

## Avances en la búsqueda de la vacuna contra *Helicobacter pylori*

Jose Augusto Urrego\*  
William Otero\*\*  
Alba Trespalacios\*\*\*

\*Médico cirujano. Residente I año Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. Colombia.

\*\*Médico gastroenterólogo. Clínica Los Fundadores. Profesor Titular de Medicina. Unidad de Gastroenterología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. Colombia.

\*\*\*Bacterióloga. Magister en Microbiología. Doctora en Ciencias Biológicas. Profesora Titular de Bacteriología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. Colombia.

**Correspondencia:** Autor Jose Augusto Urrego Díaz. Dirección: Carrera 14B # 163 - 29 apto. 805. Bogotá, Colombia. Correo electrónico: joaurregodí@unal.edu.co Tel: 8103204 Cel: 3142840918

### RESUMEN

*Helicobacter pylori* es una bacteria que infecta la mucosa gástrica de alrededor de la mitad de la población mundial y está involucrada en la patogénesis de un gran número de enfermedades gástricas y extragástricas en el huésped. Varios antígenos, adyuvantes y rutas de inmunización han sido evaluados buscando una vacuna que ayude a prevenir o erradicar la infección, consiguiéndose diferentes grados de éxito, si bien la inmunidad esterilizante solo se ha conseguido en algunos modelos animales. Varios mecanismos se han propuesto para explicar los resultados obtenidos con las vacunas potenciales evaluadas y para explicar cómo esta bacteria elude la respuesta inmune inducida por ella misma o por intentos de inmunización. El panorama hasta el momento, si bien no parece sencillo, no deja de ser esperanzador por los favorables resultados que vendrían tras la obtención de una vacuna eficaz y por algunos estudios que motivan a la posibilidad de su consecución. **MÉD.UIS. 2017;30(3):111-20.**

**Palabras clave:** *Helicobacter pylori*. Vacunación. Antígenos. Inmunización. Neoplasias Gástricas. Ureasa.

### Advances in the search for the *Helicobacter pylori* vaccine

### ABSTRACT

*Helicobacter pylori* is a bacteria that infects the gastric mucosa of around half of the world's population and it's implicated in the pathogenesis of various gastric and extragastric diseases in the infected host. Several antigens, adjuvants and routes of immunization have been tested in order to find a vaccine that helps in the control of this bacteria, with varying degrees of success so far, however, sterilizing immunity has been achieved only in animals. Various mechanisms have been proposed to explain the outcomes obtained by testing the potential vaccines and to understand how this bacteria avoids the immunity triggered by itself or by the vaccines tested so far. The current picture does not seem easy but it's still encouraging since some studies have given hope to the possibility of achieving an effective vaccine. **MÉD.UIS. 2017;30(3):111-20.**

**Keywords:** *Helicobacter pylori*. Vaccination. Antigens. Immunization. Stomach Neoplasms. Urease.

---

**¿Cómo citar este artículo?:** Urrego JA, Otero W, Trespalacios A. Avances en la búsqueda de la vacuna contra *Helicobacter pylori*. MÉD.UIS. 2017;30(3):111-20.

---

## INTRODUCCIÓN

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa microaerófila que infecta la mucosa gástrica de alrededor del 50% de la población mundial, con una prevalencia similar en la población colombiana, pero que varía considerablemente entre diferentes poblaciones, niveles socioeconómicos y en diferentes estudios reportados<sup>1,3</sup>. Por ejemplo un estudio reciente mostró una prevalencia de *H. pylori* del 36% en biopsias gástricas de un centro de referencia de Medellín<sup>2</sup>, mientras que en un estudio más antiguo, con mayor tamaño de muestra, en el que se revisaron resultados histopatológicos gástricos solicitados por diferentes razones a pacientes de 16 ciudades de Colombia, se encontró una prevalencia de esta bacteria del 69%<sup>3</sup>. *H. pylori* es el agente causal de diversas patologías gastroduodenales que incluyen Úlceras Pépticas (UPs), producidas en el 15 a 18% de los infectados; Adenocarcinoma Gástrico (CG), en el 2 a 3% de los infectados, y linfoma del Tejido Linfoide Asociado a Mucosa (MALT, por sus siglas en inglés) gástrico, en menos del 0,1%<sup>4,5</sup>. Así mismo, es agente causal de patologías extra-digestivas como anemia ferropénica, deficiencia de vitamina B12 y trombocitopenia inmune<sup>4,7</sup>. Con la erradicación de esta bacteria se logran varios beneficios, como la curación de las UPs, regresión de tumores MALT gástricos de bajo grado y disminución o eliminación del riesgo de CG, entre otros<sup>7</sup>.

Actualmente la única estrategia de erradicación de la infección es el uso de antibióticos combinados con inhibidores de la secreción de ácido clorhídrico<sup>8</sup>. La eficacia de esos tratamientos ha disminuido conforme ha aparecido resistencia de *H. pylori* a los diferentes antibióticos<sup>7</sup>, de modo que actualmente alrededor del 20% de los pacientes no consiguen la erradicación tras el manejo inicial y de ellos, alrededor del 24 al 30% continúan sin conseguirla tras un segundo manejo<sup>9,10</sup>. Teniendo en cuenta la participación definida de *H. pylori* en las patologías graves mencionadas, así como el impacto que podría tener la utilización de antibióticos sobre la microbiota intestinal, la vacunación es una estrategia necesaria, que además puede prevenir posibles reinfecciones que hasta el momento no son evitables con las terapias de erradicación<sup>11</sup>, por lo que sería una solución para las consecuencias en la salud pública mundial que ha generado esta bacteria.

Varias estrategias de vacunación han sido ensayadas en modelos animales con éxito variable en términos de la disminución de la carga bacteriana o en la producción de anticuerpos, en evitar infecciones *de novo* y en la capacidad para producir erradicación esterilizante (vacuna terapéutica)<sup>12-14</sup>. Desafortunadamente la carga bacteriana residual, encontrada en casi todos los estudios, continúa causando las enfermedades asociadas a *H. pylori*<sup>15</sup>. Además, posterior a la disminución de la carga bacteriana con las vacunas probadas se ha encontrado inflamación de la mucosa gástrica que histológicamente es indistinguible de la inflamación desencadenada por la infección misma y que también podría contribuir a las enfermedades asociadas a esta bacteria<sup>16</sup>.

En este artículo se revisa y resume el conocimiento actual sobre el desarrollo de la vacuna contra *H. pylori*, los aspectos inmunológicos relacionados con la infección, los mecanismos propuestos para la vacuna y las causas de la falta de éxito en la consecución de una vacuna eficaz para su uso en humanos.

## METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Teniendo en cuenta la importancia del tema, se decidió realizar la presente revisión utilizando las publicaciones más recientes y relevantes, usando la siguiente metodología.

Se realizó una búsqueda de literatura científica en la base de datos PubMed usando la siguiente estrategia de búsqueda: (Vaccination[Title/Abstract] OR Vaccinations[Title/Abstract] OR Immunization, Active[Title/Abstract] OR Active Immunization[Title/Abstract] OR Active Immunizations[Title/Abstract] OR Immunizations, Active[Title/Abstract]) AND (Helicobacter pylori[Title/Abstract] OR Campylobacter pylori[Title/Abstract]), haciendo una primera revisión solo de los artículos publicados en idioma inglés o español, sin filtrar resultados por fecha o por tipo de artículo. Se revisó el título y resumen de los resultados obtenidos y a criterio de los autores se seleccionaron los de mayor pertinencia, excluyendo, entre otros, aquellos artículos con información redundante respecto a los demás. Tras esto, 72 artículos fueron seleccionados para su revisión total. Se agregaron además artículos adicionales conocidos por los autores y algunas referencias históricas de utilidad acerca del mecanismo inmunológico del *H. pylori*.

## DESARROLLO DEL TEMA

### RESPUESTA INMUNOLÓGICA A *H. PYLORI*

*H. pylori* afecta el sistema inmune en los infectados de múltiples formas, generando respuestas tanto del sistema inmune innato como del adaptativo y produciendo respuestas de anticuerpos tanto a nivel local como sistémico<sup>17-19</sup>. Al infectar la mucosa gástrica se produce un aumento local en la síntesis y secreción de citoquinas proinflamatorias como las IL (Interleucinas) 1B, 6, 8, 12, 18 y 23, INF- $\gamma$  (Interferón- $\gamma$ ) y TNF- $\alpha$  (Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$ ) por parte de varias células, como las células dendríticas, células T, monocitos y neutrófilos, entre otras, en respuesta a moléculas y sustancias secretadas por la bacteria y a la interacción directa con ella<sup>20-25</sup>. Algunas de las moléculas de *H. pylori* que se han vinculado a la secreción de estas citoquinas son CagA (Cytotoxin-Associated Gene A) y NAP (Neutrophil-Activating Protein)<sup>26,27</sup>. Hay además un aumento en la expresión de Toll-Like-Receptors (TLR) 2, 4, 5 y 9 en las células epiteliales gástricas, como se ha encontrado en biopsias de niños infectados<sup>22</sup>. Así mismo se ha evidenciado una baja síntesis de citoquinas Th2 como IL-4 e IL-5<sup>25,28</sup>. Estos y otros eventos condicionan generalmente una respuesta de tipo Th1/Th17<sup>29,30</sup>.

Adicionalmente se ha demostrado que con la infección por *H. pylori* se produce aumento local de citoquinas con actividad antiinflamatoria como IL-10 y Factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ , por sus siglas en inglés)<sup>20-22</sup>, y que varios factores de virulencia del microorganismo tienen actividad inmunosupresora, como es el caso de la Citotoxina Vacuolizante A (VacA, por sus siglas en inglés) y las enzimas  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa y arginasa<sup>31-34</sup>. Los mecanismos de inmunosupresión mediados por estas moléculas son diversos; por ejemplo la arginasa de *H. pylori* disminuye la síntesis de Óxido Nítrico (ON) en los macrófagos, el cual participa en los mecanismos antibacterianos de esa célula contra el *H. pylori*<sup>35,36</sup>. El mecanismo de esa inhibición involucra la competencia de la arginasa por la L-arginina que es el sustrato para la síntesis de la ON-sintasa<sup>36</sup>. De manera similar, en un estudio in vitro se demostró que algunos factores secretados por *H. pylori* son capaces de disminuir la secreción de IL-12 en células dendríticas estimuladas por esta bacteria o por *Acinetobacter Iwoffi*<sup>37</sup>, otro patógeno que causa gastritis en ratones pero que es más susceptible a las defensas del huésped<sup>38</sup>. La IL-12 media un aumento en la inflamación local que,

como se mencionará más adelante, ha demostrado favorecer la eliminación de la colonización por *H. pylori*<sup>39-41</sup>. Por estos y otros mecanismos, las moléculas mencionadas tienen efectos inhibidores sobre la función de células del sistema inmune innato, como monocitos, macrófagos, células presentadoras de antígeno o sobre los linfocitos T, que junto a otros mecanismos parecen favorecer la cronicidad de la infección por esta bacteria.

Así mismo, la infección por *H. pylori* activa los Linfocitos T Reguladores (LTreg) CD25+/Foxp3+, encargados de modular la respuesta inmune<sup>28,42</sup>. Los LTreg son fundamentales en la persistencia de esta bacteria en la mucosa gástrica humana. La depleción in vivo de LTreg disminuye la colonización por *H. pylori*, y se acompaña de un aumento local en la inflamación, lo que destaca la función biológica de estas células<sup>43</sup>. Al inhibir el crecimiento y actividad de linfocitos T con actividad antigénica específica y al mitigar la magnitud de la respuesta Th1 desencadenada por la infección, los LTreg promueven la tolerancia inmunológica a *H. pylori* y la persistencia de la infección<sup>43-45</sup>. La acción de estas células en la infección por *H. pylori* parece ser promovida y potenciada, por lo menos en parte, por la acción inmunosupresora de la citoquina TGF- $\beta$ 1, secretada por múltiples células inmunes locales y por los mismos LTreg<sup>46-49</sup>.

Además la infección por *H. pylori* altera las defensas innatas básicas del estómago por diferentes mecanismos, como el daño directo al epitelio por la inflamación, que es mediada principalmente por IL-1; la alteración en la velocidad de síntesis y composición del moco y la disminución en la secreción de ácido clorhídrico<sup>50,51</sup>. En la Figura 1 se resumen algunos de los aspectos de la respuesta inmunológica a *H. pylori*.

### POSIBLES ANTÍGENOS EVALUADOS

La mayoría de estudios sobre la vacuna de *H. pylori* han utilizado ureasa como el antígeno inductor de la inmunidad<sup>17</sup>. Los resultados con su uso han sido variables dependiendo de la ruta, el adyuvante y la forma de esta proteína, pasando desde ningún efecto inmunológico o protector hasta claras seroconversiones y reducciones en la carga bacteriana que suelen oscilar entre uno y dos logaritmos<sup>52-55</sup>. Sin embargo con el tiempo más productos de *H. pylori* han sido probados, entre los cuales se encuentran CagA, VacA, CagL, proteínas antioxidantes de *H. pylori*, DNA e incluso carbohidratos<sup>56-60</sup>.

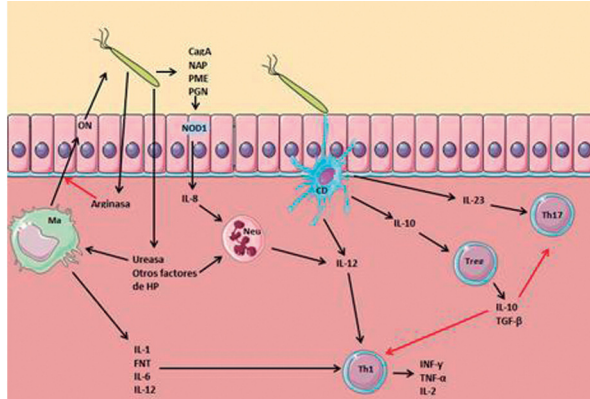


Figura 1. Respuesta inmunológica a *H. pylori*. Las flechas rojas indican efecto inhibitorio.

**CagA:** Cytotoxin-Associated Gene A, **NAP:** Proteína Activadora de Neutrófilos, **PME:** Proteínas de la Membrana Externa, **PGN:** Peptidoglicanos, **ON:** Óxido Nítrico, **Ma:** Macrófago, **IL:** Interleucinas, **HP:** *Helicobacter pylori*, **FNT:** Factor de Necrosis Tumoral, **Neu:** Neutrófilo, **TH:** Linfocito T colaborador, **CD:** Célula Dendrítica, **INF:** Interferón, **Treg:** Linfocitos T Reguladores, **TGF-β:** Factor de Crecimiento Transformante-β.

Fuente: Este esquema fue realizado por los autores usando imágenes individuales de libre acceso obtenidas de Servier Medical Art en <http://www.servier.com/Powerpoint-image-bank>

El uso de CagL, una proteína presente en cepas de *H. pylori* con un Sistema de Secreción tipo IV (SSIV), es una línea de trabajo reciente y promisorio. Las cepas con SSIV son consideradas como las más virulentas y carcinogénicas, ya que a través de este sistema inyectan oncoproteínas producidas por la bacteria directamente al interior de las células epiteliales, al tiempo que se adhieren al epitelio gástrico e inducen la producción de IL-8<sup>61-63</sup>. La proteína CagL forma parte esencial del SSIV y tiene claramente caracterizados sus métodos de estabilización y manejo como parte de una vacuna, lo que hace que algunos expertos la consideren un candidato atractivo para la inmunización<sup>57</sup>. La desventaja radica en el hecho de no proveer inmunidad contra bacterias que no poseen este islote de patogenicidad. Sin embargo, teniendo en cuenta que las cepas más virulentas y carcinogénicas sí lo poseen, es considerada una propuesta prometedora.

Recientemente ha despertado interés la posibilidad de usar vacunas basadas en carbohidratos de *H. pylori*. Los Lipopolisacáridos (LPS) que constituyen su pared tienen ciertas características que los hacen muy singulares. Tienen una estructura única de la cadena O, presente en la mayoría de cepas de *H. pylori*, y dos componentes poliméricos inusuales en la región externa del núcleo de los LPS: DD-heptoglicano y α(1-6)-glucano<sup>64,65</sup>. Recientemente se demostró que gluco-conjugados sintéticos basados

en LPS deslipidados de *H. pylori* unidos a una cadena de α(1-6)-glucano son inmunogénicos y generan IgG que reacciona específicamente con los LPS de *H. pylori*<sup>59</sup>.

Algo que desafortunadamente debe resaltarse sobre la gran variedad de estrategias antigénicas usadas para la vacuna contra *H. pylori* es que, si bien la mayoría tienen algún grado de éxito, usualmente este no supera una reducción de uno o dos logaritmos en la carga bacteriana<sup>66,67</sup>.

## POSIBLES ADYUVANTES EVALUADOS

Hasta el momento, el adyuvante estándar de oro para la vacuna mucosa de *H. pylori*, aquella que es administrada por vía orogástrica o intranasal, es la Toxina del Cólera (TC) o la Toxina Termolábil de *E. coli* (TL)<sup>55,67</sup> sin embargo, su aplicabilidad es limitada por su alta toxicidad<sup>55,67</sup>. Este inconveniente ha sido explorado experimentando con mutaciones y derivados de esas moléculas con el fin de reducir su toxicidad, pero conservando su potencia como adyuvantes<sup>68,69</sup>. Dos trabajos recientes mostraron resultados esperanzadores con este enfoque. Uno de ellos demostró que el CTA1-DD, un derivado de la TC, podría llegar a ser tan eficaz como esta, con la ventaja de tener una muy baja toxicidad<sup>70</sup>. El otro consiguió una eficacia tan alta como la de la TC usando una TL con Doble Mutación en su subunidad A (DMTL, por sus siglas en inglés)<sup>71</sup>. Las mutaciones consistían en el reemplazo de una arginina por una glicina en la posición 192, y en el de una leucina por una alanina en la posición 211. La importancia esencial de esta nueva molécula es que carece de efectos tóxicos. En este estudio se consiguió una reducción de 84 veces la carga bacteriana en ratones inmunizados con DMTL con antígenos de un lisado de *H. pylori*, tras someterlos a una carga bacteriana, en comparación a ratones no inmunizados, mientras que la reducción en ratones inmunizados con TC con los mismos antígenos lisados de *H. pylori* fue de 81 veces la carga bacteriana presente en no inmunizados<sup>71</sup>. Estas moléculas prometen ser excelentes adyuvantes al ser potentes y bastante seguras de utilizar.

## POSIBLES RUTAS DE ADMINISTRACIÓN DE LA VACUNA

Varias rutas se han probado a la hora de evaluar una posible vacuna contra *H. pylori*<sup>17,72,73</sup>. La exposición al antígeno y al adyuvante a través de rutas directas al conducto gastrointestinal, como la mucosa

sublingual o la vía intranasal, han sido las de mayor éxito hasta ahora<sup>14,71</sup>.

Por otro lado, el concepto de vacunas comestibles para *H. pylori* fue recientemente introducido por Zhang y cols<sup>54</sup> en un estudio que usó *Lactococcus lactis*, una bacteria que se usa en la producción de derivados de la leche y que es por lo tanto consumida con frecuencia<sup>74</sup>. En este estudio se usó una forma recombinante de *L. lactis* que expresaba el antígeno UreB de la ureasa e IL-2 como adyuvante, lo que consiguió en los ratones que la ingirieron mayores niveles de anticuerpos anti-UreB y menores cargas de *H. pylori* que en los controles. Esto podría representar un enfoque novedoso y económico para el control de esta bacteria.

### MECANISMO DE LA INMUNIDAD

Los mecanismos a través de los cuales las estrategias de vacunación contra *H. pylori* confieren inmunidad son pobremente entendidos en la actualidad. En los siguientes párrafos se resumirá el conocimiento más relevante al respecto.

Un estudio de hace más de 15 años sugirió que elementos de la saliva eran necesarios para la inmunización exitosa contra *H. pylori*, al demostrar que la extirpación de las glándulas salivales impedía la adecuada protección inmune inducida por la vacuna<sup>75</sup>. Sin embargo Ng y cols<sup>76</sup> no encontraron tales elementos, al demostrar que en la saliva de los ratones vacunados no había aumento en los niveles de citoquinas ni en los de mucina, concluyendo que la inmunidad asociada a la vacuna no implicaba estos mecanismos. Sin embargo, encontraron un aumento considerable en la IgA producida en las glándulas salivales de los ratones vacunados, aunque descartaron que esta fuera la razón de la inmunidad basándose en estudios que demuestran que la IgA no participa en la protección contra *H. pylori* conferida por la vacuna<sup>77-80</sup>. El aumento de esta inmunoglobulina más bien es una respuesta normal del sistema gastrointestinal a las infecciones o inmunizaciones, pero que no guarda relación con la protección contra la infección para el caso de *H. pylori*<sup>81</sup>.

Sobre este punto, debe entenderse la concepción actual sobre la función de las inmunoglobulinas en la protección contra *H. pylori*; inicialmente se consideró que la IgA podría ser importante para desarrollar inmunidad contra esta bacteria en animales vacunados, pero varios estudios descartaron esa

posibilidad<sup>82,83</sup>. Se ha comprobado que ratones *knockout*, incapaces de producir IgA, desarrollan una respuesta tan efectiva a la vacuna como ratones normales, y que ratones sin ningún linfocito B maduro e incapaces por tanto de producir cualquier tipo de anticuerpo, tienen la misma respuesta de inmunización que ratones control tras la vacunación contra *H. pylori*<sup>78,79</sup>. De igual manera, algunos trabajos han mostrado que así como los anticuerpos no median la inmunidad obtenida contra *H. pylori* con las vacunas probadas, la IL-4, IL-5, IL-13, IL-18 y el TNF- $\alpha$ , tampoco juegan un papel mayor en esta respuesta<sup>40,80,84</sup>.

Teniendo en cuenta que la inmunidad está mediada en parte por células T colaboradoras (Th)<sup>77,85</sup>, esta participación ha sido explorada. En un estudio se consiguió una disminución en la carga bacteriana utilizando IL-17 y se demostró que el bloqueo de la función de IL-17 disminuía significativamente la eficacia de la inmunización contra *H. pylori*<sup>86</sup>. Otros investigadores encontraron inmunidad esterilizante en ratones infectados a través del uso de terapia con IL-12, para promover una respuesta Th1, aún en ausencia de inmunización<sup>39</sup>. D'Elíos y Czinn<sup>28</sup> sugirieron que estos resultados, sumados a otros que también resaltan la importancia de respuestas Th1 y Th17 a la hora de inducir inmunidad, podrían ser de gran utilidad en la búsqueda de una vacuna eficaz contra *H. pylori*. Sin embargo, no todos los estudios apoyan esta inferencia<sup>87</sup>. En cualquier caso parece ser que la inflamación local juega un papel fundamental en la eliminación de la infección<sup>16</sup>. De hecho se ha demostrado que en ratones con deficiencia de la IL-10 se produce gran inflamación local en respuesta a la infección por *H. pylori*, y que esta respuesta eventualmente elimina la infección<sup>40,41</sup>.

Los mastocitos parecen tener un papel clave en el desarrollo de la inmunidad post vacunación, pero los mecanismos son desconocidos<sup>88</sup>. Los principales hallazgos que destacan la participación de estas células son los siguientes: 1) mayor número de mastocitos en el tejido linfoide de ratones vacunados con ureasa y TC después de recibir una carga de prueba de *H. pylori*, que en ratones que solo recibieron TC y la carga de prueba, 2) mayor expresión de mRNA de las proteasas 1 y 2 de los mastocitos en el primer grupo de ratones, y 3) ratones modificados que carecían de mastocitos no desarrollaron la protección contra *Helicobacter felis*, una especie perteneciente al género *Helicobacter* que infecta principalmente otros mamíferos, que sí

desarrollaron los ratones sin tal modificación, pero tras la reconstitución con mastocitos derivados de médula ósea cultivada, recuperaron su capacidad de respuesta a la vacuna.

Finalmente, se sabe que el receptor denominado PAR2 (Receptor Activado por Proteasa 2), que regula respuestas inmunes e inflamatorias, también juega un papel en esta respuesta a la vacuna<sup>89</sup>. A parte de lo anterior, es poco lo que se sabe sobre los mecanismos de la inmunidad en las vacunas evaluadas.

## ESTADO ACTUAL EN LA BÚSQUEDA DE LA VACUNA

Dos cosas llaman la atención en los estudios de potenciales vacunas contra *H. pylori* (Ver Tabla 1). Por un lado, si bien en la mayoría de casos se observa algún grado de respuesta, esta ha fallado consistentemente en producir inmunidad esterilizante<sup>12-14</sup> y por el otro,

en la mayoría de ellos, aun utilizando estrategias de inmunización totalmente diferentes, se consiguen resultados muy similares con disminuciones en los niveles de colonización de la bacteria de entre uno y dos logaritmos<sup>66,67</sup>. Los resultados fallidos de esos estudios probablemente reflejan características propias de la infección por *H. pylori* y de la respuesta del huésped, características que podrían ser entendidas e intervenidas en el futuro para lograr una vacuna de mayor éxito.

Entre las razones para la ineficacia podrían estar algunos mecanismos propios de *H. pylori* que modulan la respuesta inmune del huésped, perpetuando la infección<sup>81</sup>. Este podría ser el caso de las proteínas VacA y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa, que son secretadas por *H. pylori* e inhiben la proliferación de las células T, posiblemente dificultando también de este modo una respuesta eficaz a la vacuna<sup>90</sup>.

**Tabla 1. Algunos de los modelos de vacuna contra *H. pylori* que han tenido algún grado de éxito**

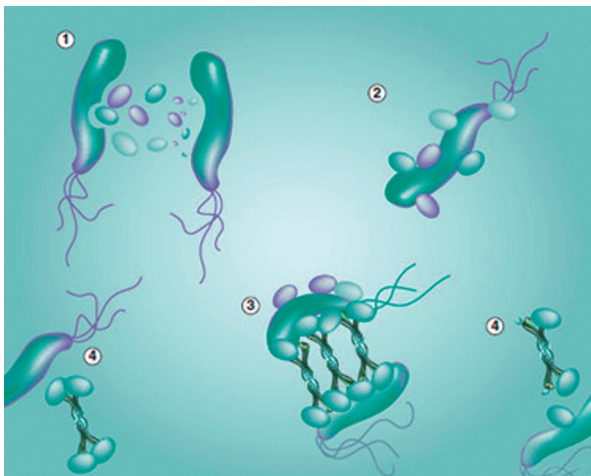
Estudio	Año	Modelo	Ruta	Antígeno	Adyuvante
Bégué y Sadowska-Krowicka <sup>52</sup>	2010	Murino	Subcutánea	Ureasa B	Adyuvante de Freund
Zhang y cols <sup>54</sup>	2014	Murino	Oral	Ureasa B	IL-2
Michetti y cols <sup>55</sup>	1999	Humano	Oral	Ureasa	TL
Chen y cols <sup>56</sup>	2012	Murino	Oral	OpiA modificada	No presente
Altman y cols <sup>58</sup>	2014	-Murino -Conejo	- Intraperitoneal - Subcutánea	GC sintéticos basados en LPS de HP	-Toxoide tetánico -Toxoide diftérico
O'Riordan y cols <sup>59</sup>	2012	Murino	Subcutánea	Alquil hidroperóxido reductasa de HP	Alumbre
Stent y cols <sup>60</sup>	2012	Murino	- Nasal - Subcutánea	- Tiol peroxidasa de HP -Superóxido dismutasa de HP - Catalasa de HP	- Toxina del cólera - ISCOMATRIX
Nedrud y cols <sup>70</sup>	2013	Murino	- Nasal	Péptido epítipo de ureasa B	CTA1-DD
Sjökvist Ottsjö y cols <sup>71</sup>	2013	Murino	- Sublingual - Intragástrica	Antígenos de lisado de HP	TL artificialmente mutada
Zeng y cols <sup>96</sup>	2015	Humano	Oral	Ureasa B	Subunidad B de TL

**TL: Toxina Termolábil de *E. coli*, OpiA: Proteína Inflamatoria de Membrana Externa de *H. pylori*, GC: Glucoconjugados, HP: *Helicobacter pylori*. CTA1-DD: Polipéptido artificial derivado de la toxina del cólera y de la proteína A de *S. aureus*, IL: Interleucina, LPS: Lipopolisacáridos. Fuente: Autores.**

Sin embargo, más importante aún parece ser la ausencia de actividad de anticuerpos en la defensa contra la infección natural por *H. pylori*<sup>78,79</sup>. En el tracto gastrointestinal se secretan continuamente grandes cantidades de IgA y cantidades pequeñas de IgG, constituyéndose como el principal mecanismo de inmunidad adquirida contra los patógenos que transitan por él<sup>91</sup>, un mecanismo bastante efectivo en la mayoría de ocasiones. Sin embargo el caso de *H. pylori* es la excepción, pues si bien esta bacteria se encuentra unida a anticuerpos tipo IgA, IgG e IgM

en el estómago del huésped<sup>92</sup>, esto no es suficiente para eliminarla. Una de las razones de esto, quizás la más importante descubierta hasta el momento, parece ser el mecanismo conocido como "Autólisis altruista", un mecanismo del que pocas bacterias disponen<sup>81</sup>. Consiste en que el *H. pylori* libera grandes cantidades de antígenos por medio de procesos de autólisis, antígenos que luego se adosarán de forma débil a la superficie de otras *H. pylori* vivas<sup>93</sup>. De esta forma quedarían mitigadas las funciones efectoras de los anticuerpos, pues no podrían lisar la bacteria

mediante complemento al no estar en contacto directo con su membrana, no podrían aglutinarla e impedir su movilidad al desprenderse los antígenos unidos débilmente a la bacteria, y finalmente no podrían inhibir las moléculas producidas por *H. pylori* que adecúan su entorno al estar acoplados a las moléculas liberadas por los procesos de autólisis (Ver Figura 2).



**Figura 2: Autólisis altruista.** 1: *H. pylori* sufre procesos líticos y libera en su entorno grandes cantidades de Antígenos (Ag). 2: Los Ag se unen débilmente a la pared de *H. pylori* vivas. 3: Los anticuerpos (Ac) contra *H. pylori* se unen a los antígenos unidos a esta bacteria y no a la bacteria en sí. 4: Cuando la bacteria se mueve, los complejos Ag-Ac, unidos débilmente a la bacteria, se liberan, impidiendo los procesos de aglutinación y lisis bacteriana y neutralizando la función de los Ac.

Fuente: Imagen tomada y modificada de Sutton P, Chionh YT. Why can't we make an effective vaccine against *Helicobacter pylori*? *Expert Rev Vaccines*. 2013;12(4):433-41 con permiso del autor.

Lo anterior, sumado al pobre conocimiento sobre el mecanismo de inmunidad pos vacunación mencionado previamente, explica la ausencia de éxito en la búsqueda de una vacuna eficaz contra *H. pylori*. Sin embargo es claro que se han producido avances y que el desarrollo de inmunidad contra *H. pylori* es una posibilidad real. De hecho, se ha documentado que algunos niños infectados con *H. pylori*, que ocasionalmente eliminan la infección, lo hacen a través de una respuesta inmune adaptativa que involucra células Th<sup>94,95</sup>, y se ha observado que algunos de los animales de estudios de posibles vacunas desarrollan una inmunidad esterilizante<sup>94</sup>.

Recientemente se dio un avance significativo por medio de un ensayo clínico aleatorizado doble ciego comparado con placebo, que constituye el primer estudio fase 3 de una posible vacuna contra *H. pylori*<sup>96</sup>. Este estudio utilizó un esquema de vacunación con tres dosis de una vacuna compuesta por ureasa B como antígeno y como adyuvante, la subunidad B de

TL, de menor toxicidad. La vacuna se aplicó a 2232 niños sin infección actual o previa y el mismo número de niños recibió el placebo. Tras comparar la tasa de infecciones detectadas en el grupo vacunado con la del grupo que recibió placebo se encontró una efectividad de 71,8% (95% CI 48,2–85,6) a un año y de 55,8% (95% CI -24,7–86,2) a tres años. Al analizar los resultados, algunos expertos consideran que es necesario resolver algunos inconvenientes<sup>97</sup>, como el rápido desvanecimiento de la protección que confiere la vacuna, que casi con seguridad aumentaría con seguimientos mayores, o la necesidad de un alto número de dosis en un contexto de planes nacionales de vacunación de por sí saturados. No obstante, este estudio fase III ha demostrado por primera vez que es posible la protección de la comunidad contra una futura infección por *H. pylori* por medio de la vacunación.

## CONCLUSIONES

Varias son las estrategias de vacunación que se han probado contra *H. pylori* incluyendo diferentes tipos de antígenos, de adyuvantes y de rutas de administración, siendo la ureasa el antígeno más usado y la TC y la TL los adyuvantes de mayor uso y éxito, si bien varias moléculas y algunos derivados de éstas han lucido promisorias. La mayoría de combinaciones de antígenos, adyuvantes y rutas de administración han tenido algún grado de éxito que suele oscilar en una reducción de entre uno y dos logaritmos de la carga bacteriana, de modo que la inmunidad esterilizante rara vez se ha conseguido en animales y en ninguna ocasión en humanos. Es también interesante el hecho de que no haya participación de anticuerpos en esta respuesta a la vacuna, mientras que la participación de células Th y, curiosamente, de mastocitos parece evidente.

Finalmente, debe reconocerse que la situación actual es todavía considerablemente lejana a la consecución de una vacuna efectiva. Las alteraciones inmunológicas que se producen tras la infección por *H. pylori*, los mecanismos de evasión de la bacteria a las defensas del huésped, como el caso de la autólisis altruista y sobre todo, el poco conocimiento que se tiene sobre los mecanismos de respuesta del huésped a las vacunas que se han evaluado son factores que contribuyen a la falla en la obtención de esta vacuna. Sin embargo no se debe desistir en su búsqueda, pues definitivamente han habido avances y algunos datos sugieren que su consecución es posible, con los enormes beneficios a la salud de la población que esto implicaría.

**CONFLICTOS DE INTERESES**

Los autores no declaran ningún conflicto de intereses.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. NIH Consensus Conference. Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Disease. JAMA. 1994;272(1):65-9.
2. Correa S, Cardona AF, Correa T, Correa LA, García HI, Estrada S. Prevalencia de Helicobacter pylori y características histopatológicas en biopsias gástricas de pacientes con síntomas dispépticos en un centro de referencia de Medellín. Rev Col Gastroenterol. 2016;31(1):9-15.
3. Bravo LE, Cortés A, Carrascal E, Jaramillo R, García LE, Bravo PE, et al. Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. Colomb Med. 2003;34(3):124-31.
4. Otero W, Gómez M, Castro D. Carcinogénesis gástrica. Rev Col Gastroenterol. 2009;24(3):314-29.
5. Urrego J, Otero W, Gómez M. Helicobacter pylori y enfermedades hematológicas. Rev Col Gastroenterol 2013;28(4):329 - 37.
6. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):449-90.
7. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/Florence Consensus Report. Gut. 2012;61(5):646-64.
8. Tepes B, O'Connor A, Gisbert JP, O'Morain C. Treatment of Helicobacter pylori infection 2012. Helicobacter. 2012;17 Suppl 1:36-42.
9. Vakil N. Primary and secondary treatment for Helicobacter pylori in the United States. Rev Gastroenterol Disord. 2005;5(2):67-72.
10. Hojo M, Miwa H, Nagahara A, Sato N. Pooled analysis on the efficacy of the second-line treatment regimens for Helicobacter pylori infection. Scand J Gastroenterol. 2001;36(7):690-700.
11. Otero W, Trespalacios A, Mercado M. Tasa de reinfección por Helicobacter pylori en una cohorte de pacientes colombianos tratados exitosamente con seguimiento superior a 2 años. Rev Col Gastroenterol. 2015;30(1):53-9.
12. Every AL, Stent A, Moloney MB, Ng GZ, Skene CD, Edwards SJ, et al. Evaluation of superoxide dismutase from Helicobacter pylori as a protective vaccine antigen. Vaccine. 2011;29(7):1514-8.
13. Chionh YT, Wee JL, Every AL, Ng GZ, Sutton P. M-cell targeting of whole killed bacteria induces protective immunity against gastrointestinal pathogens. Infect Immun. 2009;77(7):2962-70.
14. Garhart CA, Redline RW, Nedrud JG, Czinn SJ. Clearance of Helicobacter pylori Infection and Resolution of Postimmunization Gastritis in a Kinetic Study of Prophylactically Immunized Mice. Infect Immun. 2002;70(7):3529-38.
15. Sutton P, Danon SJ, Walker M, Thompson LJ, Wilson J, Kosaka T, et al. Post-immunisation gastritis and Helicobacter infection in the mouse: a long term study. Gut. 2001;49(4):467-73.
16. Aebischer T, Schmitt A, Walduck AK, Meyer TF. Helicobacter pylori vaccine development: facing the challenge. Int J Med Microbiol. 2005;295(5):343-53.
17. Koch M, Meyer TF, Moss SF. Inflammation, immunity, vaccines for Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 2013;18 Suppl 1:18-23.
18. Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JI, Heatley RV, Shallcross TM, Tompkins DS, et al. Mucosal IgA recognition of Helicobacter pylori 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. Lancet. 1991;338(8763):332-5.
19. Rathbone BJ, Wyatt JI, Worsley BW, Shires SE, Trejdosiewicz LK, Heatley RV, et al. Systemic and local antibody responses to gastric Campylobacter pyloridis in non-ulcer dyspepsia. Gut. 1986;27(6):642-7.
20. Amedei A, Munari F, Della Bella C, Niccolai E, Benagiano M, Bencini L, et al. Helicobacter pylori HP0175 promotes the production of IL-23, IL-6, IL-1 $\beta$  and TGF- $\beta$ . Eur J Inflamm. 2013;11(1):261-8.
21. Kim DJ, Park JH, Franchi L, Backert S, Núñez G. The Cag pathogenicity island and interaction between TLR2/NOD2 and NLRP3 regulate IL-1 $\beta$  production in Helicobacter pylori infected dendritic cells. Eur J Immunol. 2013;43(10):2650-8.
22. Lagunes-Servin H, Torres J, Maldonado-Bernal C, Pérez-Rodríguez M, Huerta-Yépez S, Madrazo de la Garza A, et al. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during Helicobacter pylori infection in children. Helicobacter. 2013;18(6):423-32.
23. de Bernard M, D'Elíos MM. The immune modulating activity of the Helicobacter pylori HP-NAP: Friend or foe?. Toxicon. 2010;56(7):1186-92.
24. Codolo G, Fassan M, Munari F, Volpe A, Bassi P, Rugge M, et al. HP-NAP inhibits the growth of bladder cancer in mice by activating a cytotoxic Th1 response. Cancer Immunol Immunother. 2012;61(1):31-40.
25. Karttunen R, Karttunen T, Ekre HP, MacDonald TT. Interferon gamma and interleukin 4 secreting cells in the gastric antrum in Helicobacter pylori positive and negative gastritis. Gut. 1995;36(3):341-5.
26. Amedei A, Cappon A, Codolo G, Cabrelle A, Polenghi A, Benagiano M, et al. The neutrophil-activating protein of Helicobacter pylori promotes Th1 immune responses. J Clin Invest. 2006;116(4):1092-101.
27. Hida N, Shimoyama T, Neville P, Dixon MF, Axon AT, Crabtree JE, et al. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in Helicobacter pylori infected gastric mucosa: relation to bacterial cag status and peptic ulceration. J Clin Pathol. 1999;52(9):658-64.
28. Bamford KB, Fan X, Crowe SE, Leary JF, Gourley WK, Luthra GK, et al. Lymphocytes in the human gastric mucosa during Helicobacter pylori have a T helper cell 1 phenotype. Gastroenterology. 1998;114(3):482-92.
29. Kaebisch R, Mejías-Luque R, Prinz C, Gerhard M. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A impairs human dendritic cell maturation and function through IL-10-mediated activation of STAT3. J Immunol. 2014;192(1):316-23.
30. D'Elíos MM, Czinn SJ. Immunity, inflammation, and vaccines for Helicobacter pylori. Helicobacter. 2014;19 Suppl 1:S19-26.
31. Boncristiano M, Paccani SR, Barone S, Ulivieri C, Patrussi L, Ilver D, et al. The Helicobacter pylori vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms. J Exp Med. 2003;198(12):1887-97.
32. Zhang G, Ducatelle R, Pasmans F, D'Herde K, Huang L, Smet A, et al. Effects of Helicobacter suis  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase on lymphocytes: modulation by glutamine and glutathione supplementation and outer membrane vesicles as a putative delivery route of the enzyme. PLoS One. 2013;8(10):e77966.
33. Gebert B, Fischer W, Haas R. The Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin: from cellular vacuolation to immunosuppressive activities. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 2004;152:205-20.
34. Montecucco C, de Bernard M. Immunosuppressive and proinflammatory activities of the VacA toxin of Helicobacter pylori. J Exp Med. 2003;198(12):1767-71.
35. Bussiére FI, Chaturvedi R, Cheng Y, Gobert AP, Asim M, Blumberg DR, et al. Spermine causes loss of innate immune response to Helicobacter pylori by inhibition of inducible nitric-oxide synthase translation. J Biol Chem. 2005;280(4):2409-12.
36. Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, Mendz GL, Newton JC, Cheng Y, et al. Helicobacter pylori arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(24):13844-9.
37. Kao JY, Rathinavelu S, Eaton KA, Bai L, Zavros Y, Takami M, et al. Helicobacter pylori-secreted factors inhibit dendritic cell IL-12 secretion: a mechanism of ineffective host defense. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006;291(1):G73-81.
38. Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Merchant JL. Gastritis and hypergastrinemia due to Acinetobacter lwoffii in mice. Infect Immun. 2002;70(5):2630-9.
39. Ding H, Nedrud JG, Blanchard TG, Zagorski BM, Li G, Shiu J, et al. Th1-mediated immunity against Helicobacter pylori can compensate for lack of Th17 cells and can protect mice in the absence of immunization. PLoS One. 2013;8(7):e69384.
40. Panthel K, Faller G, Haas R. Colonization of C57BL/6J and BALB/c wild-type and knockout mice with Helicobacter pylori: effect of vaccination and implications for innate and acquired immunity. Infect Immun. 2003;71(2):794-800.
41. Chen X, Haruma K, Kamada T, Hartori N, Yoshihara M, Kitada Y, et al. A low 13C-urea breath test value is associated with increased risk of gastric cancer. J Gastroenterol. 2001;36(9):601-5.
42. Lundgren A, Strömberg E, Sjöling A, Lindholm C, Enarsson K,



- Edebo A, et al. Mucosal FOXP3-expressing CD4+ CD25high regulatory T cells in Helicobacter pylori-infected patients. *Infect Immun*. 2005;73(1):523-31.
43. Rad R, Brenner L, Bauer S, Schwendy S, Layland L, da Costa CP, et al. CD25+Foxp3+ T cells regulate gastric inflammation and Helicobacter pylori colonization in vivo. *Gastroenterology*. 2006;131(2):525-37.
  44. Cho KY, Cho MS, Seo JW. FOXP3+ regulatory T cells in children with helicobacter pylori infection. *Pediatr Dev Pathol*. 2012;15(2):118-26.
  45. Lundgren A, Suri-Payer E, Enarsson K, Svennerholm AM, Lundin BS. Helicobacter pylori-specific CD4+ CD25high regulatory T cells suppress memory T-cell responses to H. pylori in infected individuals. *Infect Immun*. 2003;71(4):1755-62.
  46. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*. 2003;198(12):1875-86.
  47. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:99-146.
  48. Li Z, Li J. Local expressions of TGF-beta1, TGF-beta1RI, CTGF, and Smad-7 in Helicobacter pylori-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41(9):1007-12.
  49. Harris PR, Wright SW, Serrano C, Riera F, Duarte I, Torres J, et al. Helicobacter pylori gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response. *Gastroenterology*. 2008;134(2):491-9.
  50. Navabi N, Johansson ME, Raghavan S, Lindén SK. Helicobacter pylori infection impairs the mucin production rate and turnover in the murine gastric mucosa. *Infect Immun*. 2013;81(3):829-37.
  51. Byrd JC, Yunker CK, Xu QS, Sternberg LR, Bresalier RS. Inhibition of gastric mucin synthesis by Helicobacter pylori. *Gastroenterology*. 2000;118(6):1072-9.
  52. Bégué RE, Sadowska-Krowicka H. Protective efficacy of recombinant urease B and aluminum hydroxide against Helicobacter pylori infection in a mouse model. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;60(2):142-6.
  53. Li Y, Ning Y, Wang Y, Peng D, Jiang Y, Zhang L, et al. Mimotopes selected with a neutralizing antibody against urease B from Helicobacter pylori induce enzyme inhibitory antibodies in mice upon vaccination. *BMC Biotechnol*. 2010;10:84.
  54. Zhang HX, Qiu YY, Zhao YH, Liu XT, Liu M, Yu AL. Immunogenicity of oral vaccination with Lactococcus lactis derived vaccine candidate antigen (UreB) of Helicobacter pylori fused with the human interleukin 2 as adjuvant. *Mol Cell Probes*. 2014;28(1):25-30.
  55. Michetti P, Kreiss C, Kotloff KL, Porta N, Blanco JL, Bachmann D, et al. Oral immunization with urease and Escherichia coli heat-labile enterotoxin is safe and immunogenic in Helicobacter pylori-infected adults. *Gastroenterology*. 1999;116(4):804-12.
  56. Chen J, Lin M, Li N, Lin L, She F. Therapeutic vaccination with Salmonella-delivered codon-optimized outer inflammatory protein DNA vaccine enhances protection in Helicobacter pylori infected mice. *Vaccine*. 2012;30(36):5310-5.
  57. Choudhari SP, Pendleton KP, Ramsey JD, Blanchard TG, Picking WD. A systematic approach toward stabilization of CagL, a protein antigen from Helicobacter pylori that is a candidate subunit vaccine. *J Pharm Sci*. 2013;102(8):2508-19.
  58. Altman E, Chandan V, Harrison B. The potential of dextran-based glycoconjugates for development of Helicobacter pylori vaccine. *Glycoconj J*. 2014;31(1):13-24.
  59. O'Riordan AA, Morales VA, Mulligan L, Faheem N, Windle HJ, Kelleher DP. Alkyl hydroperoxide reductase: a candidate Helicobacter pylori vaccine. *Vaccine*. 2012;30(26):3876-84.
  60. Stent A, Every AL, Ng GZ, Chionh YT, Ong LS, Edwards SJ, et al. Helicobacter pylori thioperoxidase as a protective antigen in single- and multi-component vaccines. *Vaccine*. 2012;30(50):7214-20.
  61. Fischer W, Püls J, Buhrdorf R, Gebert B, Odenbreit S, Haas R. Systematic mutagenesis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. *Mol Microbiol*. 2001;42(5):1337-48.
  62. Backert S, Ziska E, Brinkmann V, Zimny-Arndt U, Fauconnier A, Jungblut PR, et al. Translocation of the Helicobacter pylori CagA protein in gastric epithelial cells by a type IV secretion apparatus. *Cell Microbiol*. 2000;2(2):155-64.
  63. Stein M, Rappuoli R, Covacci A. Tyrosine phosphorylation of the Helicobacter pylori CagA antigen after cag-driven host cell translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(3):1263-8.
  64. Monteiro MA. Helicobacter pylori: a wolf in sheep's clothing: the glyco-type families of Helicobacter pylori lipopolysaccharides expressing histo-blood groups: structure, biosynthesis, and role in pathogenesis. *Adv Carbohydr Chem Biochem*. 2001;(57):99-158.
  65. Altman E, Chandan V, Harrison BA, Veloso-Pita R, Li J, KuoLee R, et al. Design and immunological properties of Helicobacter pylori glycoconjugates based on a truncated lipopolysaccharide lacking Lewis antigen and comprising an  $\alpha$ -1,6-glucan chain. *Vaccine*. 2012;30(50):7332-41.
  66. Müller A, Solnick JV. Inflammation, immunity, and vaccine development for Helicobacter pylori. *Helicobacter*. 2011;16(1):26-32.
  67. Blanchard T, Nedrud J. Helicobacter pylori Vaccines. In: Sutton P, Mitchell H, editors. *Helicobacter Pylori in the 21st Century*. Wallingford, Oxfordshire United Kingdom: CAB International; 2010. p. 167-89.
  68. Summerton NA, Welch RW, Bondoc L, Yang HH, Pleune B, Ramachandran N, et al. Toward the development of a stable, freeze-dried formulation of Helicobacter pylori killed whole cell vaccine adjuvanted with a novel mutant of Escherichia coli heat-labile toxin. *Vaccine*. 2010;28(5):1404-11.
  69. Agren LC, Ekman L, Löwenadler B, Lycke NY. Genetically engineered nontoxic vaccine adjuvant that combines B cell targeting with immunomodulation by cholera toxin A1 subunit. *J Immunol*. 1997;158(8):3936-46.
  70. Nedrud JG, Bagheri N, Schön K, Xin W, Bergroth H, Eliasson DG, et al. Subcomponent vaccine based on CTA1-DD adjuvant with incorporated UreB class II peptides stimulates protective Helicobacter pylori immunity. *PLoS One*. 2013;8(12):e83321.
  71. Sjökvist Ottsjö L, Flach CF, Clements J, Holmgren J, Raghavan S. A double mutant heat-labile toxin from Escherichia coli, LT(R192G/L211A), is an effective mucosal adjuvant for vaccination against Helicobacter pylori infection. *Infect Immun*. 2013;81(5):1532-40.
  72. Malfertheiner P, Schultze V, Rosenkranz B, Kaufmann SH, Ulrichs T, Novicki D, et al. Safety and immunogenicity of an intramuscular Helicobacter pylori vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology*. 2008;135(3):787-95.
  73. Eaton KA, Ringler SS, Krakowka S. Vaccination of gnotobiotic piglets against Helicobacter pylori. *J Infect Dis*. 1998;178(5):1399-405.
  74. Bahey-El-Din M. Lactococcus lactis-based vaccines from laboratory bench to human use: an overview. *Vaccine*. 2012;30(4):685-90.
  75. Shirai Y, Wakatsuki Y, Kusumoto T, Nakata M, Yoshida M, Usui T, et al. Induction and maintenance of immune effector cells in the gastric tissue of mice orally immunized to Helicobacter pylori requires salivary glands. *Gastroenterology*. 2000;118(4):749-59.
  76. Ng GZ, Chionh YT, Sutton P. Vaccine-mediated protection against Helicobacter pylori is not associated with increased salivary cytokine or mucin expression. *Helicobacter*. 2014;19(1):48-54.
  77. Ermak TH, Giannasca PJ, Nichols R, Myers GA, Nedrud J, Weltzin R, et al. Immunization of mice with urease vaccine affords protection against Helicobacter pylori infection in the absence of antibodies and is mediated by MHC class II-restricted responses. *J Exp Med*. 1998;188(12):2277-88.
  78. Blanchard TG, Czinn SJ, Redline RW, Sigmund N, Harriman G, Nedrud JG. Antibody-independent protective mucosal immunity to gastric helicobacter infection in mice. *Cell Immunol*. 1999;191(1):74-80.
  79. Sutton P, Wilson J, Kosaka T, Wolowczuk I, Lee A. Therapeutic immunization against Helicobacter pylori infection in the absence of antibodies. *Immunol Cell Biol*. 2000;78(1):28-30.
  80. Garhart CA, Nedrud JG, Heinzl FP, Sigmund NE, Czinn SJ. Vaccine-induced protection against Helicobacter pylori in mice lacking both antibodies and interleukin-4. *Infect Immun*. 2003;71(6):3628-33.
  81. Sutton P, Chionh YT. Why can't we make an effective vaccine against Helicobacter pylori? *Expert Rev Vaccines*. 2013;12(4):433-41.
  82. Lee CK, Weltzin R, Thomas WD, Kleanthous H, Ermak TH, Soman G, et al. Oral immunization with recombinant Helicobacter pylori urease induces secretory IgA antibodies and

- protects mice from challenge with *Helicobacter felis*. *J Infect Dis*. 1995;172(1):161-72.
83. Pappo J, Thomas WD, Kabok Z, Taylor NS, Murphy JC, Fox JG. Effect of oral immunization with recombinant urease on murine *Helicobacter felis* gastritis. *Infect Immun*. 1995;63(4):1246-52.
  84. Aebischer T, Laforsch S, Hurwitz R, Brombacher F, Meyer TF. Immunity against *Helicobacter pylori*: significance of interleukin-4 receptor alpha chain status and gender of infected mice. *Infect Immun*. 2001;69(1):556-8.
  85. Pappo J, Torrey D, Castriotta L, Savinainen A, Kabok Z, Ibraghimov A. *Helicobacter pylori* infection in immunized mice lacking major histocompatibility complex class I and class II functions. *Infect Immun*. 1999;67(1):337-41.
  86. Velin D, Favre L, Bernasconi E, Bachmann D, Pythoud C, Saiji E, et al. Interleukin-17 is a critical mediator of vaccine-induced reduction of *Helicobacter* infection in the mouse model. *Gastroenterology*. 2009;136(7):2237-46.e1.
  87. DeLyria ES, Nedrud JG, Ernst PB, Alam MS, Redline RW, Ding H, et al. Vaccine-induced immunity against *Helicobacter pylori* in the absence of IL-17A. *Helicobacter*. 2011;16(3):169-78.
  88. Velin D, Bachmann D, Bouzourene H, Michetti P. Mast cells are critical mediators of vaccine-induced *Helicobacter* clearance in the mouse model. *Gastroenterology*. 2005;129(1):142-55.
  89. Velin D, Narayan S, Bernasconi E, Busso N, Ramelli G, Maillard MH, et al. PAR2 promotes vaccine-induced protection against *Helicobacter* infection in mice. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1273-82.
  90. Schmees C, Prinz C, Treptau T, Rad R, Hengst L, Voland P, et al. Inhibition of T-cell proliferation by *Helicobacter pylori* gamma-glutamyl transpeptidase. *Gastroenterology*. 2007;132(5):1820-33.
  91. Yoshida M, Claypool SM, Wagner JS, Mizoguchi E, Mizoguchi A, Roopenian DC, et al. Human neonatal Fc receptor mediates transport of IgG into luminal secretions for delivery of antigens to mucosal dendritic cells. *Immunity*. 2004;20(6):769-83.
  92. Wyatt JI, Rathbone BJ, Heatley RV. Local immune response to gastric *Campylobacter* in non-ulcer dyspepsia. *J Clin Pathol*. 1986;39(8):863-70.
  93. Phadnis SH, Parlow MH, Levy M, Ilver D, Caulkins CM, Connors JB, et al. Surface localization of *Helicobacter pylori* urease and a heat shock protein homolog requires bacterial autolysis. *Infect Immun*. 1996;64(3):905-12.
  94. Tindberg Y, Blennow M, Granström M. Clinical symptoms and social factors in a cohort of children spontaneously clearing *Helicobacter pylori* infection. *Acta Paediatr*. 1999;88(1):631-5.
  95. Aebischer T, Bumann D, Epple HJ, Metzger W, Schneider T, Cherepnev G, et al. Correlation of T cell response and bacterial clearance in human volunteers challenged with *Helicobacter pylori* revealed by randomised controlled vaccination with Ty21a-based *Salmonella* vaccines. *Gut*. 2008;57(8):1065-72.
  96. Zeng M, Mao XH, Li JX, Tong WD, Wang B, Zhang YJ, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2015;386(10002):1457-64.
  97. Sutton P. At last, vaccine-induced protection against *Helicobacter pylori*. *Lancet*. 2015;386(1002):1424-5.