

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 961 925**

51 Int. Cl.:

G01N 33/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.07.2020 PCT/GB2020/051604**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2021 WO21005341**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.07.2020 E 20739763 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2023 EP 3994467**

54 Título: **Biomarcadores para el síndrome del intestino irritable**

30 Prioridad:

05.07.2019 GB 201909709

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

14.03.2024

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF LIVERPOOL (50.0%)
Foundation Building, 765 Brownlow Hill
Liverpool L69 7ZX, GB y
KING'S COLLEGE LONDON (50.0%)**

72 Inventor/es:

**WHELAN, KEVIN;
WILSON, BRIDGETTE;
ROSSI, MEGAN;
PROBERT, CHRIS y
SLATER, RACHAEL**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 961 925 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Biomarcadores para el síndrome del intestino irritable

5 La presente invención se relaciona con un método para determinar la probabilidad de que un individuo tenga síndrome del intestino irritable y si ese individuo responderá a una intervención dietética. La presente invención también se relaciona con un método para determinar la probabilidad de que un individuo que padece síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética. La presente invención también se relaciona con el uso de un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico como biomarcador para determinar la probabilidad de que un individuo con síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética.

Antecedentes

10 El síndrome del intestino irritable (IBS) es una afección común que afecta el sistema digestivo. Se caracteriza por síntomas recurrentes como calambres estomacales, dolor abdominal, hinchazón, diarrea y/o estreñimiento. Estos síntomas tienden a aparecer y desaparecer con el tiempo, pero pueden durar horas, días, semanas o incluso meses seguidos. Puede ser un problema de por vida para muchos enfermos.

15 El IBS es uno de los trastornos médicos más comúnmente diagnosticados en el mundo desarrollado. Se estima que hasta el 20% de la población adulta puede presentar uno o más síntomas del IBS. El diagnóstico del IBS suele basarse en una evaluación de los síntomas y su frecuencia. Actualmente no existe cura para el IBS, por lo que el tratamiento se centra en metodologías para aliviar y controlar los síntomas. Algunos pacientes que padecen IBS pueden controlar sus síntomas (por ejemplo, calambres, dolor abdominal, hinchazón, estreñimiento y diarrea) de manera eficaz mediante un control dietético, control del estrés y/o medicamento. Sin embargo, para muchos pacientes, el IBS puede ser una afección extremadamente incapacitante, que afecta su capacidad para trabajar, asistir a eventos sociales y/o viajar (incluso distancias cortas).

20 En términos de intervención dietética, se ha demostrado que una dieta conocida como dieta baja en "FODMAP" es beneficiosa en algunos pacientes con IBS. La idea de la dieta es evitar alimentos que contengan compuestos FODMAP (Oligosacáridos, Disacáridos, Monosacáridos y Polioles Fermentables). Sin embargo, actualmente es difícil predecir qué pacientes con IBS se beneficiarán de esta intervención dietética.

25 Por lo tanto, existe la necesidad de métodos mejorados para diagnosticar el IBS y para determinar si un paciente que padece IBS responderá a la intervención dietética. La presente invención fue ideada teniendo en cuenta lo anterior.

Breve resumen de la divulgación

30 En un primer aspecto de la invención se proporciona un método para determinar la probabilidad de que un individuo tenga síndrome del intestino irritable y si el individuo responderá a la intervención dietética, comprendiendo el método las etapas de:

i) analizar una muestra de heces recolectada de dicho individuo para determinar si está presente un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico; y

35 ii) si un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico está presente en la etapa i), determinar la cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico que está presente y comparar la cantidad detectada con un valor de control;

en donde la presencia de una cantidad aumentada del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico en comparación con el valor de control es indicativa de una mayor probabilidad de que el individuo tenga síndrome del intestino irritable y de la probabilidad de que el individuo responda a la intervención dietética; y en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es uno o más de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster de ácido ciclohexanocarboxílico.

40 Sorprendentemente, los inventores han descubierto que detectar la presencia de niveles aumentados de los compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico definidos aquí que emanan de una muestra de heces (en relación con un valor de control) permitió la determinación de: (i) la probabilidad de que un individuo tenga síndrome del intestino irritable (IBS); y (ii) la probabilidad de que ese individuo responda a la intervención dietética. Anteriormente no ha sido posible determinar qué pacientes con IBS responderán a la intervención dietética, por lo que la identificación de los compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico definidos aquí como biomarcadores fecales para determinar la probabilidad de que un individuo tenga IBS y si responderán a la intervención dietética es un avance importante. Por lo tanto, el método de la presente invención representa una mejora significativa con respecto a los métodos existentes.

45 En otro aspecto, se proporciona un método para determinar la probabilidad de que un individuo con síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética, comprendiendo el método las etapas de:

50 i) analizar una muestra de heces recolectada de dicho individuo para determinar si está presente un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico; y

ii) si un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico está presente en la etapa i), determinar la cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico que está presente y comparar la cantidad detectada con un valor de control;

en donde la presencia de una cantidad aumentada del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico en comparación con el valor de control es indicativa de una probabilidad aumentada de que el individuo responda a la intervención dietética; y en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es uno o más de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster de ácido ciclohexanocarboxílico.

- 5 Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona de uno o más de ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster alquílico (C1-5) del ácido ciclohexanocarboxílico.

Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster alquílico (C1-4) del ácido ciclohexanocarboxílico.

- 10 Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona entre ácido ciclohexanocarboxílico, éster metílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico. Más adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona entre éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico.

- 15 De manera adecuada, la etapa de analizar la muestra de heces implica detectar si están presentes dos o más compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico. Los compuestos de ácido carboxílico pueden ser cualquiera de los compuestos de ácido carboxílico descritos aquí.

De manera adecuada, la presencia y cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se determina detectando compuestos orgánicos volátiles (es decir, los compuestos volátiles de ácido ciclohexanocarboxílico definidos aquí) que emanan de la muestra de heces, por ejemplo, usando cromatografía de gases, espectrometría de masas (GC-MS).

- 20 De manera adecuada, en los métodos de la presente invención, el individuo tiene uno o más síntomas asociados con el síndrome del intestino irritable. Uno o más síntomas asociados con el síndrome del intestino irritable pueden incluir uno o más de diarrea, estreñimiento, calambres abdominales, hinchazón y dolor abdominal. El individuo puede tener síndrome del intestino irritable según lo definido por los criterios de Roma III. Los criterios de Roma III se definen como síntomas que persisten durante al menos tres meses, con inicio al menos seis meses antes, de dolor abdominal recurrente o malestar asociado con dos o más de los siguientes: mejoría con la defecación; y/o inicio asociado con un cambio en la frecuencia de las heces; y/o inicio asociado con un cambio en la forma (aparición) de las heces.

- 30 En los métodos de la presente invención, el valor de control normalmente es la cantidad de un compuesto de ácido carboxílico detectable a partir de muestras de heces de un individuo o cohorte de individuos que no responden a la dieta. Los que no responden a la dieta pueden ser un individuo o una cohorte de individuos, con o sin IBS, que no responde a la intervención dietética como se define aquí. Los que no responden a la dieta pueden ser un individuo o una cohorte de individuos con IBS que no responde a la intervención dietética. Los que no responden a la dieta pueden ser un individuo o una cohorte de individuos sin IBS que no responde a la intervención dietética.

- 35 La intervención dietética puede incluir uno o más de una dieta baja en trigo, una dieta baja en oligosacáridos, una dieta baja en disacáridos, una dieta baja en monosacáridos, una dieta baja en polioles y/o una dieta baja en FODMAP. La intervención dietética puede incluir una dieta baja en trigo o una dieta baja en FODMAP. Adecuadamente, la intervención dietética incluye o consiste en una dieta baja en FODMAP. La intervención dietética puede incluir suplementos adicionales, por ejemplo, con un pre o probiótico.

- 40 En otro aspecto, se proporciona el uso de un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico como biomarcador para determinar la probabilidad de que un individuo con síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética. Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es uno o más de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster de ácido ciclohexanocarboxílico.

- 45 Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es cualquiera de los compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico descritos aquí, es decir, un ácido ciclohexanocarboxílico o un éster alquílico de ácido ciclohexanocarboxílico. Adecuadamente, el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona entre ácido ciclohexanocarboxílico, éster metílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster pentílico del ácido ciclohexanocarboxílico.

Breve descripción de los dibujos

- 50 A continuación, se describen con más detalle realizaciones de la invención con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 muestra la media de valores (SD) \log^2 para éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico fecal en el grupo LFD comparando a los que respondieron (n=10) y los que no respondieron (n=9) al inicio, semana 1 y semana 4.

La Figura 2 muestra la media de valores (SD) \log^2 para éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico fecal en el grupo LFD comparando a los que respondieron (n=10) y los que no respondieron (n=9) al inicio, semana 1 y semana 4.

La Figura 3 muestra la media de valores (SD) \log^2 para éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico fecal en el grupo LFD comparando a los que respondieron (n=10) y los que no respondieron (n=9) al inicio, semana 1 y semana 4.

5 La Figura 4 muestra un mapa de calor que muestra diferentes compuestos orgánicos volátiles fecales detectados en los que respondieron en comparación con los que no respondieron a la LFD. Con referencia a la Figura 4, en la línea superior, A0 (bloques claros) son personas que no responden, A1 (bloques oscuros) son personas que responden a la dieta baja en FODMAP. Las tres filas debajo de la fila superior ilustran la abundancia relativa (claro = bajo, oscuro = alto) de los compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico, la mayoría de los cuales son mayores en los que responden que en los que no responden (36.43 es éster butílico, ácido ciclohexanocarboxílico; 30.27 es éster butílico, ácido ciclohexanocarboxílico; 33.47 es éster propílico, ácido ciclohexanocarboxílico). Las etiquetas verticales en la parte inferior son identificadores de muestra.

Descripción detallada

15 El término FODMAP se deriva de "Oligo, Di, Monosacáridos y Polioles fermentables". Los FODMAP son carbohidratos y monosacáridos de cadena corta que se absorben mal en el intestino delgado. Las principales fuentes dietéticas de los cuatro grupos de FODMAP incluyen:

Oligosacáridos: Trigo, centeno, legumbres y diversas frutas y verduras, como ajos y cebollas.

Disacáridos: Leche, yogur y queso suave. La lactosa es el principal carbohidrato asociado con estos alimentos.

Monosacáridos: Diversas frutas, incluidos higos y mangos, y edulcorantes como miel y néctar de agave. La fructosa es el principal carbohidrato asociado con estos alimentos.

20 Polioles: Ciertas frutas y verduras, incluidas las moras y el lichi, así como algunos edulcorantes bajos en calorías como los de la goma de mascar sin azúcar.

25 Se entenderá por el contexto de la presente invención que los compuestos de ácido carboxílico descritos aquí son compuestos orgánicos volátiles. Se puede considerar un "compuesto orgánico volátil" como un compuesto orgánico que tiene un punto de ebullición inicial menor o igual a 250 ° C (482 ° F) medido a una presión atmosférica estándar de 101.3 kPa.

30 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta especificación, las palabras "comprende" y "contiene" y sus variaciones significan "incluido, pero no limitado a", y no pretenden (y no) excluyen otras unidades estructurales, aditivos, componentes, números enteros o etapas. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta especificación, el singular abarca el plural a menos que el contexto requiera lo contrario. En particular, donde se utiliza el artículo indefinido, se debe entender que la especificación contempla tanto la pluralidad como la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario.

Se debe entender que los rasgos, números enteros, características, compuestos, unidades estructurales químicas o grupos descritos junto con un aspecto, realización o ejemplo particular de la invención son aplicables a cualquier otro aspecto, realización o ejemplo descrito aquí a menos que sea incompatible con el mismo.

35 Ejemplos

Compuestos orgánicos volátiles en heces

40 El análisis de compuestos orgánicos volátiles (VOC) se realizó mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) en un sistema de mesa cuadrupolo PerkinElmer Clarus 500 GC/MS (Beaconsfield, Reino Unido) y un muestreador automático Combi PAL (CTC Analytics, Suiza) para todas las muestras de heces recolectadas al inicio, semana 1 y semana 4 para todos los participantes.

Los compuestos orgánicos volátiles (VOC) son intermediarios/puntos finales de las vías metabólicas y reflejan el metabolismo del colon [1]. Hay una gran cantidad de VOC en las heces humanas y en un estudio se ha demostrado que el perfil de VOC, así como los VOC individuales, son diferentes entre los que respondieron y los que no respondieron a la dieta baja en FODMAP [2].

45 Se pesaron 250-300 μg de cada muestra en viales de vidrio de 2 ml con tapas de tabique magnético (Crawford Scientific, Lanarkshire, Reino Unido) y se realizó la GC-MS. La fibra de microextracción en fase sólida utilizada fue una DVB-CAR-PDMS, por lo demás el protocolo fue el mismo publicado por Reade *et al* (2014) [1].

Protocolo de extracción de compuestos orgánicos volátiles

50 La columna de GC utilizada fue una Zebron ZB-624 con un diámetro interior de 0.25 mm, longitud de 60 m y un espesor de película de 1.4 μm (Phenomenex, Macclesfield, Reino Unido). El gas portador utilizado fue helio con una pureza del 99.996 % (BOC, Sheffield, Reino Unido). La fibra SPME utilizada fue una DVB-CAR-PDMS de 30 μm (1 cm) (Sigma-Aldrich, Dorset, Reino Unido). La fibra fue preacondicionada antes de su uso, de acuerdo con el manual del

fabricante. Las muestras se preincubaron durante 30 minutos a 60 ° C antes de la exposición de la fibra, la fibra se expuso a 60 ° C durante 20 minutos y luego se desorbió durante 5 minutos a 220 ° C. La temperatura inicial del horno de GC se fijó en 40 ° C y se mantuvo durante 1 minuto antes de aumentar a 220 ° C a una tasa de 5 ° C/minuto y se mantuvo durante 4 minutos con un tiempo total de ejecución de 41 minutos. Se estableció un retraso del disolvente durante los primeros 6 minutos y el MS se operó en modo EI+ de ionización por impacto electrónico, escaneando desde fragmentos de masa iónica de 10 a 300 *m/z* con un retraso entre escaneo de 0.1 segundos y una resolución de 1000 en FWHM (ancho completo a la mitad del máximo). La tasa de flujo de gas helio se fijó en 1 ml/minuto. La sensibilidad del instrumento se determinó únicamente con 2-pentanona y varía para otros compuestos. El límite de detección, que es 3 veces la proporción señal/ruido, del método para 2-pentanona con DVB-CAR-PDMS es de 16 ppm.

Protocolo de prueba

Niveles de VOC en los que responden frente a los que no responden

Cuando se compararon los VOC individuales utilizando un mapa de calor para visualizar las diferencias entre los que respondieron y los que no respondieron al inicio del estudio, se observó un patrón claro de separación entre los que respondieron y los que no respondieron a la LFD al inicio del estudio (Figura 4). Esto reveló una clase específica de especies de VOC relacionadas que eran más altas en los que respondieron que en los que no respondieron al inicio del estudio. En general, los pacientes respondieron a la dieta si tenían niveles más altos de éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster propílico del ácido ciclohexano carboxílico al inicio del estudio. Hubo excepciones a esta regla: dos pacientes no respondieron a la dieta aunque ambos tenían niveles altos de ácidos de ciclohexanona al inicio del estudio y dos pacientes tenían niveles bajos de ácidos de ciclohexanona pero respondieron a la dieta.

Al inicio del estudio, los que respondieron tenían una mayor abundancia logarítmica (media (SD)) de éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico (13.7 (2.1)) que los que no respondieron (5.7 (3.1)), mayor éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico (11.73 (2.35)) que los que no respondieron (5.59 (3.02)) y éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico superior (8.49 (2.50)) que los que no respondieron (3.37 (2.37)) (Figuras 1-4) aunque estas diferencias no fueron significativas, posiblemente debido a un rigor excesivo del modelo estadístico aplicado para la comparación directa de dos grupos. Para explorar más a fondo si la familia del ácido ciclohexanocarboxílico podía predecir la respuesta a la LFD, se generaron curvas ROC combinando los tres compuestos del ácido ciclohexanocarboxílico que eran más altos en los que respondieron al inicio del estudio en comparación con la respuesta (AUC=0.793 (regular), 95 % CI 0.5, 1 *p*> 0.05). Cuando solo se comparó la respuesta al éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, se pudo predecir la respuesta a la LFD al inicio del estudio con buena especificidad y sensibilidad (AUC=0.854 (buena), 95 % CI 0.542, 1, *p*=0.045).

Procesamiento de datos

Los datos de GCMS se procesaron utilizando una tubería que involucra el software Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (AMDIS, versión 2.71, 2012), la biblioteca de espectros de masas NIST (versión 2.0, 2011) y el paquete R (R core team, 2013) *Metab.* (Aggio R, Villas-Bôas SG, Ruggiero K. *Metab: an R package for high-throughput analysis of metabolomics data generated by GC-MS.* *Bioinformatics* 2011;27:2316-8. doi:10.1093/bioinformatics/btr379). Se utilizó el software AMDIS y NIST para crear una biblioteca de VOC que contiene los metabolitos presentes en las muestras de heces analizadas en este estudio. Se utilizó una coincidencia directa e inversa de 800/1000 y superior para asignar identificaciones tentativas de compuestos. Utilizando esta biblioteca de VOC, se aplicó AMDIS para deconvolucionar cromatogramas e identificar metabolitos. *Metab* procesó aún más el informe generado por AMDIS para alinear los metabolitos y recalcular sus abundancias relativas en función de la intensidad de un fragmento de masa iónica específica por metabolito. Los compuestos se denominaron utilizando la nomenclatura IUPAC.

Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó en R y *Metaboanalyst* (Xia, J., Sinelnikov, I., Han, B. y Wishart D. *MetaboAnalyst 3.0: making metabolomics more meaningful.* *Nucleic acid Res* 2015;43:W251-7), utilizando la prueba *t* de Student, corrección de la tasa de descubrimiento falso, análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), análisis factorial y análisis de característica del operador del receptor (ROC). Cuando se utilizó *Metaboanalyst*, los datos se normalizaron mediante la mediana y se transformaron logarítmicamente.

Discusión entre los que respondieron y los que no respondieron

La separación de las especies de compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico entre los que respondieron y los que no respondieron al inicio del estudio en el grupo LFD es un hallazgo interesante ya que se ha demostrado que los VOC pueden diferenciar entre diferentes afecciones gastrointestinales (control saludable, IBS e IBD) y expresión diferencial de los VOC en IBS e IBD se normalizan hasta un control saludable después del tratamiento para reducir la actividad de la enfermedad o la gravedad de los síntomas, respectivamente [4-6]. Un estudio que comparó los perfiles de VOC en pacientes con IBS que respondieron (37/46, 80 %) (definido como una reducción de ≥ 50 puntos en el IBS-SSS) con los que no respondieron (9/46, 20 %) a la LFD utilizó un dispositivo sensor de cromatografía de gas

(Odoreader) para analizar perfiles de VOC fecales [2]. Los perfiles de VOC pudieron distinguir con precisión entre los que respondieron y los que no respondieron al inicio del estudio con una precisión media del 97 % (95 % CI, 96 %-99 %) aunque el método de análisis no permitió identificar los VOC individuales. El estudio actual se basa en esta evidencia, ya que la adición de espectrometría de masas permite la identificación de metabolitos específicos. El hallazgo de que los VOC relacionados (los compuestos del ácido ciclohexanocarboxílico) distinguen a los que respondieron de los que no respondieron y que la LFD conduce a una normalización de este factor distintivo proporciona un objetivo intrigante para futuras investigaciones sobre el mecanismo y la predicción de la respuesta a la LFD.

Tabla 1 Veces de cambio en compuestos orgánicos volátiles fecales con una diferencia >1 vez entre los que respondieron y los que no respondieron a la LFD.

LFD	Veces de cambio (log ²)
36.43_Éster butílico, ácido ciclohexanocarboxílico	-1.4491
30.27_Éster etílico, ácido ciclohexanocarboxílico	-1.3934
33.47_Éster propílico, ácido ciclohexanocarboxílico	-1.2087
17.98_2-Hexanona	1.0657
25.22_Trisulfuro de dimetilo	1.0438
15.92_Disulfuro, dimetilo	1.0251
14.06_Éster etílico, ácido propanoico	-1.0178

Los datos se presentan como log² media de veces de cambio entre los que respondieron y los que no respondieron. Sólo se muestran VOC con media de veces de cambio de >1. Valores negativos = valor más bajo en los que no respondieron, valor positivo = valor más alto en los que no respondieron

1. Reade, S., et al., Optimisation of sample preparation for direct SPME-GC-MS analysis of murine and human faecal volatile organic compounds for metabolomic Studies. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 2014. 5(2): p. 1.
- 15 2. Rossi, M., et al., Volatile Organic Compounds in Feces Associate With Response to Dietary Intervention in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2018. 16(3): p. 385-+.
3. Halmos, E., et al. Diets that differ in their FODMAP content alter the colonic luminal microenvironment. *Gut*, 2014. 64, 93-100 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-307264.
4. Walton, C., et al., Analysis of volatile organic compounds of bacterial origin in chronic gastrointestinal diseases. *Inflamm Bowel Dis*, 2013. 19(10): p. 2069-78.
- 20 5. Ahmed, I., et al., Investigation of faecal volatile organic metabolites as novel diagnostic biomarkers in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2016. 43(5): p. 596-611.
6. Ahmed, I., et al., An Investigation of Fecal Volatile Organic Metabolites in Irritable Bowel Syndrome. *Plos One*, 2013. 8(3).

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la probabilidad de que un individuo tenga síndrome del intestino irritable y si el individuo responderá a la intervención dietética, comprendiendo el método las etapas de:
- 5 i) analizar una muestra de heces recolectada de dicho individuo para determinar si está presente un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico; y
ii) si un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico está presente en la etapa i), determinar la cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico que está presente y comparar la cantidad detectada con un valor de control;
- 10 en donde la presencia de una cantidad aumentada del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico en comparación con el valor de control es indicativa de una mayor probabilidad de que el individuo tenga síndrome del intestino irritable y de la probabilidad de que el individuo responda a la intervención dietética; y en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es uno o más de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster de ácido ciclohexanocarboxílico.
2. Un método para determinar la probabilidad de que un individuo con síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética, comprendiendo el método las etapas de:
- 15 i) analizar una muestra de heces recolectada de dicho individuo para determinar si está presente un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico; y
ii) si un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico está presente en la etapa i), determinar la cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico que está presente y comparar la cantidad detectada con un valor de control;
- 20 en donde la presencia de una cantidad aumentada del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico en comparación con el valor de control es indicativa de una probabilidad aumentada de que el individuo responda a la intervención dietética; y en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es uno o más de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster de ácido ciclohexanocarboxílico.
- 25 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona de un ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster alquílico (1-5C) del ácido ciclohexanocarboxílico.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es ácido ciclohexanocarboxílico y/o un éster alquílico (1-4C) del ácido ciclohexanocarboxílico.
- 30 5. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona de éster metílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico.
- 35 6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona entre éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la etapa de analizar la muestra de heces implica detectar si están presentes dos o más compuestos de ácido ciclohexanocarboxílico.
- 40 8. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la presencia y cantidad del compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se determina detectando compuestos orgánicos volátiles que emanan de la muestra de heces usando cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS).
9. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el individuo tiene uno o más síntomas asociados con el síndrome del intestino irritable.
10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde uno o más síntomas asociados con el síndrome del intestino irritable se seleccionan entre diarrea, estreñimiento, calambres abdominales y dolor abdominal.
- 45 11. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la intervención dietética es una dieta baja en trigo.
12. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la intervención dietética es una dieta baja en FODMAP.
- 50 13. Uso de un compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico como biomarcador para determinar la probabilidad de que un individuo con síndrome del intestino irritable responda a una intervención dietética.
14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico es un ácido ciclohexanocarboxílico o un éster alquílico del ácido ciclohexanocarboxílico.

15. El uso de la reivindicación 13 o 14, en donde el compuesto de ácido ciclohexanocarboxílico se selecciona de ácido ciclohexanocarboxílico, éster metílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster etílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster propílico del ácido ciclohexanocarboxílico, éster butílico del ácido ciclohexanocarboxílico y éster pentílico del ácido ciclohexanocarboxílico.

36.43 éster butílico, ácido ciclohexanocarboxílico

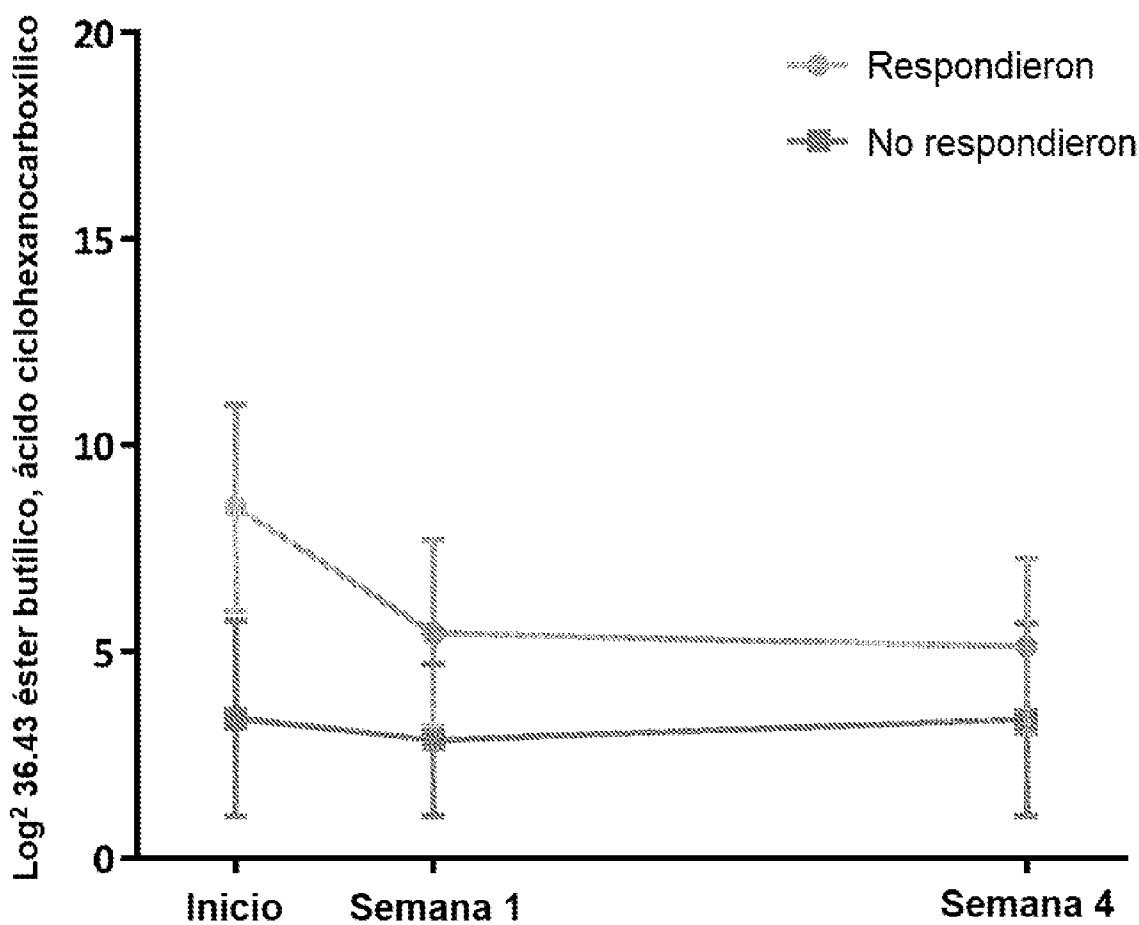


FIGURA 1

30.27 éster etílico, ácido ciclohexanocarboxílico

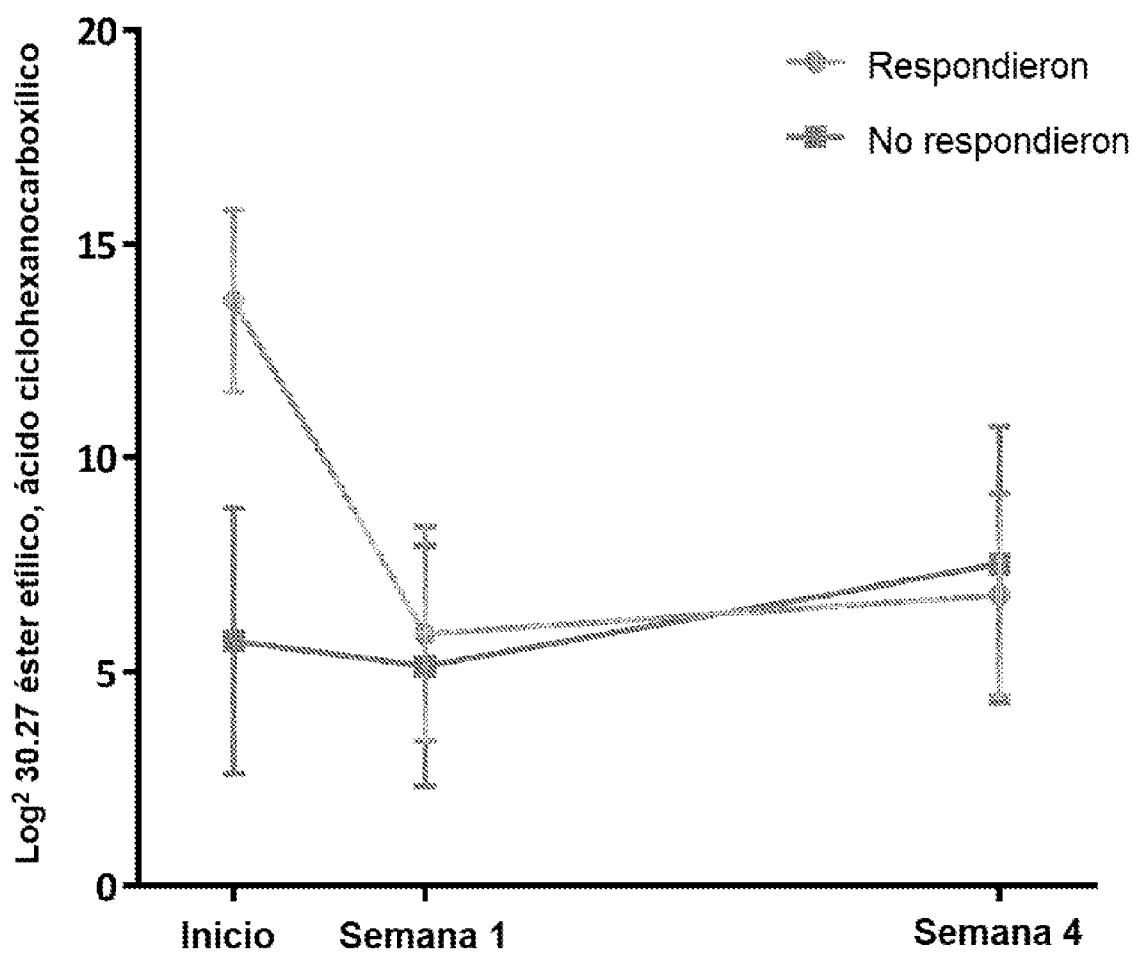


FIGURA 2

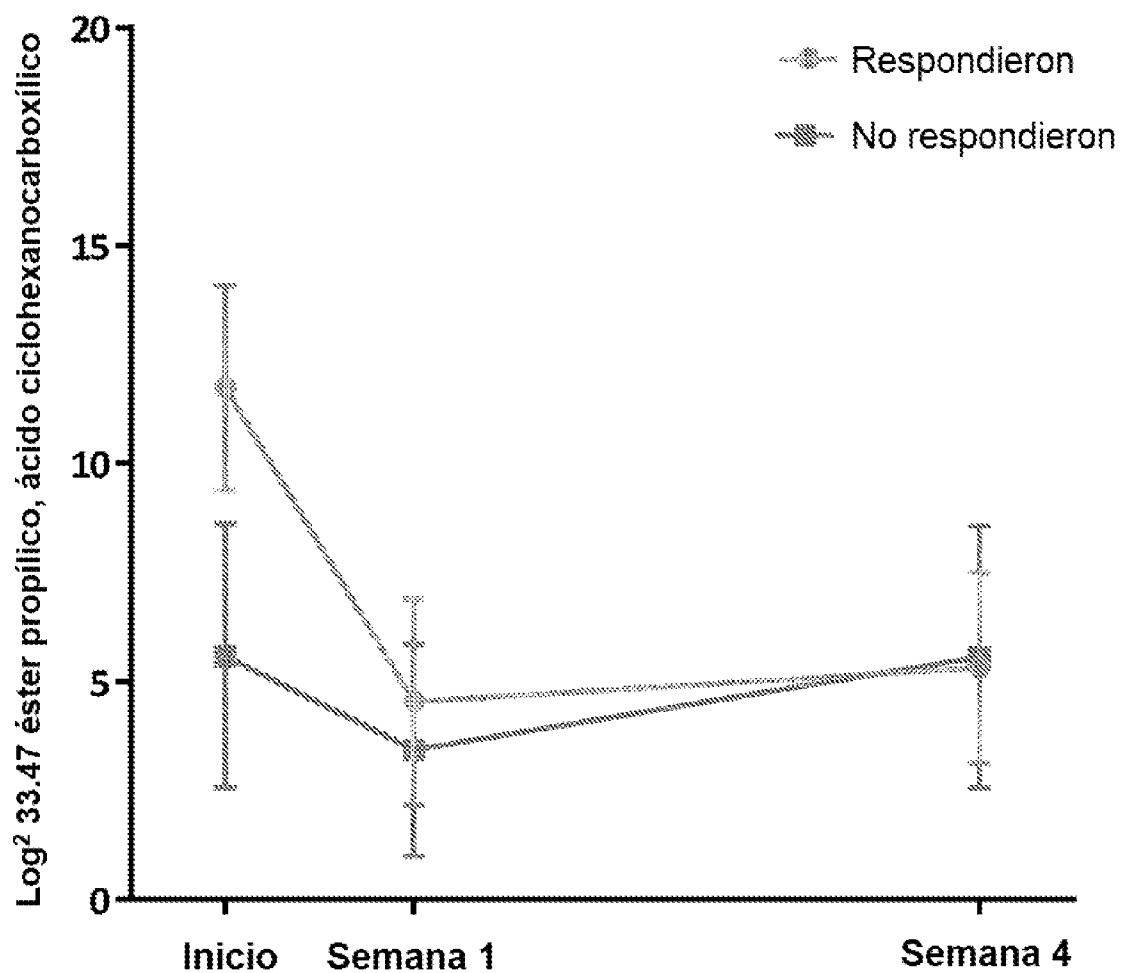
33.47 éster propílico, ácido ciclohexanocarboxílico

FIGURA 3



FIGURA 4