

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 683 628**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/569** (2006.01)

**C07K 16/12** (2006.01)

**C12Q 1/68** (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2014 PCT/EP2014/002230**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2015 WO15022075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2014 E 14755023 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 3033623**

54 Título: **Método para la detección de infección por H. pylori**

30 Prioridad:

**13.08.2013 EP 13004038**

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

**27.09.2018**

73 Titular/es:

**TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN (100.0%)  
Arcisstr. 21  
80333 München, DE**

72 Inventor/es:

**GERHARD, MARKUS;  
KALALI, BEHNAM;  
FORMICHELLA, LUCA y  
KHALIFE-GHOLI, MOHAMMAD**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 683 628 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

Método para la detección de infección por *H. pylori*

La presente invención se refiere a un método de detección de la infección por *H. pylori* y a un kit para usar en el método de detección de la infección por *H. pylori*.

5 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), una bacteria microaerófila, Gram-negativa y espiral está colonizando aproximadamente la mitad de la población mundial y se considera que es un patógeno gástrico humano específico (Michetti, et al., 1999). La mayoría de las personas infectadas desarrollan gastritis crónica asintomática. Sin embargo, en algunos sujetos, la infección causa gastritis crónica, ulceración péptica y atrofia, y desempeña un papel importante en el desarrollo de linfoma de tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT), adenocarcinoma gástrico y linfoma no Hodgkin gástrico primario  
10 (Suganuma, et al., 2001).

La Organización Mundial de la Salud ha categorizado *H. pylori* como un carcinógeno de clase I (Goto, et al., 1999), y se ha demostrado evidencia directa de carcinogénesis en modelos animales (Honda, et al., 1998; T. Watanabe, et al., 1998). La erradicación de *H. pylori* puede prevenir el cáncer gástrico en humanos (Uemura, et al., 2001). Las estrategias de prueba y tratamiento se han considerado en poblaciones con alto riesgo de cáncer gástrico (Yamaoka, et al., 1998).  
15 Sin embargo, este enfoque se ve obstaculizado por la falta de sistemas de evaluación eficientes y asequibles, especialmente para los países de bajo nivel socioeconómico. En estos países, solo se aplican las pruebas serológicas, la mayoría de las cuales tienen un rendimiento deficiente o no están bien validadas. Para la serología de *H. pylori*, hay varios marcadores individuales específicos conocidos y descritos. Estos factores se han aplicado en muchos enfoques de diagnóstico, pero casi todos tienen limitaciones significativas que los hacen inadecuados para el diagnóstico de *H. pylori*. Por ejemplo, la proteína asociada a citotoxina (CagA) es una proteína del *H. pylori* muy bien caracterizada. Se codifica en el cag-PAI (gen asociado a citotoxina de la isla de patogenicidad y se describe como una proteína oncogénica (Franco, et al., 2005; Murata-Kamiya, et al., 2007). Esta proteína también es un antígeno altamente inmunogénico, por lo que es un marcador frecuentemente usado para las pruebas serológicas. La positividad de CagA se puede usar como un indicador de la virulencia de *H. pylori* porque los individuos infectados con cepas positivas para CagA tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades gastroduodenales. Sin embargo, no es apropiado como marcador único, ya que solo un subgrupo de cepas de *H. pylori* es CagA positivo. Además, la positividad de CagA no es una característica distintiva de la infección activa ya que los pacientes erradicados de *H. pylori* mantienen anticuerpos contra CagA durante muchos años (Fusconi, et al., 1999). Por lo tanto, siempre se debe combinar con otros antígenos apropiados en las pruebas serológicas para confirmar la positividad. Otra proteína del *H. pylori* bien caracterizada es la citotoxina vacuolizante (VacA). Se informó que induce vacuolación en células expuestas a sobrenadantes de *H. pylori* o proteínas purificadas (Cover & Blaser, 1992). El gen de vacA codifica una protoxina de 140 kDa, en el que la secuencia señal amino terminal y el fragmento carboxi terminal se escinden proteolíticamente durante la secreción, dando lugar a una proteína activa con una masa molecular de 88 kDa que se añade a hexámeros y forma un poro (Montecucco & de Bernard, 2003). Esta proteína consiste en dos regiones diferentes. Una secuencia de señal (s1a, s1b, s2) y una región media (m1, m2), ambas con elevadas variaciones alélicas que parecen regular la actividad citotóxica (Atherton, et al., 1995). La alta diversidad de VacA hace que esta proteína no sea adecuada para las pruebas serológicas.  
20  
25  
30  
35

Otra proteína del *H. pylori* bien caracterizada, GroEL, pertenece a la familia de chaperonas moleculares, que se requieren para el plegamiento apropiado de muchas proteínas bajo condiciones de estrés (Dunn, et al., 1992). En diferentes estudios se demostró que esta proteína está altamente conservada entre diferentes cepas de *H. pylori* y que su seropositividad era incluso mayor que para CagA en pacientes infectados (Macchia, et al., 1993; Suerbaum, et al., 1994). También, en estudios realizados por los presentes inventores, se observó que un estado serológico positivo para GroEL se encontraba con mayor frecuencia en pacientes alemanes con cáncer gástrico en comparación con controles emparejados (datos no publicados). También, se sugiere que los anticuerpos contra GroEL pueden persistir por más tiempo después de la pérdida de infección por *H. pylori* relacionada con la enfermedad. De este modo, GroEL puede ser un marcador apropiado de infección actual o pasada, y puede ser útil para superar la subestimación del riesgo de cáncer gástrico relacionado con *H. pylori* debido a la eliminación de la infección (Gao et al., 2009).  
40  
45

El documento WO 2004/094467 A2 da a conocer un método de diagnóstico in vitro de infección por *H. pylori* mediante detección directa de antígenos de *H. pylori* en el nivel de ácido nucleico o proteína.

El documento WO 98/27432 A1 se refiere a un método serológico para detectar infección por *H. pylori* usando al menos un antígeno común de tipo *H. pylori* y al menos un antígeno de tipo I específico de *H. pylori*.  
50

El documento WO 96/40893 A1 describe secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos relacionadas con *H. pylori* para aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas.

El problema que subyace a la presente invención fue la provisión de un método de detección de la infección por *H. pylori* con alta sensibilidad y/o alta especificidad. Otro problema que subyace a la presente invención fue la provisión de un ensayo que, en comparación con los ensayos de la técnica anterior, conduce a resultados menos falsos positivos y menos falsos negativos, particularmente en enfoques basados en la población. Un problema adicional que subyace a la presente invención fue proporcionar medios para llevar a cabo tales métodos y tales ensayos, respectivamente. Un  
55

problema adicional subyacente a la presente invención fue la provisión de un biomarcador para pacientes infectados con *H. pylori*, por lo que el biomarcador preferiblemente no muestra ninguna reactividad cruzada con otras bacterias y proteínas, péptidos o moléculas de ácido nucleico que codifiquen dichas proteínas y péptidos en particular.

5 Estos y otros problemas subyacentes a la presente invención se resuelven mediante el contenido de las reivindicaciones independientes adjuntas. Las realizaciones preferidas se pueden tomar de las reivindicaciones dependientes adjuntas. El alcance de la presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

También se describen en este documento los siguientes puntos.

Punto 1: Un método de detección de la infección por *Helicobacter* y más preferiblemente una infección por *H. pylori* en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto una respuesta inmune contra FliD.

10 Punto 2: El método del punto 1, en el que, si se detecta una respuesta inmune contra FliD en la muestra del sujeto, el sujeto padece una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, o el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*. Infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, en el pasado.

Punto 3: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 2, en el que, si no se detecta respuesta inmune contra FliD en la muestra del sujeto, el sujeto no sufre una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*.

15 Punto 4: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 2, en el que, si no se detecta una respuesta inmune contra FliD en la muestra del sujeto, el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, en el pasado.

Punto 5: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 4, en el que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos contra FliD, preferiblemente una respuesta de anticuerpos anti-FliD.

20 Punto 6: El método del punto 5, en el que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos contra FliD y en el que la respuesta del anticuerpo contra FliD comprende al menos un anticuerpo anti-FliD seleccionado del grupo que comprende un anticuerpo IgG y un anticuerpo IgA.

25 Punto 7: El método del punto 5, en el que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos anti-FliD y en el que la respuesta del anticuerpo anti-FliD comprende al menos un anticuerpo anti-FliD seleccionado del grupo que comprende un anticuerpo IgG y un anticuerpo IgA.

Punto 8: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 7, en el que el sujeto está infectado con *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, que expresa FliD.

Punto 9: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 8, en el que el sujeto es diferente de un sujeto que está inmunosuprimido, preferiblemente el sujeto es diferente de un sujeto que está bajo terapia inmunosupresora.

30 Punto 10: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 9, en el que el método comprende además detectar uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente de *H. pylori*.

Punto 11: El método del punto 10, en el que el uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, se selecciona del grupo que comprende CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA.

35 Punto 12: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con FliD o un fragmento de la misma.

Punto 13: El método del punto 13, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con una FliD de longitud completa.

40 Punto 14: El método de uno cualquiera de los puntos 12 a 13, en el que la respuesta inmune contra FliD comprende al menos uno de un compuesto humoral capaz de interactuar con FliD y un compuesto celular capaz de interactuar con FliD, en el que el al menos un compuesto humoral y/o un compuesto celular interactúa con FliD, preferiblemente el al menos un compuesto humoral y/o el compuesto celular que interactúa con FliD forma un producto de interacción con FliD.

Punto 15: El método del punto 14, en el que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos contra FliD y en el que la respuesta del anticuerpo contra FliD forma un producto de interacción con FliD.

45 Punto 16: El método del punto 14, en el que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos anti-FliD y en el que la respuesta anti-FliD forma un producto de interacción con FliD.

- Punto 17: El método del punto 14, en el que la respuesta inmune contra FliD comprende al menos un anticuerpo anti-FliD y en el que el anticuerpo anti-FliD forma un producto de interacción con FliD.
- Punto 18: El método de uno cualquiera de los puntos 14 a 17, en el que se detecta el producto de interacción.
- Punto 19: El método del punto 18, en el que el producto de interacción se detecta directamente.
- 5 Punto 20: El método del punto 18, en el que el producto de interacción se detecta indirectamente.
- Punto 21: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 20, en el que la detección se produce por medio de un ELISA o un inmunoensayo lineal.
- Punto 22: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 20, en el que la detección se produce por medio de un ensayo de flujo lateral.
- 10 Punto 23: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 22, en el que la muestra se selecciona del grupo que comprende suero, plasma y sangre completa.
- Punto 24: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 23, en el que el sujeto es un ser humano y la infección por *Helicobacter* es una infección por *H. pylori*.
- Punto 25: El método del punto 24, en el que la FliD reaccionado con la muestra es FliD de *H. pylori*.
- 15 Punto 26: El método del punto 25, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.
- Punto 27: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 23, en el que el sujeto es un cerdo y la infección por *Helicobacter* es la infección por *Helicobacter suis*.
- Punto 28: El método del punto 27, en el que la FliD reaccionado con la muestra es FliD de *H. suis*.
- Punto 29: El método del punto 28, en el que la FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 3.
- 20 Punto 30: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 23, en el que el sujeto es un gato y la infección por *Helicobacter* es infección por *Helicobacter felis*. Preferiblemente, el gato se selecciona del grupo que comprende gato doméstico, gato montés, gato pequeño y gato grande.
- Punto 31: El método del punto 30, en el que la FliD reaccionado con la muestra es FliD de *H. felis*.
- Punto 32: El método del punto 31, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 5.
- 25 Punto 33: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 32, en el que la sensibilidad del método de detección de una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori* en el hombre, es más del 90% y/o del 97% o menos.
- Punto 34: El método de uno cualquiera de los puntos 1 a 33, en el que la especificidad del método de detección de una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori* en el hombre, es más del 90% y/o 99% o menos.
- 30 Punto 35: Uso de una respuesta inmune contra FliD en un sujeto como biomarcador.
- Punto 36: El uso del punto 35, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*.
- Punto 37: El uso de uno cualquiera de los puntos 35 a 36, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es el hombre y el *Helicobacter* es *H. pylori*.
- 35 Punto 38: El uso de uno cualquiera de los puntos 35 a 36, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un cerdo y el *Helicobacter* es *H. suis*.
- Punto 39: El uso de uno cualquiera de los puntos 35 a 36, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un gato y el *Helicobacter* es *H. felis*.
- Punto 40: El uso según uno cualquiera de los puntos 35 a 39, en el que el biomarcador es un biomarcador predictivo.
- 40 Punto 41: El uso según uno cualquiera de los puntos 35 a 40, en el que la respuesta inmune es una respuesta de anticuerpos contra FliD.

- Punto 42: El uso según uno cualquiera de los puntos 35 a 41, en el que la respuesta inmune es una respuesta de anticuerpos anti-FliD contra FliD.
- Punto 43: Un kit que comprende FliD o un fragmento de la misma y al menos un constituyente adicional.
- 5 Punto 44: El kit del punto 43, en el que el al menos un constituyente adicional se selecciona del grupo que comprende una solución reguladora, una fase sólida y un prospecto de instrucciones.
- Punto 45: El kit de uno cualquiera de los puntos 43 a 44, en el que FliD es FliD de longitud completa.
- Punto 46: El kit según uno cualquiera de los puntos 43 a 44, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos y en el que la secuencia de aminoácidos se selecciona del grupo que comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1, una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 3 y una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 5.
- 10 Punto 47: El kit según uno cualquiera de los puntos 43 a 46, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de detección de la infección por *Helicobacter* en un sujeto.
- Punto 48: El kit según el punto 47, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de uno cualquiera de los puntos 1 a 34.
- 15 Punto 49: Un método de detección de la infección por *Helicobacter* y más preferiblemente una infección por *H. pylori* en un sujeto, en el que el método comprende detectar FliD en una muestra del sujeto.
- Punto 50: El método del punto 49, en el que, si se detecta FliD en la muestra del sujeto, el sujeto sufre una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, o el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, en el pasado.
- 20 Punto 51: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 50, en el que, si no se detecta FliD en la muestra del sujeto, el sujeto no sufre una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*.
- Punto 52: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 51, en el que, si no se detecta FliD en la muestra del sujeto, el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori* en el pasado.
- 25 Punto 53: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 52, en el que el sujeto está infectado con *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, que expresa FliD.
- Punto 54: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 53, en el que el método comprende además detectar uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente de *H. pylori*.
- Punto 55: El método del punto 54, en el que el uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, se selecciona del grupo que comprende CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA.
- 30 Punto 56: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 55, en el que FliD es FliD de longitud completa o un fragmento de la misma.
- Punto 57: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 56, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con un agente que interactúa, en el que el agente que interactúa está interactuando con FliD o un fragmento de la misma, preferiblemente el agente que interactúa está específicamente interactuando con FliD o un fragmento de la misma.
- 35 Punto 58: El método del punto 57, en el que el agente que interactúa está interactuando con FliD de longitud completa o un fragmento de FliD.
- Punto 59: El método de uno cualquiera de los puntos 57 a 58, en el que el agente de interacción se selecciona del grupo que comprende un anticuerpo, un aptámero y un spiegelmero.
- 40 Punto 60: El método del punto 59, en el que el agente que interactúa es un anticuerpo, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal.
- Punto 61: El método de uno cualquiera de los puntos 56 a 60, en el que el agente que interactúa y la FliD presente en la muestra forman un producto de interacción.
- Punto 62: El método del punto 61, en el que se detecta el producto de interacción.
- 45 Punto 63: El método del punto 62, en el que el producto de interacción se detecta directamente.

- Punto 64: El método del punto 62, en el que el producto de interacción se detecta indirectamente.
- Punto 65: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 64, en el que la detección se produce por medio de un ELISA o un inmunoensayo lineal.
- 5 Punto 66: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 63, en el que la detección se produce por medio de un ensayo de flujo lateral.
- Punto 67: El método según uno cualquiera de los puntos 49 a 56, en el que FliD se detecta por medio de espectroscopía de masas.
- 10 Punto 68: Método según el punto 67, en el que la espectroscopía de masas se selecciona del grupo que comprende LC-ESI-MS/MS, MALDI-MS, MS en tándem, TOF/TOF, TOF-MS, TOF-MS/MS, MS triple cuádruplo, y MS/MS triple cuádruplo.
- Punto 69: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 68, en el que el sujeto es un ser humano y la infección por *Helicobacter* es una infección por *H. pylori*.
- Punto 70: El método del punto 69, en el que la FliD es de *H. pylori*.
- Punto 71: El método del punto 70, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.
- 15 Punto 72: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 68, en el que el sujeto es un cerdo y la infección por *Helicobacter* es la infección por *Helicobacter suis*.
- Punto 73: El método del punto 72, en el que FliD es de *H. suis*.
- Punto 74: El método del punto 73, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 3.
- 20 Punto 75: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 68, en el que el sujeto es un gato y la infección por *Helicobacter* es la infección por *Helicobacter felis*.
- Punto 76: El método del punto 75, en el que la FliD es de *H. felis*.
- Punto 77: El método del punto 76, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 5.
- Punto 78: El método de uno cualquiera de los puntos 49 a 77, en el que la muestra se selecciona del grupo que comprende heces, suero, plasma y sangre completa, preferiblemente la muestra es de heces.
- 25 Punto 79: Uso de FliD como biomarcador.
- Punto 80: El uso del punto 79, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección de un sujeto con *Helicobacter*.
- Punto 81: El uso de uno cualquiera de los puntos 79 a 80, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es el hombre y el *Helicobacter* es *H. pylori*.
- 30 Punto 82: El uso del punto 81, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.
- Punto 83: El uso de uno cualquiera de los puntos 80 a 81, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un cerdo y el *Helicobacter* es *H. suis*.
- Punto 84: El uso del punto 83, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 3.
- 35 Punto 85: El uso de uno cualquiera de los puntos 80 a 81, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un gato y el *Helicobacter* es *H. felis*. Punto 86: El uso del punto 85, en el que FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 5.
- Punto 87: El uso según uno cualquiera de los puntos 79 a 86, en el que el biomarcador es un biomarcador predictivo.
- Punto 88: Un kit que comprende un agente de interacción capaz de interactuar con FliD o un fragmento de la misma y al menos un constituyente adicional.
- 40 Punto 89: El kit del punto 88, en el que el al menos un constituyente adicional se selecciona del grupo que comprende una solución reguladora, una fase sólida y un prospecto de instrucciones.

## ES 2 683 628 T3

- Punto 90: El kit del punto 89, en el que el agente de interacción es capaz de interactuar específicamente con FliD o un fragmento de la misma.
- Punto 91: El kit de uno cualquiera de los puntos 88 a 90, en el que el agente que interactúa se selecciona del grupo que comprende un anticuerpo, un aptámero y un spiegelmero.
- 5 Punto 92: El kit según uno cualquiera de los puntos 88 a 91, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de detección de la infección por *Helicobacter* en un sujeto.
- Punto 93: El kit según el punto 92, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de uno cualquiera de los puntos 49 a 78.
- 10 Punto 94: Un método de detección de la infección por *Helicobacter* y más preferiblemente una infección por *H. pylori* en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto un ácido nucleico que codifica FliD.
- Punto 95: El método del punto 94, en el que el ácido nucleico es un ácido nucleico genómico que codifica FliD, preferiblemente ADN
- Punto 96: El método del punto 94, en el que el ácido nucleico es un ARNm que codifica FliD.
- 15 Punto 97: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 96, en el que, si se detecta un ácido nucleico que codifica FliD en la muestra del sujeto, el sujeto sufre una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, o el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*, en el pasado.
- Punto 98: El método de uno cualquiera del punto 94 a 97, en el que, si no se detecta ácido nucleico que codifica FliD en la muestra del sujeto, el sujeto no sufre una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori*.
- 20 Punto 99: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 98, en el que, si no se detecta ácido nucleico que codifica FliD en la muestra del sujeto, el sujeto ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente una infección por *H. pylori* en el pasado.
- Punto 100: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 99, en el que el sujeto está infectado con *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, que expresa FliD.
- 25 Punto 101: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 100, en el que el método comprende además detectar uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente de *H. pylori*, y/o un ácido nucleico que codifica uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente de *H. pylori*.
- Punto 102: El método del punto 101, en el que el uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente *H. pylori*, se selecciona del grupo que comprende CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA.
- 30 Punto 103: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 102, en el que FliD es FliD de longitud completa o un fragmento de la misma.
- Punto 104: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 103, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con un agente que interactúa, en el que el agente que interactúa está interactuando con un ácido nucleico que codifica FliD, preferiblemente el agente que interactúa específicamente interactúa con un ácido nucleico que codifica FliD.
- 35 Punto 105: El método del punto 104, en el que el agente de interacción está interactuando con un ácido nucleico que codifica FliD de longitud completa o un fragmento de FliD.
- Punto 106: El método de uno cualquiera de los puntos 104 a 105, en el que el agente que interactúa se selecciona del grupo que comprende un cebador y una sonda.
- 40 Punto 107: El método de uno cualquiera de los puntos 104 a 106, en el que el agente de interacción y el ácido nucleico que codifica FliD presente en la muestra forman un producto de interacción.
- Punto 108: El método del punto 107, en el que se detecta el producto de interacción.
- Punto 109: El método del punto 108, en el que el producto de interacción se detecta directamente.
- Punto 110: El método del punto 108, en el que el producto de interacción se detecta indirectamente.
- 45 Punto 111: El método según uno cualquiera de los puntos 94 a 103, en el que una molécula de ácido nucleico que codifica FliD se detecta por medio de espectroscopía de masas, PCR o un ensayo de hibridación.

## ES 2 683 628 T3

- Punto 112: El método según el punto 111, en el que la espectroscopía de masas se selecciona del grupo que comprende LC-ESI-MS/MS, MALDI-MS, MS en tándem, TOF/TOF, TOF-MS, TOF-MS/MS, MS triple cuádruplo, y MS/MS triple cuádruplo.
- 5 Punto 113: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 112, en el que el sujeto es un ser humano y la infección por *Helicobacter* es una infección por *H. pylori*.
- Punto 114: El método del punto 113, en el que el ácido nucleico que codifica FliD es de *H. pylori*.
- Punto 115: El método del punto 114, en el que el ácido nucleico que codifica FliD comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 2.
- 10 Punto 116: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 112, en el que el sujeto es un cerdo y la infección por *Helicobacter* es la infección por *Helicobacter suis*.
- Punto 117: El método del punto 116, en el que el ácido nucleico que codifica FliD es de *H. suis*.
- Punto 118: El método del punto 117, en el que el ácido nucleico que codifica FliD comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 4.
- 15 Punto 119: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 112, en el que el sujeto es un gato y la infección por *Helicobacter* es la infección por *Helicobacter felis*.
- Punto 120: El método del punto 119, en el que el ácido nucleico que codifica FliD es de *H. felis*.
- Punto 121: El método del punto 120, en el que la FliD comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 6.
- 20 Punto 122: El método de uno cualquiera de los puntos 94 a 121, en el que la muestra se selecciona del grupo que comprende heces, suero, plasma y sangre completa, preferiblemente la muestra es de heces.
- Punto 123: Uso de un ácido nucleico que codifica FliD como biomarcador.
- Punto 124: El uso del punto 123, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección de un sujeto con *Helicobacter*.
- 25 Punto 125: El uso de uno cualquiera de los puntos 123 a 124, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es el hombre y el *Helicobacter* es *H. pylori*.
- Punto 126: El uso del punto 125, en el que el ácido nucleico que codifica FliD comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 2.
- Punto 127: El uso de uno cualquiera de los puntos 124 a 125, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un cerdo y el *Helicobacter* es *H. suis*.
- 30 Punto 128: El uso del punto 127, en el que el ácido nucleico que codifica FliD comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 4.
- Punto 129: El uso de uno cualquiera de los puntos 124 a 125, en el que el biomarcador es un biomarcador para la infección del sujeto con *Helicobacter*, en el que el sujeto es un gato y el *Helicobacter* es *H. felis*.
- 35 Punto 130: El uso del punto 129, en el que el ácido nucleico que codifica FliD comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 6.
- Punto 131: El uso según uno cualquiera de los puntos 123 a 130, en el que el biomarcador es un biomarcador predictivo.
- Punto 132: Un kit que comprende un agente de interacción capaz de interactuar con un ácido nucleico que codifica FliD o un fragmento de la misma y al menos un constituyente adicional.
- 40 Punto 133: El kit del punto 132, en el que el al menos un constituyente adicional se selecciona del grupo que comprende una solución reguladora, una fase sólida y un prospecto de instrucciones.
- Punto 134: El kit del punto 133, en el que el agente de interacción es capaz de interactuar específicamente con FliD o un fragmento de la misma.



Punto 135: El kit de uno cualquiera de los puntos 132 a 134, en el que el agente de interacción se selecciona del grupo que comprende un cebador y una sonda.

Punto 136: El kit según uno cualquiera de los puntos 132 a 135, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de detección de la infección por *Helicobacter* en un sujeto.

5 Punto 137: El kit según el punto 136, en el que el kit es apropiado para su uso o se usa en un método de uno cualquiera de los puntos 94 a 122.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que FliD que es una proteína también denominada "homólogo de proteína 2 asociada al gancho", es un marcador de infección con *Helicobacter* y *H. pylori* en particular. Los presentes inventores también han encontrado sorprendentemente que FliD y/o una respuesta inmune contra FliD pueden usarse ventajosamente como marcador en análisis serológicos y, de acuerdo con lo anterior, en cualquier método y ensayo, respectivamente, que se base en o utilice una muestra de un sujeto a analizar para infección por *Helicobacter* y *H. pylori* en particular, por lo que la muestra se selecciona preferiblemente del grupo que comprende una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de sangre y una muestra de heces. Finalmente, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que la infección de un sujeto con *Helicobacter* y *H. pylori* en particular se puede detectar basándose en FliD y/o un ácido nucleico que codifica FliD, por lo que se usan FliD y/o el ácido nucleico que codifica FliD, como el único marcador. En otras palabras, una infección de un sujeto con *Helicobacter* y *H. pylori* en particular se puede diagnosticar basándose exclusivamente y, respectivamente, dependiendo de FliD y/o un ácido nucleico que codifique para esta. Lo mismo es cierto para una respuesta inmune contra FliD desarrollada por un sujeto infectado con *Helicobacter* y *H. pylori* en particular: una infección de un sujeto con *Helicobacter* y *H. pylori* en particular se puede diagnosticar basándose exclusivamente y, respectivamente, depender de una respuesta inmune contra FliD, por lo que la respuesta inmune contra FliD fue generada por el sujeto. Una ventaja adicional de la presente invención es que la respuesta inmune contra FliD se puede determinar en una muestra que se obtiene por lo general por métodos no invasivos que contrasta con muchos métodos de detección de la técnica anterior en los que la muestra debe tomarse mediante un método invasivo tal como una biopsia.

25 Se reconocerá por un experto en el arte que la presente descripción puede, en principio, aplicarse a la detección de cualquier infección de un sujeto con *Helicobacter*, siempre que tal *Helicobacter* codifique y/o exprese FliD. También será reconocido por una persona experta en el arte que, por lo general, una especie distinta de un sujeto tal como, por ejemplo, el hombre, será infectado por una especie distinta de *Helicobacter*. En caso de que el sujeto sea el hombre, la especie de *Helicobacter* es *H. pylori*. En el caso de que el sujeto sea un cerdo, la especie de *Helicobacter* es *H. suis*. En caso de que el sujeto sea un gato, incluidos los grandes felinos, la especie de *Helicobacter* es *H. felis*. La memoria descriptiva actual se refiere particularmente a la detección de *H. pylori* en el hombre. Tal referencia a *H. pylori* y al hombre, sin embargo, se realiza únicamente por razones de claridad y, dado lo anterior, cualquier realización que se refiera a *H. pylori* y al hombre, se aplica igualmente a cualquier otro *Helicobacter* que exprese FliD, o un homólogo del mismo, y cualquiera otra especie del sujeto. Preferiblemente, la otra especie del sujeto es cualquier mamífero que padece o puede sufrir una infección con *Helicobacter* y un homólogo de especie de *H. pylori*, por lo que dicho *Helicobacter* y especie homóloga a *H. pylori* expresa FliD o un homólogo del mismo.

También se reconocerá por una persona experta en el arte que para cada especie de *Helicobacter* por lo general existen diversas cepas. La secuencia de aminoácidos y la secuencia de ácido nucleico de FliD de tales cepas de la especie *Helicobacter* por lo general muestran una identidad muy alta en términos de secuencia de aminoácidos. Más específicamente, el análisis bioinformático reveló que la secuencia de aminoácidos FliD está presente y altamente conservada en todas las cepas de *H. pylori* (> 200). FliD tiene una homología del 97% en alrededor de 200 cepas de *H. pylori* que fueron analizadas por los presentes inventores. Curiosamente, a excepción de algunas otras especies de *Helicobacter* no *pylori* con homología parcial, no hay otro organismo conocido con una homología genómica o proteómica significativa con FliD de *H. pylori*. La comparación de la proteína FliD de *H. pylori* muestra la alta conservación de FliD en especies de *Helicobacter*, mientras que es distinta de la mayoría de otras bacterias, así como organismos eucarióticos. Este análisis junto con la alta predicción de antigenicidad de esta proteína proporciona el racional de hecho no hay reactividad cruzada.

Además, FliD se expresa de hecho por todas las cepas que infectan o que son capaces de infectar a un sujeto. Esto explica por qué FliD es un marcador de hecho para cada cepa de *H. pylori* y, respectivamente, cada cepa de la especie de *Helicobacter* que infecta las especies respectivas. En otras palabras, casi todos los pacientes con *H. pylori* positivo muestran una respuesta inmune contra FliD.

La proteína del *H. pylori* FliD es un elemento esencial en el ensamblaje de los flagelos funcionales y una cepa mutante FliD es completamente no móvil. La flagelina desempeña un papel central en la motilidad bacteriana y es necesaria para la colonización y la persistencia de la infección por *H. pylori* (Eaton, et al., 1996). La motilidad de *H. pylori* es un factor virulento en la patogenia de la lesión de la mucosa gástrica (S. Watanabe, et al., 1997). El gen *H. pylori* FliD codifica una proteína de 76 kDa (Kim, et al., 1999). El operón FliD de *H. pylori* consiste en los genes FlaG, FliD y FliS, en el orden indicado, bajo el control de un promotor dependiente de Sigma (28). Se puede encontrar una entrada para FliD de *H. pylori* en los bancos de datos UniProtKB/Swiss-Prot como P96786.4 que proporciona, entre otros, la secuencia de aminoácidos de la misma y mutaciones de FliD como se encuentran en diversas cepas de *H. pylori*.

El método de la invención para detectar infección por *H. pylori* en un sujeto también se puede caracterizar de manera que comprenda la etapa de determinar si una muestra del sujeto contiene una respuesta inmune contra FliD. Si la muestra del contenido contiene una respuesta de anticuerpos contra FliD, el sujeto padece una infección por *H. pylori* o ha experimentado una infección por *H. pylori* en el pasado.

5 El método de la invención para detectar una infección por *H. pylori* en un sujeto también se puede aplicar a un sujeto del que se desconoce si padece una infección por *H. pylori*, o si tal sujeto ha experimentado una *H. pylori* infección por *pylori*. Hasta ahora, la presente divulgación se relaciona en un aspecto adicional con los métodos para determinar si un sujeto padece una infección por *Helicobacter*, preferiblemente infección por *H. pylori*, o ha experimentado una infección por *Helicobacter*, preferiblemente infección por *H. pylori* en el pasado.

10 Como se usa preferiblemente en este documento, la expresión "en el pasado" se refiere a un punto en el tiempo que es anterior al punto en el tiempo cuando una muestra ha sido o es tomada de un sujeto, por lo que dicha muestra es una muestra usada en conexión con los diversos aspectos y/o las diversas realizaciones de la presente invención y en particular en la detección de *H. pylori* y/o infección por *H. pylori* en un sujeto y en el diagnóstico de *H. pylori* y/o infección por *H. pylori* en un sujeto.

15 En relación con los diversos aspectos de la presente invención y el método de la invención en particular, un experto en el arte reconocerá que la respuesta inmune y la respuesta de anticuerpos anti-FliD generada por el sujeto infectado por *H. pylori* persiste durante algunos años. La prevalencia de dicha respuesta de anticuerpos anti-FliD es por lo general de aproximadamente 50% después de 1 a 5 años después de la erradicación de *H. pylori*, aproximadamente 50% después de 6 a 10 años después de la erradicación de *H. pylori*, aproximadamente 25% después de 11 a 15 años después de la erradicación de *H. pylori* y aproximadamente el 25% después de 16 a 20 años después de la erradicación de *H. pylori*. A la luz de esto, un sujeto que se diagnostica como *H. pylori* positivo puede ser un sujeto que en realidad está sufriendo una infección por *H. pylori* en el momento en que se tomó la muestra, o un sujeto que había sido infectado por *H. pylori* en el pasado con la respuesta inmune anti-FliD aún prevalece.

25 En la medida en que la respuesta inmune contra FliD es una respuesta de anticuerpos contra FliD y más específicamente una respuesta de anticuerpos anti-FliD, los anticuerpos anti-FliD son por lo general IgG o IgA. Esta especificidad de clase se puede usar en la detección de anticuerpos anti-FliD al usar, como anticuerpos de detección o anticuerpos de captura, anticuerpos anti-IgG y/o anti-IgA. En la realización en la que el sujeto es un hombre, los anticuerpos de detección y los anticuerpos de captura son preferiblemente IgG anti-humana y/o IgA anti-humana.

30 En relación con los diversos aspectos de la presente invención y el método de la invención en particular, los métodos pueden comprender adicionalmente, en una realización, la detección de uno o más antígenos de *Helicobacter* o un ácido nucleico que codifica dichos antígenos de *Helicobacter*. En una realización, tales antígenos de *Helicobacter* son antígenos de *H. pylori*. En una realización adicional, los antígenos se seleccionan del grupo que comprende CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA que son todos conocidos en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Yakoob J et al. (Yakoob J et al., Gut and Liver, Vol. 4, No. 3, September 2010, pp. 345-350), Sabarth N et al. (Sabarth N et al., Infection and Immunity, Nov. 2002, p. 6499-6503), Gao L. et al. (Gao L. et al., Cancer Res 2009; 69: (15). August 1, 2009, p. 6164 - 6170), Yamaoka Y (Yamaoka Y, J Med Microbiol. 2008 May; 57 (Pt5): 545-553), Miehke S et al. (Miehke S et al., Int. J. Cancer: 87, 322-327 (2000)), y Atherton JC et al. (Atherton JC et al., Current Microbiology, Vol. 39(1999), pp 211-218). Una secuencia de aminoácidos de CagA se describe en este documento como SEQ ID NO: 7, una secuencia de nucleótidos de CagA se describe en este documento como SEQ ID NO: 8, una secuencia de aminoácidos de VacA se describe en este documento como SEQ ID NO: 9, una secuencia de nucleótidos de VacA se describe en el presente documento como SEQ ID NO: 10, una secuencia de aminoácidos de GroEL se describe en este documento como SEQ ID NO: 11, una secuencia de nucleótidos de GroEL se describe en este documento como SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de Hp0231 se describe en este documento como SEQ ID NO: 13, una secuencia de nucleótidos de Hp0231 se describe en este documento como SEQ ID NO: 14, una secuencia de aminoácidos de JHp0940 se describe en este documento como SEQ ID NO: 15, una secuencia de nucleótidos de JHp0940 se describe en este documento como SEQ ID NO: 16, una secuencia de aminoácidos de HtrA se describe en este documento como SEQ ID NO: 17, y una secuencia de nucleótidos de HtrA se describe en este documento como SEQ ID NO: 18.

50 En una realización del método de la invención en el que se detecta una infección por *H. pylori* en un sujeto al detectar en una muestra del sujeto una respuesta inmune contra FliD y en particular un anticuerpo anti-FliD en la muestra, la muestra y FliD se hacen reaccionar. En una realización, la muestra se añade a FliD. Preferiblemente, FliD está unido a una fase sólida en dicho método. También está dentro de la presente invención que FliD se añade a la muestra. Preferiblemente, se añade FliD como una solución, más preferiblemente como una solución acuosa tal como una solución regulada. En una realización preferida, FliD se hace reaccionar con la muestra estando FliD unido a una fase sólida. Un experto en el arte reconocerá que FliD y la muestra se hacen reaccionar en condiciones tales que, si la muestra contiene una respuesta inmune contra FliD y anticuerpos anti-FliD en particular, se forma un producto de interacción. Preferiblemente, tal producto de interacción es un complejo de FliD y un anticuerpo anti-FliD contenido en la muestra.

El producto de interacción formado de este modo se puede detectar directa o indirectamente. En la realización en la que el producto de interacción se detecta directamente, la FliD que reaccionó con la muestra comprende un marcador que permite la detección de FliD, particularmente cuando interactúa con un anticuerpo anti-FliD. Los marcadores de este tipo son conocidos para los expertos en el arte y abarcan radiomarcadores, marcadores de fluorescencia, colorantes, nanopartículas como oro y enzimas tales como peroxidasa de rábano picante. Otros marcadores son los descritos en este documento en relación con el marcado de anticuerpos. En la realización en la que el producto de interacción se detecta indirectamente, el producto de interacción se hace reaccionar posteriormente con un agente de detección, por lo que el agente de detección se une específicamente al producto de interacción. Tal agente de detección puede ser un anticuerpo, preferiblemente un anticuerpo anti-IgG o anti-IgA. El propio agente de detección por lo general comprende un marcador que permite la detección del agente de detección, preferiblemente cuando el agente de detección está específicamente unido al producto de interacción.

En las realizaciones preferidas del método de la invención, el producto de interacción se detecta por medio de un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) o un radioinmunoensayo que son conocidos para una persona experta en el arte (Lottspeich F. and Zorbas H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998). El ELISA puede ser un ELISA indirecto, un ELISA sándwich, un ELISA competitivo o un ELISA no competitivo.

En una realización preferida alternativa del método de la invención, el producto de interacción se detecta por medio de una prueba de flujo lateral que también se conoce como ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral que se describen, por ejemplo, en el documento US 6,485,982. Tal prueba de flujo lateral es, en una realización, usada en cualquier método de la invención en el que se detecta cualquiera un anticuerpo anti-FliD y, respectivamente, anticuerpos anti-FliD en una muestra de un sujeto. La prueba de flujo lateral se describirá con fines ilustrativos para la realización del método de la invención en el que se detectan anticuerpos anti-FliD en una muestra de un sujeto, en el que el sujeto es el hombre.

La tecnología se basa en una serie de lechos capilares, tales como trozos de papel poroso o polímero. Cada uno de estos componentes tiene la capacidad de transportar fluido, por ejemplo, suero, plasma o sangre, precipitadamente. La almohadilla de muestra actúa como una esponja y contiene un exceso de líquido de muestra. Cuando la almohadilla de muestra está saturada, el fluido se mueve a la almohadilla conjugada en la que se encuentran las nanopartículas, preferiblemente nanopartículas de oro, conjugadas con anticuerpo antihumano. Cuando el fluido de muestra migra a este elemento, disuelve las partículas y, en una reacción combinada, la muestra y la mezcla conjugada fluyen a través de la estructura porosa. De esta forma, el anticuerpo inmovilizado en la superficie de las nanopartículas se une a la IgG humana existente en la muestra mientras migra más a través de la siguiente matriz capilar. En este elemento que es por lo general una membrana hidrófoba como antígenos de nitrocelulosa, así como un control (por ejemplo, IgG humana) se inmovilizan como líneas de prueba o de control. Una vez que la IgG humana que ahora está unida a las partículas del conjugado alcanza estas líneas, el antígeno inmovilizado en la membrana capturará específicamente el complejo de anticuerpos. Después de un tiempo, más y más partículas se acumulan en un sitio de antígeno y aparece una banda de color simplemente detectable. En una realización, solo hay un antígeno, a saber, FliD. En otra realización, además de FliD, hay uno o más antígenos. Preferiblemente, el uno o más antígenos se seleccionan del grupo que comprende CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA.

En realización preferida alternativa adicional del método de la invención, el producto de interacción se detecta por medio de un ensayo lineal. Tal ensayo lineal comprende por lo general una pluralidad de tiras. En dichas tiras, FliD recombinante altamente purificada se fija en las tiras. Tales tiras están hechas preferiblemente de membrana de nitrocelulosa. Las tiras se incuban con la muestra, preferiblemente con una muestra diluida de suero o plasma, y los anticuerpos anti-FliD se unen a FliD, en caso de que FliD se inmovilice para detectar anticuerpos anti-FliD en la muestra, en las tiras de prueba. En una segunda etapa, las tiras se incuban con anticuerpos inmunoglobulina anti-humana (IgG e IgA), que se acoplan a la peroxidasa de rábano picante. Los anticuerpos específicamente unidos se detectan con una reacción de tinción catalizada por la peroxidasa. Si se ha producido una reacción antígeno-anticuerpo formando un producto de interacción, aparecerá una banda oscura en la tira en el punto correspondiente. En una realización, las bandas de control en el extremo superior de las tiras de prueba son:

- a) La banda de control de reacción bajo el número de tira, que debe mostrar una reacción para cada muestra.
- b) Las bandas de control del conjugado (IgG, IgA) se usan para verificar la clase de anticuerpos detectados. Si, por ejemplo, se usa la tira de prueba para la detección de anticuerpos IgG, el conjugado IgG mostrará una banda clara.
- c) "Control de corte": la intensidad de esta banda permite la evaluación de la reactividad de las bandas de antígenos individuales.

Un ensayo que tiene este tipo de diseño, con antígenos diferentes de FliD, está disponible básicamente en Mikrogen GmbH, Neuried, Alemania, como "recomLine Helicobacter IgG" o "recomLine Helicobacter IgA" (Ref: [http://www.mikrogen.de/uploads/tx\\_oemikrogentables/dokumente/GARLHP001EN.pdf](http://www.mikrogen.de/uploads/tx_oemikrogentables/dokumente/GARLHP001EN.pdf)).

También se describe en este documento un método de detección de la infección por Helicobacter y más preferiblemente una infección por H. pylori en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto FliD, FliD se

detecta por medio de espectrometría de masas que es, por ejemplo, descrito en Lottspeich F. and Zorbass H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998.

5 En métodos donde FliD se detecta en una muestra del sujeto, el agente de interacción que forma junto con FliD el producto de interacción es preferiblemente uno seleccionado del grupo que comprende un anticuerpo, un aptámero y un spiegelmero. La generación de tal agente de interacción está dentro de las habilidades de una persona del arte.

10 La generación de un anticuerpo que se une y más específicamente se une a FliD, es conocida para el experto en el arte y, por ejemplo, se describe en Harlow, E., and Lane, D., "Antibodies: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, (1988). Preferiblemente, se pueden usar anticuerpos monoclonales que se pueden fabricar según el protocolo de Cesar and Milstein y otros desarrollos basados en los mismos. Los anticuerpos como se  
15 usan en este documento incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos completos, fragmentos de anticuerpos o derivados tales como fragmentos Fab, fragmentos Fc y anticuerpos monocatenarios, siempre que sean apropiados y capaces de unirse a FliD. Además de anticuerpos monoclonales también se pueden usar y/o generar anticuerpos policlonales. La generación de anticuerpos policlonales también es conocida para los expertos en el arte y, por ejemplo, se describe en Harlow, E., and Lane, D., "Antibodies: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

20 Los anticuerpos que se pueden usar pueden tener uno o varios marcadores o etiquetas. Tales marcadores o etiquetas pueden ser útiles para detectar el anticuerpo. Preferiblemente, los marcadores y etiquetas se seleccionan del grupo que comprende avidina, estreptavidina, biotina, oro, enzimas como HRP y fluoresceína y se usan, por ejemplo, en métodos de ELISA. Estos y otros marcadores, así como los métodos son, por ejemplo, descrito en Harlow, E., and Lane, D., "Antibodies: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

25 Los aptámeros son ácidos D-nucleicos que son ya sea monocatenarios o bicatenarios y que interactúan específicamente con una molécula diana tal como FliD. La fabricación o selección de aptámeros es, por ejemplo, descrito en la Patente Europea EP 0 533 838. Básicamente se realizan las siguientes etapas. Primero, una mezcla de ácidos nucleicos, esto es, potenciales aptámeros, se proporciona por lo que cada ácido nucleico por lo general comprende un segmento de varios, preferiblemente al menos ocho nucleótidos aleatorizados subsiguientes. Posteriormente, esta mezcla se pone en contacto con la molécula diana mediante la cual el (los) ácido (s) nucleico (s) se unen a la molécula diana, tal como se basa en una afinidad incrementada hacia la diana o con una fuerza mayor a la mezcla candidata. El (los) ácido (s) nucleico (s) de unión se separa (n) posteriormente del resto de la mezcla. Opcionalmente, el (los) ácido (s) nucleico (es) obtenido (s) de este modo se amplifican usando, por ejemplo, reacción en  
30 cadena de la polimerasa. Estas etapas se pueden repetir varias veces dando al final una mezcla que tiene una proporción incrementada de ácidos nucleicos que se une específicamente a la diana a partir del cual el ácido nucleico de unión final se selecciona entonces opcionalmente. Estos ácidos nucleicos que se unen específicamente se denominan aptámeros. Es obvio que, en cualquier etapa del método para la generación o identificación de los aptámeros, se pueden tomar muestras de la mezcla de ácidos nucleicos individuales para determinar la secuencia de las mismas usando técnicas estándar. Los aptámeros se pueden estabilizar tal como, por ejemplo, introduciendo grupos químicos definidos que son conocidos para los expertos en el arte de generación de aptámeros. Tal modificación puede residir, por ejemplo, en la introducción de un grupo amino en la posición 2' de la unidad estructural de azúcar de los nucleótidos.

35 La generación o fabricación de spiegelmeros que se unen y se unen más particularmente específicamente a FliD como molécula diana se basa en un principio similar. La fabricación de spiegelmeros se describe en la solicitud de patente internacional WO 98/08856. Los spiegelmeros son ácidos L-nucleicos, lo que significa que están compuestos de L-nucleótidos en lugar de D-nucleótidos como lo son los aptámeros. Los spiegelmeros se caracterizan por el hecho de que tienen una estabilidad muy alta en el sistema biológico y, comparables a los aptámeros, interactúan específicamente con la molécula diana contra la que están dirigidos. Con el fin de generar spiegelmeros, se crea una población heterogénea de ácidos D-nucleicos y esta población se pone en contacto con el antípoda óptico de la molécula diana, en el presente caso por ejemplo con el D-enantiómero del enantiómero L natural de FliD. Posteriormente, esos ácidos D-nucleicos se separan y no interactúan con la antípoda óptica de la molécula diana. Sin embargo, aquellos ácidos D-nucleicos que interactúan con el antípoda óptico de la molécula diana se separan, opcionalmente se determinan y/o se secuencian y posteriormente los ácidos L-nucleicos correspondientes se sintetizan basándose en la información de la  
40 secuencia de ácido nucleico obtenida de los ácidos D-nucleicos. Estos ácidos L-nucleicos que son idénticos en términos de secuencia con los ácidos D-nucleicos antes mencionados que interaccionan con el antípoda óptico de la molécula diana, interactuarán específicamente con la molécula diana natural en lugar de con el antípoda óptico de la misma. De forma similar al método para la generación de aptámeros, también es posible repetir varias etapas varias veces y de este modo enriquecer esos ácidos nucleicos que interactúan específicamente con la antípoda óptica de la molécula objetivo.

45 En el método de detección de la infección por Helicobacter y más preferiblemente una infección por H. pylori en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto un ácido nucleico que codifica FliD, el agente que interactúa se selecciona del grupo que comprende un cebador y una sonda. Dadas las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de FliD descritas en este documento, está dentro de las habilidades de una persona de la técnica diseñar y preparar dicho cebador y sonda (véase, por ejemplo, Lottspeich F. and Zorbass H (eds.), Bioanalytik, Spektrum  
50 60

Akademischer Verlag Heidelberg, 1998). Tal agente de interacción puede ser etiquetado. Los diversos marcadores y formas de marcar el agente de interacción son conocidas por una persona experta en el arte. En una realización, los marcadores son los mismos que los descritos anteriormente en relación con los anticuerpos.

5 El producto de interacción que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica FliD o un fragmento de la misma y un agente de interacción se puede detectar por medios conocidos para una persona experta en el arte y, por ejemplo, descrito en Lottspeich F. and Zorbas H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998.

10 En una realización del método de detección de la infección por Helicobacter y más preferiblemente una infección por H. pylori en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto un ácido nucleico que codifica FliD, el ácido nucleico que codifica FliD es detectado por medio de espectrometría de masas que es, por ejemplo, descrito en Lottspeich F. and Zorbas H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998.

15 En una realización del método de detección de la infección por Helicobacter y más preferiblemente una infección por H. pylori en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto un ácido nucleico que codifica FliD, el ácido nucleico que codifica FliD es detectado por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en sus diferentes formas que, por ejemplo, se describen en Lottspeich F. and Zorbas H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998. Alternativamente, el ácido nucleico que codifica FliD es detectado por un ensayo de hibridación como, por ejemplo, se describe en Lottspeich F. and Zorbas H (eds.), Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998.

20 En aquellos aspectos de la divulgación que están relacionados con biomarcador, se reconocerá que la respuesta inmune contra FliD como se define en este documento, FliD y un ácido nucleico que codifica FliD cada uno actúan como un biomarcador predictivo como la presencia de dicha respuesta inmune contra FliD como se define en este documento, FliD y/o ácido nucleico que codifica FliD se correlaciona con histología e inflamación en pacientes no tratados.

Se reconocerá por un experto en el arte que, dada la divulgación proporcionada en este documento, el diseño particular del kit de la invención está dentro de las habilidades comunes de una persona experta en el arte. En una realización, el kit es un kit listo para usar.

25 También se describe en este documento el uso de los agentes que interactúan como se describe en este documento para la detección de FliD como se describe en este documento.

Como se usa preferiblemente en este documento, una muestra es una muestra obtenida inmediatamente de uno o del sujeto, o una muestra que se ha procesado antes de usarse en conexión con la invención y en particular con el método de la invención.

30 En una realización de los diversos aspectos y realizaciones de la invención, el sujeto es un sujeto que se supone que padece o se sospecha que padece una infección por H. pylori.

En una realización, la infección por Helicobacter es infección con Helicobacter o una infección supuesta o sospechada con Helicobacter.

35 En una realización de cualquier aspecto de la presente invención donde un primer compuesto interactúa específicamente con o se une específicamente a un segundo compuesto, la interacción o unión entre dicho primer compuesto y dicho segundo compuesto se caracteriza por una  $K_D$  de  $1 \mu M$  o menos, más preferiblemente una  $K_D$  de  $0.25 \mu M$  o menos y más preferiblemente una  $K_D$  de  $0.1$  o menos.

40 Un experto en el arte entenderá que cuando se detecta FliD, FliD puede estar presente ya sea como una FliD de longitud completa o un fragmento de FliD o un fragmento de FliD de longitud completa. Como se usa preferiblemente en este documento, una FliD de longitud completa es una FliD producido por Helicobacter que es activo como factor de virulencia. En una realización, una FliD de longitud completa es preferiblemente una FliD como el producido por Helicobacter. Un fragmento de FliD de longitud completa es un fragmento cuya secuencia de aminoácidos es más corta que la secuencia de aminoácidos de FliD de longitud completa, por lo que el fragmento de FliD todavía está activo como factor de virulencia. Un fragmento de FliD es preferiblemente un fragmento de FliD, preferiblemente de FliD de longitud completa, por lo que el fragmento tiene una secuencia de aminoácidos que es lo suficientemente larga como para permitir que una persona experta en el arte identifique el fragmento como un fragmento de FliD y FliD de longitud completa en particular y para excluir que el fragmento sea un fragmento de una proteína o polipéptido diferente de FliD y FliD de longitud completa en particular. En una realización preferida, FliD de longitud completa comprende una secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.

45 Las mismas consideraciones y definiciones se aplican igualmente a un ácido nucleico que codifica FliD. De acuerdo con esto, un experto en el arte entenderá que cuando se detecta un ácido nucleico que codifica FliD, puede estar presente un ácido nucleico que codifica FliD ya sea como un ácido nucleico que codifica una FliD de longitud completa o un ácido nucleico que codifica el fragmento de FliD o un ácido nucleico que codifica el fragmento de FliD de longitud completa. Como se usa preferiblemente en este documento, una FliD de longitud completa es una FliD producido por



es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 27 y un segundo cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 22; un primer cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 27 y un segundo cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 24; un primer cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 27 y un segundo cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 26; o un primer cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 27 y un segundo cebador de los al menos dos cebadores es un cebador que comprende una secuencia de nucleótidos según la SEQ ID NO: 28.

Las diversas SEQ ID NO: a las que se hace referencia en este documento, el compuesto representado por dichas SEQ ID NO:, los organismos de los que se tomaron dichas secuencias y, en algunos casos, una indicación de la entrada correspondiente de la secuencia en los bancos de datos públicamente disponibles se resume en la siguiente tabla 1:

Tabla 1:

- 15 La SEQ ID NO:1 es la secuencia de aminoácidos de FliD expresada por *H. pylori* que corresponde a la entrada del GenBank ACI27464.1.
- La SEQ ID NO:2 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de FliD expresada por *H. pylori* que corresponde a la entrada del GenBank CP001173.1.
- 20 La SEQ ID NO:3 es la secuencia de aminoácidos de FliD expresada por *H. suis* que corresponde a la secuencia de referencia NCBI WP\_006563874.1.
- La SEQ ID NO:4 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de FliD expresada por *H. suis* que corresponde a la entrada del GenBank ADGY01000008.1.
- La SEQ ID NO:5 es la secuencia de aminoácidos de FliD expresada por *H. felis* que corresponde a la secuencia de referencia NCBI YP\_004073770.1.
- 25 La SEQ ID NO:6 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de FliD expresada por *H. felis* que corresponde a la entrada del GenBank FQ670179.2.
- La SEQ ID NO:7 es la secuencia de aminoácidos de CagA de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI YP\_002266135.1.
- 30 La SEQ ID NO:8 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de CagA de *H. pylori* G27 que corresponde a la entrada del GenBank JQ318032.1.
- La SEQ ID NO:9 es la secuencia de aminoácidos de VacA de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI YP\_002266461.1.
- La SEQ ID NO:10 es la secuencia de ácidos nucleicos (ADNc) de VacA de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NC\_011333.1.
- 35 La SEQ ID NO:11 es la secuencia de aminoácidos de GroEL de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI YP\_002265651.1.
- La SEQ ID NO:12 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de GroEL de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NC\_011333.1.
- 40 La SEQ ID NO:13 es la secuencia de aminoácidos de Hp0231 de *H. pylori* 26695 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NP\_207029.1.
- La SEQ ID NO:14 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de Hp0231 de *H. pylori* 26695 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NC\_000915.1.
- La SEQ ID NO:15 es la secuencia de aminoácidos de JHp0940 de *H. pylori* J99 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NP\_223657.1.
- 45 La SEQ ID NO:16 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de JHp0940 de *H. pylori* J99 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NC\_000921.1.

La SEQ ID NO:17 es la secuencia de aminoácidos de HtrA de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI YP\_002266040.1.

La SEQ ID NO:18 es la secuencia de nucleótidos (ADNc) de HtrA de *H. pylori* G27 que corresponde a la secuencia de referencia NCBI NC\_011333.1.

- 5 La SEQ ID NO: 19 es un cebador usado en la clonación del gen de FliD a partir de *H. pylori*.  
La SEQ ID NO: 20 es un cebador usado en la clonación del gen de FliD a partir de *H. pylori*.  
La SEQ ID NO: 21 es un cebador hacia adelante usado en PCR1 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 22 es un cebador reverso usado en PCR1 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 23 es un cebador hacia adelante usado en PCR2 del ejemplo 9.
- 10 La SEQ ID NO: 24 es un cebador reverso usado en PCR2 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 25 es un cebador hacia adelante usado en PCR3 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 26 es un cebador reverso usado en PCR3 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 27 es un cebador hacia adelante usado en PCR4 del ejemplo 9.  
La SEQ ID NO: 28 es un cebador reverso usado en PCR4 del ejemplo 9.
- 15 Se entenderá por un experto en el arte que en caso de que la secuencia de nucleótidos sea una secuencia de ADN y una secuencia de ADNc en particular, también se describe en este documento una secuencia de ARN que difiere de tal secuencia de ADN y secuencia de ADNc solo en la medida en que el resto de azúcar sea un ribonucleótido en lugar de un desoxirribonucleótido.
- 20 La presente invención se ilustra ahora adicionalmente mediante las siguientes figuras y ejemplos que no están destinados a limitar el alcance de la protección. A partir de dichas figuras y ejemplos, se pueden tomar otras características, realizaciones y ventajas, en las que  
La figura 1 muestra una realización de un ensayo lineal usado en el método de la invención para detectar anticuerpos anti-FliD en muestras de suero de 20 pacientes humanos diagnosticados histológicamente como positivos para *H. pylori*;  
La figura 2 muestra una realización de un ensayo de flujo lateral que se puede usar en el método de la presente invención para detectar anticuerpos anti-FliD en una muestra tal como una muestra de sangre completa de un sujeto humano, por lo que la figura 2A ilustra el diseño esquemático del ensayo, y la figura 2B representa un resultado del ensayo;
- 25 La figura 3 es un diagrama que indica la prevalencia de una respuesta anti-FliD en muestras del hombre como una función de años después de la erradicación de *H. pylori*;
- 30 La figura 4 muestra curvas ROC para FliD en comparación con dos antígenos bien conocidos;  
La figura 5 muestra el resultado de un análisis de transferencia de Western que detecta FliD a diversas concentraciones usando suero anti-FliD de ratón, pero no Tig o gGT;
- La figura 6 muestra una serie de transferencias de Southern usando la reacción en cadena de la polimerasa 1 (PCR1), reacción en cadena de la polimerasa 2 (PCR2), reacción en cadena de la polimerasa 3 (PCR3) o reacción en cadena de la polimerasa 4 (PCR4) para la detección del ADN genómico presente en muestras representativas de pacientes que han sido diagnosticados como positivos para *H. pylori*;
- 35 La figura 7 muestra el resultado de un análisis de transferencia de Western representativo realizado usando lisados de proteína completa del *H. pylori* cultivado; y
- 40 La figura 8 muestra el resultado de dos análisis de transferencia de Western para determinar si FliD se expresó por los microorganismos indicados debajo de cada una de las transferencias de Western.

Ejemplo 1: clonación del gen FliD de *H. pylori*

Todas las manipulaciones de ADN se realizaron en condiciones estándar como se describe por Sambrook et al. (Sambrook, et al., 1989). En resumen, el gen FliD se amplificó por PCR usando ADN genómico de la cepa J99 de *H.*



*pylori* como plantilla. Los siguientes oligonucleótidos se usaron como cebadores: 5'- CAT ATG GCA ATA GGT TCA TTA A-3' (SEQ ID NO: 19) y 5'- CTC GAG ATT CTT TTT AGC CGC TGC-3' (SEQ ID NO: 20). Usando este enfoque, se introdujo un sitio NdeI en el extremo 5' de los cebadores directos y un sitio XhoI en el extremo 5' de los cebadores inversos. Después de la amplificación por PCR, el producto (2058 pb) se ligó en el vector de clonación pTZ57R/T (InsTAclone™ PCR Cloning Kit, MBI Fermentas, Lithuania). Posteriormente, el inserto se confirmó mediante PCR y secuenciación, y se clonó en un vector de expresión de PET-28a (+) (Qiagen, EE. UU.) usando enzimas de restricción NdeI y XhoI.

#### Ejemplo 2: expresión, purificación y reconocimiento de FliD recombinante

Las células competentes de *E. coli* BL21 (Qiagen, EE.UU.) se transformaron con pET-28a(+)-fliD y se inocularon en caldo LB con antibiótico (kanamicina, 50 µg/ml). La expresión se indujo mediante la adición de 1 mmol/l de isopropil β-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) a una densidad óptica (OD600) de 0.6. Después de 4 horas, las células se recogieron y el análisis de proteínas del lisado completo se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE). Las proteínas etiquetadas con histidina soluble se purificaron usando cromatografía de afinidad (HisTrap crudo, GE Healthcare). Como segunda etapa de pulido y para intercambio de solución reguladora, se realizó una cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 75, GE Healthcare). Las fracciones relevantes se recogieron y se concentraron con un dispositivo de filtro centrífugo (Millipore) con un corte de 10 kDa y se almacenaron a -80 °C. La proteína recombinante purificada se evaluó mediante transferencia de Western usando un anticuerpo anti-His Tag-HRP y también un anticuerpo anti-H *pylori*-HRP de ratón. (Pierce, Rockford, EE. UU.) y detectado por el sistema ECL (GE Healthcare, Uppsala, Suecia).

La amplificación del gen FliD del ADN de la cepa J99 de *H. pylori* reveló un único producto de PCR de 2.05 kb (datos no mostrados) que se confirmó mediante secuenciación y se ligó en el vector de expresión pET-28a(+). Después de la transformación en la cepa de expresión de *E. coli* BL21 DE3 y la inducción con IPTG, se pudo observar una única banda clara en la transferencia de Western usando un antisuero anti-H *pylori* policlonal comercial. La proteína se purificó como se describe en materiales y métodos hasta > 90% de pureza (datos no mostrados) y se confirmó de nuevo mediante transferencia Western (datos no mostrados).

#### Ejemplo 3: Producción y purificación de anticuerpo específico para rFliD

Se inmunizó un conejo blanco de Nueva Zelanda maduro con proteína purificada según el protocolo de Hay et al. con ligeras modificaciones (Hay, et al., 2002). En resumen, la inmunización se llevó a cabo por inyección i.m. de 250 µg de proteína recombinante purificada (0.5 ml) con el mismo volumen (0.5 ml) de adyuvante completo de Freund. Para las inmunizaciones de recuerdo, el conejo se reforzó con 125 µg de proteína purificada preparada en el mismo volumen (0.5 ml) de adyuvante incompleto de Freund 4, 6, 8 y 10 semanas después. Como control negativo, se tomó una muestra de suero antes de la inmunización. Finalmente, dos semanas después de la última inmunización, se recogió sangre y se separó el suero. El anticuerpo IgG policlonal se purificó por cromatografía de afinidad con sefaroza-4B usando columnas conjugadas con rFliD preparadas según el protocolo del fabricante (Pharmacia, 1988). La expresión de FliD de *H. pylori* (J99) se detectó mediante transferencia de Western usando sobrenadante ultrasónico a la concentración de proteína de 50 µg /ml. El anticuerpo IgG policlonal de conejo producido contra la proteína rFliD se usó como el primer anticuerpo (dilución 1: 5000), anticuerpo ovino marcado con HRP contra IgG de conejo (Avicenna Research Institute, Teherán, Irán) como el segundo anticuerpo (dilución 1: 3000) y el sistema ECL se usó para la detección (Chen, et al., 2001).

Además, para probar la antigenicidad de la FliD recombinante y para compararla con la proteína nativa, se produjo antisuero policlonal de conejo. Los títulos de anticuerpos ya se determinaron después de la tercera inmunización y alcanzaron niveles elevados después del cuarto refuerzo, lo que confirma la buena inmunogenicidad de FliD. El antisuero de conejo fue capaz de reconocer la rFliD y la FliD purificadas en el lisado de *H. pylori* (datos no mostrados).

#### Ejemplo 4: Desarrollo de un ELISA

Se recubrieron placas de ELISA con 100 µl de proteína rFliD a una concentración de 1 µg/ml en PBS y se incubaron durante la noche a 4 °C. Los pozos revestidos se bloquearon con solución salina regulada con fosfato (PBS) que contenía albúmina de suero bovino al 2.5% (BSA, Sigma) durante dos horas a 37 °C. Todas las muestras serológicas positivas y negativas a *H. pylori* usadas en este estudio se cribaron de anticuerpos contra FliD usando una dilución óptima del suero de los pacientes (dilución 1:100) como el primer anticuerpo, IgG antihumana conjugada con HRP (Promega, Mannheim, Alemania) (dilución 1:100) como el anticuerpo secundario y TMB (3,3', 5,5'-tetra metil bencidina) como sustrato. Además, los pozos se dejaron sin revestir como control para cada suero. El resultado de ELISA para la muestra de suero de un paciente se consideró positivo si su valor OD450 era superior a la media más 3 SD de muestras de suero negativas (Chen, et al., 2001).

#### Ejemplo 5: Desarrollo de un ensayo lineal FliD

Se preparó un inmunoensayo lineal basado en proteínas recombinantes de *H. pylori* inmovilizadas en nitrocelulosa. A diferencia de ELISA, el principio de la prueba permite la identificación de anticuerpos específicos contra diversos antígenos de *H. pylori* mediante la aplicación por separado de diferentes antígenos individuales.

5 rFliD se inmovilizó en tiras de membrana de nitrocelulosa junto con otros antígenos de *H. pylori* recombinantes altamente purificados (CagA, VacA, GroEL, UreA (ureasa A), HcpC (proteína C rica en cisteína) (Mittel et al., 2003) y gGT (gamma glutamil transferasa). Las condiciones de línea apropiadas para rFliD se determinaron empíricamente con una selección de muestras de suero estándar de una población de estudio descrita previamente que comprende 20 muestras definidas *H. pylori* histológicamente positivas y 20 muestras definidas como negativas histológicamente para *H. pylori*. La concentración de antígeno óptima y la elección ideal de aditivos como detergente, ditiotreitól y NaCl se ajustaron para cada antígeno mediante ciclos repetidos de revestimiento y cribado. Las condiciones con la mejor presentación de epítomos de antígeno y unión óptima a la membrana, observables por una apariencia de banda perfecta y la mejor discriminación de muestras negativas y positivas, se seleccionaron para las especificaciones ideales del producto de los primeros lotes. Se añadieron bandas de control en el extremo superior de la tira que comprende anticuerpos de IgG/IgM/IgA anti-humano de conejo como controles de incubación e IgG humana, anticuerpos IgM o IgA como control conjugado, así como un control de corte que permite la evaluación de la reactividad de las bandas de antígenos individuales.

Después del escaneo y el análisis densitométrico de las intensidades de la banda, el control se usó como referencia interna para calcular las relaciones para cada banda. Por lo general, las bandas de control de corte se califican entre 20 y 30, mientras que las bandas positivas fuertes pueden obtener hasta 600 puntos. Cada banda que califica por encima del control individual de cada banda se considera positiva (proporción > 1).

El ensayo lineal respectivo se representa en la figura 1

Ejemplo 6: Prototipo de un ensayo de flujo lateral para el diagnóstico de *H. pylori*

Usando los materiales definidos anteriormente, se desarrolló un ensayo de flujo lateral basado en los principios descritos en este documento relacionados con el diseño de un ensayo de flujo lateral.

25 El prototipo de tal ensayo de flujo lateral se representa en la figura 2, por lo que la figura 2A ilustra el diseño esquemático del ensayo, y la figura 2B representa el resultado de un análisis de una muestra obtenida de un ser humano usando el ensayo., en el que se detectaron los anticuerpos anti-FliD.

30 Como se puede deducir de la figura 2A, el ensayo utilizó nanopartículas de oro recubiertas con anti-hlgG. rFliD, así como también CagA recombinante estaban presentes como antígenos. hlgG también se inmovilizó sirviendo como control. La estructura porosa estaba formada por nitrocelulosa. La banda de control indicó que el sistema funciona correctamente. La banda FliD indicó que el paciente tenía una infección activa o recientemente tratada. La banda CagA, en caso de infección activa (+ banda FliD), indica que esta infección debe ser tratada.

Ejemplo 7: análisis de muestras a partir de un hombre

35 Un total de seiscientos dieciocho (618) pacientes humanos (308 hombres, 310 mujeres) se inscribieron en el estudio. Después de recibir una explicación del propósito del estudio, se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente y se tomó una muestra de sangre en el momento de la endoscopia, antes de iniciar cualquier terapia. Los sueros se separaron y almacenaron a -20 °C. El diagnóstico de infección se basó en la histopatología como patrón de oro. Los pacientes se consideraron positivos a *H. pylori* cuando los resultados de la histopatología fueron positivos. Todos los pacientes se cribaron mediante el ensayo lineal de FliD, y se analizó un subconjunto de 246 sueros mediante FliD ELISA como se describió anteriormente y mediante ensayo lineal como se describió anteriormente.

La tabla 2 muestra los resultados de usar dicho FliD ELISA. Más específicamente, la tabla 2 muestra la respuesta serológica FliD en ELISA que compara pacientes humanos positivos y negativos a *H. pylori*.

		Histología		Total
		Negativo	Positivo	
ELISA	Negativo	73	8	81
	Positivo	3	162	165
Total		76	170	246

La tabla 3 muestra los resultados de usar dicho ensayo lineal para un subgrupo del grupo de pacientes. Más específicamente, la tabla 3 muestra la respuesta serológica FliD en el ensayo lineal que compara pacientes positivos y negativos a H. pylori.

		Histología		Total
		Negativo	Positivo	
Ensayo de línea	Negativo	76	14	90
	Positivo	0	156	156
Total		76	170	246

5 Usando la FliD ELISA, entre 170 muestras positivas informadas, se detectaron 165 muestras positivas, mientras que entre 76 muestras informadas se reconfirmaron negativas 73 como negativas mediante ELISA (Tabla 2). En conjunto, la aplicación de FliD en el diagnóstico de infección por H. pylori basado en ELISA tiene una especificidad del 96% y una sensibilidad del 97%. Curiosamente, los cinco casos que fueron negativos para ELISA también tuvieron puntuaciones bajas, pero apenas positivas en la línea de transferencia que se encontraban justo por encima del punto de corte (proporciones que van desde 1.2 a 2.2). Uno de estos también se consideró H. pylori negativo por transferencia de línea, mientras que los otros cuatro fueron positivos de transferencia de línea, reaccionando con varios otros antígenos (datos no mostrados). Es importante tener en cuenta que solo una muestra fue negativa en ambas pruebas.

15 El grupo completo de 618 pacientes humanos (parte del cual se había cribado mediante ELISA) se analizó usando el ensayo lineal en cuanto a la respuesta de anticuerpos contra FliD. una alta sensibilidad del 97.4%, con 310 de 318 pacientes evaluados como positivos en histopatología por ensayo lineal, mientras que el ensayo lineal alcanza una especificidad del 99% (Tabla 2). Los resultados de los pacientes en los que se obtuvieron resultados discrepantes, fueron cuidadosamente examinados. 8 sueros fueron negativos para FliD en el ensayo lineal, pero mostraron reactividad con otros antígenos, lo que indica que, en este documento, de hecho, FliD no se reconoció como antígeno. Dentro de estas 8 muestras, una no tenía reactividad contra la banda FliD en absoluto. Siete tenían una reactividad débil que estaba apenas por debajo del punto de corte (proporciones entre 0.6 y 0.95), y cuatro de ellos tenían reactividades débiles contra todos los otros antígenos reconocidos en general (no se muestra). Las tres muestras en las que FliD dio un resultado "falso positivo" también mostraron reactividades con otras bandas. Todas estas bandas, incluida FliD, eran relativamente débiles, pero estaban claramente por encima del límite.

25 A partir de dichas muestras, se determinó la prevalencia de una respuesta de anticuerpos anti-FliD en función de años después de la erradicación. El resultado se muestra en la figura 3. Como se puede deducir de la figura 3, todavía hay una prevalencia de una respuesta de anticuerpos anti-FliD de aproximadamente el 25% después de 16 a 20 años después de la erradicación de H. pylori.

30 A partir de dichas muestras, las curvas de características de funcionamiento del receptor (ROC) se prepararon para FliD, CagA y UreA. El resultado se muestra en la figura 4. A partir de dicha figura 4, es evidente que FliD es ventajoso con respecto a los dos antígenos de la técnica anterior usados en la detección de la infección por H. pylori.

Ejemplo 8: análisis bioinformático de secuencias FliD

Usando herramientas bioinformáticas, la proteína FliD de la cepa H. pylori G27 se comparó ampliamente con otros organismos, principalmente procariontas. Este análisis muestra más del 97% de homología entre más de 200 cepas de H. pylori.

35 Los resultados se muestran en la tabla 4.

Entrada	Nombre de la entrada	Nombres de las proteínas	Organismo	Longitud	Identidad	Puntuación
B5Z7B5	B5Z7B5_HELPG	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa G27)	685	100.0%	3412
J0KLR1	J0KLR1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-27	685	99.0%	3383

ES 2 683 628 T3

I9RP80	I9RP80_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp A-20	685	99.0%	3381
J0MV71	J0MV71_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-27	685	99.0%	3379
J0DL62	J0DL62_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp H-11	685	99.0%	3375
J0A5P7	J0A5P7_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp A-9	685	98.0%	3372
J0IU02	J0IU02_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NQ4228	685	99.0%	3371
K2L7H4	K2L7H4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R036d	685	98.0%	3370
J0TQK4	J0TQK4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-30	685	99.0%	3369
M7RTJ4	M7RTJ4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori UMB_G1	685	98.0%	3367
K2L537	K2L537_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R055a	685	99.0%	3367
J0SAM4	J0SAM4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-15b	685	99.0%	3367
J0M138	J0M138_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-45	685	99.0%	3367
I9WVW7	I9WVW7_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp P-15	685	99.0%	3367
K2KUE2	K2KUE2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R030b	685	99.0%	3365
I0EHS2	I0EHS2_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori PeCan18	685	98.0%	3365
H8H4E1	H8H4E1_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori ELS37	685	98.0%	3362
K2LNG6	K2LNG6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R038b	685	98.0%	3361
D0IS88	D0IS88_HELP1	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa 51)	685	98.0%	3360
N4T9B5	N4T9B5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori Hp	685	98.0%	3359

ES 2 683 628 T3

		2	A-11			
E1PZL2	E1PZL2_HELPM	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa SJM180)	685	98.0%	3358
J0IVU8	J0IVU8_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NQ4099	685	98.0%	3358
J0FGE4	J0FGE4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-16	685	98.0%	3358
Q1CTB8	Q1CTB8_HELPH	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa HPAG1)	685	98.0%	3357
E8QPN8	E8QPN8_HELPR	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa Lithuania75)	685	98.0%	3355
K2KUX6	K2KUX6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R32b	685	98.0%	3355
K2KMU9	K2KMU9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R037c	685	98.0%	3355
J0HQJ3	J0HQJ3_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY1124	685	98.0%	3355
I9XF52	I9XF52_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-74	685	98.0%	3355
I9U4H5	I9U4H5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-26	685	98.0%	3355
D7FEA9	D7FEA9_HELP3	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa B8)	685	98.0%	3354
I9US75	I9US75_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-9	685	98.0%	3354
B9XZK1	B9XZK1_HELPX	Proteína no caracterizada putativa	Helicobacter pylori B128	685	98.0%	3354
J0J9Q0	J0J9Q0_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NQ4076	685	98.0%	3353
I9QZB4	I9QZB4_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NQ4110	685	98.0%	3353
G2M3P3	G2M3P3_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Puno120	685	98.0%	3352
E1QBB7	E1QBB7_HELP3	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa Cuz20)	685	98.0%	3351
J0LRM5	J0LRM5_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp H-43	685	98.0%	3351

ES 2 683 628 T3

E6NRT1	E6NRT1_HELPQ	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa F57)	685	98.0%	3350
M3MVK5	M3MVK5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM114Ai	685	98.0%	3350
K2KRX5	K2KRX5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R018c	685	98.0%	3350
K2KFQ1	K2KFQ1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R056a	685	98.0%	3350
J0IGN4	J0IGN4_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NQ4216	685	98.0%	3349
E6S1Q8	E6S1Q8_HELPF	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa 35A)	685	98.0%	3348
I9YJR2	I9YJR2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-13b	685	98.0%	3348
I9WT57	I9WT57_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-13	685	98.0%	3348
I9U161	I9U161_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp A-14	685	98.0%	3348
B6JLY6	B6JLY6_HELP2	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa P12)	685	98.0%	3347
K2K5F9	K2K5F9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori R046Wa	685	98.0%	3347
I9XUJ1	I9XUJ1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori CPY1313	685	98.0%	3347
I9PV13	I9PV13_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori CPY6311	685	98.0%	3347
I9PLR1	I9PLR1_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY6261	685	98.0%	3347
L8VWS3	L8VWS3_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori A45	685	98.0%	3346
K7Y5K8	K7Y5K8_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Aklavik117	685	98.0%	3346
J0T145	J0T145_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M2	685	98.0%	3346
I9T4Z9	I9T4Z9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori Hp H-44	685	98.0%	3346

ES 2 683 628 T3

2						
E8QFQ7	E8QFQ7_HELP7	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa India7)	685	98.0%	3345
C7BX84	C7BX84_HELPB	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2 FLiD	Helicobacter pylori (cepa B38)	685	98.0%	3345
I9W7Z2	I9W7Z2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-2	685	98.0%	3345
I0ZBA9	I0ZBA9_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori P79	685	98.0%	3345
F4D5I7	F4D5I7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori 83	685	98.0%	3345
B9XUM1	B9XUM1_HELPX	Proteína no caracterizada putativa	Helicobacter pylori 98-10	685	98.0%	3345
P96786	FLID_HELPY	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2 (HAP2) (Proteína cap filamento)(Proteína cap flagelar)	Helicobacter pylori (cepa ATCC 700392 /26695) (Campylobacter pylori)	685	98.0%	3345
M3SDI9	M3SDI9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAMchJs106B	685	98.0%	3344
I9XAU3	I9XAU3_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp P-23	685	98.0%	3344
I9PTN1	I9PTN1_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY6271	685	98.0%	3344
G2M8C7	G2M8C7_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Punol35	685	98.0%	3344
E1Q6P5	E1Q6P5_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa PeCan4)	685	98.0%	3343
M3KWT6	M3KWT6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM119Bi	685	98.0%	3343
I0ZGY9	I0ZGY9_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori NCTC 11637 = CCUG 17874	685	98.0%	3343
I2DFT2	I2DFT2_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori XZ274	685	98.0%	3342
E6NKD5	E6NKD5_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa F32)	685	98.0%	3341
E6NIS5	E6NIS5_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa F30)	685	98.0%	3341
I9ZP80	I9ZP80_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori NQ4161	685	98.0%	3341

ES 2 683 628 T3

2						
I9RRM1	I9RRM1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-17	685	98.0%	3341
J0A0N9	J0A0N9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp P-26	685	97.0%	3340
I9QGH5	I9QGH5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori NQ4053	685	98.0%	3340
D6XPZ1	D6XPZ1_HELPV	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori (cepa v225d)	685	98.0%	3339
M5YZL4	M5YZL4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAMchJs124i	685	97.0%	3339
M5YMA1	M5YMA1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAMchJs114i	685	97.0%	3339
M4ZNA5	M4ZNA5_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori OK310	685	97.0%	3339
M3NNS0	M3NNS0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM246Ai	685	97.0%	3339
M3MBN7	M3MBN7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM105Ai	685	97.0%	3339
I9S784	I9S784_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp H-28	685	98.0%	3339
I0E4K1	I0E4K1_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Shi417	685	98.0%	3339
J0P747	J0P747_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-23	685	97.0%	3338
J0N2H0	J0N2H0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-4	685	97.0%	3338
I0ED42	I0ED42_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Shi112	685	98.0%	3338
M7SSG1	M7SSG1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori CPY1662	685	97.0%	3337
M5Y955	M5Y955_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAMchJs117Ai	685	97.0%	3337
M4ZKA3	M4ZKA3_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori OK113	685	98.0%	3337
M3LA33	M3LA33_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori GAM231Ai	685	97.0%	3337



ES 2 683 628 T3

2						
I9Z0G2	I9Z0G2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-28b	685	97.0%	3337
I9S3M7	I9S3M7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-24	685	98.0%	3337
I0EWG9	I0EWG9_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori HUP-B 14	685	97.0%	3337
M3PSG4	M3PSG4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM96Ai	685	97.0%	3336
J0U8I3	J0U8I3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-3b	685	97.0%	3336
J0RUS2	J0RUS2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-5b	685	97.0%	3336
J0Q0D5	J0Q0D5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-4	685	97.0%	3336
J0PSB5	J0PSB5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-3	685	97.0%	3336
I9Y932	I9Y932_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-4c	685	97.0%	3336
I9XWQ4	I9XWQ4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-4d	685	97.0%	3336
E6NDJ6	E6NDJ6_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa F16)	685	97.0%	3334
M3QDF1	M3QDF1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM80Ai	685	97.0%	3334
M3Q5B9	M3Q5B9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM42Ai	685	97.0%	3334
M3P646	M3P646_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM245Ai	685	97.0%	3334
M3LV71	M3LV71_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM112Ai	685	97.0%	3334
M3L655	M3L655_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM101Biv	685	97.0%	3334

ES 2 683 628 T3

E1S8R1	E1S8R1_HELP9	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori (cepa 908)	685	97.0%	3333
E1PVI4	E1PVI4_HELP1	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa Sat464)	685	98.0%	3333
D0JZC3	D0JZC3_HELP5	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa 52)	685	97.0%	3333
M3RS44	M3RS44_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP116Bi	685	97.0%	3333
M3R005	M3R005_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM264Ai	685	97.0%	3333
M3MJ19	M3MJ19_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM103Bi	685	97.0%	3333
J0I156	J0I156_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY3281	685	98.0%	3333
J0AJS5	J0AJS5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-16	685	97.0%	3333
I0E947	I0E947_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Shi169	685	98.0%	3333
F2JET0	F2JET0_HELP9	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori 2018	685	97.0%	3333
F2JAT7	F2JAT7_HELP9	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori 2017	685	97.0%	3333
Q9ZL91	FLID_HELPJ	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2 (HAP2) (Proteína cap filamento)(Proteína cap flagelar)	Helicobacter pylori (cepa J99) (Campylobacter pylori J99)	685	97.0%	3333
M3NID0	M3NID0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM270ASi	685	97.0%	3332
J0DCU5	J0DCU5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-6	685	97.0%	3332
I9V408	I9V408_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Hp H-10	685	97.0%	3332
J0U3G8	J0U3G8_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-62	685	97.0%	3331
I9SL37	I9SL37_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-29	685	97.0%	3331
E8QM56	E8QM56_HELP4	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa Gambia94/24)	685	97.0%	3330
M5YNV6	M5YNV6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori	685	97.0%	3330

ES 2 683 628 T3

		2	GAMchJsl36i			
M3TQ89	M3TQ89_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP260Bi	685	97.0%	3330
M3QIV4	M3QIV4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM260Bi	685	97.0%	3330
M3Q2L5	M3Q2L5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM263BFi	685	97.0%	3330
M3M583	M3M583_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM115Ai	685	97.0%	3330
JOSFX5	JOSFX5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-25c	685	97.0%	3330
J0HGQ0	J0HGQ0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-25d	685	97.0%	3330
I9X9I1	I9X9I1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-25	685	97.0%	3330
I9VCT9	I9VCT9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-19	685	97.0%	3330
M3S7G6	M3S7G6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM83T	685	97.0%	3329
M3PEV1	M3PEV1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM244Ai	685	97.0%	3329
M3P9F3	M3P9F3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM83Bi	685	97.0%	3329
M3NFC4	M3NFC4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM118Bi	685	97.0%	3329
K8GY42	K8GY42_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM100Ai	685	97.0%	3329
J0UFU9	J0UFU9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M9	685	97.0%	3329
J0T5P3	J0T5P3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M4	685	97.0%	3329
J0REL3	J0REL3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-24c	685	97.0%	3329

ES 2 683 628 T3

J0I743	J0I743_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M5	685	97.0%	3329
J0I1J2	J0I1J2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M3	685	97.0%	3329
J0HJK5	J0HJK5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M1	685	97.0%	3329
I9ZYP3	I9ZYP3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp M6	685	97.0%	3329
I9XJ16	I9XJ16_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-24b	685	97.0%	3329
M3UI84	M3UI84_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP260BFii	685	97.0%	3328
M3U8F0	M3U8F0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250BSi	685	97.0%	3328
M3T9M6	M3T9M6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250ASi	685	97.0%	3328
M3T443	M3T443_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250ASii	685	97.0%	3328
M3T0U7	M3T0U7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250AFiV	685	97.0%	3328
M3SWF6	M3SWF6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250BFiV	685	97.0%	3328
M3SP57	M3SP57_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250AFiii	685	97.0%	3328
M3S6F4	M3S6F4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250BFiii	685	97.0%	3328
M3R7T2	M3R7T2_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250AFii	685	97.0%	3328
M3QV83	M3QV83_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM260BSi	685	97.0%	3328
M3QS41	M3QS41_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250BFii	685	97.0%	3328

ES 2 683 628 T3

M3QQ64	M3QQ64_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP250BFi	685	97.0%	3328
M3Q6I7	M3Q6I7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM250T	685	97.0%	3328
M3NV58	M3NV58_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM252Bi	685	97.0%	3328
M3NKC5	M3NKC5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM252T	685	97.0%	3328
M3LZX8	M3LZX8_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM250AFi	685	97.0%	3328
J0CLQ3	J0CLQ3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-16	685	97.0%	3328
I9XTZ6	I9XTZ6_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY1962	685	98.0%	3328
B2UT80	B2UT80_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa Shi470)	685	97.0%	3327
M7SW73	M7SW73_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-1	685	97.0%	3327
M3P129	M3P129_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM254Ai	685	97.0%	3327
I9P985	I9P985_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori CPY6081	685	97.0%	3326
K7YA88	K7YA88_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori Aklavik86	685	97.0%	3325
M3RIK8	M3RIK8_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM93Bi	685	97.0%	3324
J0M8U8	J0M8U8_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-6	685	97.0%	3324
M3NGP1	M3NGP1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM265BSii	685	97.0%	3323
M3KZM7	M3KZM7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM120Ai	685	97.0%	3323
M3PUQ6	M3PUQ6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM249T	685	97.0%	3322

ES 2 683 628 T3

M3PCL7	M3PCL7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM239Bi	685	97.0%	3322
M3NM23	M3NM23_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM121Aii	685	97.0%	3322
J0IWR3	J0IWR3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori NQ4200	685	97.0%	3322
J0PFP0	J0PFP0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-1	685	97.0%	3321
I9XPS7	I9XPS7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-1b	685	97.0%	3321
J0N254	J0N254_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-3	685	97.0%	3320
M3U8B7	M3U8B7_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP260AFii	685	97.0%	3319
M3U287	M3U287_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP260AFi	685	97.0%	3319
M3RLI9	M3RLI9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori HP260ASii	685	97.0%	3319
M3Q751	M3Q751_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM268Bii	685	97.0%	3319
M3P4U3	M3P4U3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM260ASi	685	97.0%	3319
M3LLE6	M3LLE6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM201Ai	685	97.0%	3318
J0JT98	J0JT98_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-5	680	98.0%	3318
I9SDQ6	I9SDQ6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-30	677	97.0%	3314
J0BNB3	J0BNB3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-42	680	97.0%	3311
G2MEG6	G2MEG6_HELPX	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori SNT49	685	97.0%	3311
J0UBP3	J0UBP3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	Helicobacter pylori Hp P-2b	677	97.0%	3308

ES 2 683 628 T3

2						
I9QNB9	I9QNB9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori NQ4044	685	96.0%	3302
I9ZZM5	I9ZZM5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-4	677	97.0%	3300
M7SHH3	M7SHH3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori CCHI 33	677	97.0%	3297
I9TJA1	I9TJA1_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp A-8	677	97.0%	3297
M3NMW 6	M3NMW6_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori GAM210Bi	685	96.0%	3296
I9YL06	I9YL06_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-11b	677	97.0%	3293
I9WS67	I9WS67_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-11	677	97.0%	3293
J0PC82	J0PC82_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-34	677	97.0%	3292
I9VJH4	I9VJH4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-21	677	97.0%	3292
J0PV65	J0PV65_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-8	677	97.0%	3291
I9YHM9	I9YHM9_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-8b	677	97.0%	3291
J0TUW0	J0TUW0_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp P-41	677	97.0%	3289
J0NSR5	J0NSR5_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-18	677	97.0%	3289
J0BAE3	J0BAE3_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar	Helicobacter pylori Hp H-36	677	97.0%	3289
J0LI78	J0LI78_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Helicobacter pylori Hp H-41	677	96.0%	3278
E8QRV3	E8QRV3_HELPW	Proteína capsular flagelar	Helicobacter pylori (cepa SouthAfrica7)	685	95.0%	3264
Q17Y06	Q17Y06_HELAAH	Proteína asociada al gancho flagelar	<i>Helicobacter acinonychis</i> (cepa	685	94.0%	3249

ES 2 683 628 T3

Sheeba)						
K4NRS2	K4NRS2_HELPY	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter pylori</i> (cepa ATCC 700392 /26695) ( <i>Campylobacter pylori</i> )	674	97.0%	3190
K4NL36	K4NL36_HELPX	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter pylori</i> Rif2	674	97.0%	3190
K4NJJ9	K4NJJ9_HELPX	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter pylori</i> Rif1	674	97.0%	3190
M3QVV4	M3QVV4_HELPX	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2 (Fragmento)	<i>Helicobacter pylori</i> GAM71Ai	647	97.0%	3146
I0ETW0	I0ETW0_HELCEM	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter ceterum</i> (cepa ATCC BAA-540 / MIT 99-5656)	685	88.0%	3065
I0EMR1	I0EMR1_HELCO	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter ceterum</i> (cepa ATCC BAA-429 / MIT 00-7128)	685	81.0%	2861
E7ADC3	E7ADC3_HELFC	Proteína asociada al gancho flagelar	<i>Helicobacter felis</i> (cepa ATCC 49179 / NCTC 12436/CS1)	684	63.0%	2190
E7FYJ6	E7FYJ6_9HELI	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter suis</i> HS1	689	61.0%	2158
F8KTH3	F8KTH3_HELBC	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	<i>Helicobacter bizzozeronii</i> (cepa CIII-1)	694	59.0%	2091
K4RHP3	K4RHP3_HELHE	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	<i>Helicobacter heilmannii</i> ASB1.4	691	58.0%	2073
D3UGM5	D3UGM5_HELMI	Proteína asociada al gancho flagelar putativa	<i>Helicobacter mustelae</i> (cepa ATCC 43772 / LMG 18044/NCTC 12198/12198) ( <i>Campylobacter mustelae</i> )	674	52.0%	1778
Q7VI19	Q7VI19_HELHP	Proteína capsular del filamento flagelar FliD	<i>Helicobacter hepaticus</i> (cepa ATCC 51449 / 3B1)	682	51.0%	1698
I2FDC5	I2FDC5_HELCP	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter cinaedi</i> (cepa PAGU611)	682	51.0%	1690
17GZJ0	17GZJ0_9HELI	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter cinaedi</i> ATCC BAA-847	682	51.0%	1689
E4VHL6	E4VHL6_9HELI	Proteína gancho flagelar 2	<i>Helicobacter cinaedi</i> CCUG 18818	682	51.0%	1689
N2BQN7	N2BQN7_9HELI	Proteína no caracterizada	<i>Helicobacter bilis</i> WiWa	679	45.0%	1589
C3XDT1	C3XDT1_9HELI	Proteína capsular flagelar	<i>Helicobacter bilis</i> ATCC 43879	679	45.0%	1583



ES 2 683 628 T3

Q7MAM3	Q7MAM3 WOLS U	Proteína asociada al gancho flagelar 2	Wolinella succinogenes (cepa ATCC 29543/DSM 1740/LMG 7466 / NCTC 11488/FDC 602W) (Vibrio succinogenes)	682	45.0%	1479
C5EXF0	C5EXF0_9HELI	Proteína gancho flagelar 2	<i>Helicobacter pullorum</i> MIT 98-5489	685	39.0%	1272
C5ZWT4	C5ZWT4_9HELI	Proteína asociada al gancho flagelar (Proteína gancho flagelar 2)	<i>Helicobacter</i> canadensis MIT 98- 5491	689	39.0%	1262
H5VEC0	H5VEC0_HELBI	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	<i>Helicobacter</i> bizzozeronii CCUG 35545	458	53.0%	1185
C3XLS4	C3XLS4_9HELI	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	<i>Helicobacter</i> winghamensis ATCC BAA-430	689	37.0%	1175
H5VEC1	H5VEC1_HELBI	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	<i>Helicobacter</i> bizzozeronii CCUG 35545	231	66.0%	807
H8CS11	H8CS11_CAMJU	Proteína capsular flagelar	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. jejuni LMG 9872	645	27.0%	474
B9KGA6	B9KGA6_CAMLR	Proteína cap del filamento flagelar FliD	<i>Campylobacter lari</i> (cepa RM2100 / D67/ATCC BAA-1060)	766	26.0%	471
C6RGG2	C6RGG2_9PROT	Transportador de eflujo multifármaco tipo SMR	<i>Campylobacter</i> showae RM3277	577	29.0%	465
D2MX77	D2MX77_CAMJU	Proteína asociada al gancho flagelar	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. jejuni 414	642	28.0%	461
M3I083	M3I083_9PROT	Proteína capsular flagelar	<i>Campylobacter</i> showae CC57C	577	28.0%	457
H7SA14	H7SA14_CAMCO	Proteína capsular flagelar	<i>Campylobacter coli</i> 84-2	644	26.0%	452
D2MS44	D2MS44_CAMJU	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. jejuni 1336	647	26.0%	451
H7XBH0	H7XBH0_CAMJU	Proteína capsular flagelar	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. jejuni LMG 23216	648	26.0%	451
H7YRN9	H7YRN9_CAMJU	Proteína capsular flagelar	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. jejuni LMG 23357	648	27.0%	449
Q30U48	Q30U48SULDN	Proteína del tipo proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	<i>Sulfurimonas</i> denitrificans (cepa ATCC 33889/DSM 1251) ( <i>Thiomicrospira</i> denitrificans (cepa ATCC 33889/DSM	462	31.0%	441

1251))						
H8BWB9	H8BWB9_CAMJU	Proteína capsular flagelar	Campylobacter jejuni subsp. jejuni 1213	642	27.0%	447
H8AWN7	H8AWN7_CAMJU	Proteína capsular flagelar	Campylobacter jejuni subsp. jejuni 1997-11	643	26.0%	447
A3ZDR2	A3ZDR2_CAMJU	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	Campylobacter jejuni subsp. jejuni HB93-13	643	26.0%	447
A7H4J4	A7H4J4_CAMJD	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	Campylobacter jejuni subsp. doylei (cepa ATCC BAA-1458 / RM4099/269.97)	646	26.0%	447
A3YRI3	A3YRD_CAMJU	Proteína asociada al gancho flagelar FliD	Campylobacter jejuni subsp. jejuni 260.94	642	25.0%	442
H7WEH0	H7WEH0_CAMC O	Proteína capsular flagelar	Campylobacter coli H8	637	26.0%	441
E1PLQ8	E1PLQ8_CAMJM	Proteína asociada al gancho flagelar putativa 2	Campylobacter jejuni subsp. jejuni serotype HS21 (cepa M1 /99/308)	643	27.0%	441

Ejemplo 9: Presencia y expresión de FliD en *H. pylori*

## Muestras

- 5 Se inscribieron 81 aislados de *H. pylori* de pacientes humanos en el estudio. Las muestras fueron diagnosticadas como positivas por cultivo bacteriano convencional en placas selectivas. En tales pruebas, se cultivaron bacterias en placas de agar con sangre Wilkins-Chalgren en condiciones microaerobias (10% de CO<sub>2</sub>, 5% de O<sub>2</sub>, 8.5% de N<sub>2</sub> y 37 °C) durante 36 horas, y la positividad para oxidasa, catalasa y ureasa fue confirmada por pruebas bioquímicas. Una parte de las bacterias cultivadas se usó para el aislamiento de ADN y el resto se aplicó para la preparación de lisado de proteínas para el análisis de transferencia de Western.
- 10 Suero policlonal anti-FliD de ratón
- Se inmunizaron tres ratones C57BL6 3 veces (semanalmente) con 30 mg de *H. pylori* FliD recombinante como antígeno y 10 µg de CT (toxina del cólera) como adyuvante se resuspendió en PBS. Una semana después del último refuerzo de inmunización, los ratones se sangraron y los sueros se combinaron. La antigenicidad y la especificidad de los sueros reunidos se probaron en un análisis de transferencia de Western.
- 15 Análisis de transferencia de Western
- Para establecer las condiciones óptimas del ensayo, se generaron y purificaron diferentes concentraciones de la proteína FliD recombinante, así como de otras proteínas de control recombinantes (Tig (factor desencadenante (Tomb et al., 1997)) y gGT) en las mismas condiciones, se aplicaron en geles de SDS al 8%. Después de la transferencia de las proteínas en la membrana de nitrocelulosa (Whatman/GE Healthcare, Freiburg, Alemania), las membranas se bloquearon en leche desnatada al 5% durante 1 h a temperatura ambiente y se incubaron durante la noche con diferentes diluciones de los antisueros como anticuerpos primarios. Después de la incubación de las membranas con IgG anti-ratón marcada con HRP, las bandas se detectaron mediante la adición de reactivos de detección de transferencia Western ECL.
- 20 Los resultados se muestran en la figura 5, por lo que en el lado derecho del gel de SDS representado se indica el antígeno y su cantidad aplicada a los carriles individuales. Se usó una dilución óptima (1: 2000) de suero de anti ratón.
- 25 Análisis de PCR de la presencia del ORF de FliD en el genoma de *H. pylori*
- Se diseñaron cuatro PCR basadas en la secuencia de ADN de la FliD como sujeto a SEQ ID NO: 2. La especificidad de cada par de cebadores como se indica en la tabla 5 se confirmó mediante análisis de blast contra todas las secuencias

de nucleótidos bacterianas del banco de genes. Las PCR se establecieron usando ADN de *H. pylori* como control positivo y ADN genómico de otros 10 microorganismos como controles negativos. Las PCR se realizaron usando la mezcla maestra de GoTaq polimerasa (Promega), la temperatura de apareamiento de 56 °C y el tiempo de extensión de 30 segundos.

5 Tabla 5: Cebadores usados por análisis de PCR.

	Cebador hacia adelante	Cebador reverso	Longitud del amplicon (bp)
PCR1	AGC TCA TTA GGG CTT GGC AG (SEQ ID NO: 21)	GCT CGC GCT CAA CGC ATC (SEQ ID NO: 22)	246
PCR2	ATC ACG GAC GCT ACC AAT GG (SEQ ID NO: 23)	AGG GAC TTC ATG CAT GCT CC (SEQ ID NO: 24)	288
PCR3	CAC AGA CGC TAT CAT TCA AGC (SEQ ID NO: 25)	CCC GCT GAT CAC ATC ATT GAC (SEQ ID NO: 26)	300
PCR4	CGC TAA CCT CAT AGA TGG AGG (SEQ ID NO: 27)	TAA GCG GCA AAG CGC TCC G (SEQ ID NO: 28)	150

#### Resultados

10 El ORF de la FliD se presenta en todos los aislados de pacientes con *H. pylori* (bacterias cultivadas aisladas de biopsias de pacientes). La presencia del ORF de la FliD podría confirmarse con las cuatro PCR usadas para este ensayo. PCR1, PCR2 y PCR3 realizadas por ADN aislado de 81 muestras de *H. pylori* fueron positivas en general. Mientras que la PCR4 fue positiva para 79 muestras (Fig. 6). La especificidad del ensayo se confirmó aplicando ADN aislado de *P. aeruginosa* (ATCC 27813), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 700324), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29292), *Strep. Group A* (ATCC 19615), *S. typhimurium* (ATCC 13311), *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 18228), *H. influenzae* (ATCC 49247) y *E. coli* (ATCC 25922).

15 Como se puede deducir de la figura 6 que representa los resultados de un análisis PCR representativo realizado usando ADN genómico aislado de *H. pylori* cultivado aislado de biopsias de pacientes, se presenta el ORF (marco de lectura abierto) de FliD en casi todos los aislados de *H. pylori*. De este modo, los resultados de PCR confirman la presencia de la FliD en el ADN genómico. En la figura 6, los números arriba de los carriles indican el número de muestra interno.

20 En cuanto a la detección de la proteína FliD en muestras de pacientes que han sido diagnosticados como positivos para *H. pylori*, la proteína FliD es detectable en el 97.5% de las muestras. Usando el análisis de transferencia de Western se pudo demostrar que la expresión de la proteína FliD es detectable en 79 de los 81 lisados de proteínas de *H. pylori*. Los resultados se muestran en la figura 7. En la figura 7, los números anteriores a los carriles indican el número de muestra interno.

25 La especificidad del ensayo se confirmó mediante resultados negativos cuando se analizaron los lisados de proteínas de otros microorganismos mediante análisis de transferencia Western. Los resultados de los mismos están indicados en la figura 8. Como se puede tomar de la figura 8 aparte de FliD recombinante con etiqueta de estreptavidina (carriles 2 de ambas transferencias de Western) y lisados de proteína sin etiqueta de estreptavidina (carriles 3 de ambas transferencias de Western) de *P. aeruginosa* (ATCC 27813) (transferencia western izquierda, carril 4), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 700324) (transferencia western izquierda, carril 5), *Candida albicans* (ATCC 90024) (transferencia western izquierda, carril 6), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29292) (transferencia western izquierda, carril 7), *Streptococcus Gupo A* (ATCC 19615) (transferencia western izquierda, carril 8), *S. typhimurium* (ATCC 13311) (transferencia western derecha, carril 4), *S. aureus* (ATCC 25923) (transferencia western derecha, carril 5), *S. epidermidis* (ATCC 18228)

(transferencia western derecha, carril 6), *H. influenzae* (ATCC 49247) (transferencia western derecha, carril 7) y *E. coli* (ATCC 25922) (transferencia western derecha, carril 8).

En la presente memoria descriptiva se hace referencia a diversos documentos de la técnica anterior cuya referencia completa se lee a continuación.

- 5 Arnold, I. C., Hitzler, I., & Muller, A. (2012). The Immunomodulatory Properties of *Helicobacter pylori* Confer Protection Against Allergic and Chronic Inflammatory Disorders. *Front Cell Infect Microbiol*, 2, 10.
- Atherton, J. C., Cao, P., Peek, R. M., Jr., Tummuru, M. K., Blaser, M. J., & Cover, T. L. (1995). Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem*, 270(30), 17771-17777.
- 10 Chen, Y., Wang, J., & Shi, L. (2001). [In vitro study of the biological activities and immunogenicity of recombinant adhesin of *Helicobacter pylori* rHpaA]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 81(5), 276-279.
- Cover, T. L., & Blaser, M. J. (1992). Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*, 267(15), 10570-10575.
- 15 Dunn, B. E., Roop, R. M., 2nd, Sung, C. C., Sharma, S. A., Perez-Perez, G. I., & Blaser, M. J. (1992). Identification and purification of a *cpn60* heat shock protein homolog from *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*, 60(5), 1946-1951.
- Eaton, K. A., Suerbaum, S., Josenhans, C., & Krakowka, S. (1996). Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes. *Infect Immun*, 64(7), 2445-2448.
- Franco, A. T., Israel, D. A., Washington, M. K., Krishna, U., Fox, J. G., Rogers, A. B., et al. (2005). Activation of beta-catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(30), 10646-10651.
- 20 Fusconi, M., Vaira, D., Menegatti, M., Farinelli, S., Figura, N., Holton, J., et al. (1999). Anti-CagA reactivity in *Helicobacter pylori*-negative subjects: a comparison of three different methods. *Dig Dis Sci*, 44(8), 1691-1695.
- Gao, L., Michel, A., Weck, M. N., Arndt, V., Pawlita, M., & Brenner, H. (2009). *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk: evaluation of 15 *H. pylori* proteins determined by novel multiplex serology. *Cancer Res*, 69(15), 6164-6170.
- 25 Goto, T., Nishizono, A., Fujioka, T., Ikewaki, J., Mifune, K., & Nasu, M. (1999). Local secretory immunoglobulin A and postimmunization gastritis correlate with protection against *Helicobacter pylori* infection after oral vaccination of mice. *Infect Immun*, 67(5), 2531-2539.
- Hay, F. C., Westwood, O. M. R., Nelson, P. N., & Hudson, L. (2002). *Practical immunology*: Wiley-Blackwell.
- Honda, S., Fujioka, T., Tokieda, M., Satoh, R., Nishizono, A., & Nasu, M. (1998). Development of *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils. *Cancer Res*, 58(19), 4255-4259.
- 30 Kim, J. S., Chang, J. H., Chung, S. I., & Yum, J. S. (1999). Molecular cloning and characterization of the *Helicobacter pylori* *flhD* gene, an essential factor in flagellar structure and motility. *J Bacteriol*, 181(22), 6969-6976.
- Mittel P. R. E., Luethy L., Reinhardt C., Joller H. (2003). Detection of high titers of antibody against *Helicobacter* cysteine-rich proteins A, B, C, and E in *Helicobacter pylori*-infected individuals. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:542- 545.
- 35 Macchia, G., Massone, A., Burrioni, D., Covacci, A., Censini, S., & Rappuoli, R. (1993). The Hsp60 protein of *Helicobacter pylori*: structure and immune response in patients with gastroduodenal diseases. *Mol Microbiol*, 9(3), 645-652.
- Michetti, P., Kreiss, C., Kotloff, K. L., Porta, N., Blanco, J. L., Bachmann, D., et al. (1999). Oral immunization with urease and *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin is safe and immunogenic in *Helicobacter pylori*-infected adults. *Gastroenterology*, 116(4), 804-812.
- 40 Montecucco, C., & de Bernard, M. (2003). Molecular and cellular mechanisms of action of the vacuolating cytotoxin (*VacA*) and neutrophil-activating protein (HP-NAP) virulence factors of *Helicobacter pylori*. *Microbes Infect*, 5(8), 715-721.
- 45 Murata-Kamiya, N., Kurashima, Y., Teishikata, Y., Yamahashi, Y., Saito, Y., Higashi, H., et al. (2007). *Helicobacter pylori* CagA interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene*, 26(32), 4617-4626.

- Oertli, M., Sundquist, M., Hitzler, I., Engler, D. B., Arnold, I. C., Reuter, S., et al. (2012). DC-derived IL- 18 drives Treg differentiation, murine *Helicobacter pylori*-specific immune tolerance, and asthma protection. *J Clin Invest*, 122(3), 1082-1096.
- 5 Opazo, P., Muller, I., Rollan, A., Valenzuela, P., Yudelevich, A., Garcia-de la Guarda, R., et al. (1999). Serological response to *Helicobacter pylori* recombinant antigens in Chilean infected patients with duodenal ulcer, non-ulcer dyspepsia and gastric cancer. *APMIS*, 107(12), 1069-1078.
- Pharmacia. (1988). Affinity chromatography LKB Biotechnology Uppsala, Sweden.
- Sambrook, J., Fritsch, E., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Book 1: New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- 10 Suerbaum, S., Thiberge, J. M., Kansau, I., Ferrero, R. L., & Labigne, A. (1994). *Helicobacter pylori* hspA-hspB heatshock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity. *Mol Microbiol*, 14(5), 959-974.
- Suganuma, M., Kurusu, M., Okabe, S., Sueoka, N., Yoshida, M., Wakatsuki, Y., et al. (2001). *Helicobacter pylori* membrane protein 1: a new carcinogenic factor of *Helicobacter pylori*. *Cancer Res*, 61(17), 6356-6359.
- 15 Tomb J. F., et al. 1997. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 7; 388(6642):539-47.
- Uemura, N., Okamoto, S., Yamamoto, S., Matsumura, N., Yamaguchi, S., Yamakido, M., et al. (2001). *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med*, 345(11), 784- 789.
- Urita, Y., Hike, K., Torii, N., Kikuchi, Y., Kurakata, H., Kanda, E., et al. (2004). Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting *Helicobacter pylori* infection. *Intern Med*, 43(7), 548-552.
- 20 Watanabe, S., Takagi, A., Tada, U., Kabir, A. M., Koga, Y., Kamiya, S., et al. (1997). Cytotoxicity and motility of *Helicobacter pylori*. *J Clin Gastroenterol*, 25 Suppl 1, S169-171.
- Watanabe, T., Tada, M., Nagai, H., Sasaki, S., & Nakao, M. (1998). *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology*, 115(3), 642-648.
- 25 Yamaoka, Y., Kodama, T., Kita, M., Imanishi, J., Kashima, K., & Graham, D. Y. (1998). Relationship of *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* to *cagA* status, cytotoxin production, and clinical outcome. *Helicobacter*, 3(4), 241-253.
- Yan, J., Liang, S. H., Mao, Y. F., Li, L. W., & Li, S. P. (2003). Construction of expression systems for *flaA* and *flab* genes of *Helicobacter pylori* and determination of immunoreactivity and antigenicity of recombinant proteins. *World J Gastroenterol*, 9(10), 2240-2250.
- 30 Yan, J., & Mao, Y. F. (2004). Construction of a prokaryotic expression system of *vacA* gene and detection of *vacA* gene, *VacA* protein in *Helicobacter pylori* isolates and ant-*VacA* antibody in patients' sera. *World J Gastroenterol*, 10(7), 985-990.
- Lista de secuencias
- <110> Technische Universität München
- <120> Método para la detección de la infección por *H. pylori*
- 35 <130> G 10023 PCT
- <150> EP 13 004 038.9
- <151> 2013-08-13
- <160> 28
- <170> PatentIn version 3.3
- 40 <210> 1
- <211> 685
- <212> PRT

ES 2 683 628 T3

<213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

5 <400> 1

```

Met Ala Ile Gly Ser Leu Ser Ser Leu Gly Leu Gly Ser Lys Val Leu
1          5          10          15

Asn Tyr Asp Val Ile Asp Lys Leu Lys Asp Ala Asp Glu Lys Ala Leu
20          25          30

Ile Ala Pro Leu Asp Lys Lys Met Glu Gln Asn Val Glu Lys Gln Lys
35          40          45

Ala Leu Val Glu Ile Lys Thr Leu Leu Ser Ser Leu Lys Gly Pro Val
50          55          60

Lys Thr Leu Ser Asp Tyr Ser Thr Tyr Ile Ser Arg Lys Ser Asn Val
65          70          75          80

Thr Gly Asp Ala Leu Ser Ala Ser Val Gly Ala Gly Val Pro Ile Gln
85          90          95

Asp Ile Lys Val Asp Val Gln Asn Leu Ala Gln Gly Asp Ile Asn Glu
100         105         110

Leu Gly Ala Lys Phe Ser Ser Arg Asp Asp Ile Phe Ser Gln Val Asp
115         120         125

```

ES 2 683 628 T3

Thr Thr Leu Lys Phe Tyr Thr Gln Asn Lys Asp Tyr Ala Val Asn Ile  
130 135 140

Lys Ala Gly Met Thr Leu Gly Asp Val Ala Gln Ser Ile Thr Asp Ala  
145 150 155 160

Thr Asn Gly Glu Val Met Gly Ile Val Met Lys Thr Gly Gly Asn Asp  
165 170 175

Pro Tyr Gln Leu Met Val Asn Thr Lys Asn Thr Gly Glu Asp Asn Arg  
180 185 190

Ile Tyr Phe Gly Ser His Leu Gln Ser Thr Leu Thr Asn Lys Asn Ala  
195 200 205

Leu Ser Leu Gly Val Asp Gly Ser Gly Lys Ser Glu Val Ser Leu Asn  
210 215 220

Leu Lys Gly Ala Asp Gly Asn Thr His Glu Val Pro Ile Met Leu Glu  
225 230 235 240

Leu Pro Glu Ser Ala Ser Ile Lys Gln Lys Asn Thr Ala Ile Gln Lys  
245 250 255

Ala Ile Glu Gln Ala Leu Glu Asn Asp Pro Asn Phe Lys Asp Leu Ile  
260 265 270

Ala Asn Gly Asp Ile Ser Ile Asp Thr Leu His Gly Gly Glu Ser Leu  
275 280 285

Ile Ile Asn Asp Arg Arg Gly Gly Asn Ile Glu Ile Lys Gly Ser Lys  
290 295 300

Ala Lys Glu Leu Gly Phe Leu Gln Thr Thr Thr Gln Glu Ser Asp Leu  
305 310 315 320

Leu Lys Ser Ser Arg Thr Ile Lys Glu Gly Lys Leu Glu Gly Val Ile  
325 330 335

Ser Leu Asn Gly Gln Lys Leu Asp Leu Lys Ala Leu Thr Lys Glu Gly  
340 345 350

Asn Thr Ser Glu Glu Asn Thr Asp Ala Ile Ile Gln Ala Ile Asn Ala  
355 360 365

ES 2 683 628 T3

Lys Glu Gly Leu Ser Ala Phe Lys Asn Ala Glu Gly Lys Leu Val Ile  
 370 375 380

Asn Ser Lys Thr Gly Met Leu Thr Ile Lys Gly Glu Asp Ala Leu Gly  
 385 390 400

Lys Ala Ser Leu Lys Asp Leu Gly Leu Asn Ala Gly Met Val Gln Ser  
 405 410 415

Tyr Glu Ala Ser Gln Asp Thr Leu Phe Met Ser Lys Asn Leu Gln Lys  
 420 425 430

Ala Ser Asp Ser Gln Phe Thr Tyr Asn Gly Val Ser Ile Thr Arg Pro  
 435 440 445

Thr Asn Glu Val Asn Asp Val Ile Asn Gly Val Asn Ile Thr Leu Glu  
 450 455 460

Gln Thr Thr Glu Pro Asn Lys Pro Ala Ile Ile Ser Val Ser Arg Asp  
 465 470 475 480

Asn Gln Ala Ile Ile Asp Ser Leu Lys Glu Phe Val Lys Ala Tyr Asn  
 485 490 495

Glu Leu Ile Pro Lys Leu Asp Glu Asp Thr Arg Tyr Asp Ala Asp Thr  
 500 505 510

Lys Ile Ala Gly Ile Phe Asn Gly Val Gly Asp Ile Arg Thr Ile Arg  
 515 520 525

Ser Ser Leu Asn Asn Val Phe Ser Tyr Ser Val His Thr Asp Asn Gly  
 530 535 540

Val Glu Ser Leu Met Lys Tyr Gly Leu Ser Leu Asp Asp Lys Gly Val  
 545 550 555 560

Met Ser Leu Asp Glu Ala Lys Leu Ser Ser Thr Leu Asn Ser Asn Pro  
 565 570 575

Lys Ala Thr Gln Asp Phe Phe Tyr Gly Ser Asp Ser Lys Asp Met Gly  
 580 585 590

Gly Arg Glu Ile His Gln Glu Gly Ile Phe Ser Lys Phe Asn Gln Val  
 595 600 605



ES 2 683 628 T3

Ile Ala Asn Leu Ile Asp Gly Gly Asn Ala Lys Leu Lys Ile Tyr Glu  
 610 615 620

Asp Ser Leu Asp Arg Asp Ala Lys Ser Leu Thr Lys Asp Lys Glu Asn  
 625 630 635 640

Ala Gln Glu Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Asn Ile Met Ala Glu Arg Phe  
 645 650 655

Ala Ala Tyr Asp Ser Gln Ile Ser Lys Ala Asn Gln Lys Phe Asn Ser  
 660 665 670

Val Gln Met Met Ile Asp Gln Ala Ala Ala Lys Lys Asn  
 675 680 685

<210> 2

<211> 2058

<212> ADN

5 <213> H. pylori

<220>

<221> misc-feature

<223> cepa H. pylori G27

<400> 2

atggcaatag gttcattaag ctcattaggg cttggcagta aggttttgaa ttacgatgtg 60

attgacaagc ttaaggacgc cgatgaaaaa gcgttaatcg cccccttaga caagaaaatg 120

gagcaaaatg ttgaaaagca aaaagccctt gtagaaatta aaacgctcct ttcattcteta 180

aaaggcccggt ttaaaacgct ttccgattat tccacttata tcagccgaaa aagcaatggt 240

acaggcgatg cgttgagtgc gagggtgggg gctggcgtgc ctattcaaga cattaagtgt 300

gatgtgcaaa atttagcgca aggcgatatt aacgaactag gggcgaaatt ttcttcaaga 360

gacgatattt ttagccaagt ggataccacg ctcaaatttt acacgcaaaa caaggactac 420

gccgttaata ttaaagcagg aatgacttta ggcgatgtgg ctcaaagcat cacggacgct 480

accaatggcg aagtgatggg cattgtgatg aaaacaggag ggaatgacct ctaccaatta 540

atgggtgaata caaaaaacac cggcgaagac aaccgcatct attttggtct acacctccaa 600

tccacgctca ctaacaaaaa cgccctttct ttgggggttg atggaagcgg aaagagtgaa 660

gtgagtttga atttaaaggg ggctgatggg aacacgcatg aagtccccat catgctagag 720

ctccctgaaa gcgcttctat caaacaaaaa aacaccgcga tccaaaaagc gatagagcag 780

10

ES 2 683 628 T3

```

gctttagaaa acgaccctaa ttttaaagac ttgatcgcta atggggatat ttccatagac 840
actcttcatg ggggggaatc tttaatcatt aatgacaggc gtgggggaaa cattgaaatt 900
aaagggagca aggctaaaga gcttgggttt ttgcaaacca ccaccaaga aagcgatttg 960
ttaaaaagct ctgcaccat taaagagggt aaattagaag gggtaattag cttgaatggc 1020
caaaaactgg atttaaaagc cttaaccaa gagggcaaca ccagegaaga aaacacagac 1080
gctatcattc aagcgattaa cgctaaagaa ggcttgagtg cgtttaaaaa cgccgaaggc 1140
aagcttgtga tcaattctaa aaccggaatg ctaacgatta agggcgagga cgctttaggc 1200
aaggccagtt tgaaggattt gggtttgaac gctggcatgg tgcaatctta tgaagcttca 1260
caagacacgc tttttatgtc taagaatttg caaaaagcga gcgattcgca attcacttat 1320
aatgggggta gcatcacacg ccccaactaat gaggtcaatg atgtgattaa cggggttaat 1380
atcactttag agcaaaccac agagcctaat aaacctgcga ttatcagcgt gagcagggac 1440
aatcaagcca ttatagacag ccttaaagaa tttgtcaaag cctataatga gcttatccct 1500
aaactagatg aagacacgcg ttatgacgct gacactaaaa tcgctgggat ttttaacggc 1560
gtgggcgata ttcgcaccat tagatcctct cttaataacg tgttttctta tagcgtgcat 1620
acggataacg gggtagaaa cttgatgaaa tacgggctta gtttagacga taagggcgtg 1680
atgagtttag atgaggctaa attgagtagc accttaaatt ctaaccctaa agcgactcaa 1740
gattttttct atgggagcga tagcaaggat atggggggca gagaaatcca ccaagagggc 1800
atTTTTTcta aattcaatca agtcatcgct aatctcatag atggagggaa cgctaaatta 1860
aagatttatg aagattccct agacagagac gctaaaagct tgaccaaaaga caaagaaaac 1920
gctcaagagc ttttaaaaac cgcctacaac atcatggcgg agcgctttgc ggcttatgac 1980
agccaaatct ctaaagccaa tcaaaaattc aattccgtgc aatgatgat cgatcaagcg 2040
gctggctaaaa agaattaa 2058

```

<210> 3

<211> 689

<212> PRT

5 <213> H. suis

<400> 3

```

Met Ala Ile Gly Lys Leu Ser Ser Leu Gly Ile Gly Ser Lys Val Leu
1           5           10           15

```

```

Asn Tyr Asp Val Ile Asp Lys Leu Lys Ser Ala Asp Glu Lys Thr Met
                20           25           30

```

ES 2 683 628 T3

Val Ala Pro Ile Asp Arg Lys Met Glu Val Asn Leu Glu Lys Gln Lys  
 35 40 45  
 Ala Leu Val Glu Ile Lys Thr Leu Leu Ala Asn Leu Lys Ala Pro Val  
 50 55 60  
 Ser Ala Leu Thr Asp Tyr Ser Thr Tyr Thr Ser Arg Ser Ser Ser Val  
 65 70 75 80  
 Ser Ser Gly Ala Leu Lys Ala Ser Val Ser Pro Gly Ile Pro Val Gln  
 85 90 95  
 Asp Ile Lys Val Glu Val Glu Asp Leu Ala Gln Gly Asp Ile Asn Glu  
 100 105 110  
 Val Gly Thr His Phe Arg Asp Arg Asp Ala Phe Ser Gln Ala Asn  
 115 120 125  
 Thr Lys Leu His Phe Tyr Thr Asn Asn Lys Asn Tyr Thr Val Asn Ile  
 130 135 140  
 Lys Ala Gly Met Ser Val Gly Asp Val Ala Gln Ala Ile Thr Asp Ala  
 145 150 155 160  
 Thr Gly Gly Glu Val Met Gly Ile Val Met Lys Thr Gly Gly Asp Lys  
 165 170 175  
 Pro Tyr Gln Leu Met Ile Asn Thr Lys Asn Pro Gly Ala Asn Asn Arg  
 180 185 190  
 Leu Tyr Phe Gly Ser Ser Val Ile Ser Thr Leu Ala Ser Asp Ala Pro  
 195 200 205  
 Ile Asn Leu Ala Ile Gly Gly Thr Thr Ala Asp Gly Lys Ser Thr Glu  
 210 215 220  
 Asp Asp Phe Phe Ile Lys Val Lys Asp Asp Lys Gly Glu Val Val Lys  
 225 230 235 240  
 Ile Pro Ile Ser Leu Asn Leu Asp Lys Ala Ser Val Gln Asp Lys Asn  
 245 250 255  
 Lys Ala Leu Gln Thr Ala Ile Lys Lys Ala Leu Glu Asp Asn Ala Gln  
 260 265 270

ES 2 683 628 T3

Thr Lys Asp Leu Val Asp Ser Gly Gln Ile Asn Ile Gly Leu Ile Asn  
 275 280 285  
 Asp Gly Lys Ser Leu Val Leu Asn Asp Gln Arg Gly Leu Glu Val Glu  
 290 295 300  
 Val Gly Gly Ala Lys Ala Ala Glu Leu Gly Phe Val Lys Thr Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Asp Gln Glu Asp Leu Leu Lys Gly Thr Ala Gly Ile Ala Ser Gly Gln  
 325 330 335  
 Ile Lys Gly Thr Ile Asn Phe Asn Gly Gln Ala Ile Asn Leu Gly Ala  
 340 345 350  
 Ile Thr Ala Thr Gly Asn Ser Ser Asp Ala Asn Ala Gln Ala Ile Val  
 355 360 365  
 Lys Ala Ile Asn Gly Ile Gln Gly Leu His Ala Ser Leu Gly Thr Asp  
 370 375 380  
 Gly Lys Leu Ile Leu Asn Ser Glu Ser Gly Glu Leu Arg Ile Thr Gly  
 385 390 395 400  
 Val Gly Ala Asp Gly Lys Ala Ala Val Asn Ser Leu Gly Leu Ser Glu  
 405 410 415  
 Gly Leu Ser Gln Ser Tyr Ala Lys Leu His Asp Leu Phe Ala Phe Lys  
 420 425 430  
 Lys Leu Gln Ser Ala Ser Asp Ala Arg Phe Thr Tyr Asn Gly Ala Thr  
 435 440 445  
 Ile Thr Arg Pro Thr Asn Glu Val Asn Asp Val Ile Asn Gly Val Ser  
 450 455 460  
 Leu Ser Leu Leu Ala Lys Thr Glu Pro Gly Lys Pro Ala Ile Ile Ser  
 465 470 475 480  
 Ile Thr Arg Asp Ser Lys Ala Ile Val Asp His Val Lys Glu Phe Val  
 485 490 495  
 Lys Ala Tyr Asn Ala Leu Ile Pro Lys Leu Asp Glu Thr Thr Arg Tyr

ES 2 683 628 T3

	500		505		510														
Asp	Pro	Asp	Thr	Lys	Ile	Ala	Gly	Val	Phe	Asn	Gly	Val	Gly	Asp	Ile				
	515						520					525							
Arg	Thr	Ile	Arg	Ser	Ser	Ile	Asn	Asn	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Ile	Thr				
	530					535					540								
Thr	Ala	Lys	Gly	Val	Asp	Ser	Leu	Met	Lys	Tyr	Gly	Ile	Thr	Leu	Asp				
545					550					555					560				
Glu	His	Gly	Lys	Met	Ser	Leu	Asp	Glu	Ser	Arg	Leu	Thr	Asn	Ala	Leu				
				565					570					575					
Asn	Ala	Asp	Pro	Gln	Ala	Ala	Gln	Asp	Phe	Phe	Tyr	Gly	Gly	Asp	Ile				
			580					585					590						
Lys	Ser	Met	Gly	Gly	Lys	Glu	Ile	His	Gln	Asp	Gly	Ile	Phe	Ile	Lys				
		595					600					605							
Leu	Asp	Lys	Val	Leu	Gln	Gly	Leu	Val	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Arg	Leu				
	610					615					620								
Lys	Leu	Tyr	Glu	Asp	Ser	Leu	Asp	Gln	Asp	Ala	Lys	Asn	Leu	Arg	Arg				
625					630					635					640				
Asp	Lys	Glu	Asn	Ala	Met	Glu	Met	Leu	Lys	Thr	Arg	Tyr	Asp	Met	Met				
				645					650					655					
Ala	Glu	Arg	Phe	Ala	Ala	Tyr	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Lys	Ala	Asn	Lys				
			660					665					670						
Ser	Phe	Asp	Ala	Val	Gln	Met	Met	Ile	Asp	Gln	Ala	Ala	Ala	Lys	Lys				
		675					680					685							
Asn																			

<210> 4

<211> 2070

5 <212> ADN

<213> H. suis

<400> 4

atggcgattg gaaagttaag ttcttttaggg attgggagca aggttttaaa ctacgatgtg 60

ES 2 683 628 T3

attgataaac ttaaaagcgc tgatgaaaaa actatgggtg ctcccattga tcgaaaaatg 120  
 gaagtcaatc ttgaaaaaca aaaggcttta gttgagatta aaactttgct tgccaatcct 180  
 aaagcgcceg ttagtgcttt aacggattat tcaacttata cgagccgcag tagcagtggtg 240  
 agcagtgagg cgcttaaagc cagtgtaacg ccgggtatcc ctgtgcaaga tattaaagta 300  
 gaagttgagg atttggtcga aggcgatatt aatgaagtgc gtacacattt tagagatcgc 360  
 gatgatgcct ttagccaagc taacaccaa ttacactttt ataccaataa taaaaactac 420  
 acagtcaata ttaaggctgg tatgagtgtg ggcgatgtcg cccaagccat tacagatgct 480  
 acggggggcg aggtgatggg gattgtgatg aaaaccgggg gggataaacc ctatcagtta 540  
 atgattaata ctaaaaaccc cggggctaata aaccgcttgt attttggtc tagtgttatt 600  
 tctactcttg ctagtgatgc gcctattaat ttagccatag ggggcactac tgcagatggg 660  
 aaaagtacag aagatgattt ttttattaaa gttaaagatg ataagggcga agtggttaaa 720  
 atccctatta gtcttaatct tgataaggct tctgtgcaag ataaaaataa agccctgcaa 780  
 acagctatta aaaaagccct agaggataat gcacaaacca aagacctagt agatagcgga 840  
 cagatcaata tcggtttgat taatgatggc aatcttttag tacttaacga tcaaagaggg 900  
 ttagaagttg aagttggggg agctaaagca gctgaactag gttttgtaa aactaaatca 960  
 gatcaagaag atttactcaa aggcacagca gggattgcat ccggtcaaat caagggcact 1020  
 attaatttta atgggcaagc cattaattta ggggctatca ccgcaacggg caattctagc 1080  
 gatgctaacg ctcaagccat cgtaaagcc attaatggca ttcaaggggt gcacgcttct 1140  
 ttaggcacgg acgggaaatt aatccttaat agtgaaagcg gcgagttgcg tataaccggt 1200  
 gtgggggccc atggtaaagc ggctgtaaat agtttaggtt tgtctgaggg cttaagccaa 1260  
 tcctatgcta aattacacga tctctttgcc tttaaaaaac taaaagtgc ctctgatgct 1320  
 agatttactt acaatggtgc gacaatcacc cgcctacaa atgaggtaaa cgatgtgatt 1380  
 aacggtgtat ctttgagttt attagccaaa actgagccgg gtaaaccagc cattattagc 1440  
 attaccgcg acagtaagc cattggtgat catgttaaag aatttgtaa agcctataat 1500  
 gcattaatcc ctaaactaga tgaacaacc cgttacgatc cagatactaa aattgccggc 1560  
 gtgtttaatg gcgtggggga tatccgcaca attcgtctt caattaataa tgccattgct 1620  
 tttacaatca caacggctaa aggtgtggat agtctcatga agtatgggat tacacttgat 1680  
 gagcatggaa agatgagctt agatgagagc agactcacia acgcgcttaa tgccgatcca 1740  
 caagccgctc aagatttctt ctatggtggc gatattaata gtatgggggg taaggagatt 1800  
 caccaagacg ggatttttat caagttagat aaagtttgc aagtttggt cgatggtggt 1860

ES 2 683 628 T3

aacgcgaggt tgaagttata cgaggattct ttagatcaag acgctaaaaa tttgagaaga 1920  
 gataaggaga atgcaatgga gatgcttaaa acccgttatg acatgatggc agaacgcttt 1980  
 gcagcttatg atgagcgtat ttctaaggcg aataaatcct ttgatgcggg gcagatgatg 2040  
 atcgatcaag cagccgcaa aaagaattaa 2070

<210> 5

<211> 684

<212> PRT

5 <213> H. felis

<400> 5

Met Ala Val Gly Gln Leu Ser Ser Leu Gly Ile Gly Ser Lys Val Leu  
 1 5 10 15

Asn Tyr Asp Val Ile Asp Lys Leu Lys Lys Ala Asp Glu Asn Thr Met  
 20 25 30

Val Lys Pro Ile Glu Arg Lys Met Glu Ala Asn Leu Glu Lys Gln Lys  
 35 40 45

Ala Leu Val Glu Ile Gln Thr Leu Leu Gly Asn Leu Arg Thr Pro Val  
 50 55 60

Arg Ala Leu Ser Asp Tyr Ser Thr Tyr Thr Ala Arg His Ser Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Gly Asp Ala Leu Lys Val Ser Val Ser Pro Gly Ile Pro Ile Gln  
 85 90 95

Asn Ile Lys Val Asp Val Glu Ser Leu Ala Gln Gly Asp Ile Asn Glu  
 100 105 110

Val Gly Thr His Phe Ser Ser Arg Asp Asp Ser Phe Ala Gln Phe Asp  
 115 120 125

Thr Thr Leu His Phe Tyr Thr Asn His Gln Asp Tyr Ala Val Lys Ile  
 130 135 140

Lys Ala Gly Met Thr Leu Ser Asp Val Ala Gln Ala Ile Thr Asp Ala  
 145 150 155 160

Thr Asp Gly Lys Val Met Gly Ile Val Met Lys Thr Gly Gly Asn Lys  
 165 170 175

ES 2 683 628 T3

Pro Tyr Gln Leu Met Ile Asn Ser Lys Gly Thr Gly Ala Asp Asn Arg  
 180 185 190

Ile Phe Phe Gly Ser Ser Val Ile Ser His Leu Ser Asn Asp Ala Thr  
 195 200 205

Ile Asn Leu Glu Ala Lys Ser Glu Thr Lys Pro Glu Asp Asp Phe Phe  
 210 215 220

Ile Lys Val His Asp Glu Gln Asn Val Ile Glu Ile Pro Ile Ala Leu  
 225 230 235 240

Lys Leu Gln Gly Ser Ile Glu Ser Lys Asn Ala Ala Leu Arg Ala Ala  
 245 250 255

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

Asn Gly Gln Leu Asn Val Gly Val Ile Asn Glu Gly Lys Ser Leu Val  
 275 280 285

Ile Asn Asp Lys Arg Gly Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Ala Lys Ala  
 290 295 300

Arg Glu Leu Gly Phe Ile Gln Asp Lys Ser Gln Ala Glu Gly Asp Leu  
 305 310 315 320

Leu Lys Ala Leu Thr Ala Pro Gln Ser Gly Lys Ile Lys Gly Ile Ile  
 325 330 335

Ser Leu Asn Gly Gln Asn Ile Asp Met Gly Ala Ile Thr Ala Glu His  
 340 345 350

Asn Ser Ser Gln Asp Asn Ala Asn Ala Leu Ile Lys Ala Val Asn Gly  
 355 360 365

Ile Ala Gly Leu Ser Ala Ser Val Gly Ala Asp Gly Lys Leu Val Leu  
 370 375 380

Asn Ser Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu Thr Gly Ala Asn Ala Glu Gly  
 385 390 395 400

Lys Lys Ala Leu Lys Asp Leu Gly Leu Ser Glu Gly Phe Ser Arg Ser



ES 2 683 628 T3

				405						410					415
Tyr	Ala	Asn	Ala	Gln	Glu	Leu	Phe	Ser	Val	Lys	Asn	Leu	Gln	Ser	Ala
			420					425					430		
Ser	Asp	Ala	Lys	Phe	Thr	Tyr	Asn	Gly	Ala	Ser	Ile	Thr	Arg	Pro	Thr
		435					440					445			
Asn	Glu	Val	Asn	Asp	Val	Ile	Asn	Gly	Val	Ser	Leu	Ser	Leu	Leu	Gly
	450					455					460				
Thr	Thr	Glu	Pro	Gly	Lys	Gly	Ala	Val	Val	Ser	Ile	Thr	Arg	Asp	Asp
465					470					475					480
Lys	Ala	Ile	Ile	Asp	Asn	Val	Lys	Glu	Phe	Val	Lys	Ala	Tyr	Asn	Glu
				485					490					495	
Leu	Met	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Thr	Thr	Arg	Tyr	Asp	Pro	Asp	Thr	Arg
			500						505					510	
Ile	Ala	Gly	Ile	Phe	Asn	Gly	Val	Ser	Asp	Ile	Arg	Thr	Ile	Arg	Ser
		515					520					525			
Ser	Leu	Ile	Ser	Ala	Val	Thr	Phe	Thr	Ile	Thr	Asn	Ser	Lys	Gly	Val
	530					535					540				
Ala	Ser	Leu	Met	Lys	Tyr	Gly	Ile	Met	Leu	Asp	Asp	His	Gly	Lys	Met
545					550					555					560
Ser	Leu	Asp	Glu	Ser	Arg	Leu	Ala	Ser	Ala	Ile	Asn	Ala	Asp	Pro	Gln
				565					570					575	
Gly	Thr	Gln	Asp	Phe	Phe	Tyr	Gly	Ser	Asp	Val	Lys	Ser	Met	Gly	Gly
			580					585					590		
Lys	Glu	Thr	His	Gln	Asp	Gly	Ile	Phe	Glu	Arg	Val	Asp	Lys	Val	Leu
		595					600					605			
Ala	Asn	Leu	Val	Asp	Gly	Gly	His	Ala	Arg	Leu	Lys	Leu	Tyr	Glu	Asp
	610					615					620				
Ser	Leu	Asp	Gln	Asp	Ala	Lys	Ser	Leu	Lys	Lys	Asp	Lys	Glu	Asn	Ala
625					630					635					640

ES 2 683 628 T3

Met Glu Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Asp Ile Met Ala Glu Arg Phe Ala  
645 650 655

Ala Tyr Asp Glu Gln Ile Ser Lys Ala Asn Arg Ser Phe Asn Ala Val  
660 665 670

Gln Met Met Ile Asp Gln Ala Ala Ala Lys Lys Asn  
675 680

<210> 6

<211> 2055

<212> ADN

5 <213> H. felis

<400> 6

ES 2 683 628 T3

atggcagtag ggcaattaag ttctttggga attggtagca aagttttaa ctacgatgtg 60  
 atcgataagc ttaaaaaagc ggacgaaaac acgatggtta aacccatcga gagaaagatg 120  
 gaggccaatt tagaaaaaca aaaagccctt gtagaaatcc aaactttgct tgggaatttg 180  
 cgcacacctg tcagagctct aagcgattat tccacttata cagctagaca tagcaatgta 240  
 accggggatg cgcttaaagt gagtgtgagt ccgggtatcc ccattcaaaa tatcaaagtg 300  
 gatgtagaga gtttagcaca gggggatatt aatgaggtgg gcactcattt tagctccaga 360  
 gacgactcgt ttgcgcagtt tgatactact ttgcattttt ataccaatca tcaggattac 420  
 gcggttaaaa ttaaagctgg gatgacctta agcgatgtcg ctcaggcaat cacggatgct 480  
 actgatggca aggtgatggg gattgtgatg aaaaccgggg ggaataaacc ctatcagcta 540  
 atgatcaata gtaagggcac gggcgcggat aatcgatatc tttttggttc tagtgtcate 600  
 tcccatttga gcaatgatgc gaccattaat ttagaagcca agagcgagac aaagcctgag 660  
 gatgatTTTT ttatcaaagt gcatgacgaa caaatgtga tagaaattcc tatcgctctc 720  
 aagttgcagg gctctattga gagtaaaaac gcggctctgc gtgcagccat ccaaaaagcc 780  
 ttagaggata atcccgtac aaaatcttta gcagacaatg gccagttaaa tgtgggggtc 840  
 atcaatgagg gtaaactttt ggtgatcaat gataaacgag gtttgagcgt agaggtaggg 900  
 ggggctaagg cgcgcgaact aggtttcctc caagataaat cccaagctga ggggtgattta 960  
 ctaaaagccc tcaccgccc gcaatctggc aagatcaaag gcattattag tctgaatgga 1020  
 caaaacattg acatgggggc gatcacagct gaacataatt ctagtcaaga caacgctaac 1080  
 gctctgatta aagctgtcaa tggcattgca ggtttgagcg cgtctgtggg cgcggatggg 1140  
 aagttagtgc tcaatagtgc cagcgggcaa ttacgcttaa ccggagctaa tgcagagggt 1200  
 aaaaaggctc tcaaagattt aggcctctca gaggggttta gccgctctta tgctaagtct 1260

ES 2 683 628 T3

```

caagaactct tttctgtaa aaacttacag agtgctagcg atgctaaatt tacctacaat 1320
ggggctagta tcacgcgccc taccaatgaa gttaatgatg taattaatgg cgtgtcttta 1380
agtttgctag gcacaacaga gccgggcaag ggggctgttg tgagcatcac acgagatgac 1440
aaggcgatca tcgataatgt caaagagttt gtcaaagcct ataatgagtt gatgccaaaa 1500
ttagatgaga ccaccogtta cgatccggac acaagaattg cgggatctt taatggagtg 1560
agcgatatcc gcaactatccg ctcttcactt atcagtgcag ttacttttac aatcactaat 1620
agcaagggcg tggctagctt gatgaagtat gggatcatgc tagatgacca tggcaagatg 1680
agtttagacg aaagccgtct tgctagcgca atcaacgccg atccgcaagg cacccaagac 1740
ttcttttatg gaagcgatgt gaagagtatg gggggcaagg aaaccaccca agatggaatc 1800
tttgagcgcg tggataaagt tttggctaat ttggtcgatg gtggtcatgc gcgtttgaag 1860
ctctatgaag actctctaga tcaagatgcc aaaagcctca aaaaagataa agagaacgct 1920
atggagttat taaaaacccg ctatgacatc atggcagagc gttttgctgc ctatgacgag 1980
cagatttcta aggctaaccg atcatttaac gctgtgcaga tgatgatcga tcaagctgct 2040
gctaagaaaa actaa 2055

```

<210> 7

<211> 1230

<212> PRT

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 7

```

Met Thr Asn Glu Thr Ile Asn Gln Gln Pro Gln Thr Glu Ala Ala Phe
 1           5           10           15

Asn Pro Gln Gln Phe Ile Asn Asn Leu Gln Val Ala Phe Leu Lys Val
          20           25           30

Asp Asn Ala Val Ala Ser Tyr Asp Pro Asp Gln Lys Pro Ile Val Asp
          35           40           45

Lys Asn Asp Arg Asp Asn Arg Gln Ala Phe Asn Gly Ile Ser Gln Leu
 50           55           60

Arg Glu Glu Tyr Ser Asn Lys Ala Ile Lys Asn Pro Ala Lys Lys Asn

```

10

ES 2 683 628 T3

65					70					75					80
Gln Tyr Phe Ser Asp Phe Ile Asp Lys Ser Asn Asn Leu Ile Asn Lys				85					90					95	
Asp Ala Leu Ile Asp Val Glu Ser Ser Thr Lys Ser Phe Gln Lys Phe			100					105					110		
Gly Asp Gln Arg Tyr Gln Ile Phe Thr Ser Trp Val Ser His Gln Asn			115				120						125		
Asp Pro Ser Lys Ile Asn Thr Arg Ser Ile Arg Asn Phe Met Glu Asn			130				135					140			
Ile Ile Gln Pro Pro Ile Pro Asp Asp Lys Glu Lys Ala Glu Phe Leu					150					155					160
Lys Ser Ala Lys Gln Ser Phe Ala Gly Ile Ile Ile Gly Asn Gln Ile				165					170						175
Arg Thr Asp Gln Lys Phe Met Gly Val Phe Asp Glu Ser Leu Lys Glu				180					185					190	
Arg Gln Glu Ala Glu Lys Asn Gly Gly Pro Thr Gly Gly Asp Trp Leu				195				200					205		
Asp Ile Phe Leu Ser Phe Ile Phe Asp Lys Lys Gln Ser Ser Asp Val						215						220			
Lys Glu Ala Ile Asn Gln Glu Pro Val Pro His Val Gln Pro Asp Ile					230					235					240
Ala Thr Thr Thr Thr Asp Ile Gln Gly Leu Pro Pro Glu Ala Arg Asp					245					250					255
Leu Leu Asp Glu Arg Gly Asn Phe Ser Lys Phe Thr Leu Gly Asp Met				260					265					270	
Glu Met Leu Asp Val Glu Gly Val Ala Asp Ile Asp Pro Asn Tyr Lys				275				280					285		
Phe Asn Gln Leu Leu Ile His Asn Asn Ala Leu Ser Ser Val Leu Met						295									300

ES 2 683 628 T3

Gly Ser His Asn Gly Ile Glu Pro Glu Lys Val Ser Leu Leu Tyr Gly  
 305 310 315 320

Gly Asn Gly Gly Pro Lys Ala Lys His Asp Trp Asn Ala Thr Val Gly  
 325 330 335

Tyr Lys Asp Gln Gln Gly Asn Asn Val Ala Thr Ile Ile Asn Val His  
 340 345 350

Met Lys Asn Gly Ser Gly Leu Val Ile Ala Gly Gly Glu Lys Gly Ile  
 355 360 365

Asn Asn Pro Ser Phe Tyr Leu Tyr Lys Glu Asp Gln Leu Thr Gly Ser  
 370 375 380

Gln Arg Ala Leu Ser Gln Glu Glu Ile Arg Asn Lys Val Asp Phe Met  
 385 390 395 400

Glu Phe Leu Ala Gln Asn Asn Ala Lys Leu Asp Asn Leu Ser Glu Lys  
 405 410 415

Glu Glu Glu Lys Phe Arg Asn Glu Ile Lys Asp Phe Gln Lys Asp Ser  
 420 425 430

Lys Ala Tyr Leu Asp Ala Leu Gly Asn Asp Arg Ile Ala Phe Val Ser  
 435 440 445

Lys Lys Asp Thr Lys His Ser Ala Leu Ile Thr Glu Phe Gly Asn Gly  
 450 455 460

Asp Leu Ser Tyr Thr Leu Lys Asp Tyr Gly Lys Lys Ala Asp Lys Ala  
 465 470 475 480

Leu Asp Arg Glu Lys Asn Val Thr Leu Gln Gly Asn Leu Lys His Asp  
 485 490 495

Gly Val Met Phe Val Asp Tyr Ser Asn Phe Lys Tyr Thr Asn Ala Ser  
 500 505 510

Lys Asn Pro Asn Lys Gly Val Gly Val Thr Asn Gly Val Ser His Leu  
 515 520 525

Glu Ala Gly Phe Ser Lys Val Ala Val Phe Asn Leu Pro Asp Leu Asn  
 530 535 540

ES 2 683 628 T3

Asn Leu Ala Ile Thr Ser Leu Val Arg Arg Asp Leu Glu Asp Lys Leu  
 545 550 555 560

Ile Ala Lys Gly Leu Ser Pro Gln Glu Thr Asn Lys Leu Val Lys Asp  
 565 570 575

Phe Leu Ser Ser Asn Lys Glu Leu Val Gly Lys Ala Leu Asn Phe Asn  
 580 585 590

Lys Ala Val Ala Glu Ala Lys Asn Thr Gly Asn Tyr Asp Glu Val Lys  
 595 600 605

Gln Ala Gln Lys Asp Leu Glu Lys Ser Leu Lys Lys Arg Glu Arg Leu  
 610 615 620

Glu Lys Glu Val Ala Lys Lys Leu Glu Ser Lys Ser Gly Asn Lys Asn  
 625 630 635 640

Lys Met Glu Ala Lys Ser Gln Ala Asn Ser Gln Lys Asp Glu Ile Phe  
 645 650 655

Ala Leu Ile Asn Lys Glu Ala Asn Arg Glu Ala Arg Ala Ile Thr Tyr  
 660 665 670

Ala Gln Asn Leu Lys Gly Ile Lys Arg Glu Leu Ser Asp Lys Leu Glu  
 675 680 685

Asn Val Asn Lys Asn Leu Lys Asp Phe Ser Lys Ser Phe Asp Glu Phe  
 690 695 700

Lys Asn Gly Lys Asn Lys Asp Phe Ser Lys Ser Glu Glu Thr Leu Lys  
 705 710 715 720

Ala Leu Lys Gly Ser Val Lys Asp Leu Gly Ile Asn Pro Glu Trp Ile  
 725 730 735

Ser Lys Val Glu Asn Leu Asn Ala Ala Leu Asn Glu Phe Lys Asn Gly  
 740 745 750

Lys Asn Lys Asp Phe Ser Lys Val Thr Gln Ala Lys Ser Asp Leu Glu  
 755 760 765

Asn Ser Val Lys Asp Val Ile Ile Asn Gln Lys Val Thr Asp Lys Val  
 770 775 780

ES 2 683 628 T3

Asp Asn Leu Asn Gln Ala Val Ser Val Ala Lys Ala Thr Gly Asp Phe  
 785 790 795 800  
  
 Ser Arg Val Glu Gln Ala Leu Ala Asp Leu Lys Asn Phe Ser Lys Glu  
 805 810 815  
  
 Gln Leu Ala Gln Gln Ala Gln Lys Asn Glu Asp Phe Asn Thr Gly Lys  
 820 825 830  
  
 Asn Ser Ala Leu Tyr Gln Ser Val Lys Asn Gly Val Asn Gly Thr Leu  
 835 840 845  
  
 Val Gly Asn Gly Leu Ser Lys Ala Glu Ala Thr Thr Leu Ser Lys Asn  
 850 855 860  
  
 Phe Ser Asp Ile Lys Lys Glu Leu Asn Ala Lys Leu Gly Asn Phe Asn  
 865 870 875 880  
  
 Asn Asn Asn Asn Asn Gly Leu Lys Asn Ser Thr Glu Pro Ile Tyr Ala  
 885 890 895  
  
 Lys Val Asn Lys Lys Lys Ala Gly Gln Ala Ala Ser Pro Glu Glu Pro  
 900 905 910  
  
 Ile Tyr Ala Gln Val Ala Lys Lys Val Asn Ala Lys Ile Asp Arg Leu  
 915 920 925  
  
 Asn Gln Ile Ala Ser Gly Leu Gly Val Val Gly Gln Ala Val Gly Phe  
 930 935 940  
  
 Pro Leu Lys Arg His Asp Lys Val Gly Asp Leu Ser Lys Val Gly Gln  
 945 950 955 960  
  
 Ser Val Ser Pro Glu Pro Ile Tyr Ala Thr Ile Asp Asp Leu Gly Gly  
 965 970 975  
  
 Pro Phe Pro Leu Lys Arg His Asp Lys Val Gly Asp Leu Ser Lys Val  
 980 985 990  
  
 Gly Leu Ser Val Ser Pro Glu Pro Ile Tyr Ala Thr Ile Asp Asp Leu  
 995 1000 1005  
  
 Gly Gly Pro Phe Pro Leu Lys Arg His Asp Lys Val Gly Asp Leu



ES 2 683 628 T3

1010						1015								1020
Ser	Lys	Val	Gly	Leu	Ser	Arg	Glu	Gln	Gln	Leu	Lys	Gln	Lys	Ile
1025						1030					1035			
Asp	Asn	Leu	Ser	Gln	Ala	Val	Ser	Glu	Ala	Lys	Ala	Gly	Phe	Phe
1040						1045					1050			
Gly	Asn	Leu	Glu	Gln	Thr	Ile	Asp	Asn	Leu	Lys	Asp	Ser	Ala	Lys
1055						1060					1065			
Asn	Asn	Pro	Val	Ser	Leu	Trp	Ala	Glu	Gly	Ala	Lys	Lys	Val	Pro
1070						1075					1080			
Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Lys	Leu	Asp	Asn	Tyr	Ala	Thr	Asn	Ser	His
1085						1090					1095			
Thr	Arg	Ile	Asn	Ser	Asn	Ile	Gln	Ser	Gly	Ala	Ile	Asn	Glu	Lys
1100						1105					1110			
Ala	Thr	Gly	Met	Leu	Thr	Gln	Lys	Asn	Pro	Glu	Trp	Leu	Lys	Leu
1115						1120					1125			
Val	Asn	Asp	Lys	Ile	Val	Ala	His	Asn	Val	Gly	Ser	Val	Pro	Leu
1130						1135					1140			
Leu	Glu	Tyr	Asp	Lys	Ile	Gly	Phe	Asn	Gln	Lys	Ser	Met	Lys	Asp
1145						1150					1155			
Tyr	Ser	Asp	Ser	Phe	Lys	Phe	Ser	Thr	Glu	Leu	Asn	Asn	Ala	Val
1160						1165					1170			
Lys	Asp	Val	Lys	Ser	Gly	Phe	Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Asn	Ala	Phe
1175						1180					1185			
Ser	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ala	Gly	Glu	Asn	Ala	Glu	His	Gly
1190						1195					1200			
Ile	Lys	Asn	Val	Asn	Thr	Lys	Gly	Gly	Ser	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly
1205						1210					1215			
Leu	Arg	Asn	Thr	Lys	Asn	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Cys			
1220						1225					1230			

<210> 8

<211> 3726

<212> ADN

ES 2 683 628 T3

<213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

5 <400> 8

```

aaggagaaac aatgactaac gaaactattg accaacaacc acaaaccgaa gcggtttta      60
accgcgagca atttatcaat aatcttcaag tagcttttct taagcttgat aacgctgtcg      120
cttcatttga tctgatcaa aaaccaatcg ttgataagaa cgatagggat aacaggcaag      180
cttttgatgg aatctcgcaa ttaaggaag aatactccaa taaagcgatc aaaaatccta      240
ccaaaaagaa tcagtatttt tcagacttta tcaataagag caatgattta atcaacaaag      300
acaatctcat tgatgtggaa tcttcacaa agagctttca gaaatttggg gatcagcgtt      360
accgaatfff cacaagttgg gtgtcccatc aaaacgatcc gtctaaaatc aacacccgat      420
cgatccgaaa ttttatggaa aatatcatac aaccocctat ccatgatgac aaagaaaaag      480
cagagtffff gaaatctgcc aaacaatctt ttgcaggaat tatcataggg aatcaaatcc      540
gaacggatca aaagtctatg ggcgtgtttg atgaatcctt gaaagaaagg caagaagcag      600
aaaaaaatgg agagcctact ggtggggatt ggttgatata tttttatca tttatatttg      660
acaaaaaaca atcttctgat gtcaaagaag caatcaatca agaaccagtt cctcatgtcc      720
agccagatat agccactact accaccgaca tacaaggctt accgcctgaa tctagggatt      780
tgcttgatga aaggggtaat ttttctaaat tcaactcttg cgatatggaa atggttagatg      840
ttgaggggtg cgtgacatt gatcctaatt acaagttcaa tcaattattg attcacaata      900
acgctctgtc ttctgtgta atggggagtc ataatggcat agaacctgaa aaagtttcat      960
tattgtatgc gggcaatggg ggttttgagg ccaagcacga ttggaacgcc accgttggtt     1020
ataaagacca acaaggtaac aatgtggcta caataattaa tgtgcatatg aaaaacggca     1080
gtggcttagt catagcaggt ggtgagaaaag ggattaacaa ccctagtttt tatctctaca     1140
aagaagacca actcacaggc tcacaacgag cattgagtca agaagagatc cgaaacaaaa     1200
tagatttcat ggaatftctt gcacaaaaca atgctaaatt agacaacttg agcgagaaaag     1260
agaaagaaaa attccgaaat gagattaagg atttccaaaa agactctaag gcttatttag     1320
acgccttagg gaatgatcgt attgcctttg tttctaaaaa agacccaaaa cattcagcct     1380
taattactga gtttgtaag ggggatttga gctacactct caaagattat gggaaaaaag     1440

```

ES 2 683 628 T3

cagataaagc tttagatagg gagaaaaatg tcaactcttca aggtaaccta aaacatgatg 1500  
 gcgtgatggt tgttgattat tctaatttca aatacaccaa cgctccaag aatcccaata 1560  
 aggggtgtagg cgttacgaat ggcgtttccc atttagacgc aggcctttage aaggtagctg 1620  
 tctttaattt gcctgattta aataatctcg ctatcactag tttcgtaagg cggaaacttag 1680  
 aggataaact aattgctaaa ggattgacc cacaagaagc taataagctt atcaaagatt 1740  
 ttttgagcag caacaaagaa ttggttgaa aagctttaa cttcaataaa gctgtagctg 1800  
 acgctaaaaa cacaggcaac tatgacgagg tgaaaaaagc tcagaaagat cttgaaaaat 1860  
 ctctaaggaa acgagagcat ttagagaaag aagtagagaa aaaattggag agcaaaagcg 1920  
 gcaacaaaaa taaaatggaa gcaaaagctc aagctaacag ccaaaaagat gagatTTTTG 1980  
 cgttgatcaa taaagaggct aatagagacg caagagcaat cacttacgct caaaatctta 2040  
 aaggcatcaa aagggaattg tctgataaac ttgaaaatat caacaagaat ttgaaagact 2100  
 ttagtaaatc ttttgatgaa ttcaaaaatg gcaaaaataa ggatttcagc aaggcagaag 2160  
 aaacgctaaa agcccttaa ggctcgggta aagatttagg tatcaatccg gaatggattt 2220  
 caaaagttga aaaccttaat gcagctttga atgacttcaa aaatggcaa aataaggatt 2280  
 tcagcaaggt aacgcaagca aaaagcgacc ttgaaaattc cgttaaagat gtgatcatca 2340  
 atcaaaagat aacggataaa gttgatgatc tcaatcaagc ggtatcagtg gctaaagcaa 2400  
 cgggtgattt cagtagggta gggcaagcgt tagccgatct caaaaatttc tcaaaggagc 2460  
 aattggctca acaaactcaa aaaaatgaaa gtttcaatgt tggaaaaaaa tctgaaatat 2520  
 atcaatccgt taagaatggt gtgaacggaa ccctagtcgg taatgggtta tctcaagcag 2580  
 aagccacaac tctttctaaa aacttttcgg acatcaagaa agagttgaat gcaaaacttt 2640  
 ttggaaattt caataacaat aacaataatg ggctcaaaaa cagcacagaa cccatttatg 2700  
 ctaaagttaa taaaaagaaa acaggacaag tagctagccc tgaagaacc atttatgctc 2760  
 aagttgctaa aaaggtaaat gcaaaaattg accaactcaa tcaagcagca agtgggttcg 2820  
 gtgggtgtagg gcaagcagcg ggcttcctt tgaaaaggca tgataaagtt gatgatctca 2880  
 gtaaggtagg gcgatcgggt agccctgaac ccatttatgc tacaattgat gatctcggcg 2940  
 gacctttccc tttgaaaagg catgataaag ttgatgatct cagtaaggta gggcgatcgg 3000  
 ttagccctga acccatttat gctacaattg atgatctcgg cggaccttcc cctttgaaaa 3060  
 ggcatgataa agttgatgat ctcagtaagg tagggctttc aaggagcaa caattgaaac 3120  
 agaagattga caagttcgat caagcggat cagaagctaa agtaggttat tttggcaatc 3180  
 tagagcaaac gatagacaag ctcaaagatt ctgcaaaaata caataccatg aatctatggg 3240

ES 2 683 628 T3

```

ctgaaagtgc aaaaaaagtg cctgctagtt tgtcagcgaa attggacaat tacgctacta 3300
acagccacac acgcattaat agcaatatcc aaaatggagc aatcaatgaa aaagcgaccg 3360
gtatgctaac gcaaaaaaac cctgagtggc tcaagctcgt gaatgataag atcgttgcac 3420
ataatgtggg aagcgttcct ttgtcagagt atgataaaat tggcttcaac cagaagaata 3480
tgaaagatta ttctgattcg ttcaagtttt ccaccaagtt gaacaatgct gtaaaagaca 3540
ttaagtctgg ctttacgcaa tttttagcca atgcattttc tacaggatat tactgcttgg 3600
cgggggaaaa tgcggagcat ggaatcaaaa atgttaatac aaaaggtggt ttccaaaaat 3660
cttaaaggat taaggaatac caaaaacgca aaaaccgcc cttgctaaaa gcaggggggt 3720
ttttaa 3726

```

<210> 9

<211> 1294

<212> PRT

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 9

```

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Met Asn Arg Pro Leu Val Ser
1           5           10           15

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

Ala Ala Phe Phe Thr Thr Val Ile Ile Pro Ala Ile Val Gly Gly Ile
35           40           45

Ala Thr Gly Thr Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Ser Trp Gly
50           55           60

Leu Lys Gln Ala Glu Glu Ala Asn Lys Asn Pro Asp Lys Pro Asp Lys
65           70           75           80

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys
85           90           95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly
100          105          110

```

10

ES 2 683 628 T3

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Arg His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Lys  
130 135 140

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met  
145 150 155 160

Gln Lys Ala Thr Leu Arg Leu Gly Gln Phe Asn Gly Asn Ser Phe Thr  
165 170 175

Ser Tyr Lys Asp Ala Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asn Phe Asn Ala  
180 185 190

Lys Asn Ile Ser Ile Asp Asn Phe Val Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
210 215 220

Ser Glu Gly Ile Thr Ser Asp Lys Asn Ala Glu Ile Ser Leu Tyr Asp  
225 230 235 240

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Ser Ser Val Lys Leu Met Gly Asn  
245 250 255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
260 265 270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
275 280 285

His Leu Thr Val Gly Asp Lys Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
290 295 300

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
305 310 315 320

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
325 330 335

Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly Thr Lys Asn Asp Lys Asn Glu Ser Ala  
340 345 350

ES 2 683 628 T3

Lys Asn Asp Lys Gln Glu Ser Ser Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val  
 355 360 365  
 Ile Asn Pro Pro Asn Ser Thr Gln Lys Thr Glu Ile Gln Pro Thr Gln  
 370 375 380  
 Val Ile Asp Gly Pro Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile  
 385 390 395 400  
 Asn Arg Ile Asn Thr Asn Ala Asp Gly Thr Ile Arg Val Gly Gly Phe  
 405 410 415  
 Lys Ala Ser Leu Thr Thr Asn Ala Ala His Leu His Ile Gly Lys Gly  
 420 425 430  
 Gly Val Asn Leu Ser Asn Gln Ala Ser Gly Arg Thr Leu Leu Val Glu  
 435 440 445  
 Asn Leu Thr Gly Asn Ile Thr Val Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn  
 450 455 460  
 Gln Val Gly Gly Tyr Ala Leu Ala Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe  
 465 470 475 480  
 Lys Ala Gly Val Asp Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp  
 485 490 495  
 Ile Ser Leu Gly Arg Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala  
 500 505 510  
 Asn Phe Lys Gly Ile Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp  
 515 520 525  
 Phe Ser Gly Val Thr Asp Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala  
 530 535 540  
 Ser Thr Asn Val Ala Val Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Ile Val  
 545 550 555 560  
 Lys Thr Asn Gly Ile Ser Val Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp  
 565 570 575  
 Ile Gly Ser Gln Ser Arg Ile Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr

ES 2 683 628 T3

580					585					590					
Arg	Ser	Ile	Phe	Ser	Gly	Gly	Val	Lys	Phe	Lys	Ser	Gly	Glu	Lys	Leu
		595					600					605			
Val	Ile	Asp	Glu	Phe	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Trp	Asn	Tyr	Phe	Asp	Ala	Arg
	610					615					620				
Asn	Val	Lys	Asn	Val	Glu	Ile	Thr	Arg	Lys	Phe	Ala	Ser	Ser	Thr	Pro
625					630					635					640
Glu	Asn	Pro	Trp	Gly	Thr	Ser	Lys	Leu	Met	Phe	Asn	Asn	Leu	Thr	Leu
				645					650					655	
Gly	Gln	Asn	Ala	Val	Met	Asp	Tyr	Ser	Gln	Phe	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile
			660					665					670		
Gln	Gly	Asp	Phe	Ile	Asn	Asn	Gln	Gly	Thr	Ile	Asn	Tyr	Leu	Val	Arg
		675					680					685			
Gly	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Gly	Asn	Ala	Ala	Ala	Met	Met
	690					695					700				
Phe	Asn	Asn	Asp	Ile	Asp	Ser	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Pro	Leu	Ile
705					710					715					720
Lys	Ile	Asn	Ser	Ala	Gln	Asp	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Glu	His	Val	Leu
				725					730					735	
Leu	Lys	Ala	Lys	Ile	Ile	Gly	Tyr	Gly	Asn	Val	Ser	Thr	Gly	Thr	Asn
			740					745						750	
Ser	Ile	Ser	Asn	Val	Asn	Leu	Glu	Glu	Gln	Phe	Lys	Glu	Arg	Leu	Ala
		755					760					765			
Leu	Tyr	Asn	Asn	Asn	Asn	Arg	Met	Asp	Thr	Cys	Val	Val	Arg	Asn	Thr
	770					775					780				
Asp	Asp	Ile	Lys	Ala	Cys	Gly	Met	Ala	Ile	Gly	Asn	Gln	Ser	Met	Val
785					790					795					800
Asn	Asn	Pro	Asp	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Ile	Gly	Lys	Ala	Trp	Lys	Asn
				805					810					815	

ES 2 683 628 T3

Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr  
820 825 830

Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu  
835 840 845

Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala Arg Ser Ala Asn Tyr Ala Leu Val  
850 855 860

Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile  
865 870 875 880

Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn  
885 890 895

Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu Tyr Thr His Ser Gly Val Gln Gly  
900 905 910

Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr  
915 920 925

Ala Arg Gln Met Ile Asp Asn Thr Ser Thr Gly Glu Ile Thr Lys Gln  
930 935 940

Leu Asn Ala Ala Thr Asp Ala Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His  
945 950 955 960

Lys Thr Ser Gly Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu  
965 970 975

Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg Lys His Thr Asn His Ile Asp  
980 985 990

Ser Phe Ala Gln Arg Leu Gln Ala Leu Lys Gly Gln Arg Phe Ala Ser  
995 1000 1005

Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr  
1010 1015 1020

Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Ala Ser  
1025 1030 1035

Leu Asn Asn Gly Gly Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly  
1040 1045 1050



ES 2 683 628 T3

Val Asp Ala Tyr Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly Gly  
 1055 1060 1065

Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser Ser Phe Ser Asn Arg Ala Asn Ser  
 1070 1075 1080

Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn Ala Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg  
 1085 1090 1095

Ile Phe Ala Asn Gln His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala  
 1100 1105 1110

Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu Leu  
 1115 1120 1125

Gln Asp Leu Asn Gln Ser Tyr His Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Ala  
 1130 1135 1140

Thr Arg Ala Ser Tyr Gly Tyr Asp Phe Ala Phe Phe Arg Asn Ala  
 1145 1150 1155

Leu Val Leu Lys Pro Ser Val Gly Val Ser Tyr Asn His Leu Gly  
 1160 1165 1170

Ser Thr Asn Phe Lys Ser Ser Ser Asn Gln Val Ala Leu Lys Asn  
 1175 1180 1185

Gly Ser Ser Ser Gln His Leu Phe Asn Ala Asn Ala Asn Val Glu  
 1190 1195 1200

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Gly Asp Thr Ser Tyr Phe Tyr Met Asn Ala  
 1205 1210 1215

Gly Val Leu Gln Glu Phe Ala Arg Phe Gly Ser Asn Asn Ala Ala  
 1220 1225 1230

Ser Leu Asn Thr Phe Lys Val Asn Thr Ala Arg Asn Pro Leu Asn  
 1235 1240 1245

Thr His Ala Arg Val Met Met Gly Gly Glu Leu Gln Leu Ala Lys  
 1250 1255 1260

Glu Val Phe Leu Asn Leu Gly Val Val Tyr Leu His Asn Leu Ile  
 1265 1270 1275

ES 2 683 628 T3

Ser Asn Ile Gly His Phe Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser  
 1280 1285 1290

Phe

<210> 10

<211> 3885

<212> ADN

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 10

```

atggaaatac aacaaacaca cgc aaaatg aatcgccctt tagtttctct cgttttagca 60
ggagcgtaa ttagcgccat accgcaagaa agtcatgccg cctttttcac gaccgtgatc 120
attccagcca ttgttggggg tatcgccaca ggcaccgctg taggaacggg ctcagggtt 180
cttagctggg ggctcaaaca agccgaagaa gcgaataaaa acccggacaa acccgataaa 240
gtttggcgca ttcaagcagg aaaaggcttt aatgaattcc ctaacaagga atacgactta 300
tacaaaatccc ttttatccag taagattgat ggaggttggg actgggggaa cgccgctagg 360
cattattggg tcaaaggcgg gcaatggaac aagcttgaag tggatatgaa agacgctgta 420
gggacttata aactatcagg gcttagaaac tttactgggtg gggatttaga tgtcaatatg 480
caaaaagcca ctttacgctt gggccaattc aatggcaatt ctttcacaag ctataaggat 540
gcggtgatc gcaccacgag ggtgaatttc aacgctaaaa atatctcaat tgataatttt 600
gtagaaatca ataatcgtgt gggttctgga gccgggagga aagccagctc tacggttttg 660
actttgcaag cttcagaagg gatcactagc gataaaaacg ctgaaatttc tctttatgat 720
ggcgccacgc tcaatttggc ttcaagcagc gttaaattaa tgggtaatgt gtggatgggc 780
cgtttgcaat acgtgggagc gtatttggcc ctttcataca gcacgataaa cacttcaaaa 840
gtaacagggg aagtgaattt taaccacctc actgttggcg ataaaaacgc cgctcaagcg 900
ggcattatcg ctagcaacaa gactcatatt ggcacactgg atttgtggca aagcgccggg 960
ttaaacatta tcgctcctcc cgaaggtggc tataaggata aacctaataa tacccttct 1020
caaagtggca ctaaaaacga caaaaatgaa agcgctaaaa acgacaaaca agagagcagt 1080
caaaataata gtaacactca ggtcattaac ccaccaata gcacgcaaaa aacagaaatt 1140
    
```

10

ES 2 683 628 T3

caaccacgc aagtcattga tgggcctttt gcggggcgca aagacacggt tgtcaatata 1200  
 aaccgcatca acactaacgc tgatggcacg attagagtgg gagggtttaa agcttctctt 1260  
 accaccaatg cggctcattt gcatatcgcc aaagggcggg tcaatctgtc caatcaagcg 1320  
 agcgggcgca cccttttagt ggaaaatcta accgggaata tcaccgttga tgggccttta 1380  
 agagtgaata atcaagtggg tggctatgct ttggcaggat caagcgcgaa ttttgaattt 1440  
 aaggctggg tggatactaa aaacggcaca gccactttca ataacgatat tagcctggga 1500  
 agatttgtga atttaaaggt ggatgctcat acagctaatt ttaaaggat tgatacggg 1560  
 aatggtggt tcaacacctt agattttagt ggtggtacag acaaagtcaa tatcaacaag 1620  
 ctcatcacgg ctccactaa tgtggccgtt aaaaacttca acattaatga attgattggt 1680  
 aaaaccaatg ggataagtgt gggggaatac actcatttta gcgaagatat aggcagtcaa 1740  
 tcgcgcatca ataccgtgcg tttggaaact ggcactaggt caatcttttc tgggggtgct 1800  
 aaatttaaaa gcggcgaaaa attggttata gatgagtttt actatagccc ttggaattat 1860  
 tttgacgcta ggaatgtaa aaatggtgaa atcaccagaa aattcgettc tcaaccccca 1920  
 gaaaacctt ggggcacatc aaaacttatg ttaataatc taacctggg tcaaatgcg 1980  
 gtcattgact atagtcaatt ttcaaattt accatccaag gggattttat caacaatcaa 2040  
 ggcactatca actatctggt ccgaggcggg aaagtggcaa cottaagcgt aggcaatgca 2100  
 gcagctatga tgtttaataa tgatatagac agcgcgaccg gattttacaa accgctcatc 2160  
 aagattaaca gtgctcaaga tctcattaaa aatacagagc atgttttatt gaaagcgaaa 2220  
 atcattggtt atggtaatgt ttctacaggt accaatagca ttagtaatgt taatctagaa 2280  
 gagcaattca aagagcgctt agccctttat aacaacaata accgcatgga tacttggtg 2340  
 gtgcgaaata ctgatgacat taaagcatgc ggtatggcta tcggcaatca aagcatggg 2400  
 aataacctg acaattacaa gtatcttate ggtaaggcat ggaaaaatat aggcattcagt 2460  
 aaaacggcta acggctctaa aatttcggtg tattatttag gcaattctac gcctactgag 2520  
 aatggtggca ataccacaa cttaccacc aacaccacta ataatgcgcg ttctgctaac 2580  
 tacgcoctcg tgaagaacgc tcctttcgct cacagtgcc ctcctaattt agtcgctatc 2640  
 aatcagcatg attttggcac tattgaaagc gtgtttgaat tggctaaccg ctctaaagat 2700  
 attgacacgc tttatactca ttcaggcgtg caaggtaggg atctcttaca aaccttattg 2760  
 attgatagcc atgatgcggg ttatgccaga caaatgattg ataacacaag caccggtgaa 2820  
 atcaccaaac aattgaatgc ggccactgac gctttaaaca acatagccag tttagagcat 2880  
 aaaaccagcg gcttgcaaac tttgagcttg agtaatgcga tgattttaaa ttctcgttta 2940

ES 2 683 628 T3

gtcaatctct ccaggaagca caccaacccat attgactcgt tcgctcaacg cttacaagct 3000  
 ttaaaaggcc aaagattcgc ttcttttagag agcgcggcag aagtgttgta tcaatttgcc 3060  
 cctaaatatg aaaaacctac caatgtttgg gctaocgcta ttggggggagc gagcttgaat 3120  
 aatggcggca acgcttcatt gtatggcaca agtgccggtg tagacgctta ccttaatggg 3180  
 gaagtggaag ccattgtggg cgggtttgga agctatgggt atagctcttt tagtaatcgt 3240  
 gcgaactctc ttaactctgg ggctaataac gctaattttg gcgtgtatag ccgtatTTTT 3300  
 gctaaccagc atgaatttga ttttgaagct caaggggcgc tagggagtga tcaatcaagc 3360  
 ttgaatttca aaagtgtctc actgcaagat ttgaatcaaa gctatcatta tttagcctat 3420  
 agcgcctgca caagagcgag ctatggttat gactttgcgt ttttcaggaa cgcttttagtg 3480  
 ttaaaacca gcggtggcgt gagctataac catttagggt caaccaactt taaaagcagc 3540  
 agcaatcaag tggctttgaa aaatggctct agcagtcagc atctattcaa cgctaacgct 3600  
 aatgtggaag cgcgctatta ttatggggac acttcatact tctatatgaa cgctggagtt 3660  
 ttacaagagt tcgctcgtt tggatctaata aacgcgcgct ctttaaacac ctttaaagtg 3720  
 aataccgctc gcaacccttt aaatacccat gccagagtga tgatgggtgg ggaattgcaa 3780  
 ttagctaaag aagtgttttt gaatttgggc gttgtttatt tgcacaattt gatttccaat 3840  
 ataggccatt tcgcttccaa tttaggaatg aggtatagtt tctaa 3885

<210> 11

<211> 546

<212> PRT

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 11

ES 2 683 628 T3

Met Ala Lys Glu Ile Lys Phe Ser Asp Ser Ala Arg Asn Leu Leu Phe  
1                   5                   10                   15

Glu Gly Val Arg Gln Leu His Asp Ala Val Lys Val Thr Met Gly Pro  
          20                   25                   30

Arg Gly Arg Asn Val Leu Ile Gln Lys Ser Tyr Gly Ala Pro Ser Ile  
          35                   40                   45

Thr Lys Asp Gly Val Ser Val Ala Lys Glu Ile Glu Leu Ser Cys Pro

ES 2 683 628 T3

50						55					60							
Val	Ala	Asn	Met	Gly	Ala	Gln	Leu	Val	Lys	Glu	Val	Ala	Ser	Lys	Thr			
65						70				75								80
Ala	Asp	Ala	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Val	Leu	Ala	Tyr			
				85					90						95			
Ser	Ile	Phe	Lys	Glu	Gly	Leu	Arg	Asn	Ile	Thr	Ala	Gly	Ala	Asn	Pro			
			100					105						110				
Ile	Glu	Val	Lys	Arg	Gly	Met	Asp	Lys	Ala	Ala	Glu	Ala	Ile	Ile	Asn			
		115					120						125					
Glu	Leu	Lys	Lys	Ala	Ser	Lys	Lys	Val	Gly	Gly	Lys	Glu	Glu	Ile	Thr			
	130						135						140					
Gln	Val	Ala	Thr	Ile	Ser	Ala	Asn	Ser	Asp	His	Asn	Ile	Gly	Lys	Leu			
145						150					155							160
Ile	Ala	Asp	Ala	Met	Glu	Lys	Val	Gly	Lys	Asp	Gly	Val	Ile	Thr	Val			
				165						170								
Glu	Glu	Ala	Lys	Gly	Ile	Glu	Asp	Glu	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Gly	Met			
			180						185					190				
Gln	Phe	Asp	Arg	Gly	Tyr	Leu	Ser	Pro	Tyr	Phe	Val	Thr	Asn	Ala	Glu			
		195						200					205					
Lys	Met	Thr	Ala	Gln	Leu	Asp	Asn	Ala	Tyr	Ile	Leu	Leu	Thr	Asp	Lys			
	210						215							220				
Lys	Ile	Ser	Ser	Met	Lys	Asp	Ile	Leu	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Thr	Met			
225					230					235					240			
Lys	Glu	Gly	Lys	Pro	Leu	Leu	Ile	Ile	Ala	Glu	Asp	Ile	Glu	Gly	Glu			
				245					250						255			
Ala	Leu	Thr	Thr	Leu	Val	Val	Asn	Lys	Leu	Arg	Gly	Val	Leu	Asn	Ile			
			260						265					270				
Ala	Ala	Val	Lys	Ala	Pro	Gly	Phe	Gly	Asp	Arg	Arg	Lys	Glu	Met	Leu			
		275						280						285				

ES 2 683 628 T3

Lys Asp Ile Ala Val Leu Thr Gly Gly Gln Val Ile Ser Glu Glu Leu  
 290 295 300

Gly Leu Ser Leu Glu Asn Ala Glu Val Glu Phe Leu Gly Lys Ala Gly  
 305 310 315 320

Arg Ile Val Ile Asp Lys Asp Asn Thr Thr Ile Val Asp Gly Lys Gly  
 325 330 335

His Ser Asp Asp Val Lys Asp Arg Val Ala Gln Ile Lys Thr Gln Ile  
 340 345 350

Ala Ser Thr Thr Ser Asp Tyr Asp Lys Glu Lys Leu Gln Glu Arg Leu  
 355 360 365

Ala Lys Leu Ser Gly Gly Val Ala Val Ile Lys Val Gly Ala Ala Ser  
 370 375 380

Glu Val Glu Met Lys Glu Lys Lys Asp Arg Val Asp Asp Ala Leu Ser  
 385 390 395 400

Ala Thr Lys Ala Ala Val Glu Glu Gly Ile Val Ile Gly Gly Gly Ala  
 405 410 415

Ala Leu Ile Arg Ala Ala Gln Lys Val His Leu Asn Leu His Asp Asp  
 420 425 430

Glu Lys Val Gly Tyr Glu Ile Ile Met Arg Ala Ile Lys Ala Pro Leu  
 435 440 445

Ala Gln Ile Ala Ile Asn Ala Gly Tyr Asp Gly Gly Val Val Val Asn  
 450 455 460

Glu Val Glu Lys His Glu Gly His Phe Gly Phe Asn Ala Ser Asn Gly  
 465 470 475 480

Lys Tyr Val Asp Met Phe Lys Glu Gly Ile Ile Asp Pro Leu Lys Val  
 485 490 495

Glu Arg Ile Ala Leu Gln Asn Ala Val Ser Val Ser Ser Leu Leu Leu  
 500 505 510

Thr Thr Glu Ala Thr Val His Glu Ile Lys Glu Glu Lys Ala Ala Pro  
 515 520 525

ES 2 683 628 T3

Ala Met Pro Asp Met Gly Gly Met Gly Gly Met Gly Gly Met Gly Gly  
 530 535 540

Met Met  
 545

<210> 12

<211> 1641

<212> ADN

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 12

```

atggcaaaag aatcaaatt ttcagatagt gcaagaaacc ttttatttga aggcgtgaga      60
caactccatg atgctgtcaa agtaaccatg gggccaagag gcaggaatgt gttgattcaa      120
aaaagctatg gcgctccaag catcaccaaa gatggcgtga gcgtggctaa agagattgaa      180
ttaagttgcc cgggtggctaa catgggcgct caactcgtaa aagaggtagc gagcaaaacc      240
gctgatgctg ccggcgatgg caccgaccaca gcgaccgtgc tggcttatag cattttttaa      300
gaagggtttga ggaatatcac ggctggggct aaccctattg aagtgaaacg aggcattgat      360
aaagccgctg aagcgatcat caatgagctt aaaaaagcga gcaaaaaagt aggcggtaaa      420
gaagaaatca cccaagtagc gaccatttct gccaaactcc atcacaatat cgggaaactc      480
atcgctgacg ctatggaaaa agtgggtaaa gatggcgtga tcaactgttga agaggctaag      540
ggcattgaag acgaattaga tgtcgtagaa ggcatgcaat ttgatagagg ctatctctcc      600
ccttattttg taacgaacgc tgagaaaatg accgctcaat tggataacgc ttacatcctt      660
ttaacggata aaaaaatctc tagcatgaaa gacatcctcc cgctattgga aaaaaccatg      720
aaagagggca aaccgctttt aatcatcgct gaagacattg agggcgaagc tttaacgact      780
ctagtggatg ataaattaag aggcgtggtg aatatcgtag cggttaaagc tccaggcttt      840
ggggacagga gaaaagaaat gctcaaagac atcgctgttt taaccggcgg tcaagtcatt      900
agcgaagaat tgggcttgag tctagaaaac gctgaagtgg agtttttagg caaagccgga      960
aggattgtga ttgacaaaaga caacaccacg atcgtagatg gcaaaggcca tagcgatgat     1020
gttaaagaca gagtcgcgca aatcaaaacc caaattgcaa gcacgacaag cgattatgac     1080
aaagaaaaat tgcaagaaag gttggccaaa ctctctggcg gtgtggctgt gattaaagtg     1140
ggcgctgcga gtgaagtgga aatgaaagag aaaaaagacc gggatgatga cgcgttgagc     1200
    
```



ES 2 683 628 T3

```
gcgactaaag cggcgggtga agaaggcatt gtgattggcg gcggtgcggc tcttattcgc 1260
gcggctcaaa aagtgcattt gaatttacac gatgatgaaa aagtgggcta tgaaatcacc 1320
atgcgcgccca ttaaagcccc attagctcaa atcgcctatca atgccggtta tgatggcggt 1380
gtggtcgtga atgaagtaga aaaacacgaa gggcattttg gttttaacgc tagcaatggc 1440
aagtatgtgg acatgtttaa agaaggcatt attgacccct taaaagtaga aaggatcgct 1500
ttgcaaaatg cggtttcggt ttcaagcctg cttttaacca cagaagccac cgtgcatgaa 1560
atcaaagaag aaaaagcggc cccggcaatg cctgatatgg gtggcatggg cggtatggga 1620
ggcatgggcg gcatgatgta a 1641
```

<210> 13

<211> 265

5 <212> PRT

<213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> H. pylori 26695

10 <400> 13

ES 2 683 628 T3

Met Ile Leu Arg Ala Ser Val Leu Ser Ala Leu Leu Leu Val Gly Leu  
 1                                   5                                   10                                   15

Gly Ala Ala Pro Lys His Ser Val Ser Ala Asn Asp Lys Arg Met Gln  
                                   20                                   25                                   30

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

Ile Leu Glu Ile Lys Pro Leu Lys Ser Ser Gln Asp Leu Lys Met Val  
   50                                   55                                   60

Val Ile Glu Asp Pro Asp Thr Lys Tyr Asn Ile Pro Leu Val Val Ser  
 65                                   70                                   75                                   80

Lys Asp Gly Asn Leu Ile Ile Gly Leu Ser Asn Ile Phe Phe Ser Asn  
                                   85                                   90                                   95

Lys Ser Asp Asp Val Gln Leu Val Ala Glu Thr Asn Gln Lys Val Gln  
                   100                                   105                                   110

Ala Leu Asn Ala Thr Gln Gln Asn Ser Ala Lys Leu Asn Ala Ile Phe

ES 2 683 628 T3

115		120		125											
Asn	Glu	Ile	Pro	Ala	Asp	Tyr	Ala	Ile	Glu	Leu	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala
	130					135					140				
Ala	Asn	Lys	Asp	Lys	Ile	Leu	Tyr	Ile	Val	Ser	Asp	Pro	Met	Cys	Pro
145					150					155					160
His	Cys	Gln	Lys	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Arg	Asp	His	Leu	Lys	Glu	Asn
				165					170					175	
Thr	Val	Arg	Met	Val	Val	Val	Gly	Trp	Leu	Gly	Val	Asn	Ser	Ala	Lys
			180					185					190		
Lys	Ala	Ala	Leu	Ile	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Lys	Ala	Arg	Ala	Arg	Gly
		195					200					205			
Ala	Ser	Val	Glu	Asp	Lys	Ile	Ser	Ile	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr	Ser	Thr
	210					215						220			
Gln	Tyr	Asp	Ile	Asn	Ala	Gln	Lys	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Thr	Lys
225					230					235					240
Val	Glu	Asn	Thr	Thr	Lys	Lys	Ile	Phe	Glu	Ser	Gly	Val	Ile	Lys	Gly
				245					250					255	
Val	Pro	Phe	Leu	Tyr	His	Tyr	Lys	Ala							
			260					265							

<210> 14

<211> 798

<212> ADN

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> H. pylori 26695

<400> 14

ES 2 683 628 T3

```

atgatattaa gagegagtgt gttgagcgcg ttactttcttg taggcttagg ggcagcccct      60
aacattcag tttcagctaa tgacaaaacgg atgcaggata atttagtgag cgtgattgaa      120
aacagacca ataaaaaggt gcgtatttta gaaatcaaac ctttaaaatc tagccaggat      180
ttaaaaatgg tcgttattga agatccggac actaaataca atatcccgtc tgtggtgagt      240
aaggatggta atttaatcat agggcttagc aacatattct ttagcaataa aagcgatgat      300

gtgcaattag ttgcagaaac caatcaaaaa gttcaagctc ttaacgccac ccaacaaaat      360
agcgcgaaat tgaacgctat ttttaatgaa ataccggctg attatgcgat agagttgccc      420
tctactaacg ctgcaaataa ggataaaatc ctttatattg tctctgatcc catgtgccca      480
cattgccaaa aagagctcac taaacttagg gatcatttaa aagaaaacac cgtgagaatg      540
gtcgtggggtg ggtggcttgg ggtcaattca gctaaaaaag cggctttaat ccaagaagaa      600
atggcgaaag ctagggctag gggagcgagc gtggaagata agatctctat tcttgaaaag      660
at ttattcca cccaatacga tattaacgct caaaaagagc ctgaagattt acgcactaaa      720
gtggaaaata ccactaaaaa gatttttgaa tctggcgtga ttaagggtgt gcctttctta      780
taccattata aggcatga                                          798

```

<210> 15

<211> 325

<212> PRT

5 <213> H. pylori

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> H. pylori J99

<400> 15

ES 2 683 628 T3

Met Pro Thr Ile Asp Phe Thr Phe Cys Glu Ile Asn Pro Lys Lys Gly  
 1 5 10 15

Phe Gly Gly Ala Asn Gly Asn Lys Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Asn Glu  
 20 25 30

Leu Tyr Met Val Lys Phe Pro Pro Lys Pro Ser Thr His Lys Glu Met  
 35 40 45

Ser Tyr Thr Asn Gly Cys Phe Ser Glu Tyr Val Ala Cys His Ile Val  
 50 55 60

Asn Ser Leu Gly Leu Lys Val Gln Glu Thr Leu Leu Gly Thr Tyr Lys  
 65 70 75 80

Asn Lys Ile Val Val Ala Cys Lys Asp Phe Thr Thr His Gln Tyr Glu  
 85 90 95

Leu Val Asp Phe Leu Ser Leu Lys Asn Thr Met Ile Glu Leu Glu Lys  
 100 105 110

ES 2 683 628 T3

Ser Gly Lys Asp Thr Asn Leu Asn Asp Val Leu Tyr Ala Ile Asp Asn  
 115 120 125

Gln His Phe Ile Glu Pro Lys Val Leu Lys Cys Phe Phe Trp Asp Met  
 130 135 140

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

Trp Gly Phe Leu Arg Ala Ser Asn Ser Lys Glu Tyr Gln Ile Ala Pro  
 165 170 175

Ile Phe Asp Cys Gly Ser Cys Leu Tyr Pro Gln Ala Asp Asp Val Val  
 180 185 190

Cys Gln Lys Val Leu Ser Asn Ile Asp Glu Leu Asn Ala Arg Ile Tyr  
 195 200 205

Asn Phe Pro Gln Ser Ile Leu Lys Asp Asp Asn Asp Lys Lys Ile Asn  
 210 215 220

Tyr Tyr Asp Phe Leu Thr Gln Thr Asn Asn Lys Asp Cys Leu Asp Ala  
 225 230 235 240

Leu Leu Arg Ile Tyr Pro Arg Ile Asp Met Asn Lys Ile His Ser Ile  
 245 250 255

Ile Asp Asn Thr Pro Phe Met Ser Glu Ile His Lys Glu Phe Leu His  
 260 265 270

Thr Met Leu Asp Glu Arg Lys Ser Lys Ile Ile Asp Val Ala His Thr  
 275 280 285

Arg Ala Ile Glu Leu Ser Leu Gln His Lys Gln Ala His Ser Asn Pro  
 290 295 300

Tyr Asp Asn Ala Asp Asp Leu Asp Asn Ser Asn Glu Tyr Thr Pro Thr  
 305 310 315 320

Pro Lys Arg Arg Arg  
 325

<210> 16

<211> 978

<212> ADN

5 <213> H. pylori

ES 2 683 628 T3

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> H. pylori J99

<400> 16

```

atgccaacca ttgattttac tttttgtgag attaaccccta aaaaaggttt tgggggagca      60
aatggaaata aaattagctt attttataat aatgaactct acatgggtcaa attccccctt      120
aagccttcta cacataaaga aatgtcctat accaatgggtt gttttagtga atatgtagca      180
tgtcatatag tcaatagctt aggcttaaag gttcaagaaa cattgctagg cacttataaa      240
aataaaatcg tggttgcttg taaagatttt accacccttc aatcgcgagct tgtagatttt      300
ctaagtctaa aaaatactat gattgaatta gaaaaatcag gcaaagacac taatttgaat      360
gatgtgcttt atgcataga taaccagcat tttattgagc caaaagtttt aaaatgtttc      420
ttttgggata tgttttagtc agatacattg ctaggtaatt ttgataggca taatggtaat      480
tgggggttct taagagcctc aaattcaaaa gaatatcaaa tagctcccat ttttgattgt      540
ggctcttgtc tataccccca agctgatgat gtgggatgcc aaaaagtttt aagtaatatt      600
gatgaactca atgcaaggat ttataatttc ccccaatcta tcttaaaaga tgacaacgat      660
aaaaaaatta actactatga tttcttaact caaaccaata ataaagattg ccttgatgca      720
ctacttagga tatacccacg catagatatg aataaaatcc attcaattat tgataacaca      780
ccctttatga gcgaaataca caaagaattt ttacatacaa tgcttgatga aagaaaatca      840
aagattatag atgtagcaca cactagagct attgagttat cttacaaca caaacaagct      900
cactcaaacc cttatgacaa cgcagatgat ttagacaatt ccaatgaata cccccca      960
cctaagcgta gacgataa

```

5

<210> 17

<211> 476

<212> PRT

<213> H. pylori

10

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> cepa H. pylori G27

<400> 17

```

Met Met Lys Lys Thr Leu Phe Ile Ser Leu Ala Leu Ala Leu Ser Leu
1           5           10           15

```

ES 2 683 628 T3

Asn Ala Gly Asn Ile Gln Ile Gln Asn Met Pro Lys Val Lys Glu Arg  
 20 25 30  
 Val Ser Val Pro Ser Lys Asp Asp Thr Ile Tyr Ser Tyr His Asp Ser  
 35 40 45  
 Ile Lys Asp Ser Ile Lys Ala Val Val Asn Ile Ser Thr Glu Lys Lys  
 50 55 60  
 Ile Lys Asn Asn Phe Ile Gly Gly Gly Val Phe Asn Asp Pro Phe Phe  
 65 70 75 80  
 Gln Gln Phe Phe Gly Asp Leu Gly Gly Met Ile Pro Lys Glu Arg Met  
 85 90 95  
 Glu Arg Ala Leu Gly Ser Gly Val Ile Ile Ser Lys Asp Gly Tyr Ile  
 100 105 110  
 Val Thr Asn Asn His Val Ile Asp Gly Ala Asp Lys Ile Lys Val Thr  
 115 120 125  
 Ile Pro Gly Ser Asn Lys Glu Tyr Ser Ala Thr Leu Val Gly Thr Asp  
 130 135 140  
 Ser Glu Ser Asp Leu Ala Val Ile Arg Ile Thr Lys Asp Asn Leu Pro  
 145 150 155 160  
 Thr Ile Lys Phe Ser Asp Ser Asn Asp Ile Ser Val Gly Asp Leu Val  
 165 170 175  
 Phe Ala Ile Gly Asn Pro Phe Gly Val Gly Glu Ser Val Thr Gln Gly  
 180 185 190  
 Ile Val Ser Ala Leu Asn Lys Ser Gly Ile Gly Ile Asn Ser Tyr Glu  
 195 200 205  
 Asn Phe Ile Gln Thr Asp Ala Ser Ile Asn Pro Gly Asn Ser Gly Gly  
 210 215 220  
 Ala Leu Ile Asp Ser Arg Gly Gly Leu Val Gly Ile Asn Thr Ala Ile  
 225 230 235 240  
 Ile Ser Lys Thr Gly Gly Asn His Gly Ile Gly Phe Ala Ile Pro Ser  
 245 250 255



ES 2 683 628 T3

Asn Met Val Lys Asp Ile Val Thr Gln Leu Ile Lys Thr Gly Lys Ile  
 260 265 270

Glu Arg Gly Tyr Leu Gly Val Gly Leu Gln Asp Leu Ser Gly Asp Leu  
 275 280 285

Gln Asn Ser Tyr Asp Asn Lys Glu Gly Ala Val Val Ile Ser Val Glu  
 290 295 300

Lys Asp Ser Pro Ala Lys Lys Val Gly Ile Leu Val Trp Asp Leu Ile  
 305 310 315 320

Thr Glu Val Asn Gly Lys Lys Val Lys Asn Thr Asn Glu Leu Arg Asn  
 325 330 335

Leu Ile Gly Ser Met Leu Pro Asn Gln Arg Val Thr Leu Lys Val Ile  
 340 345 350

Arg Asp Lys Lys Glu Arg Thr Phe Thr Leu Thr Leu Ala Glu Arg Lys  
 355 360 365

Asn Pro Asn Lys Lys Glu Thr Ile Ser Ala Gln Asn Gly Ala Gln Gly  
 370 375 380

Gln Leu Asn Gly Leu Gln Val Glu Asp Leu Thr Gln Lys Thr Lys Arg  
 385 390 395 400

Ser Met Arg Leu Ser Asp Asp Val Gln Gly Val Leu Val Ser Gln Val  
 405 410 415

Asn Glu Asn Ser Pro Ala Glu Gln Ala Gly Phe Arg Gln Gly Asn Ile  
 420 425 430

Ile Thr Lys Ile Glu Glu Ile Glu Val Lys Ser Val Ala Asp Phe Asn  
 435 440 445

His Ala Leu Glu Lys Tyr Lys Gly Lys Pro Lys Arg Phe Leu Val Leu  
 450 455 460

Asp Leu Asn Gln Gly Tyr Arg Ile Ile Leu Val Lys  
 465 470 475

<210> 18

<211> 1431

<212> ADN

5 <213> H. pylori

ES 2 683 628 T3

<220>

<221> CARACTERÍSTICA\_MISC

<223> H. pylori G27

<400> 18

```

atgatgaaaa aaaccctttt tatctctttg gcttttagcgt taagcttgaa tgcgggcaat    60
atccaaatcc aaaacatgcc caaagttaa gagcgagtga gtgtcccctc taaagacgat    120
acgatctatt cttaccacga ttctattaag gattcggatta aagcgggtggt gaatatctct    180
actgaaaaga agattaaaaa caatthtata ggtggcgggtg tgtttaatga cccctthttc    240
caacaattht ttggggattt gggcggcatg atccctaaag aaagaatgga aagggtthta    300
ggcagcggcg taatcatttc taaagatggc tatattgtaa ctaacaacca tgtgattgat    360
ggtgcgata agattaaagt taccattcca gggagcaata aagagtattc cgctacttta    420
gtaggcaccg attctgaaag cgatttagcc gtgattcgca tcaactaaaga caatctgcc    480
accatcaaat tctctgattc taacgatatt tcagtggcg atttggtttt tgcgattggt    540
aacctthttg gcgtgggtga aagcgttact caaggcattg tttcagcgt caataaaagc    600
gggattggga tcaacagcta tgaaaatttc attcaaacag acgcttccat caatctgga    660
aattccggcg gcgctthta tgatagcgt ggagggtag tggggatcaa taccgccatt    720
atctctaaaa cgggggcaa ccacggcatt ggctthgcca tcccttctaa catggthtaa    780
gatattgtaa cccaactcat caaaaccggt aagattgaaa gaggttactt gggcgtgggc    840
ttgcaagatt tgagcggcga tttgcaaat tcttatgaca ataaagaagg ggcggtagtc    900
attagcgtag aaaaagactc tccggctaaa aaagtaggga ttttggtgtg ggatttgatc    960
actgaagtca atgggaaaaa ggttaaaaac acgaatgagt taagaaatct aatcggtctc   1020
atgctacca atcaaagagt aaccttaaaa gtcattagag acaaaaaaga acgcactthc   1080
acctcactc ttgctgaaag gaaaaacct acaaaaaag aaaccatttc tgctcaaac   1140
ggcgcgcaag gccaatgaa cgggcttcaa gtagaagatt taacccaaaa aaccaaaagg   1200
tctatgcgtt tgagcgtatg tgttcaagg gttttagtct ctcaagtga tgaaaattcc   1260
ccagcagagc aagctggctt taggcaaggc aatatcatca caaaaattga agagattgaa   1320
gtgaaaagcg ttgcggattt taaccatgct ttagaaaagt ataaaggcaa acccaaacga   1380
ttcttagttt tagattgaa tcaaggttat aggatcattt tggtgaaatg a           1431

```

5

<210> 19

<211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

<220>  
 <223> Sintética  
 <400> 19  
 catatggcaa taggttcatt aa 22  
 5 <210> 20  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 10 <223> Sintética  
 <400> 20  
 ctcgagattc ttttagccg ctgc 24  
 <210> 21  
 <211> 20  
 15 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Cebador  
 <400> 21  
 20 agctcattag ggcttggcag 20  
 <210> 22  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 25 <220>  
 <223> Cebador  
 <400> 22  
 gctcgcgctc aacgcatc 18  
 <210> 23  
 30 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>

ES 2 683 628 T3

<223> Cebador  
<400> 23  
atcacggacg ctaccaatgg 20  
<210> 24  
5 <211> 20  
<212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador  
10 <400> 24  
agggactca tgcattgctcc 20  
<210> 25  
<211> 21  
<212> ADN  
15 <213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador  
<400> 25  
cacagacgct atcattcaag c 21  
20 <210> 26  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
25 <223> Cebador  
<400> 26  
cccgtgatc acatcattga c 21  
<210> 27  
<211> 21  
30 <212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador

ES 2 683 628 T3

<400> 27  
cgctaacctc atagatggag g 21  
<210> 28  
<211> 19  
5 <212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador  
<400> 28  
10 taagcggcaa agcgctccg 19

**REIVINDICACIONES**

1. Un método de detección de la infección por *H. pylori* en un sujeto, en el que el método comprende detectar en una muestra del sujeto una respuesta inmune contra FliD, en el que la respuesta inmune comprende un anticuerpo anti-FliD, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con FliD o un fragmento de la misma, en el que el fragmento tiene una secuencia de aminoácidos que es lo suficientemente larga como para identificar el fragmento que es un fragmento de FliD y para excluir que el fragmento es un fragmento de una proteína o polipéptido diferente de FliD.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el método comprende hacer reaccionar la muestra con FliD de longitud completa o un fragmento de la misma, en el que el fragmento es un fragmento cuya secuencia de aminoácidos es más corta que la secuencia de aminoácidos de FliD de longitud completa, por lo que el fragmento aún está activo como factor de virulencia.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-FliD es un anticuerpo IgG y/o un anticuerpo IgA.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la detección se produce por medio de un ELISA, un ensayo de flujo lateral o un ensayo lineal.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el método comprende además detectar uno o más antígenos de *Helicobacter*, preferiblemente de *H. pylori*, en el que uno o más antígenos se selecciona (n) del grupo que consiste en CagA, VacA, GroEL, Hp 0231, JHp 0940 y HtrA.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la muestra se selecciona del grupo que consiste en suero sanguíneo, plasma sanguíneo, sangre completa y heces.
7. Uso de un kit que comprende FliD o un fragmento de la misma y al menos un constituyente adicional, en un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el fragmento tiene una secuencia de aminoácidos que es lo suficientemente larga como para identificar el fragmento que es un fragmento de FliD y excluir que el fragmento es un fragmento de una proteína o polipéptido diferente de FliD, y en el que el al menos un constituyente adicional se selecciona del grupo que consiste en una solución reguladora, una fase sólida y un prospecto de instrucciones.
8. El uso de la reivindicación 7, en el que el kit comprende FliD de longitud completa o un fragmento de la misma, en el que el fragmento es un fragmento cuya secuencia de aminoácidos es más corta que la secuencia de aminoácidos de FliD de longitud completa, por lo que el fragmento todavía está activo como factor de virulencia
9. Un kit apropiado para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprendiendo dicho kit FliD de longitud completa o un fragmento de la misma y al menos un constituyente adicional, en el que el fragmento es un fragmento cuya secuencia de aminoácidos es más corta que la secuencia de aminoácidos de FliD de longitud completa, por lo que el fragmento todavía está activo como factor de virulencia, y en el que el al menos un constituyente adicional se selecciona del grupo que consiste en una solución reguladora, una fase sólida y un prospecto de instrucciones.

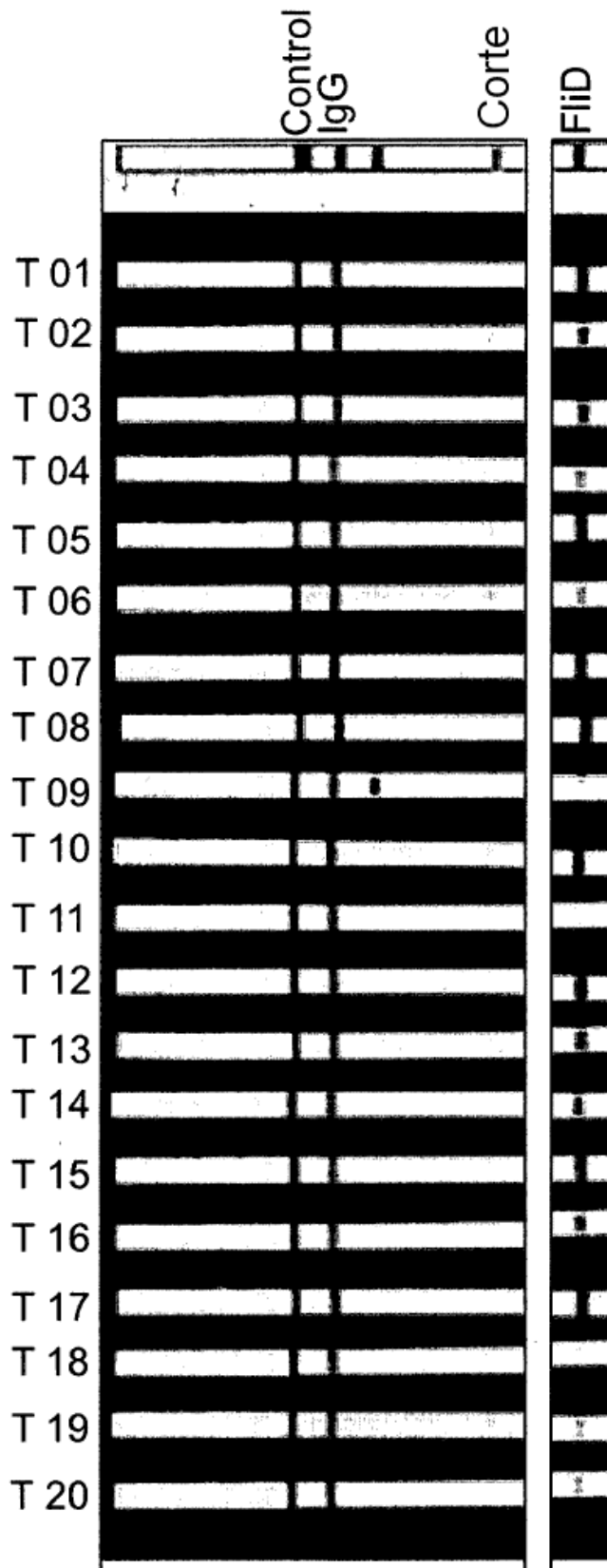
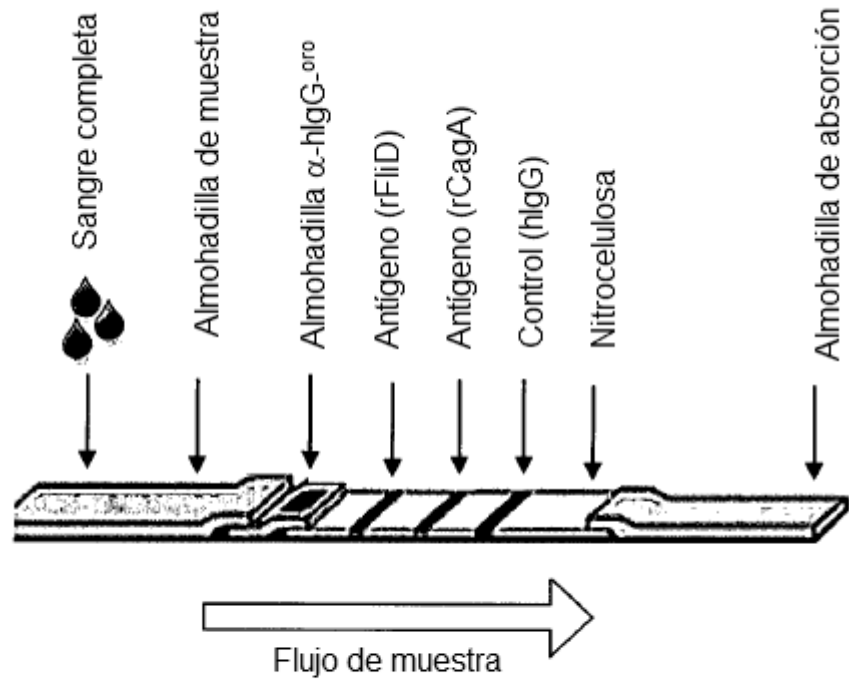
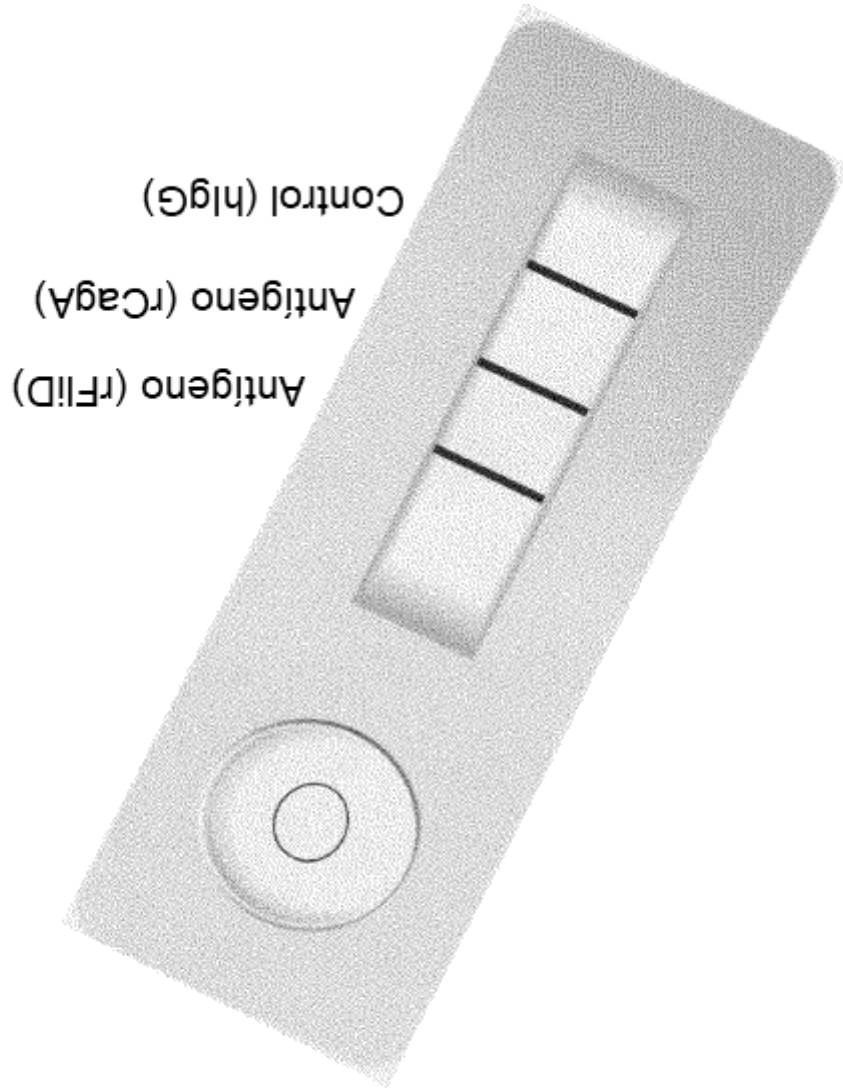


Fig. 1

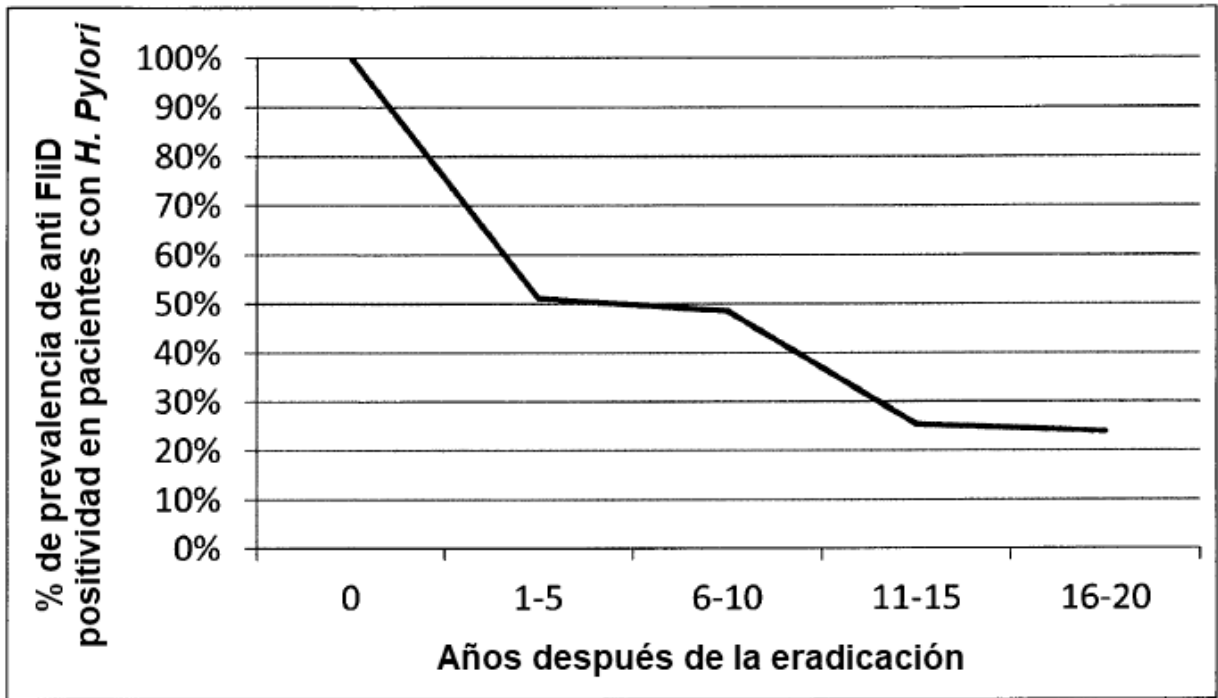


**Fig. 2A**





**Fig. 2B**



**Fig. 3**

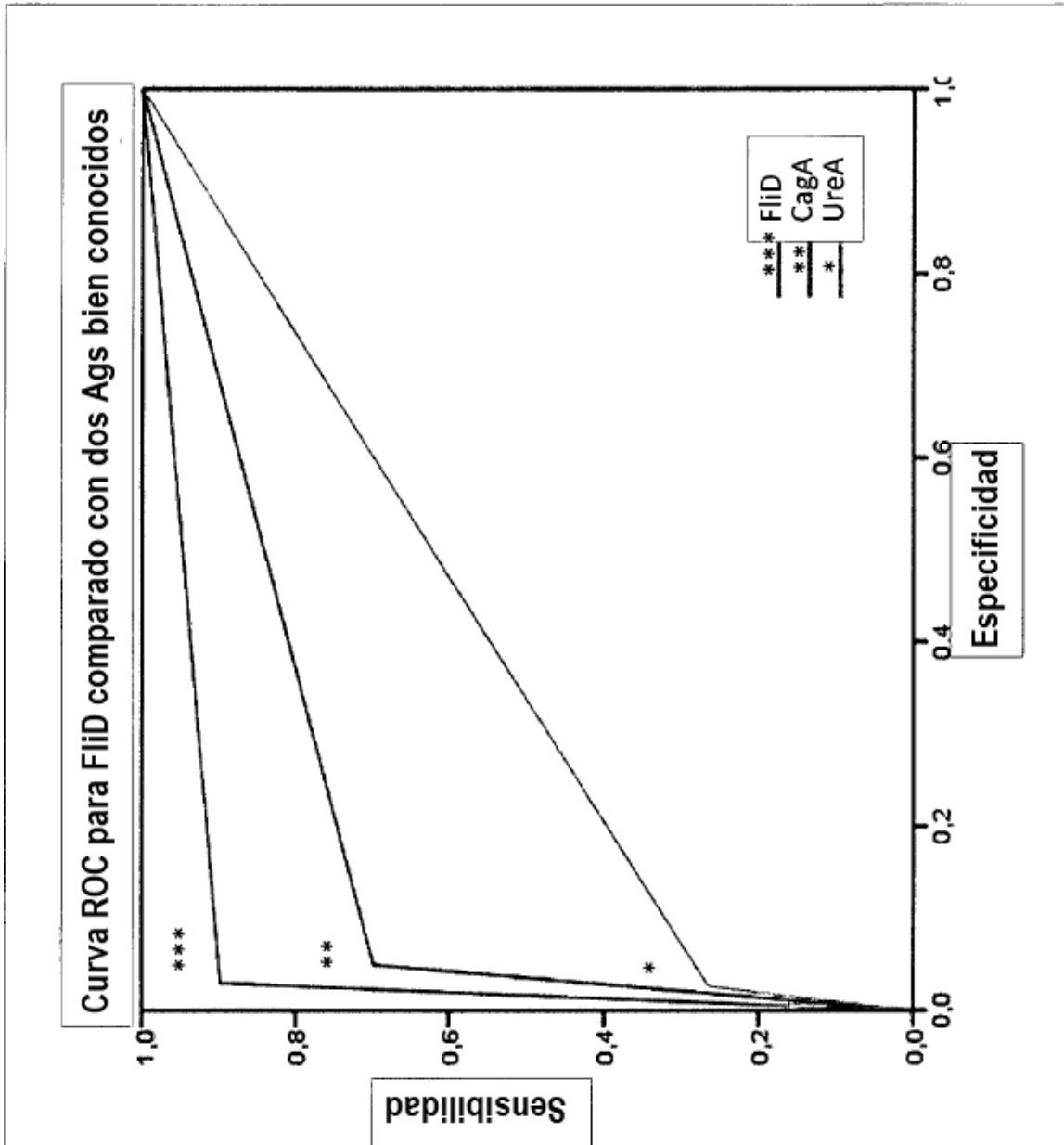


Fig. 4

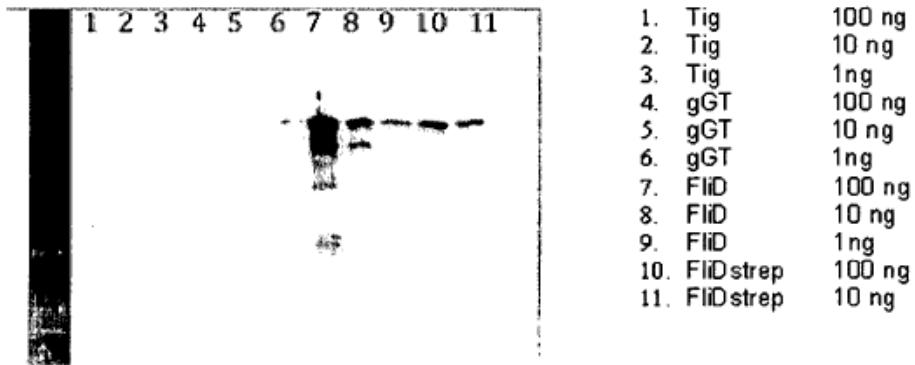


Fig. 5



Fig. 6

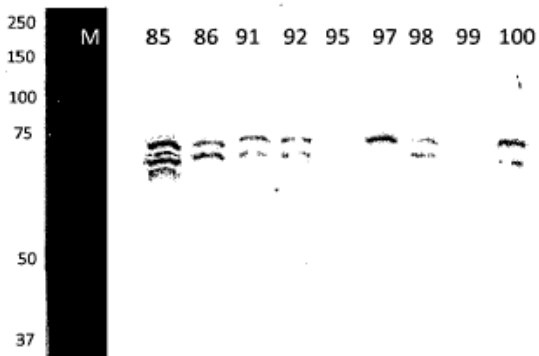
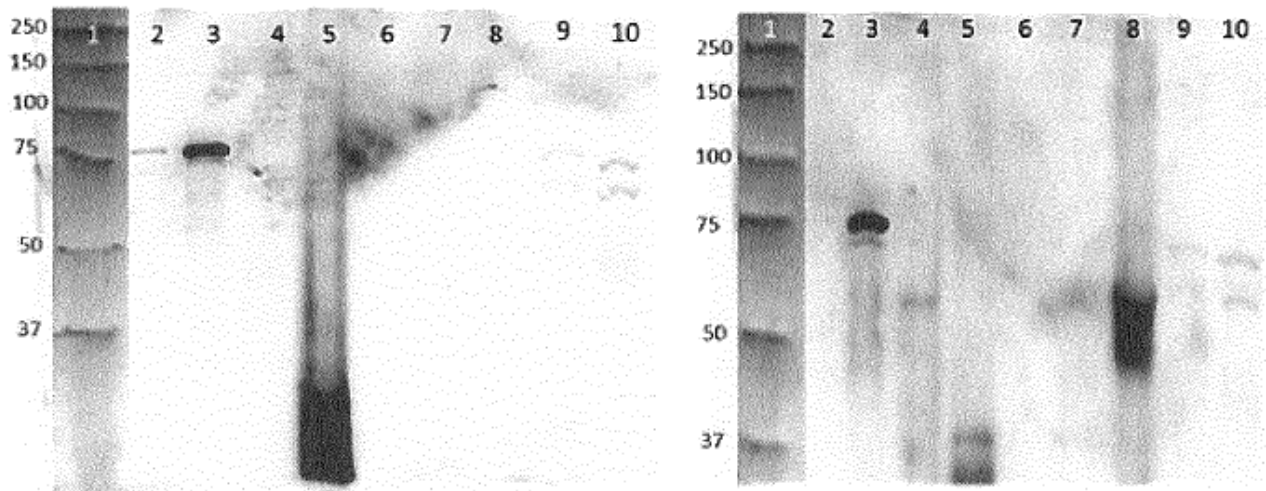


Fig. 7



1. Marcador de proteína (KD)
2. *Rec. FliD (w. strep.tag)*
3. *Rec. FliD*
4. *Paeruginosa(ATCC 27813)*
5. *Klebsiella oxytoca (ATCC 700324)*
6. *Candida albicans (ATCC 90028)*
7. *Entrococcus faecalis (ATCC 29292)*
8. *Strep. Grupo A (ATCC 19615)*
9. *H. Pylori pos. Ctrl.*
10. *H. Pylori pos. Ctrl.*

1. Marcador de proteína (KD)
2. *Rec. FliD (w. strep.tag)*
3. *Rec. FliD*
4. *S.thyphimurium (ATCC 13311)*
5. *S.aureus (ATCC 25923)*
6. *S.epidermidis (ATCC 18228)*
7. *H.influenzae (ATCC 49247)*
8. *E.coli (ATCC 25922)*
9. *H. Pylori pos. Ctrl.*
10. *H. Pylori pos. Ctrl.*

**Fig. 8**