

Documentos

PROFILAXIS DE SEPSIS NEONATAL PRECOZ POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B) BASADA EN VACUNAS: REVISIÓN DE LA LITERATURA

Lorena Campodónico O. ¹, Adriana Doren V. ^a, Magdalena Cruz O. ^a, Fernando Abarzúa C. ²

¹ Programa de Obstetricia y Ginecología, Universidad Peruana Cayetano Heredia. ² Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

^a Interna de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

RESUMEN

El *Streptococcus agalactiae* o grupo B (SGB), es el principal agente de sepsis neonatal precoz. A pesar de los intentos de prevención de esta infección, aún no se logra la efectividad esperada. Es por esto que se ha intentado desarrollar una vacuna que pueda prevenir la mayoría de las patologías que esta bacteria produce, incluyendo la sepsis neonatal precoz y tardía. De esta manera se evitarían las limitaciones actuales de la profilaxis antibiótica. Los intentos de crear una vacuna han incluido la utilización de polisacáridos del SGB tanto puros como asociados a proteínas como el toxoide tetánico. También, se han usado proteínas específicas de la cápsula que tienen potencial efectividad como factores inmunogénicos. Las vacunas conjugadas son las más estudiadas en la actualidad, habiendo completado estudios clínicos en fase II, tanto en adultos sanos como en embarazadas. Al ser la sepsis neonatal una complicación grave aún no controlada óptimamente, la creación de una vacuna contra este patógeno sería de gran impacto en salud pública. Se presentan los diferentes tipos de vacunas desarrolladas y el estado de avance en el que se encuentran.

PALABRAS CLAVE: *Streptococcus agalactiae, sepsis neonatal precoz, vacuna*

SUMMARY

Streptococcus agalactiae or group B, is the mayor causing agent of early onset neonatal sepsis. Although mayor prevention strategies have been made, the expected effectiveness hasn't been achieved. That's why efforts have been made to develop a vaccine that can prevent most of the diseases these bacteria can produce, including early and late onset neonatal sepsis. These way, actual antibiotic prophylaxis limitations can be avoided. Attempts include the utilization of *Streptococcus* group B polysaccharides in their pure state or combined with proteins as tetanic toxoid. Specific capsule proteins have been used also because of their potential effectiveness as immunogenic factors. Overall vaccines conjugated ones are the most studied, having completed phase II clinical trials in healthy adults and pregnant women. Neonatal sepsis is a severe complication that has not been controlled yet, so the creation of a vaccine against this pathogen would be of great impact in public health. We introduce now the different developed vaccines and their state of progress.

KEY WORDS: *Streptococcus agalactiae, early neonatal sepsis, vaccine*

INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus* grupo B (SGB) es un diplococo gram positivo que infecta fundamentalmente a pacientes en edades extremas de la vida, siendo una causa importante de morbimortalidad en los recién nacidos. En las últimas décadas esta bacteria ha jugado un rol preponderante en la sepsis neonatal precoz en el mundo, sobretodo en prematuros (1,2), asociándose a una letalidad entre 5 y 20% en países desarrollados y a un importante porcentaje de secuelas, principalmente neurológicas (30%) (3). Si bien el SGB suele ser asintomático en las madres, puede ser causante de infección del tracto urinario, endometritis, corioamnionitis, rotura prematura de membranas, sepsis, y rara vez, meningitis (4,5).

Aproximadamente el 20% de las embarazadas, tanto en Chile como en el mundo, presentan colonización vaginal – anal por SGB (6-9). La transmisión vertical se produce principalmente durante el trabajo de parto. Uno a 2% de los recién nacidos de madres portadoras desarrollarán sepsis (3).

Debido al alto impacto del SGB en la morbimortalidad de los recién nacidos se han desarrollado múltiples estrategias de prevención de sepsis neonatal basadas en el tratamiento antibiótico intraparto, ya sea según tamizaje para colonización o en base a factores de riesgo (1,10,11). La recomendación actual del Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), por considerarse la más costo efectiva (12,13), consiste en administrar profilaxis antibiótica durante el parto a todos los partos prematuros o aquellas embarazadas tanto con urocultivo positivo a SGB como con antecedente de sepsis neonatal previa por SGB; si la paciente llega a término sin esos antecedentes se debe realizar un cultivo vaginal-anal, que de resultar positivo para SGB debe llevar a la administración de antibióticos intraparto (13,14). Con este método se lograría reducir la incidencia de infección neonatal en alrededor del 80 a 90% (3,4,13,15-20).

A pesar del gran avance en la prevención de la sepsis por SGB, ha surgido preocupación con respecto a la administración de antibióticos intraparto ya que no está exenta de complicaciones. Se debe considerar que es un procedimiento intravenoso, de alto costo, que podría desarrollar resistencia a este patógeno y, asimismo, constituir un riesgo materno por reacciones adversas a drogas. Además, una misma mujer puede llegar a requerir profilaxis en más de un parto. Por lo demás, si bien es cierto

que reduce la aparición de sepsis neonatal precoz, se ha visto que la incidencia de sepsis neonatal tardía permanece invariable, al igual que la tasa de óbitos y partos prematuros asociados a SGB (21-24). Por esta razón, se han buscado estrategias de prevención alternativas como la implementación de vacunas que produzcan inmunogenicidad de larga duración tanto en las madres como en sus neonatos.

Vacuna anti *Streptococcus* grupo B

La investigación se ha enfocado en obtener una vacuna que sea universalmente efectiva, segura y logre una inmunogenicidad adecuada y duradera capaz de prevenir la mayoría de las infecciones neonatales, incluyendo la sepsis precoz y tardía. Esto ha constituido un gran reto para los investigadores porque hay distintos serotipos de SGB con diferentes distribuciones geográficas. En Estados Unidos, se ha visto que los serotipos más frecuentemente asociados a enfermedad neonatal son el tipo Ia (40%), tipo III (30%), y más recientemente, el tipo V (15%). El porcentaje restante corresponde principalmente a los serotipos Ib y II (1,25,26). En Chile, los serotipos más prevalentes son el Ia, II y III, siendo el tipo III el más frecuentemente asociado a colonización vaginal en embarazadas y sepsis neonatal (27-29).

En la década del 30 se iniciaron los primeros estudios acerca de los antígenos del SGB y su posible participación en la inducción de inmunidad (30). La superficie del *Streptococcus agalactiae* es de gran importancia en la patogénesis de este microorganismo pues en ella se encuentran estructuras encargadas de proveer defensa y virulencia a la bacteria, permitiendo por ejemplo la adhesión, invasión e injuria directa a los tejidos blanco. Está constituida principalmente por una cubierta polisacárida que posee insertas dentro de ésta una variedad de proteínas. Los dos principales polisacáridos de superficie son el carbohidrato grupo B y el polisacárido capsular (CPS) (31). El carbohidrato grupo B es común a todas las cadenas, no posee factor de virulencia y ha demostrado ser un mal candidato para el desarrollo de vacunas (32-34). El CPS, en cambio, es específico para cada serotipo. El desarrollo de vacunas se basa principalmente en dos estrategias que apuntan a antígenos específicos para cada serotipo presentes en el *Streptococcus*: los CPS y las proteínas de membrana (Tabla I).

Tabla I
ESTUDIOS DE POTENCIALES ANTÍGENOS PARA SU USO COMO VACUNAS (35)

Vacunas con polisacáridos	Estudio Preclínico	Estudio Clínico
Ag. Grupo B	Sí	No
Ia	Sí	Fase 1 y 2
Ib	Sí	Fase 1 y 2
II	Sí	Fase 1 y 2
III	Sí	Fase 1 y 2
V	Sí	Fase 1
VI	Sí	No
VIII	Sí	No
Vacunas con proteínas capsulares		
C alfa	Sí	No
C beta	Sí	No
C epsilon	No	No
Rib	Sí	No
R	No	No
Simil – alfa tipo V/VIII	Sí	No
C5a peptidasa	Sí	No
Sip	Sí	No

Vacunas de polisacáridos: Los anticuerpos maternos contra los polisacáridos capsulares específicos de la bacteria serían protectores; sin embargo, muchas de las mujeres colonizadas no tienen niveles suficientes de anticuerpos al momento del parto, existiendo una correlación directamente proporcional entre los niveles de inmunoglobulina G (IgG) contra CPS y la edad materna (36). A su vez, el riesgo de sufrir infección en el recién nacido, es inversamente proporcional a los niveles de anticuerpos contra el CPS encontrados en el suero materno, ya que éstos cruzan la barrera placentaria (37). Sería por esta razón que los neonatos de madres adolescentes tendrían mayor riesgo de presentar sepsis por SGB.

En la década del 70 se demostró que los anticuerpos contra los polisacáridos capsulares protegían pasivamente a animales de laboratorio expuestos a *Streptococcus agalactiae* (38). Estas observaciones llevaron a la producción de polisacáridos purificados, que se probaron por primera vez en humanos en la década del 80, demostrando

ser seguros, pero de baja inmunogenicidad, que alcanzó sólo el 60% (34). Se estudió en mujeres cursando el tercer trimestre de embarazo una vacuna de CPS tipo III no conjugada que mostró ser segura y evidenció el traspaso de IgG al feto, al comprobar niveles de anticuerpo en la sangre del cordón umbilical, pero la respuesta inmune lograda fue baja y similar a la observada en personas no embarazadas (34).

Algunos ensayos mejoraron la eficacia conjugando los preparados de CPS a proteínas transportadoras mediante unión covalente. Algunos de los transportadores usados han sido el toxoide tetánico, una proteína inmunogénica capaz de inducir respuesta en los linfocitos T; y la subunidad recombinante de la toxina B del cólera (CTB) que se administra intranasalmente para aumentar la respuesta inmunogénica en la mucosa (39). Nuevos estudios clínicos en fase I sugieren que la mutación del toxoide de la difteria, o CRM₁₉₇, podría lograr también una adecuada respuesta (40).

Se ha testeado preclínicamente en forma separada cada uno de los nueve serotipos combinados con toxoide, pero no ha existido respuesta cruzada. En modelos animales solamente se han podido combinar exitosamente en forma simultánea cuatro serotipos del toxoide (tipos Ia, Ib, II y III) (17). En humanos se ha probado la vacuna bivalente de serotipos II y III asociado a toxoide tetánico, con respuesta inmunogénica equivalente a la obtenida con vacunas monovalentes (41).

Siendo el toxoide tetánico seguro y eficiente al ser administrado como vacuna a embarazadas, se realizó un nuevo estudio en gestantes cursando el tercer trimestre con vacuna monovalente para el serotipo III, pero esta vez conjugada con toxoide, que mostró buena tolerancia y una producción de anticuerpos capaz de prevenir enfermedad (42). En estudios de seguimiento se ha comprobado que los anticuerpos se traspasan al feto, y éstos perduran incluso hasta los 2 meses de vida (40).

No obstante ninguna proteína transportadora ha demostrado ser ideal, ya que estas son dosis-dependientes y se necesitaría alguna que permita la conjugación con el mayor número de polisacáridos con poca cantidad de la misma. Además, es necesario crear una vacuna multivalente contra al menos los cinco serotipos más prevalentes, lo cual hasta ahora no se ha logrado.

Otras proteínas en estudio para su utilización en vacunas conjugadas, son el antígeno anti core recombinante antihepatitis B de pato y microesferas biodegradables conteniendo CPS tipo III y un potente adyuvante inmunoestimulante sintético, las cuales tienen respuesta sistémica y local; por tanto podrían administrarse por vía oral, vaginal, intramuscular e intranasal.

Vacunas con proteínas de SGB: El uso de las proteínas de membrana del SGB confiere grandes ventajas pues las vacunas no necesitarían ser polivalentes al encontrarse éstas presentes en la mayoría de las cadenas. Estudios sugieren que estas proteínas en combinación con polisacáridos de cualquier serotipo actuarían como adyuvantes para estimular la producción de anticuerpos (43). Es por esta razón que se ha preferido utilizar como transportador de las vacunas conjugadas con CPS estas proteínas por sobre otras ajenas a la composición del SGB, como el toxoide tetánico.

Una de la proteínas utilizadas ha sido la C5a peptidasa, una serin-proteasa ubicada en la superficie celular que inactiva la C5a, un potente quimiotáctico de neutrófilos. Un estudio en ratones utilizando C5a peptidasa en conjunto con CPS de serotipo VI mostró un aumento en el clearance del SGB en los pulmones, lo que indicaría una poten-

cial acción inmunogénica (43). Por otro lado, se ha observado que esta proteína tiene capacidad opsonica y promueve la fagocitosis del SGB por parte de los macrófagos (44).

El componente β de la proteína C produce respuesta inmunogénica en modelos animales cuando se administra conjugada a CPS tipo III (45). Otras proteínas en estudio son la LmbP (laminin binding protein) y la LrrG (leucine rich repeat protein), ambas presentes en todas las cadenas de SGB, cuya utilidad como parte de una vacuna aún no ha sido dilucidada (46).

Una de las proteínas de superficie que parece ser más promisorias es la Sip (surface immunogenic protein), que ha sido identificada en todo los serotipos y eficientemente reconocida por anticuerpos específicos. En ratones se ha reportado protección cruzada contra varios serotipos, lo que demostró la gran potencialidad del Sip como candidata a una vacuna universal (47). Se ha estudiado que las mujeres embarazadas poseen naturalmente anticuerpos contra esta proteína, siendo mayor la concentración cuando éstas se encuentran colonizadas por SGB o cuando hay antecedentes de embarazos previos. Esta evidencia sugiere que a mayor exposición a SGB mayor respuesta inmunogénica, y su vez, existiría una relación lineal entre los niveles de anticuerpos maternos y los del neonato (48). En estos recién nacidos los niveles de anticuerpos persistieron elevados hasta los 2 meses de vida. A diferencia de los anticuerpos contra los polisacáridos, los contra el Sip no se correlacionan con la edad materna. Por todos estos motivos, nuevamente Sip parece ser una candidata ideal para el desarrollo de una vacuna futura.

Perspectivas futuras

Debido al parcial éxito logrado con las técnicas convencionales para la creación de una vacuna contra SGB, se han intentado nuevas estrategias basadas en la secuencia genómica de esta bacteria.

En Julio de 2005, Maione y cols (49), publicaron el análisis del genoma de ocho cadenas de SGB que representaban a cinco serotipos (Ia, Ib, II, III y V) identificando proteínas capsulares y secretoras, las cuales se podrían utilizar para la producción de anticuerpos en forma recombinante. De todas las proteínas identificadas, 312 fueron estudiadas como potenciales vacunas. De éstas, sólo cuatro resultaron ser inmunogénicas en ratones: la proteína Sip y tres correspondientes a proteínas de anclaje que forman parte de estructuras similares a los pili. Estas vacunas combinadas eran altamente

Tabla II
ESTADO ACTUAL DEL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA EL SGB: VACUNAS DE POLISACÁRIDOS (55)

Tipos	Ventajas	Limitación
Tipo III no modificada	Segura y bien tolerada en estudio fase I (34).	Sólo 60% de respuesta inmunogénica.
Conjugada tipo III	Mayor inmunogenicidad al acoplarse a proteína inmunogénica (toxóide tetánico).	Deben ser multivalentes para proveer suficiente cobertura.
Conjugada serotipos: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII y VIII.	Estudios preclínicos favorables (56-60).	Deben ser multivalentes para proveer suficiente cobertura.
Conjugada bivalente (tipo II y III).	Bien tolerada.	Se requieren más estudios para evaluar interferencia cuando se administran vacunas con distintos serotipos (26, 61).
Conjugada multivalente (tipo Ia, Ib, II, III y V)	Incluiría los cinco serotipos más frecuentes en Estados Unidos (1,25,26).	Puede no ser efectiva en otras regiones del mundo, que tengan distinta prevalencia de serotipos.

Tabla III
ESTADO ACTUAL DEL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA EL SGB: VACUNAS CON PROTEÍNAS CAPSULARES (55)

Tipos	Ventajas	Limitación
C5a peptidasa	Proteína presente en todos los serotipos, sin variabilidad antigénica. Al conjugarse con CPS induce anticuerpos opsónicamente activos (44).	Progreso hacia potencial vacuna desconocido.
Componente de proteína C	Produce inmunidad en modelos animales (62).	Proteína presente sólo en el 20% de los serotipos.
LmbP	Presente en la mayoría de los serotipos	Progreso hacia potencial vacuna desconocido (63).
Sip	Presente en todos los serotipos. Induce respuesta inmunogénica en modelos animales y respuesta cruzada (47,48).	Función biológica no bien dilucidada.
LrrG	Induce protección (46).	Progreso hacia potencial vacuna desconocido.

efectivas en prevenir la infección para todas las cadenas del SGB circulantes (50,51).

La utilización de la técnica genómica para el desarrollo de la vacuna tiene numerosas ventajas, como la rapidez y la posibilidad de detectar varios antígenos simultáneamente. Esto confiere gran validez a estos estudios, sin embargo, se encuentran también en estadios preclínicos y se piensa que aún queda tiempo antes que sean probadas en humanos, y más aún para verlas en el comercio.

Se ha implementado nuevas técnicas basadas en estudios proteómicos, los que a diferencia de los basados en el genoma, nos proporcionan información sobre los cambios post transcripcionales que sufren las proteínas, los que pueden ser fundamentales para su actividad (52). Se realizó un estudio en conejos en el que se usaron proteínas obtenidas a través de este método, seis de las cuales se desconocían previamente, y dos de éstas demostraron generar inmunogenicidad (31). Estos hallazgos demostraron que la proteómica es una estrategia promisoría en la identificación de candidatos para vacunas, sin embargo, esta técnica no da información acerca de proteínas expresadas in vivo.

A raíz de esta limitación, surgió una nueva estrategia basada en el STM (*Signature Tag Mutagenesis*) que permite identificar genes que son esenciales en la virulencia de los patógenos y que eran desconocidos para otras técnicas (53), así como proteínas expresadas in vivo.

CONCLUSIONES

La inmunización ofrece numerosas ventajas por sobre la quimioprofilaxis como método de prevención de la sepsis por SGB: es menos invasiva, no requiere nuevas dosis en cada embarazo, no se relaciona con la aparición de resistencia antimicrobiana y tiene el potencial de prevenir tanto la sepsis neonatal precoz como la tardía.

Sin embargo, pudiese existir aprehensión por parte de la comunidad de obstetras en relación a la utilización de una vacuna administrada durante el embarazo. Aunque hay vacunas como la de influenza y el tétanos que se consideran seguras durante éste, aún no se ha implementado una cuyo uso sea exclusivo durante la gestación (5). Por otra parte, se ha estudiado la opinión de mujeres embarazadas con respecto a recibir una inmunización y la mayoría de éstas se mostró reticente, lo que podría mejorarse mediante la entrega de información detallada acerca de los riesgos y beneficios de la misma (54). En experiencia de los autores, cuando se les explica la utilidad de la vacuna antiinfluenza durante el embarazo (en nuestro país las gestantes forman parte del grupo susceptible que debe vacu-

narse), la mayoría prefiere hacerlo.

Además de lo descrito, existen otros factores que influyen en la implementación de un programa de vacunas, por ejemplo la distribución geográfica de los serotipos, factores económicos, y dudas acerca del momento más apropiado para administrar la inmunización a las mujeres. Con respecto a esto último, en la actualidad se plantea que el inicio del tercer trimestre de embarazo sería óptimo para la vacunación, de modo de lograr niveles de anticuerpos adecuados al momento del parto y evitar el potencial riesgo teratogénico. Eventualmente las adolescentes podrían ser las candidatas a recibir esta vacuna, teniendo en cuenta el tiempo entre vacunación y concepción, y la longevidad de los anticuerpos (16).

Para asegurar la creación de una vacuna universalmente efectiva es importante mantener una monitorización continua de la distribución de los serotipos más prevalentes.

A pesar de los numerosos esfuerzos realizados y los logros alcanzados (Tabla II y III), aún no se ha podido obtener la vacuna ideal contra el SGB. Sin embargo cada vez parece más aceptado que la inmunización sería la estrategia preventiva de preferencia, por lo que la prioridad de las futuras investigaciones debe basarse en la búsqueda de este objetivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. Perinatal Infections due to Group B Streptococci. American College of Obstetricians and Gynaecologists 2004; 104, No.5, part 1:1062-76.
2. Guzmán A, Abarzúa F, Belmar C, García P. Resultados de la aplicación del protocolo basado en screening para la búsqueda de Streptococcus agalactiae en el tercer trimestre del embarazo. Posible impacto sobre la sepsis neonatal precoz por este agente. Rev Chil Infectol 2001;18:187-92.
3. Tapia JL, Reichard C, Saldías MI, Abarzúa F, Pérez ME, González A, et al. Sepsis Neonatal en la era de la profilaxis antimicrobiana prenatal. Rev Chil Infect 2007;24(2):111-6.
4. American College of Obstetricians and Gynaecologists. ACOG Committee Opinion: number 279, December 2002. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. Obstet Gynecol 2002;100:1405-12.
5. Schuchat A. Group B Streptococcus. Lancet 1999;353(9146):51-6.
6. Zaleznik D, Rench M, Platt R, Lee L, Baker J. Invasive disease due to group B Streptococcus in pregnant women and neonates for diverse population groups. Clin Infect Dis 2000;30(2):276-81.
7. Hafner E, Rosen A, Phillip K. Group B streptococci during pregnancy: Comparison of two screening and treatment protocols. Am J Obstet Gynecol 1998;179(3)Part 1:677-81.

8. Stoll B, Schuchat A. Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. *Pediatr Infect Dis J* 1998;1117:499-503.
9. Abarzúa F, Guzmán AM, Belmar C, Becker J, García P, Rioseco A, *et al.* Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* (grupo b) en el tercer trimestre del embarazo. Evaluación del cultivo selectivo. Experiencia en 2192 pacientes. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2002;67(2):89-93.
10. Franciosi RA, Knostman JD, Zimmerman RA. Group B streptococcal neonatal and infant infections. *J Pediatr* 1973;82:707-18.
11. Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *N Eng J Med* 1986;314:1665-9.
12. Colbourn TE, Assenburg C, Bojke L, Philips Z, Welton NJ, Claxton K, *et al.* Preventive strategies for group B streptococcal and other bacterial infections in early infancy: cost effectiveness and value of information analyzes. *BMJ* 2007;335:622-3.
13. Center for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* 2002; 51(RR 11):1-22.
14. Small F. Intrapartum antibiotics for group B streptococcal colonization. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1999;(3):1-5.
15. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. *Pediatrics* 1999;103:e77.
16. Schrag S, Zywicki S, Farley MM, Reingold A L, Harrison L, Lefkowitz L, *et al.* Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:15-20.
17. Platt J S, O'Brien W F. Group B streptococcus: prevention of early-onset neonatal sepsis. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58:191-6.
18. Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. Revised guidelines for prevention of early-onset group B streptococcal (GBS) infection. *Pediatrics* 1997;99:489-96.
19. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Preventing early-onset group B streptococcal sepsis: strategy development using decision analysis. *Pediatrics* 1999;103:e76.
20. Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS, *et al.* For the Active Bacterial Core Surveillance Team. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *N Eng J Med* 2002;347:233-9.
21. Beal S, Dancer S. Antenatal prevention of neonatal group B streptococcal infection. *Gynaecol Perinat Pract* 2006;6:218-25.
22. Patten S, Robinson A, Manning S, Mucenski M, Vidakovich J, Dele H. Vaccination for group B streptococcus during pregnancy: attitudes and concerns of women and health care providers. *Soc Sci Med* 2006;63:347-58.
23. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff A, Wright L, Carlo WA, Ehrenkranz RA, *et al.* Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very low birth weight infants. *N Eng J Med* 2002;347:240-7.
24. Eschenbach D. Prevention of neonatal group B streptococcal infection. *N Eng J Med* 2002;347:280-1.
25. Lin F Y, Clemens J D, Azimi P H, Regan J A, Weisman L E, Philips J B 3rd, *et al.* Capsular polysaccharide types of group B streptococcal isolates from neonates with early onset systemic infection. *J Infect Diseases* 1998;177(3):790-2.
26. Paoletti LC, Madoff LC. Vaccines to prevent neonatal GBS infection. *Semin Neonatol* 2002;7:315-23.
27. Lämmler C, Schwarz S, Wibawan IWT, Ott E, Bopp B, Martínez-Tagle A. Comparison of streptococci of serological group B isolated from healthy carriers and active disease in Chile. *J Med Microbiol* 1995;42:161-4.
28. Martínez MA, Ovalle A, Duran C, Reid I, Urriola G, Garay B, *et al.* Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae*. *Rev Méd Chile* 2004;132:549-55.
29. Rojo P, Araya P, Martínez MA, Hormazábal JC, Maldonado A, Fernández J. Caracterización molecular en aislados chilenos de *Streptococcus agalactiae*. *Rev Méd Chile* 2008;136:606-12.
30. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med* 1933;57:571-3.
31. Hughes MJ, Moore J, Lane J, Wilson R, Pribul P, Younes Z, *et al.* Identification of mayor outer surface proteins of streptococcus agalactiae. *Infect Immun* 2002;70(3):1254-9.
32. Lancefield RC, McCarty M, Everly WN. Multiple mouse-protective antibodies directed against group B streptococci. Special Reference to antibodies effective against protein antigens. *J Exp Med* 1975;142:165-79.
33. Marques MB, Kasper DL, Shroff A, Michon F, Jennings HJ, Wessels MR, *et al.* Functional activity of antibodies to the group B polysaccharide of group B streptococci elicited by a polysaccharide-protein conjugated vaccine. *Infect Immun* 1994;62:1593-99.
34. Baker CJ, Rench MA, Edwards MS, Carpenter RJ, Hays BM, Kasper DL. Immunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine of group B streptococcus. *N Engl J Med* 1988;319:1180-5.
35. Paoletti L, Madoff L, Baker C. Vaccines for the prevention of group B streptococcal disease. *Uptodate* 2007.
36. Baker CJ, Webb BJ, Kasper DL, Yow MD, Beacher CW. The natural history of group B streptococcal colonization in the pregnant women and her offspring; Determination of serum antibody to capsular polysaccharide from type III group B *Streptococcus*. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137(1):39-42.
37. Campbell JR, Hillier SL, Krohn MA, Ferrieri P, Zaleznik DF, Baker CJ, *et al.* Group B streptococcal colonization and serotype-specific immunity in pregnant women at delivery. *Obstet Gynecol* 2000;96:498-503.
38. Lancefield RC, McCarty M, Everly WN. Multiple mouse-protective antibodies directed against group B streptococci. Special reference to antibodies effective against protein antigens. *J Exp Med* 1975;142:165.
39. WHO. State of the art of vaccine research and development: Initiative for vaccine research. 2005. Hallado en: http://www.who.int/vaccine_research/documents/Dip%20814.pdf.

40. Paoletti LC. Potency of clinical group B streptococcal conjugate vaccines. *Vaccine* 2001;19:2118-26.
 41. Baker CJ, Edwards MS. Group B streptococcal conjugate vaccines. *Arch Dis Child* 2003;88:375-8.
 42. Baker CJ, Rench MA, McInnes P. Immunization of pregnant women with group B streptococcal type III capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Vaccine* 2003;21:3468-72.
 43. Michel JL, Madoff LC, Kling DE, Kasper DL, Ausubel FM. Cloned α and β C protein antigens of group B streptococci elicit protective immunity. *Infect Immun* 1991;59:2023-8.
 44. Cheng QI, Carlson B, Pillai S, Eby R, Edwards EL, Olmsted S, *et al.* Antibody against surface-bound C5a peptidase is opsonic and initiates macrophage killing of group B streptococci. *Infect Immun* 2001;69(4):2302-8.
 45. Madoff LC, Paoletti SC, Tai JY, Kasper DL. Maternal immunization of mice with group B streptococcal type III polysaccharide- β C protein conjugate elicits protective antibody to multiple serotypes. *J Clin Invest* 1994;94:286-92.
 46. Seepersaud R, Hanniffy SB, Mayne P, Sizer P, Le Page R, Wells JM. Characterization of a novel leucine rich repeat protein antigen (LrrG) from group B streptococci that elicit protective immunity. *Infect Immune* 2005;73:1671-83.
 47. Brodeur BR, Boyer M, Charlebois I, Hamel J, Couture F, Rioux C, *et al.* Identification of group B streptococcal Sip protein, which elicits cross-protective immunity. *Infect Immune* 2000;68:5610-8.
 48. Manning S, Wood S, Kasha K, Martin D, Rioux S, Brodeur BR, *et al.* Naturally occurring antibodies for the group B streptococcal surface immunogenic protein (Sip) in pregnant women and new born babies. *Vaccine* 2006;24:6905-12.
 49. Maione D, Margarit I, Rinaudo CD, Massignani V, Mora M, Scarselli M, *et al.* Identification of a universal group B streptococcus vaccine by multiple genome screen. *Science* 2005;309:148-50.
 50. Lauer P, Rinaudo CD, Soriani M, Margarit I, Maione D, Roberto Rosini, *et al.* Genome analysis reveals pili in group B streptococcus. *Science* 2005;309:105.
 51. Lan R, Reeves PR. Intraspecies variation in bacterial genomes: the need for a species genome concept. *Trends Microbiol* 2000;8:396-401.
 52. Humphrey-Smith I, Cordwell SJ, Blackstock WP. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds. *Electrophoresis* 1997;18:1217-42.
 53. Jones AL, Knoll KM, Ruben CE. Identification of streptococcus agalactiae virulence genes in the neonatal rat sepsis model using signature tagged mutagenesis. *Mol Microbiol* 2000;37:1444-55.
 54. Patten S, Robinson A, Manning S, Mucenski M, Vidakovich J, Davies H. Vaccination for group B streptococcus during pregnancy: attitudes and concerns of woman and health care providers. *Soc Sci Med* 2006;63:347-58.
 55. Kumar A, Paoletti L, Glaser P, Dua M, Kumari P, Grandi G *et al.* Group B streptococcus: global incidence and vaccine development. *Nature Reviews Microbiology* 2006;4:932-42.
 56. Paoletti LC, Kasper DL. Conjugate vaccines against group B streptococcus types IV and VI. *J Infect Dis* 2002;186:123-6.
 57. Paoletti LC, Wessels MR, Rodewald AK, Shroff AA, Jennings HJ, Kasper DL. Neonatal mouse protection against infection with multiple group B streptococcal (GBS) serotypes by maternal immunization with a tetravalent GBS polysaccharide- tetanus toxoid conjugate vaccine. *Infect Immun* 1994;62:3236-43.
 58. Wessels MR, Paoletti LC, Kasper DL, DiFabio JL, Michon F, Holme K, *et al.* Immunogenicity in animals of a polysaccharide-protein conjugate vaccine against type III group B Streptococcus. *J Clin Invest* 1990;86:1428-33.
 59. Paoletti LC, Wessels MR, Michon F, Di Fabio JL, Jennings HJ, Kasper DL. Group B Streptococcus type II polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccines. *Infect Immun* 1992;60:4009-14.
 60. Wessels M R, Paoletti L C, Rodewald A K, Michon F, DiFabio J, Jennings H J, *et al.* Stimulation of protective antibodies against type Ia and Ib group B streptococci by a type Ia polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Infect Immun* 1993;61:4760-66.
 61. Fernández M, Paoletti LC, Kasper DL, Rench MA, Baker CJ. Evaluation of a bivalent group B streptococcal polysaccharide- tetanus toxoid conjugate vaccine. In 37th annual meeting of the infectious diseases society of America; Philadelphia, PA; 1999.
 62. Madoff LC, Michel JL, Gong EW, Rodewald AK, Kasper DL. Protection of neonatal mice from group B streptococcal infection by maternal immunization with β C protein. *Infect Immun* 1992;60:4009-14.
 63. Heath PT, Feldman RG. Vaccination against group B Streptococcus. *Expert Rev Vaccines* 2005;4:207-18.
-