

Respuesta inmune a la revacunación con rubéola en adultos con VIH bajo TARAE

Miguel Leonardo García León*, Rosa María Wong Chew*, Pablo F. Belaunzarán Zamudio**, Jennifer Cuéllar Rodríguez**, Juan Luis Mosqueda Gómez**, Kenia Escobedo**, Angelina Villasís Keever**, José Ignacio Santos Preciado***, Guillermo M. Ruiz Palacios**, Juan G. Sierra Madero**

Immune response to rubella vaccine in VIH adult patients with HAART

Fecha de aceptación: septiembre 2008

Resumen

Antecedentes. Hasta el momento hay muy poca información sobre la respuesta inmune a la revacunación contra rubéola en adultos infectados con el VIH que presenten una reconstitución inmunológica como consecuencia de la terapia antirretroviral altamente activa (TARAE).

Métodos. Se llevó a cabo un ensayo clínico para valorar la respuesta inmune a la vacuna de rubéola en adultos infectados por el VIH. Se administró la vacuna triple viral de sarampión, rubéola y paperas (SRP) a adultos infectados y no infectados por el VIH. La respuesta inmune humoral se determinó mediante la generación de anticuerpos tipo IgG medidos en el suero de los pacientes antes, a las tres y doce semanas de la vacunación. Los efectos adversos fueron evaluados al inicio, así como tres y doce meses después de la vacunación.

Resultados. Se administró la vacuna SRP en 26 adultos infectados por el VIH y 25 adultos sanos. No se observó ningún efecto grave asociado a la vacunación. La seropositividad a rubéola, antes de la vacunación, en los adultos infectados con el VIH fue de 95% y en los adultos sanos 90%, tres meses después de la vacunación, dos adultos sanos seronegativos a rubéola seroconvirtieron 25/25 (100%), así como también el único adulto con VIH seronegativo a rubéola (100%). Un año postvacunación, se observó que 100% de los adultos con VIH permanecieron seropositivos a rubéola en comparación con 95% de los adultos sanos.

Conclusiones. En México, el porcentaje de seropositividad a rubéola es muy elevado. La reinmunización contra rubéola induce una respuesta de refuerzo en adultos infectados por el VIH, así como en adultos sanos que presentan títulos bajos de anticuerpos. Esta respuesta persiste por lo menos un año postvacunación.

Palabras clave. Vacuna de rubéola, adultos, VIH, respuesta inmune, TARAE

Abstract

Background. There is limited information about the immune response to rubella re-vaccination in HIV infected adults with immune recovery as a result of highly active antiretroviral therapy.

Methods. We conducted a clinical trial to evaluate the immune response to rubella vaccine in HIV-infected adults. MMR vaccine was given to HIV-infected and non-infected adults. The immune response was determined by serum IgG antibodies before, three and 12 months after vaccination. Adverse effects were assessed at baseline, three and 12 months after vaccination.

Results. MMR vaccine was administered to 26 HIV-infected and 25 HIV-non infected subjects. No severe adverse events were reported. The seropositivity to rubella before vaccination was 95% in HIV-infected adults and 90% in healthy adults, three months after vaccination, two healthy adults seronegative to rubella seroconverted 25/25 (100%), as well as the only adult with HIV seronegative to rubella 26/26 (100%). One year after vaccination, 100% of the HIV-infected adults remained seropositive to rubella compared to 95% in non-infected adults.

Conclusions. Seropositivity to rubella in HIV-infected adults in Mexico is high, a re-immunization with rubella produces a booster response in HIV infected and HIV-non-infected adults with low titers of antibodies, which persists for at least 1 year.

Key Words: Rubella vaccine, adults, HIV, immune response, HAART

*Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Experimental.

**Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", Departamento de Infectología.

***Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

Introducción

La rubéola es una enfermedad viral exantemática clínicamente benigna y de pronóstico favorable.¹ Las complicaciones de la enfermedad son más frecuentes en niños que en adultos. Sin embargo, en la infección en mujeres, en el primer trimestre del embarazo puede resultar en la transmisión del virus al feto a través de la placenta. Esta infección puede causar malformaciones graves y es conocida como el síndrome de rubéola congénita (*SRC*).²

La enfermedad tiene una distribución mundial y presenta un pico máximo en primavera en los climas templados. En el año 2000, había más de 100 000 casos de *SRC* por año en países en vías de desarrollo.³ En México, en 2004 se reportaron cinco casos de *SRC* y sólo uno en 2005.⁴ Los casos de rubéola en México han disminuido drásticamente debido a la cobertura de vacunación. En 1998 se reportaron 17 182 y en 2005 solamente 537.⁵ La vacunación en contra del virus de rubéola es un control eficaz para erradicar la enfermedad. En el mundo entero solamente 61% de los países tienen programas de vacunación contra este mal.⁶ Las recomendaciones hechas por el Comité Asesor en Prácticas de Inmunización (*ACIP*, por sus siglas en inglés) para la vacunación rutinaria incluyen la primera dosis de sarampión, paperas y rubéola (*SRP*) a los 12 meses y un refuerzo a los seis años de edad.⁷ En 1998 se introdujo al esquema nacional de vacunación la vacuna contra la rubéola, cuando la vacuna contra el sarampión fue reemplazada con la *SRP* para niños de un año con un refuerzo a los seis años de edad.

La administración de la vacuna otorga 95% de seroconversión.⁸ La persistencia de los anticuerpos específicos contra la rubéola ha sido descrita en personas sanas hasta 15 años después de la primera inmunización.⁹

La *ACIP* recomienda la vacuna de *SRP* a personas elegibles, incluyendo adultos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (*VIH*),^{10,11} sin embargo, hay evidencias de que los niños infectados con el *VIH* carecen de una respuesta inmune apropiada después de la inmunización rutinaria.

La terapia antirretroviral altamente efectiva (*TARAE*) ha cambiado la cara del *SIDA* en el mundo entero, puesto que disminuye importantemente la morbilidad y la mortalidad.¹² El efecto de la *TARAE* se ve reflejado en la disminución drástica del *VIH* en el plasma, seguida de una reconstitución del sistema inmunológico,¹³ lo cual, a su vez, se refleja en una buena respuesta ante la vacunación de rutina.¹⁴ En el año 2003 se observó una seroconversión específica para el sarampión de 83% en niños con *VIH* bajo la *TARAE*.¹⁴ Aurpibul *et al.* reportaron una seroconver-

sión de 100% en niños de cinco años de edad revacunados contra rubéola.¹⁵ Hasta el momento, hay muy poca información sobre la respuesta inmune de refuerzo que induce la vacuna de rubéola en adultos infectados por el *VIH* bajo la *TARAE*.

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta inmune inducida por la vacuna de rubéola en adultos con *VIH* bajo la *TARAE*.

Material y métodos

Población de estudio. Este estudio se llevó a cabo entre enero de 2005 y julio de 2006. Se incluyeron 51 adultos: 26 con *VIH* que asisten a la clínica de *VIH/SIDA* y 25 sanos donadores del banco de sangre del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán" (*INCMNSZ*). Al momento del estudio, todos los pacientes tenían entre 18 y 40 años, y aquellos con *VIH* presentaban cuentas de linfocitos TCD4 >200 células/ml. Se obtuvo previamente un consentimiento informado de cada uno de los participantes. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del *INCMNSZ* y la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Vacuna. Se administraron 0.5 ml de la vacuna triple: sarampión, rubéola, parotiditis (*SRP*) (Priorix, Smith de Glaxo & Kline) vía subcutánea en el área deltoidea del brazo en los adultos con *VIH* y en los adultos sanos.

Seguimiento. Se documentaron los efectos adversos de los pacientes durante tres meses postvacunación, entre éstos: fiebre, exantema, artralgias, tos, rinorrea, diarrea, conjuntivitis, dolor de cabeza, adenomegalia, enrojecimiento e inflamación local. Se realizaron llamadas telefónicas semanales a cada uno de los voluntarios para registrar los eventos locales y sistémicos temporalmente asociados a la vacunación.

Evaluación de la respuesta inmune. Se tomaron muestras de sangre mediante una punción venosa, antes de la vacunación, a los tres meses y un año después. La presencia de anticuerpos de IgG en contra de rubéola fue determinada por *ELISA* (Enzygnost antirrubéola virus/IgG, Dade Behring). Según las especificaciones del fabricante, se consideró un título de anticuerpos >15 UI/ml como positivo. El cambio de seronegativo a seropositivo o bien el incremento de cuatro veces el título basal de anticuerpos contra rubéola se definió como seroconversión.

Análisis estadístico. Se utilizó análisis univariado para describir las proporciones de adultos con inmunidad a rubéola. El análisis bivariado se utilizó para calcular la diferencia en las proporciones por la prueba exacta de Fisher o la prueba de Chi cuadrada. La diferencia en los títulos de anticuerpos antes y después de la vacunación se calculó mediante la prueba de Wilcoxon. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

Resultados

La eficacia y efectividad de la vacuna contra la rubéola en adultos con *VIH* bajo la *TARAE* no ha sido evaluada. Al inicio del estudio, la seroprevalencia para rubéola fue de 95% en los adultos con *VIH* y 90% en los adultos sanos ($p > 0.05$) (figura 1). Tres meses después de la vacunación, dos adultos sanos seronegativos a rubéola seroconvirtieron 25/25 (100%), así como el único adulto con *VIH* seronegativo a rubéola 26/26 (100%) ($p > 0.05$). Un año después de la vacunación, los adultos con *VIH* mantuvieron la seropositividad a la rubéola 100%. Sin embargo, en los adultos sanos, la seropositividad disminuyó a 95% ($p = 0.05$) (figura 2).

Al inicio del estudio, dos de los adultos sanos (8%) y sólo uno (4%) de los adultos con *VIH* eran seronegativos a rubéola. En uno de los adultos sanos, los títulos de anticuerpos IgG específicos contra rubéola fueron 14.8 UI/ml al inicio del estudio, 17.7 IU/ml tres meses después y 14.7 IU/ml un año después de la vacunación. En el caso del segundo adulto sano, al inicio del estudio se observó un título de anticuerpos IgG contra rubéola de 2.03 UI/ml y un incremento a 73.6 UI/ml tres meses después de la vacunación, 36 veces su título basal y se observó una disminución a 38.5 UI/ml hacia el año postvacunación. El único adulto con *VIH* seronegativo a rubéola mostró al inicio del estudio un título de anticuerpos IgG de 9.64 UI/ml, 19.5 UI/ml tres meses después y se mantuvo en 18.5 UI/ml un año postvacunación (figura 2).

La respuesta de anticuerpos en los adultos seropositivos antes de la vacunación (23 sanos y 24 adultos con *VIH*) no mostró un aumento significativo en los títulos de anticuerpos a los tres meses y al año después de la vacunación. En general, el grupo completo mantuvo el mismo nivel de anticuerpos a pesar de la vacunación.

En general, no se observaron efectos adversos graves a la vacunación. Sin embargo, en dos adultos con *VIH* (7%) se observaron efectos adversos menores. En uno

de los adultos con *VIH* se registró fiebre y salpullido 10 días después de la vacunación, lo cual se resolvió ese mismo día sin ningún tipo de tratamiento. En el otro adulto se registró un aumento transitorio de la carga viral de <50 a 105 copias/ml quince días después de la vacunación; un mes después, la carga viral disminuyó a 50 copias/ml. El promedio de linfocitos TCD4+ al inicio del estudio fue de 537 (220-928) y al tercer mes fue de 598 (225-1227) cel/ml ($p = 0.017$). No se observaron diferencias en cuanto a la edad (32 años en los adultos con *VIH* versus 26 años de los adultos sanos).

Figura 1
Porcentaje de seropositividad a rubéola en adultos infectados por el *VIH* y adultos sanos. Las barras representan el porcentaje de adultos con títulos de anticuerpos IgG ≥ 15 IU/ml. ($p = 0.05$)

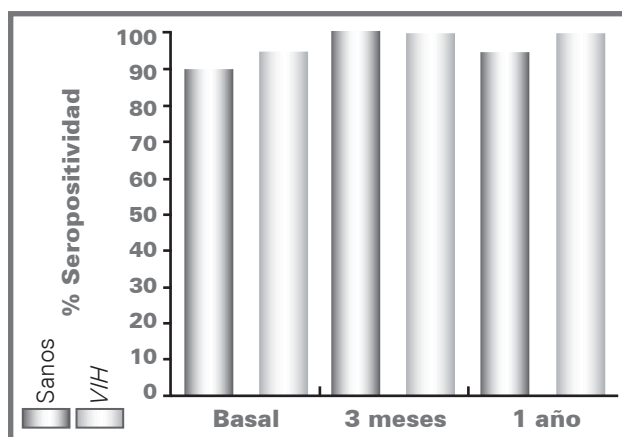
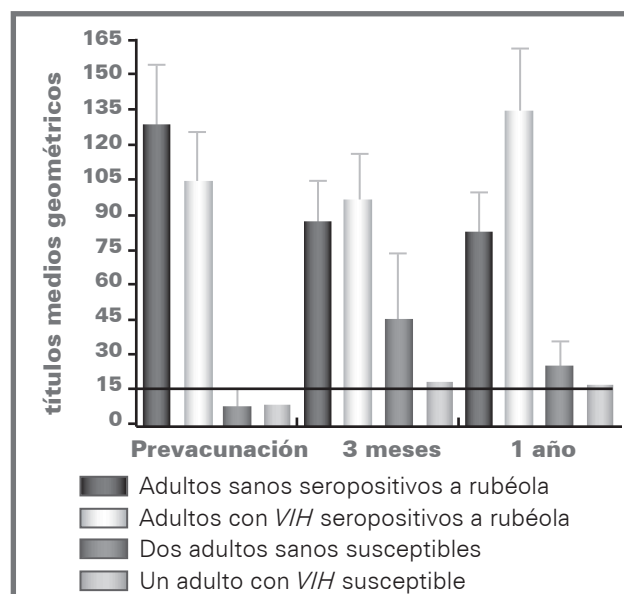


Figura 2
Respuesta inmune humoral a la vacuna de rubéola: Las barras representan los títulos medios geométricos de los adultos con o sin *VIH*, seropositivos o seronegativos a rubéola.



Discusión

En nuestro estudio, la seroprevalencia para rubéola fue de 90% en los adultos sanos comparado con 95% en los adultos con *VIH*. Estos porcentajes coinciden con estudios previos de seroepidemiología realizados en México, en los que la seroprevalencia fue de 80 a 95%.¹⁶⁻¹⁸ Nuestros resultados muestran que, aunque los adultos con *VIH* desarrollaron inmunosupresión al inicio de la infección, aparentemente mantuvieron la respuesta de memoria para rubéola y los títulos de anticuerpos eran comparables a la población sana. No es posible determinar si la seropositividad para rubéola es debida a la *TARAE* o a la memoria inmunológica que probablemente estos adultos nunca perdieron.

A pesar de que desconocemos la historia de vacunación contra rubéola en esta población, suponemos que la inmunización aplicada en nuestro estudio es en realidad una vacuna de refuerzo debido a la alta seropositividad encontrada al inicio en ambos grupos. La vacuna de rubéola fue introducida al Programa Nacional de Vacunación en México en 1998, por lo que suponemos que la manera más probable de adquirir la inmunidad contra rubéola en nuestra población fue debido al contacto con el virus silvestre. Se sabe que la inmunidad generada por la infección natural es duradera en comparación con la inmunidad adquirida por la vacunación; tal vez esto explique los títulos elevados de anticuerpos presentes en nuestros grupos de estudio. Una limitación probable con respecto a esta conclusión puede ser el tamaño de la muestra.

En este estudio se valoró la respuesta inmune humoral contra rubéola generada por la vacuna sarampión-rubéola-parotiditis (*SRP*) en adultos con *VIH* en comparación con adultos sanos. La respuesta inmune humoral, tres meses y un año después de la vacunación, fue similar en ambos grupos.

A diferencia de la mayoría de las vacunas atenuadas, la *SRP* es recomendada para todos los niños con *VIH* que no presenten una inmunosupresión grave al momento de la vacunación definida como un conteo de linfocitos TCD4+ <15%.¹⁹ Sin embargo, se ha observado que niños con *VIH* sin la *TARAE* no desarrollan una respuesta inmune apropiada a la vacuna *SRP*. Esta idea es apoyada por algunos estudios: en 1993 en la Universidad Federal de Sao Paulo Brasil, Lima *et al.* reportaron la respuesta a la inmunización con rubéola en 15 niños de 15 meses de edad que portaban el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 con una inmunodeficiencia inmunológica ca-

tegoría 2 y 3, según la clasificación del *CDC* de Atlanta,²⁰ los resultados indicaron una baja seroconversión (62%) después de la vacunación contra rubéola.²¹ Frenkel *et al.* (1994) observaron 40% de seropositividad para rubéola después de la vacunación en niños con el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1.²² Posteriormente en 1996, Echeverría Lecuona *et al.* encontraron 21% de seroconversión a la vacunación contra rubéola en niños que nacieron de madres infectadas por el *VIH*.²³ Sprauer *et al.* informaron sobre una seropositividad de 89% para rubéola en 39 adultos con *VIH*, y después de la vacunación con sarampión-rubéola, encontraron una seroconversión exclusivamente en un adulto (7.7 %).²⁴

Cuando evaluamos la inmunidad humoral tres meses después de la vacunación con la vacuna *SRP*, observamos una seroconversión en dos de los adultos sanos, así como en un adulto con *VIH*. Por desgracia, no encontramos ningún otro estudio donde se evalúe la respuesta inmune humoral a la vacuna *SRP* en adultos con *VIH* bajo la *TARAE* para comparar nuestros resultados. Hay un informe previo en el que se evaluó la respuesta inmune humoral a la vacunación contra rubéola en 39 adultos con *VIH*; en este estudio se observó que cuatro de 39 adultos eran seronegativos a rubéola, tres meses después de la vacunación 75% de estos adultos seroconvirtieron.²⁴ En nuestro estudio, el único adulto con *VIH* y los dos adultos sanos seroconvirtieron, aunque los títulos disminuyeron en un adulto sano un año después de la vacunación.

Hay ciertas diferencias entre ambos estudios: el primero se llevó a cabo antes de la era de la *TARAE*, mientras que la mayoría de los pacientes en nuestro estudio estaban bajo la *TARAE*. En un reporte previo en el que se revacunaron a niños con *VIH* bajo la *TARAE* se observó una seroconversión a sarampión de 83%,¹⁴ comparado con otro estudio, en donde 94% de los niños con *VIH* bajo la *TARAE* seroconvirtieron contra rubéola a las 24 semanas postvacunación;¹⁵ hay claras diferencias entre estos estudios comparados con otros en los que se observó que los niños sin la *TARAE* no respondieron a la revacunación.^{26, 27} Además, consideramos que el recuento de linfocitos TCD4+ superior a las 200 cel/ml (media de 496 cel/ml) antes de la vacunación fue un factor importante que determinó una buena respuesta inmune humoral en el adulto con *VIH*.

Una observación interesante fue la disminución de los títulos de anticuerpos IgG, a pesar de la buena

respuesta inicial (falla secundaria a la vacunación), en uno de los adultos sanos, pero no así en el adulto con *VIH* bajo la *TARAE*. Contrario a este hecho, se ha observado en otros estudios la disminución drástica de los anticuerpos de rubéola, sarampión y otros antígenos después de la vacunación en niños con *VIH* sin la *TARAE*,²⁶ pero también se ha observado este fenómeno en los niños con *VIH* bajo la *TARAE*.^{15,28} Bekker V. *et al.* reportó una **disminución importante de los anticuerpos** contra sarampión, rubéola, paperas, varicela-zoster y citomegalovirus en niños con *VIH* bajo la *TARAE* que eran seropositivos a cada uno de estos antígenos debido a la enfermedad natural y a pesar de la vacunación.²⁸ No se ha encontrado hasta el momento una explicación clara de este fenómeno. Sin embargo, algunos autores han descrito cambios fenotípicos y funcionales en los linfocitos B de memoria en personas con *VIH* bajo la *TARAE*, los cuales no son aptos para desarrollar una inmunidad humoral de memoria contra ciertos antígenos.^{29,30} Esto probablemente explique la pérdida de anticuerpos en las personas con *VIH*.

Un hallazgo importante es que un adulto con los títulos de anticuerpos más bajos desarrolló una buena

respuesta de refuerzo con títulos de anticuerpos muy elevados, que incluso permanecieron altos un año postvacunación. Los otros dos con títulos cercanos al punto de corte no desarrollaron una respuesta inmune de refuerzo. También se observó que todos aquellos adultos con títulos de anticuerpos protectores no desarrollaron una respuesta inmune de refuerzo. Este hecho podría ser explicado porque la presencia de anticuerpos previos neutraliza el virus vacunal. Aunque la vacuna contiene virus vivos atenuados, no se observó ningún efecto adverso grave en el seguimiento a un año postvacunación en ambos grupos.

En conclusión, la seropositividad para rubéola en adultos con *VIH* en México es muy elevada. La reinmunización contra rubéola en los adultos seronegativos o con títulos bajos, infectados con el *VIH* o en adultos sanos, induce una respuesta inmune de refuerzo que persiste al menos por un año.

Agradecimientos

Apoyo financiero: este trabajo fue financiado en parte por el Centro Internacional Fogarty y la oficina de investigación en salud de mujeres (TW006193).

Bibliografía

1. Murphy FA *et al.* "Virus taxonomy, 6th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)". *Arch Virol Suppl* 1995; 1-586.
2. Lee JY Bowden, DS. "Rubella virus replication and links to teratogenicity". *Clin Microbiol Rev* 2000;13; 571-587.
3. World Health Organization. "Rubella vaccines. WHO position paper". *Wkly Epidemiol Rec* 2000 75, 161-169.
4. *SUIVE/DGE*/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos, 2005.
5. Annual *WHO/UNICEF* Joint Reporting Form and *WHO* regional offices reports, actualización a diciembre de 2006.
6. *WHO/IVB* base de datos, 192 *WHO* Member States, datos hasta agosto de 2006.
7. Watson JC, Hadler SC y Dykewicz CA "Measles, mumps, and rubella-vaccine use and strategies for elimination of measles, rubella, and congenital rubella syndrome and control of mumps: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)". *MMWR* 1998;47; 1-57.
8. "Expanded Programme on Immunization (EPI)". *Wkly Epidemiol Rec* 1996;71; 305-312.
9. Just M, Just V, Berger R, Burkhardt F y Schilt U. "Duration of immunity after rubella vaccination: a long-term study in Switzerland". *Rev Infect Dis* 1985;S7, S91-S94.
10. Centers for disease control and prevention. "Measles prevention: recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP)". *MMWR* 1989;38 (S-9):1-18.
11. Immunization Practices Advisory Committee. "Immunization of children infected with human immunodeficiency virus: Supplementary ACIP statement". *MMWR* 1988;37;181-186.
12. "Centers for disease control and prevention. Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome – United States and Mexico, 1997–1999". *MMWR* 2000; 49; 1048-1050,1059.
13. Lederman MM *et al.* "Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and ritonavir: results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315". *J Infect Dis* 1998;178; 70-79.
14. Melvin AJ y KM, M. "Response to immunization with measles, tetanus, and *Haemophilus influenzae* type b vaccines in children who have human immunodeficiency virus type 1 infection and are treated with highly active antiretroviral therapy". *Pediatrics* 2003;111(6); e641-e644.
15. Aurpibul L, Puthanakit T, Sirisanthana T y V, S. "Response to measles, mumps, and rubella revaccination in HIV-infected children with immune recovery after highly active antiretroviral therapy". *Clin Infect Dis* 2007;45; 637-642.
16. Gutiérrez Trujillo G *et al.* "The seroepidemiology of rubella in Mexican women. A national probability survey". *Salud Pública Mex* 1990; 32; 623-631.
17. Villaseñor-Sierra. A *et al.* "Antibody development and frequency of events temporarily associated with measles and rubella vaccines among university health personnel in

Jalisco". *Gac Méd Mex* 2005;141; 455-459.

18. Villasis-Keever MA *et al.* "Prevalence of serological markers against measles, rubella, varicella, hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus among medical residents in Mexico". *Prev Med* 2001;32; 424-8.

19. American Academy of Pediatrics. "Measles", en: Pickering LK. *Report of the Committee on Infectious Diseases*, 26^a ed, Elk Grove Village, IL, American Academy of Pediatrics 2003, 419-429.

20. Centers for Disease Control and Prevention. "1994 revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age". *MMWR* 1994;43; 1-19.

21. Lima M, De Menezes Succi RC, Nunes Dos Santos AM, Weckx LY y De Moraes-Pinto MI. "Rubella immunization in human immunodeficiency virus type 1-infected children: cause for concern in vaccination strategies". *Pediatric Infect Dis J* 2004;23; 604-607.

22. Frenkel LM, Nielsen K, Garakian A y Cherry JDA, "Search for persistent measles, mumps, and rubella vaccine virus in children with human immunodeficiency virus type 1 infection". *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994;148; 57-60.

23. Echeverría Lecuona J, Aldamiz-Echevarría Azuara L,

Cilla Eguiluz, G y Pérez Trallero E. "Responses to triple viral and tetanus vaccination in HIV-infected children". *An Esp Pediatr* 1996;44; 317-320.

24. Sprauer MA *et al.* "Response of human immunodeficiency virus-infected adults to measles-rubella vaccination". *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6; 1013-1016.

25. Arpadi SM *et al.* "Measles antibody in vaccinated human immunodeficiency virus type 1-infected children". *Pediatrics* 1996;97; 653-657.

26. Hilgartner MW *et al.* "Response to measles, mumps, and rubella revaccination among HIV-positive and HIV-negative children and adolescents with hemophilia. Hemophilia Growth and Development Study". *Am J Hematol* 2001;66; 92-98.

27. Bekker V *et al.* "Persistent Humoral Immune Defect in Highly Active Antiretroviral Therapy-Treated Children with HIV-1 Infection: Loss of Specific Antibodies Against Attenuated Vaccine Strains and Natural Viral Infection". *Pediatrics* 2006;118; 315-322.

28. De Milito A. "B lymphocyte dysfunctions in HIV infection". *Curr HIV Res* 2004;2; 11-21.

29. Titanji K *et al.* "Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection". *Blood* 2006;108; 1580-7.