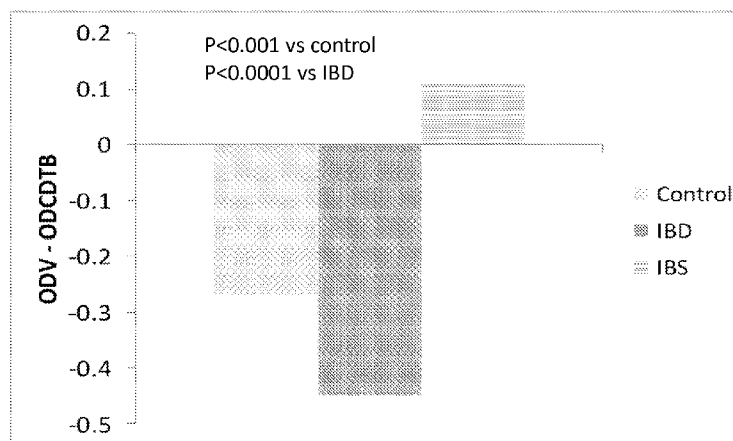
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: DIAGNOSIS AND TREATMENT OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

FIG. 2



(57) Abstract: The present invention describes methods, assays, and systems of diagnosing, selecting and treating irritable bowel syndrome (IBS) based on a subject's level of anti-vinculin and anti-CdtB antibodies. IBS can be distinguished from inflammatory bowel (IBD) disease using the methods, assays, and systems described herein.

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 de 1995 del Ministerio de Justicia, del documento correspondiente a un documento de cesión otorgado a favor de **CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER**, con domicilio en **Los Ángeles, California, Estados Unidos de América**.

CESIÓN

CONSIDERANDO QUE, nosotros, **Mark Pimentel y Christopher Chang** (de ahora en adelante denominados como los CEDENTES) somos los inventores conjuntos de una invención titulada **“DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE Y ENFERMEDAD DEL INTESTINO IRRITABLE”**, según ha sido descrita y reivindicada en la memoria descriptiva que hace parte de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos con número de serie **61/888.658** presentada el **9 de octubre de 2013**; y

CONSIDERANDO QUE, **CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER** (de ahora en adelante denominada como el CESIONARIO), una corporación benéfica sin ánimo de lucro del estado de California con su sede de negocios en 8700 Beverly Boulevard, Los Ángeles, California 90048, desea adquirir la totalidad de nuestro derecho, título e interés, en y sobre la invención y en y sobre cualquier título de patente que pueda ser otorgado para la misma en los Estados Unidos y en cualquiera y todos los países extranjeros;

AHORA, POR LO TANTO, a cambio de una contraprestación onerosa, el recibo de la cual es reconocido por medio del presente, los CEDENTES por medio del

presente vendemos, cedemos y transferimos a dicho CESIONARIO la totalidad del derecho, título e interés en y sobre dicha invención, dicha solicitud y cualquiera y todos los títulos de patente que puedan ser otorgados para dicha invención en los Estados Unidos de América y sus posesiones territoriales y en cualquiera y todos los países extranjeros, y en cualquiera y todas las divisiones, reexpediciones y continuaciones de los mismos, incluyendo el derecho de presentar solicitudes extranjeras directamente a nombre del CESIONARIO y de reivindicar derechos de prioridad que se deriva de dicha solicitud de los Estados Unidos a la cual tienen derecho dichas solicitudes extranjeras en virtud de una convención, tratado internacionales o similar, dicha invención, solicitud y títulos de patente sobre dicha invención a ser tenidos y disfrutados por el CESIONARIO y sus sucesores y asignatarios para su uso y beneficio y el de sus sucesores y asignatarios tan amplia y cabalmente como los mismos hubieran sido tenidos y disfrutados por los CEDENTES en caso de que esta cesión, transferencia y venta no se hubiera realizado. Los CEDENTES por medio del presente autorizan y le solicitan al Comisionado de Patentes y Marcas expedir todos los títulos de patente sobre dicha invención al CESIONARIO. Los CEDENTES se comprometen a ejecutar todos los instrumentos y documentos requeridos para la realización y el trámite de solicitudes para los Estados Unidos y títulos de patente extranjeros sobre dicha invención, para el litigio relacionado con dichos títulos, o con el fin de proteger el título sobre dicha invención o títulos de patente para la misma.

Fecha: 10-9-13

Por: Firmado por firma ilegible

Mark Pimentel

Fecha: 10-9-13

Por: Firmado por firma ilegible

Christopher Chang

14664611.1

065472-000454PR00

ASSIGNMENT

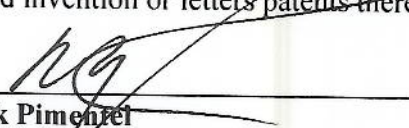
WHEREAS, we, **Mark Pimentel** and **Christopher Chang** (hereinafter referred to as ASSIGNORS), are the joint inventors of an invention entitled "**DIAGNOSIS AND TREATMENT OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE**", as described and claimed in the specification forming part of U.S. Provisional Application Serial No. **61/888,658** filed **October 9, 2013**; and

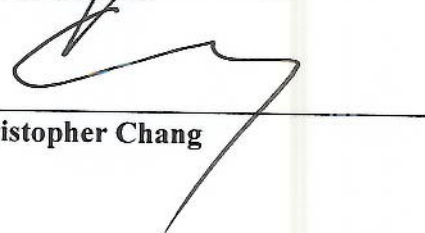
WHEREAS, **CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER** (hereinafter referred to as ASSIGNEE), a not for profit public benefit corporation of the State of California having a place of business at 8700 Beverly Boulevard, Los Angeles, California 90048, is desirous of acquiring the entire right, title and interest in and to the invention and in and to any letters patent that may be granted therefor in the United States and in any and all foreign countries;

NOW, THEREFORE, in exchange for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, ASSIGNORS hereby sell, assign and transfer unto said ASSIGNEE, the entire right, title and interest in and to said invention, said application and any and all letters patents which may be granted for said invention in the United States of America and its territorial possessions and in any and all foreign countries, and in any and all divisions, reissues and continuations thereof, including the right to file foreign applications directly in the name of ASSIGNEE and to claim priority rights deriving from said United States application to which said foreign applications are entitled by virtue of international convention, treaty or otherwise, said invention, application and all letters patents on said invention to be held and enjoyed by ASSIGNEE and its successors and assigns for their use and benefit and of their successors and assigns as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by ASSIGNORS had this assignment, transfer and sale not been made. ASSIGNORS hereby authorize and request the Commissioner for Patents and Trademarks to issue all letters patents on said invention to ASSIGNEE. ASSIGNORS agree to execute all instruments and documents required for the making and prosecution of applications for United States and foreign letters patents on said invention, for litigation regarding said letters patents, or for the purpose of protecting title to said invention or letters patents therefor.

10-9-13
Date

10/9/13
Date

By 
Mark Pimentel

By 
Christopher Chang



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

OCTOBER 11, 2013

PTAS

NIXON PEABODY LLP
GAS COMPANY TOWER
555 WEST FIFTH STREET, 46TH FLOOR
LOS ANGELES, CA 90013

502528734

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 10/10/2013

REEL/FRAME: 031384/0743
NUMBER OF PAGES: 2

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: 065472-000454PR00

ASSIGNOR:
PIMENTEL, MARK

DOC DATE: 10/09/2013

ASSIGNOR:
CHANG, CHRISTOPHER

DOC DATE: 10/09/2013

ASSIGNEE:
CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER
8700 BEVERLY BOULEVARD
LOS ANGELES, CALIFORNIA 90048

APPLICATION NUMBER: 61888658

FILING DATE:

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: DIAGNOSIS AND TREATMENT OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME AND
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER
PIMENTEL, Mark
CHANG, Christopher

<120> DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE
Y LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

<130> 065472-000454WO00

<140> PCT/US2014/059957
<141> 2014-10-09

<150> 61/888,658
<151> 2013-10-09

<160> 8

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 267
<212> PRT
<213> Campylobacter coli

<400> 1

Met Lys Lys Ile Val Phe Leu Ile Leu Ser Phe Asn Val Leu Phe Ala
1 5 10 15

Ala Leu Glu Asn Tyr Asn Thr Gly Thr Trp Asn Leu Gln Gly Ser Ser
20 25 30

Ala Ala Thr Glu Ser Lys Trp Asn Val Ser Ile Arg Gln Leu Ile Thr
35 40 45

Gly Ala Asn Pro Met Asp Val Leu Ala Val Gln Glu Ala Gly Val Leu
50 55 60

Pro Ser Thr Ala Met Met Thr Pro Arg Gln Val Gln Pro Val Gly Val
65 70 75 80

Gly Ile Pro Ile His Glu Tyr Ile Trp Asn Leu Gly Ser Val Ser Arg
85 90 95

Pro Ser Ser Val Tyr Ile Tyr Tyr Ser Arg Val Asp Val Gly Ala Asn
100 105 110

Arg Val Asn Leu Ala Ile Val Ser Arg Val Gln Ala Asp Glu Val Phe
115 120 125

Val Leu Pro Pro Pro Thr Val Ala Ser Arg Pro Ile Ile Gly Ile Arg
130 135 140

Ile Gly Asn Asp Ala Phe Phe Asn Ile His Ala Leu Ala Ser Gly Gly
145 150 155 160

Asn Asp Ala Gly Ala Ile Val Ala Ala Val Asp Met Phe Phe Arg Asn
165 170 175

Arg Pro Asp Ile Asn Trp Met Ile Leu Gly Asp Phe Asn Arg Glu Ser
180 185 190

Gly Ala Leu Val Thr Leu Leu Asp Pro Asp Leu Arg Ala Arg Thr Arg
195 200 205

Val Val Val Pro Pro Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Arg Thr Ile Asp
210 215 220

Tyr Ala Ile Thr Gly Asn Ser Asn Thr Ala Ala Leu Tyr Asn Pro Pro
225 230 235 240

Pro Ile Val Ala Ile Leu Ala Leu Glu Gly Leu Arg Thr Phe Leu Ala
245 250 255

Ser Asp His Phe Pro Val Asn Phe Arg Arg Pro
260 265

<210> 2
<211> 804
<212> ADN
<213> Campylobacter coli

<400> 2
atgaaaaaaa tagtattttt gattttaagt tttaatgtat tatttgccgc ttagaaaaat
60

tacaacaccg gaacttgga tttgcaaggc tcatcagctg caactgaaag caaatggaat
120

gtagtagtataa gacaactcat aaccggtgca aatcctatgg atgttttagc tgttcaagaa
180

gcggggggttt tacctagtagc agctatgatg actcctagac aggtacaacc cgtgggcgtg
240

ggtagttccta tacatgaata catatggaat ttaggctctg tatcaagacc tagctctgtt
300

tatatatatt attctagagt ggatgtagga gcaaatcgtg tgaatttagc tatcgtttagc
360

agagtgcaag cggatgaagt ttttgtttta cccctccaa cagttgcttc aagacctatt
420

ataggcatac gcataggcaa tgatgctttt ttcaatatac acgctctagc aagtggggga
480

aatgacgcag gagccattgt cgctgctgtg gatatgtttt ttagaaatag acctgatatt
540

aattggatga ttttaggcga ttttaataga gaatcaggcg ccttagtaac cttgctagat
600

cctgacttaa gagcacgcac tcgcgtagtt gttccgcctt cttctacgca aacaagtgga
660

agaacgattg attatgctat cactggaaat tccaacactg cagctttata caaccacca
720

ccgatagttg cgattttagc tttagaagga ttaagaacct ttttggttc agatcatttt
780

cctgtaaatt ttagaagacc ttag
804

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> Campylobacter jejuni

<400> 3

Leu	Asp	Tyr	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Ser	Asn	Arg	Gln	Gln	Thr	Tyr	Thr
1				5					10					15	

Pro

<210> 4
<211> 18
<212> PRT
<213> Campylobacter jejuni

<400> 4

Cys	Leu	Asp	Tyr	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Ser	Asn	Arg	Gln	Gln	Thr	Tyr
1				5					10					15	

Thr Pro

<210> 5
<211> 265
<212> PRT
<213> Campylobacter jejuni

<400> 5

Met Lys Lys Ile Ile Cys Leu Phe Leu Ser Phe Asn Leu Ala Phe Ala
1 5 10 15

Asn Leu Glu Asn Phe Asn Val Gly Thr Trp Asn Leu Gln Gly Ser Ser
20 25 30

Ala Ala Thr Glu Ser Lys Trp Ser Val Ser Val Arg Gln Leu Val Ser
35 40 45

Gly Ala Asn Pro Leu Asp Ile Leu Met Ile Gln Glu Ala Gly Thr Leu
50 55 60

Pro Arg Thr Ala Thr Pro Thr Gly Arg His Val Gln Gln Gly Gly Thr
65 70 75 80

Pro Ile Asp Glu Tyr Glu Trp Asn Leu Gly Thr Leu Ser Arg Pro Asp
85 90 95

Arg Val Phe Ile Tyr Tyr Ser Arg Val Asp Val Gly Ala Asn Arg Val
100 105 110

Asn Leu Ala Ile Val Ser Arg Met Gln Ala Glu Glu Val Ile Val Leu
115 120 125

Pro Pro Pro Thr Thr Val Ser Arg Pro Ile Ile Gly Ile Arg Asn Gly
130 135 140

Asn Asp Ala Phe Phe Asn Ile His Ala Leu Ala Asn Gly Gly Thr Asp
145 150 155 160

Val Gly Ala Ile Ile Thr Ala Val Asp Ala His Phe Ala Asn Met Pro
165 170 175

Gln Val Asn Trp Met Ile Ala Gly Asp Phe Asn Arg Asp Pro Ser Thr
180 185 190

Ile Thr Ser Thr Val Asp Arg Glu Leu Ala Asn Arg Ile Arg Val Val
195 200 205

Phe Pro Thr Ser Ala Thr Gln Ala Ser Gly Gly Thr Leu Asp Tyr Ala
210 215 220

Ile Thr Gly Asn Ser Asn Arg Gln Gln Thr Tyr Thr Pro Pro Leu Leu
225 230 235 240

Ala Ala Ile Leu Met Leu Ala Ser Leu Arg Ser His Ile Val Ser Asp
245 250 255

His Phe Pro Val Asn Phe Arg Lys Phe
260 265

<210> 6
<211> 51
<212> ADN
<213> Campylobacter jejuni

<400> 6
cttgattatg caattacagg aaattcaaat agacaacaaa cctataactcc a
51

<210> 7
<211> 1066
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Pro Val Phe His Thr Arg Thr Ile Glu Ser Ile Leu Glu Pro Val
1 5 10 15

Ala Gln Gln Ile Ser His Leu Val Ile Met His Glu Glu Gly Glu Val
20 25 30

Asp Gly Lys Ala Ile Pro Asp Leu Thr Ala Pro Val Ala Ala Val Gln
35 40 45

Ala Ala Val Ser Asn Leu Val Arg Val Gly Lys Glu Thr Val Gln Thr
50 55 60

Thr Glu Asp Gln Ile Leu Lys Arg Asp Met Pro Pro Ala Phe Ile Lys
65 70 75 80

Val Glu Asn Ala Cys Thr Lys Leu Val Gln Ala Ala Gln Met Leu Gln
85 90 95

Ser Asp Pro Tyr Ser Val Pro Ala Arg Asp Tyr Leu Ile Asp Gly Ser
100 105 110

Arg Gly Ile Leu Ser Gly Thr Ser Asp Leu Leu Leu Thr Phe Asp Glu
115 120 125

Ala Glu Val Arg Lys Ile Ile Arg Val Cys Lys Gly Ile Leu Glu Tyr
130 135 140

Leu Thr Val Ala Glu Val Val Glu Thr Met Glu Asp Leu Val Thr Tyr
145 150 155 160

Thr Lys Asn Leu Gly Pro Gly Met Thr Lys Met Ala Lys Met Ile Asp
165 170 175

Glu Arg Gln Gln Glu Leu Thr His Gln Glu His Arg Val Met Leu Val
180 185 190

Asn Ser Met Asn Thr Val Lys Glu Leu Leu Pro Val Leu Ile Ser Ala
195 200 205

Met Lys Ile Phe Val Thr Thr Lys Asn Ser Lys Asn Gln Gly Ile Glu
210 215 220

Glu Ala Leu Lys Asn Arg Asn Phe Thr Val Glu Lys Met Ser Ala Glu
225 230 235 240

Ile Asn Glu Ile Ile Arg Val Leu Gln Leu Thr Ser Trp Asp Glu Asp
245 250 255

Ala Trp Ala Ser Lys Asp Thr Glu Ala Met Lys Arg Ala Leu Ala Ser
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Leu Asn Gln Ala Lys Gly Trp Leu Arg Asp Pro Ser
275 280 285

Ala Ser Pro Gly Asp Ala Gly Glu Gln Ala Ile Arg Gln Ile Leu Asp
290 295 300

Glu Ala Gly Lys Val Gly Glu Leu Cys Ala Gly Lys Glu Arg Arg Glu
305 310 315 320

Ile Leu Gly Thr Cys Lys Met Leu Gly Gln Met Thr Asp Gln Val Ala

325

330

335

Asp Leu Arg Ala Arg Gly Gln Gly Ser Ser Pro Val Ala Met Gln Lys
 340 345 350

Ala Gln Gln Val Ser Gln Gly Leu Asp Val Leu Thr Ala Lys Val Glu
 355 360 365

Asn Ala Ala Arg Lys Leu Glu Ala Met Thr Asn Ser Lys Gln Ser Ile
 370 375 380

Ala Lys Lys Ile Asp Ala Ala Gln Asn Trp Leu Ala Asp Pro Asn Gly
 385 390 395 400

Gly Pro Glu Gly Glu Glu Gln Ile Arg Gly Ala Leu Ala Glu Ala Arg
 405 410 415

Lys Ile Ala Glu Leu Cys Asp Asp Pro Lys Glu Arg Asp Asp Ile Leu
 420 425 430

Arg Ser Leu Gly Glu Ile Ser Ala Leu Thr Ser Lys Leu Ala Asp Leu
 435 440 445

Arg Arg Gln Gly Lys Gly Asp Ser Pro Glu Ala Arg Ala Leu Ala Lys
 450 455 460

Gln Val Ala Thr Ala Leu Gln Asn Leu Gln Thr Lys Thr Asn Arg Ala
 465 470 475 480

Val Ala Asn Ser Arg Pro Ala Lys Ala Ala Val His Leu Glu Gly Lys
 485 490 495

Ile Glu Gln Ala Gln Arg Trp Ile Asp Asn Pro Thr Val Asp Asp Arg
 500 505 510

Gly Val Gly Gln Ala Ala Ile Arg Gly Leu Val Ala Glu Gly His Arg
 515 520 525

Leu Ala Asn Val Met Met Gly Pro Tyr Arg Gln Asp Leu Leu Ala Lys
 530 535 540

Cys Asp Arg Val Asp Gln Leu Thr Ala Gln Leu Ala Asp Leu Ala Ala
 545 550 555 560

Arg Gly Glu Gly Glu Ser Pro Gln Ala Arg Ala Leu Ala Ser Gln Leu
565 570 575

Gln Asp Ser Leu Lys Asp Leu Lys Ala Arg Met Gln Glu Ala Met Thr
580 585 590

Gln Glu Val Ser Asp Val Phe Ser Asp Thr Thr Thr Pro Ile Lys Leu
595 600 605

Leu Ala Val Ala Ala Thr Ala Pro Pro Asp Ala Pro Asn Arg Glu Glu
610 615 620

Val Phe Asp Glu Arg Ala Ala Asn Phe Glu Asn His Ser Gly Lys Leu
625 630 635 640

Gly Ala Thr Ala Glu Lys Ala Ala Ala Val Gly Thr Ala Asn Lys Ser
645 650 655

Thr Val Glu Gly Ile Gln Ala Ser Val Lys Thr Ala Arg Glu Leu Thr
660 665 670

Pro Gln Val Val Ser Ala Ala Arg Ile Leu Leu Arg Asn Pro Gly Asn
675 680 685

Gln Ala Ala Tyr Glu His Phe Glu Thr Met Lys Asn Gln Trp Ile Asp
690 695 700

Asn Val Glu Lys Met Thr Gly Leu Val Asp Glu Ala Ile Asp Thr Lys
705 710 715 720

Ser Leu Leu Asp Ala Ser Glu Glu Ala Ile Lys Lys Asp Leu Asp Lys
725 730 735

Cys Lys Val Ala Met Ala Asn Ile Gln Pro Gln Met Leu Val Ala Gly
740 745 750

Ala Thr Ser Ile Ala Arg Arg Ala Asn Arg Ile Leu Leu Val Ala Lys
755 760 765

Arg Glu Val Glu Asn Ser Glu Asp Pro Lys Phe Arg Glu Ala Val Lys
770 775 780

Ala Ala Ser Asp Glu Leu Ser Lys Thr Ile Ser Pro Met Val Met Asp

785																			
Ala	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Asn	Ile	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Gln	Lys	Ser				
				805					810					815					
Phe	Leu	Asp	Ser	Gly	Tyr	Arg	Ile	Leu	Gly	Ala	Val	Ala	Lys	Val	Arg				
			820					825					830						
Glu	Ala	Phe	Gln	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp				
		835					840					845							
Leu	Glu	Gln	Leu	Arg	Leu	Thr	Asp	Glu	Leu	Ala	Pro	Pro	Lys	Pro	Pro				
	850					855					860								
Leu	Pro	Glu	Gly	Glu	Val	Pro	Pro	Pro	Arg	Pro	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu				
865					870					875				880					
Lys	Asp	Glu	Glu	Phe	Pro	Glu	Gln	Lys	Ala	Gly	Glu	Val	Ile	Asn	Gln				
				885					890					895					
Pro	Met	Met	Met	Ala	Ala	Arg	Gln	Leu	His	Asp	Glu	Ala	Arg	Lys	Trp				
			900					905					910						
Ser	Ser	Lys	Gly	Asn	Asp	Ile	Ile	Ala	Ala	Ala	Lys	Arg	Met	Ala	Leu				
		915					920					925							
Leu	Met	Ala	Glu	Met	Ser	Arg	Leu	Val	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys				
	930					935					940								
Arg	Ala	Leu	Ile	Gln	Cys	Ala	Lys	Asp	Ile	Ala	Lys	Ala	Ser	Asp	Glu				
945					950					955					960				
Val	Thr	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Ala	Lys	Gln	Cys	Thr	Asp	Lys	Arg				
				965					970					975					
Ile	Arg	Thr	Asn	Leu	Leu	Gln	Val	Cys	Glu	Arg	Ile	Pro	Thr	Ile	Ser				
			980					985					990						
Thr	Gln	Leu	Lys	Ile	Leu	Ser	Thr	Val	Lys	Ala	Thr	Met	Leu	Gly	Arg				
		995					1000					1005							
Thr	Asn	Ile	Ser	Asp	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ala	Thr	Glu	Met	Leu					
	1010					1015					1020								

Val His Asn Ala Gln Asn Leu Met Gln Ser Val Lys Glu Thr Val
1025 1030 1035

Arg Glu Ala Glu Ala Ala Ser Ile Lys Ile Arg Thr Asp Ala Gly
1040 1045 1050

Phe Thr Leu Arg Trp Val Arg Lys Thr Pro Trp Tyr Gln
1055 1060 1065

<210> 8
<211> 633
<212> PRT
<213> Shigella

<400> 8

Met His Asn Val Asn Asn Thr Gln Ala Pro Thr Phe Leu Tyr Lys Ala
1 5 10 15

Thr Ser Pro Ser Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Leu Lys Ser Lys Ile Ser
20 25 30

Asp Ile His Ser Ser Gln Thr Ser Leu Lys Thr Pro Ala Ser Val Ser
35 40 45

Glu Lys Glu Asn Phe Ala Thr Ser Phe Asn Gln Lys Cys Leu Asp Phe
50 55 60

Leu Phe Ser Ser Ser Gly Lys Glu Asp Val Leu Arg Ser Ile Tyr Ser
65 70 75 80

Asn Ser Met Asn Ala Tyr Ala Lys Ser Glu Ile Leu Glu Phe Ser Asn
85 90 95

Val Leu Tyr Ser Leu Val His Gln Asn Gly Leu Asn Phe Glu Asn Glu
100 105 110

Lys Gly Leu Gln Lys Ile Val Ala Gln Tyr Ser Glu Leu Ile Ile Lys
115 120 125

Asp Lys Leu Ser Gln Asp Ser Ala Phe Gly Pro Trp Ser Ala Lys Asn
130 135 140

Lys Lys Leu His Gln Leu Arg Gln Asn Ile Glu His Arg Leu Ala Leu
145 150 155 160

Leu Ala Gln Gln His Thr Ser Gly Glu Ala Leu Ser Leu Gly Gln Lys
165 170 175

Leu Leu Asn Thr Glu Val Ser Ser Phe Ile Lys Asn Asn Ile Leu Ala
180 185 190

Glu Leu Lys Leu Ser Asn Glu Thr Val Ser Ser Leu Lys Leu Asp Asp
195 200 205

Leu Val Asp Ala Gln Ala Lys Leu Ala Phe Asp Ser Leu Arg Asn Gln
210 215 220

Arg Lys Asn Thr Ile Asp Ser Lys Gly Phe Gly Ile Gly Lys Leu Ser
225 230 235 240

Arg Asp Leu Asn Thr Val Ala Val Phe Pro Glu Leu Leu Arg Lys Val
245 250 255

Leu Asn Asp Ile Leu Glu Asp Ile Lys Asp Ser His Pro Ile Gln Asp
260 265 270

Gly Leu Pro Thr Pro Pro Glu Asp Met Pro Asp Gly Gly Pro Thr Pro
275 280 285

Gly Ala Asn Glu Lys Thr Ser Gln Pro Val Ile His Tyr His Ile Asn
290 295 300

Asn Asp Asn Arg Thr Tyr Asp Asn Arg Val Phe Asp Asn Arg Val Tyr
305 310 315 320

Asp Asn Ser Tyr His Glu Asn Pro Glu Asn Asp Ala Gln Ser Pro Thr
325 330 335

Ser Gln Thr Asn Asp Leu Leu Ser Arg Asn Gly Asn Ser Leu Leu Asn
340 345 350

Pro Gln Arg Ala Leu Val Gln Lys Val Thr Ser Val Leu Pro His Ser
355 360 365

Ile Ser Asp Thr Val Gln Thr Phe Ala Asn Asn Ser Ala Leu Glu Lys
370 375 380

Val Phe Asn His Thr Pro Asp Asn Ser Asp Gly Ile Gly Ser Asp Leu
385 390 395 400

Leu Thr Thr Ser Ser Gln Glu Arg Ser Ala Asn Asn Ser Leu Ser Arg
405 410 415

Gly His Arg Pro Leu Asn Ile Gln Asn Ser Ser Thr Thr Pro Pro Leu
420 425 430

His Pro Glu Gly Val Thr Ser Ser Asn Asp Asn Ser Ser Asp Thr Thr
435 440 445

Lys Ser Ser Ala Ser Leu Ser His Arg Val Ala Ser Gln Ile Asn Lys
450 455 460

Phe Asn Ser Asn Thr Asp Ser Lys Val Leu Gln Thr Asp Phe Leu Ser
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Thr Arg Glu Thr Ile Phe Glu Ala Ser
485 490 495

Lys Lys Val Thr Asn Ser Leu Ser Asn Leu Ile Ser Leu Ile Gly Thr
500 505 510

Lys Ser Gly Thr Gln Glu Arg Glu Leu Gln Glu Lys Ser Lys Asp Ile
515 520 525

Thr Lys Ser Thr Thr Glu His Arg Ile Asn Asn Lys Leu Lys Val Thr
530 535 540

Asp Ala Asn Ile Arg Asn Tyr Val Thr Glu Thr Asn Ala Asp Thr Ile
545 550 555 560

Asp Lys Asn His Ala Ile Tyr Glu Lys Ala Lys Glu Val Ser Ser Ala
565 570 575

Leu Ser Lys Val Leu Ser Lys Ile Asp Asp Thr Ser Ala Glu Leu Leu
580 585 590

Thr Asp Asp Ile Ser Asp Leu Lys Asn Asn Asn Asp Ile Thr Ala Glu
595 600 605

Asn Asn Asn Ile Tyr Lys Ala Ala Lys Asp Val Thr Thr Ser Leu Ser
610 615 620

Lys Val Leu Lys Asn Ile Asn Lys Asp
625 630

RESUMEN

La presente invención describe métodos, ensayos y sistemas para diagnosticar, seleccionar y tratar el síndrome del
5 intestino irritable (IBS) en función del nivel de anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB en un sujeto. El IBS se puede distinguir de la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) utilizando los métodos, ensayos y sistemas que se describen en la presente.

FIG. 1

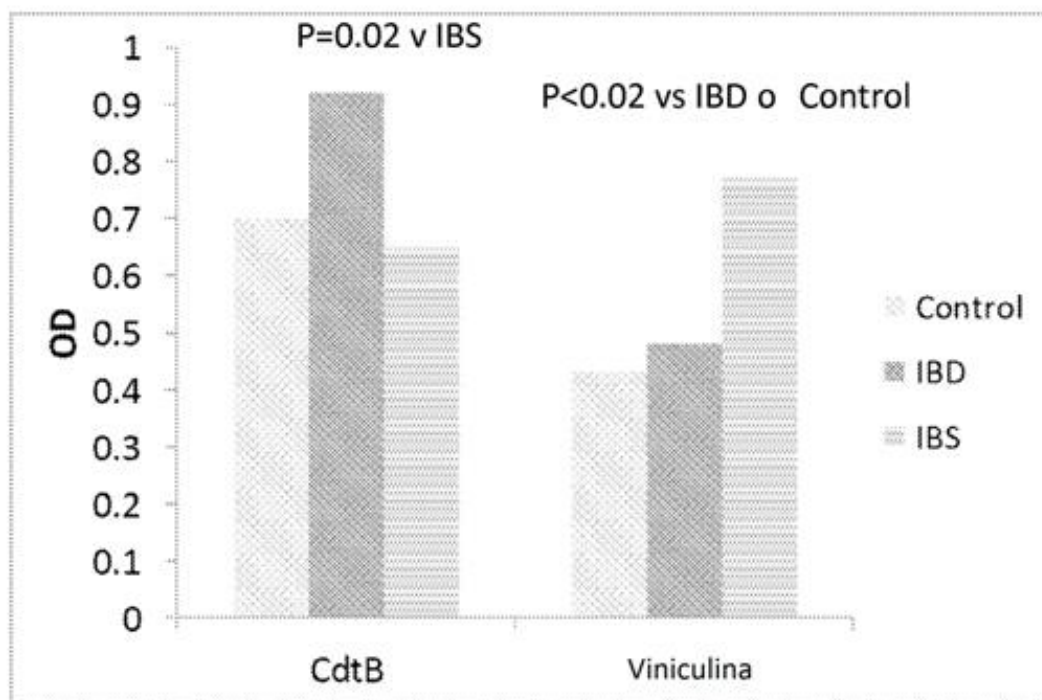


FIG. 2

