

**MÉTODO EX VIVO DE DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DEL INTESTINO
IRRITABLE QUE COMPRENDE LA DETERMINACIÓN DIFERENCIAL DE LOS
NIVELES DE ANTICUERPOS ANTI-VINCULINA Y ANTICUERPOS ANTI-
CDT EN UNA MUESTRA BIOLÓGICA DE UN PACIENTE**

5

CAMPO DE LA INVENCION

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

10

ANTECEDENTES

La siguiente descripción incluye información que puede ser
útil para la comprensión de la presente invención. No se
15 reconoce que la información proporcionada en la presente
sea técnica previa o pertinente a la invención actualmente
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 trastornos de disfunción intestinal. La convención requiere usualmente pruebas invasivas que tienen riesgos inherentes, altos costos y morbilidad para los pacientes.

10

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

15

COMPENDIO DE LA INVENCION

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
5 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.

10

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
15 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
20 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.

10

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.

15 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.

20

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.

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 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.

20

En varias modalidades, el anticuerpo anti-CDT puede ser un 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).

- 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.
- 10 El método de la reivindicación **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, 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
- 15 secuencia de aminoácidos al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1.

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

20 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.

En varias modalidades, el método puede comprender además seleccionar un tratamiento de IBS para el sujeto si se determina que el sujeto tiene IBS.

5

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

10 Varias modalidades proporcionan un 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
15 diagnosticar el IBS.

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
20 distinguir entre el IBS y la IBD; y 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, 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.

5

En varias modalidades, el sistema puede comprender 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.

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 ilustrativo en vez de taxativo.

20

La Figura 1 representa la densidad óptica de los

anticuerpos anti-vinculina (OD_V) y la densidad óptica de los anticuerpos anti-CDTB (OD_{CDTB}) de conformidad con varias modalidades de la presente invención.

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

10

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Todas las referencias mencionadas en la presente se incorporan mediante referencia en su totalidad como si se
15 establecieran por completo. A menos que se indique lo contrario, los términos técnicos y científicos utilizados 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.*,
20 *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* 3.^a ed., Revised, J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2006); y Sambrook 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, 5 2013); Kohler y Milstein, (1976) Eur. J. Immunol. 6: 511; Queen et ál. patente estadounidense N.º 5,585,089; y 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 85:5879-10 5883 (1988); Ward et ál., Nature 334:544-54 (1989); Tomlinson I. y Holliger P. (2000) Methods Enzymol, 326, 461-479; Holliger P. (2005) Nat. Biotechnol. Sep;23(9):1126-36).

15 Un experto en la técnica podrá reconocer muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la 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 20 materiales descritos.

"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.

5 "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
10 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
15 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
20 un centro de cuidados terciarios, un especialista en IBS o un especialista en movilidad.

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
5 componente clave de las adhesiones focales y y uniones adherentes, que median el enlace entre las integrinas o cadherinas respectivamente y el el citoesqueleto de actina.

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

15

El estudio de la presente muestra que cuando los 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
20 teoría particular, los inventores creen que cuando los anticuerpos anti-vinculina son mayores que los anticuerpos 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 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.

Diagnóstico

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

Métodos

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método de diagnóstico del 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
5 mayor que el nivel de anticuerpos anti-CDT.

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
10 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
15 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.

En varias modalidades, el ensayo comprende agregar
20 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/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 se 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 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
5 anti-CDT

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
10 (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
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
15 alrededor de 3 veces con aproximadamente 250µl/pocillo de
PBS-T al 0,05 %. Los pocillos se bloquean con alrededor de
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
20 1:16 utilizando BSA a alrededor de 3 % en PBS. Se agrega
alrededor de 100 µl/pocillo de suero; u se incuba durante 1
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
5 con aproximadamente 250 µl/pocillo de PBS-T al 0,05 %, se agregan 100 µl/pocillo de solución de sustrato de TMB (TMB 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
10 absorbancia a alrededor de 370 nm; y se permite que se desarrolle durante alrededor de 90 min (el ensayo se estanca a alrededor de 60 min.).

En varias modalidades, el IBS puede ser C-IBS, D-IBS, A-
15 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
20 anticuerpos are anti-CdtB.

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

5

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un 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
10 nivel de anticuerpos anti-vinculina y un nivel de anticuerpos anti-CDT para diagnosticar el IBS.

Varias modalidades de la presente invención proporcionan un sistema para distinguir entre el IBS y la IBD, que
15 comprende: una muestra biológica aislada de un sujeto que necesita un diagnóstico para distinguir entre el IBS y la 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.

20

En varias modalidades, estos sistemas comprenden 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 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.

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, 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
5 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
10 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 $OD_V -$
15 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
20 pacientes con IBD para determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT

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
5 anticuerpos are anti-CdtB.

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
10 presente como el antígeno para detectar los anticuerpos anti-vinculina y anti-CdtB.

*Sistemas y métodos de implementación por
máquinas/computadora no humana*

15

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

20

En determinadas modalidades, los métodos de la invención 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
5 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
10 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
15 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
20 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.

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.

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
5 de almacenamiento legible por computadora no transitorio,
que comprende: un módulo de almacenamiento de datos que
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
10 anticuerpos anti-vinculina y el nivel de anticuerpos anti-
CDT; un módulo de comparación que compara los datos
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-
15 vinculina con el nivel de anticuerpos anti-CDT y para
proporcionar un contenido de comparación, y un módulo de
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
20 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.

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
5 datos de pacientes que tienen IBD.

Las modalidades de la invención se pueden describir a
través de módulos funcionales, que se definen mediante
instrucciones ejecutables por computadora registradas en un
10 medio legible por computadora no transitorio y que hace que
una computadora realice etapas de un método cuando se
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
15 discretos de código y las funciones descritas se pueden
llevar a cabo mediante la ejecución de varias partes del
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
20 no se limitan a tener funciones o conjuntos de funciones
particulares.

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.

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

5 varias modalidades, variaciones y combinaciones de estas. Estas instrucciones se pueden escribir en cualquiera de los 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

10 las diversas combinaciones de estos. El medio legible por computadora en el cual se comprenden dichas instrucciones 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

15 través de uno o más de dichos componentes.

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

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

20

Los módulos funcionales de determinadas modalidades de la
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
5 forma legible por computadora.

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

10

La información determinada en el sistema de determinación 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
15 procesamiento u otro dispositivo configurado o adaptado para almacenar datos o información. Los ejemplos de aparatos electrónicos adecuados para utilizarse con la presente invención incluyen aparatos informáticos independientes, redes de telecomunicaciones de datos, que
20 incluyen redes de área local (LAN), una red de área amplia (WAN), Internet, Intranet y Extranet, y sistemas de 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
5 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
10 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.

15

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
20 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
5 pacientes que tienen IBS y/o datos de pacientes que tienen IBD.

El "módulo de comparación" puede usar una variedad de formatos programas de software disponibles para la
10 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 modalidad, el módulo de comparación se configura para utilizar técnicas de patrones de reconocimiento para
15 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
20 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.

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
5 buscadores web y los servidores web.

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

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

En varias modalidades de la invención, el contenido basado
20 en el resultado de comparación se visualiza en un monitor de computadora. En varias modalidades de la invención, el contenido basado en el resultado de comparación se visualiza a través de un 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
5 procesadores de tipo Intel PENTIUM, procesadores Motorola PowerPC, Sun UltraSPARC, Hewlett-Packard PA-RISC, cualquiera de los diversos procesadores comercializados por Advanced Micro Devices (AMD) de Sunnyvale, California, o cualquier otro tipo de procesador, dispositivos de pantalla
10 visual tales como pantallas planas, tubos de rayos catódicos y similares, así como impresoras para computadoras de varios tipos.

En una modalidad, se utiliza un buscador de sitios web para
15 proporcionar una interfaz de usuario para visualizar el contenido en función del resultado de la comparación. 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
20 solicitudes para recuperar datos a partir del módulo de comparación. Por lo tanto, el usuario comúnmente señalará y 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

5 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,
10 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,
15 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
20 es plasma.

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.

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 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, 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.

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, 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.

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

MPVFHTRTIESILEPVAQQISHLVIMHEEGEVDGKAIPDLTAPVAAVQAAVSNLVRVGK
ETVQTTEDQILKRDMPPAFIKVENACTKLVQAAQMLQSDPYSPARDYLIDGSRGILSG
TSDLLLTFFDEAEVRKIIRVCKGILEYLTVAEVVETMEDLVITYTKNLGPGMTKMAKMIDE
10 RQQELTHQEHVMLVNSMNTVKELLPVLISAMKIFVTTKNSKNQGIEEALKNRNFTVEK
MSAEINEIIRVLQLTSWDEDAWASKDTEAMKRALASIDSKLNQAKGWLDRDPSASPGDAG
EQAIRQILDEAGKVGELCAGKERREILGTCKMLGQMTDQVADLRARGQGSSPVAMQKAQ
QVSQGLDVLTAKVENAARKLEAMTNSKQSIAKKIDAAQNWLADPNGGPEGEEQIRGALA
EARKIAELCDDPKERDDILRSLGEISALTSKLADLRRQGKGDSPEARALAKQVATALQN
15 LQTKTNRAVANSRPAKAAVHLEGKIEQAQRWIDNPTVDDRGVGQAAIRGLVAEGHRLAN
VMMGPYRQDLLAKCDRVDQLTAQLADLAARGEESPQARALASQLQDSLKDLKARMQEA
MTQEVSDVFSDTTTPIKLLAVAATAPPDAPNREEVFDERAANFENHSGKLGATAEKAAA
VGTANKSTVEGIQASVKTARELTPQVVSAARILLRNPGNQAAAYEHFETMKNQWIDNVEK
MTGLVDEAIDTKSLLDASEEAIKKDLCKKVAMANIQPQMLVAGATSIARRANRILLVA
20 KREVENSEDPKFREAVKAASDELSTISPMVMDAKAVAGNISDPGLQKSFLDSGYRILG
AVAKVREAFQPQEPDFPPPPDLEQLRLTDELAPPKPPLPEGEVPPPRPPPPPEEKDEEF
PEQKAGEVINQPMMAARQLHDEARKWSSKGNDIIAAAKRMALLMAEMSRLVRGGSGTK
RALIQCAKDIAKASDEVTRLAKEVAKQCTDKRIRTNLLQVCERIPTISTQLKILSTVKA
TMLGRTNISDEESEQATEMLVHNAQNLMQSVKETVREAEAAASIKIRTDAGFTLRWVRKT

PWYQ

Anticuerpos anti-CDT

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

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

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

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

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

MKKIICLFLSFNLA FANLENFNVGTWNLQGSSAATESKWSVSVRQLVSGANPLDILMIQ

EAGTLPRATATPTGRHVQQGGTPIDEYEWNLGTLSRPDRVFIYYSRVDVGANRVNLAIVS
 RMQAEVIVLPPPTTVSRPIIGIRNGNDAFFNIHALANGGTDVGAIITAVDAHFNMPQ
 VNWMIAGDFNRDPSTITSTVDRELANRIRVVFPTSATQASGGTLDYAITGNSNRQQTYT
 PPLLAAILMLASLRSHIVSDHFPVNERKF

5

Otro ejemplo de la secuencia de aminoácidos CdtB es la
 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),

10

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

MKKIVFLILSFNVLFAALENYNTGTWNLQGSSAATESKWNVSIRQLITGANPMDVLAVQ
 EAGVLPSTAMMTPRQVQPVGVGIPHEIYIWNLGSVSRPSSVYIYYSRVDVGANRVNLAI
 VSRVQADEVFVLPPTVASRPIIGIRIGNDAFFNIHALASGGNDAGAIVA AVDMFFRNR
 PDINWMILGDFNRESGALVTLLDPDLRARTRVVPPSSSTQTSGRITIDYAITGNSNTAAL
 YNPPPIVAAILALEGLRTFLASDHFPVNFRRP

15

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

atgaaaaaaaa tagtattttt gatttttaagt tttaatgtat tatttgccgc
 tttagaaaat tacaacaccg gaacttgga tttgcaaggc tcatcagctg

```

caactgaaag  caaatggaat  gttagtataa  gacaactcat  aaccggtgca
aatcctatgg  atgttttagc  tgttcaagaa  gcggggggtt  tacctagtag
agctatgatg  actcctagac  aggtacaacc  cgtgggcgtg  ggtattccta
tacatgaata      catatggaat      ttaggctctg      tatcaagacc
5 tagctctggt  tatatatatt  attctagagt  ggatgtagga  gcaaatacgtg
tgaatttagc  tatcgtttagc  agagtgcagg  cggatgaagt  ttttggttta
ccccctccaa  cagttgcttc  aagacctatt  ataggcatac  gcataggcaa
tgatgctttt  ttcaatatac  acgctctagc  aagtggggga  aatgacgcag
gagccattgt      cgctgctgtg      gatatgtttt      ttagaaatag
10 acctgatatt  aattggatga  ttttaggcga  ttttaataga  gaatacaggcg
ccttagtaac  cttgctagat  cctgacttaa  gagcacgcac  tcgcgtagtt
gttccgcctt  cttctacgca  aacaagtgga  agaacgattg  attatgctat
cactggaaat  tccaacactg  cagctttata  caaccaccca  ccgatagttg
cgattttagc      tttagaagga      ttaagaacct      ttttggttc
15 agatcatttt  cctgtaaatt  ttagaagacc  ttag

```

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

20 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.

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

5 SEQ ID NO: 1.

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

10 modalidad, el péptido con 17 residuos tiene la siguiente secuencia: LDYAITGNSNRQQTYTP (SEQ ID NO:3).

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 17 residuos que tiene al

15 menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de homología con 17 residuos contiguos de CdtB (por 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).

20

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une 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).

5 En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une específicamente a un péptido con 18 residuos que tiene la 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.

10

En otras modalidades, el anticuerpo anti-CDT se une 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
15 NO:4).

20

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, 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 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 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.

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 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, 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

20

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 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.

10

En otra modalidad, el anticuerpo anti-CDT se une 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 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, 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.

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.

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
5 inmuoabsorción ligado a enzimas (ELISA), que incluye, de modo no taxativo, ELISA indirecto, ELISA sándwich, ELISA competitivo y ELISA múltiples y portátiles.

En varias modalidades de los métodos y sistemas que se
10 describen en la presente, el ensayo es un ensayo para detectar el nivel de anticuerpos anti-vinculina. El ensayo 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
15 (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), un segundo reactivo (por ejemplo, anticuerpo secundario) para que reaccione con el
20 anticuerpo anti-vinculina o un segundo reactivo, para que reaccione con el primer reactivo y un sustrato (por 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
5 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
10 requiera un sustrato para producir la señal; por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

En varias modalidades, el ensayo es un ensayo para determinar el nivel de anticuerpos anti-CDT. El ensayo
15 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
20 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 segundo reactivo comprende un marcador para producir una señal que indique la presencia del anticuerpo anti-CDT. En
5 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,
10 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'-
15 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).

20 En varias modalidades, el ensayo comprende un primer reactivo para que reaccione con el anticuerpo anti-CDT. En 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 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
5 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;
10 por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

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:
15 un primer reactivo y un segundo reactivo para que
reaccionen con la muestra biológica si la muestra biológica
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
20 en la muestra biológica, pero aún así el primer reactivo se
encuentra presente en el ensayo; o si no se encuentran
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 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-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
5 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
10 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
15 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
20 la señal; por ejemplo HRP puede reaccionar con el sustrato TMB.

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.

5 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
10 con fluorescencia *in situ* (FISH), radioinmunoensayos y purificación por afinidad.

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

En determinadas modalidades, la detección del nivel de un
20 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.

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 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 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 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 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).

5

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;
10 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,
15 4, 5 o un fragmento de estas tal como se describe en la presente.

En varias modalidades, los fragmentos de CDT, CdtA, CdtB, CdtC, SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5 son aquellos que se describen
20 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 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.

20

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.

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.

5 Varias modalidades de la presente invención proporcionan un método para seleccionar una terapia para el IBS: 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 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.

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

20

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 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

5 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

10 anti-CDT

La selección de un tratamiento tal como se utiliza en la presente, incluye, de modo no taxativo, la selección, elección, prescripción, consejo, recomendación, instrucción

15 o asesoramiento al sujeto con respecto al tratamiento.

En varias modalidades, el método comprende además administrar la terapia para tratar el IBS.

20 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
5 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
10 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
15 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-
20 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, estreptomina, tobramicina, paromomina), ansamicinas (por ejemplo, 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; segunda generación: cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima; tercera generación: cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona; cuarta generación: cefepima; quinta generación: ceftobiprole), glycopeptides (por ejemplo, teicoplanina, vancomicina), macrólidos (por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina), monobactamas (por ejemplo, aztreonam), 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,
5 lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina,
trovafloxacina), rifamicinas (por ejemplo, rifampicina o
rifampina, rifabutina, rifapentina, rifaximina),
sulfonamidas (por ejemplo, mafenida, prontosil,
sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilamida, sulfasalazina,
10 sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-
trimoxazol, "tmp-smx"), y tetraciclinas (por ejemplo,
demeclociclina, doxyciclina, minociclina, oxytetraciclina,
tetraciclina) así como arsfenamina, cloramfenicol,
clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácido
15 fusídico, furazolidona, isoniazid, linezolid, metronidazol,
mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida,
combinación de quinupristina/dalfopristina, y tinidazol, o
una combinación de estos. En varias modalidades, los
antibióticos son una combinación de rifaximina y neomicina.
20 En varias modalidades, los antibióticos son una combinación
de rifaximina y doxiciclina. En varias modalidades, los
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
 5 paramomicina.

Los ejemplos de terapias para IBS adicionales incluyen suplementos de fibras (por ejemplo, METAMUCIL, CITRUCCEL), laxantes osmóticos (por ejemplo, leche de magnesia,
 10 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,
 15 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
 20 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

5 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
10 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
15 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,
20 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.

5 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,
10 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,
15 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
20 biológica (por ejemplo, plasma, suero) en la determinación de la presencia o el nivel de anticuerpos anti-vinculina.

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, 5 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, 10 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 15 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 20 presencia o el nivel de anticuerpos anti-CdtB.

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

5 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

10 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

15 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-CdtB.

20

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

- 5 Varias modalidades proporcionan métodos para el tratamiento del IBS.

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

En varias modalidades el método puede comprender
15 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
20 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.

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

10

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

20

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
5 determinar sus niveles de anti-vinculina y anticuerpos anti-CDT

En varias modalidades, la terapia administrada es una terapia tal como se describe en la presente. En varias
10 modalidades, la terapia 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
15 una terapia disponible en la técnica previa.

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
20 describe en los métodos y sistemas de la presente invención.

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
5 (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
10 anticuerpos are anti-CdtB.

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

En varias modalidades, el agente neutralizante o inhibidor
20 del anticuerpo anti-vinculina es un polipéptido 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 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.

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

En varias modalidades, el método puede comprender
10 proporcionar un agonista de vinculina y administrar el agonista de vinculina a un sujeto que lo necesita para 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*
15 *Target Integrins from Within the Cell to Increase Melanoma Sensitivity to Chemotherapy*, Mol Cancer Res Junio 2011 9; 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
20 pueden ser los residuos 500-633 de la proteína invasina IpaA de *Shigella*.

La secuencia de proteínas de IpaA de *Shigella*:

	MHNVNNTQAP	TFLYKATSPS	STEYSELKSK	ISDIHSSQTS	LKTPASVSEK
	ENFATSFNQK	CLDFLFSSSG	KEDVLRSIYS	NSMNAYAKSE	ILEFSNVLYS
	LVHQNGLNFE	NEKGLQKIVA	QYSELIKDK	LSQDSAFGPW	SAKNKKLHQL
	RQNIHRLAL	LAQQHTSGEA	LSLGQKLLNT	EVSSFIKNNI	LAELKLSNET
5	VSSLKLDDLV	DAQAKLAFDS	LRNQRKNTID	SKGFGIGKLS	RDLNTVAVFP
	ELLRKVLNDI	LEDIKDSHPI	QDGLPTPPED	MPDGGPTPGA	NEKTSQPVIIH
	YHINNDNRTY	DNRVFDNRVY	DNSYHENPEN	DAQSPTSQTN	DLLSRNGNSL
	LNPQRALVQK	VTSVLPHSIS	DTVQTFANNS	ALEKVFNHTP	DNSDGIGSDL
	LTTSSQERSA	NNSLSRGHRP	LNIQNSSTTP	PLHPEGVTSS	NDNSSDTTKS
10	SASLSHRVAS	QINKFNSNTD	SKVLQTDFLS	RNGDTYLTRE	TIFEASKKVT
	NSLSNLISLI	GTKSGTQERE	LQEKSKDITK	STTEHRINNK	LKVT DANIRN
	YVTETNADTI	DKNHAIYEKA	KEVSSALSKV	LSKIDDTSAE	LLTDDISDLK
	NNNDITAENN	NIYKAAKDVT	TSLSKVLKNI	NKD	(SEQ ID NO:8)

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

20 combinaciones de estas.

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.

10

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.

20 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 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, 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 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 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 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 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 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.

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

5 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.

10 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

15 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

20 forma de jarabe, elíxir, 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 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 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 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 (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.

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 µl/pocillo de BSA al 3 % en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente en una caja humedecida.

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 µl/pocillo de suero. Se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en la caja humedecida.

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

ETAPA 6 - Creación y distribución de solución secundaria - se agregaron 100 µl/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.

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

ETAPA 8 - Detección - Se agregó 100 µl/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 alrededor de los 60 min.).

Ejemplo 2

10

Se tomaron muestras de sangre de los siguientes sujetos y 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 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}

5		En comparación con saludables			En comparación con IBD		
	Umbral de OD _V -OD _{CDT}	Sensibi lidad	Especif icidad	PPV	Sensibi lidad	Especif icidad	PPV
	>0,6	20	100	100	20	93	94
	>0,2	41	85	94	41	88	94
	>0,1	48	77	93	48	83	94
10	>0	56	73	93	48	89	96

Los resultados se analizaron adicionalmente para el control de la IBD cuando se utilizó un supuesto de que 10 % de los

15 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).

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

Tabla 2A.

vinculina	En comparación con IBD		
	Sensibilidad	Especificidad	PPV
Umbral de OD			
>1,0	30	85	92
>0,8	59	70	92
>0,5	59	70	92

Tabla 2B.

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

Varias modalidades de la invención se describen anteriormente en la Descripción Detallada. Mientras estas 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
5 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 adjudique los significados comunes y habituales para los expertos en la técnica de la/s técnica/s aplicable/s.

10

La descripción anterior de varias modalidades de la invención conocida para el solicitante que ahora presenta la solicitud fue presentada y se pretende para los fines de la ilustración y descripción. La presente descripción no
15 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 modalidades descritas sirven para explicar los principios de la invención y su aplicación práctica y para permitirle
20 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 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 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 término "incluye" se interpretará como "incluye de modo no taxativo", el término "tiene" se interpretará como "tiene al menos", etc.).