



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD**

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**EXCRECIÓN PROLONGADA DE VIRUS DE POLIO EN NIÑOS
MEXICANOS CON INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS**

**TRABAJO DE INVESTIGACION
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN INMUNOLOGIA PEDIATRICA
P R E S E N T A :
FRANCISCO JAVIER ESPINOSA ROSALES**



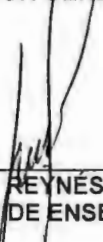
MÉXICO, D.F.

2006

EXCRECIÓN PROLONGADA DE VIRUS DE POLIO EN NIÑOS MEXICANOS CON INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS



DR. GUILLERMO SOLOMON SANTIBAÑEZ
DIRECTOR GENERAL



DR. JOSÉ N. REYNÉS MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
ENSEÑANZA DE PRE Y POSGRADO



DR. RENATO D. BERRÓN PÉREZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

Indice

1. Resumen	1
2. Abstract	3
3. Título	4
4. Introducción	5
5. Métodos	6
a. Población de Estudio	6
b. Recolección y procesamiento de muestras	6
6. Resultados	7
a. Resultados de cultivos	8
b. Riesgo teórico	8
c. Otros enterovirus no-polio	9
7. Discusión	9
8. Agradecimientos	14
9. Fondos	14
10. Conflictos de interés	14
11. Tablas	15
12. Bibliografía	16

Excreción Prolongada de Virus de Polio en Niños Mexicanos con Inmunodeficiencias Primarias

Resumen

Introducción: Las personas afectadas por inmunodeficiencias de células B tienen un riesgo mayor de desarrollar complicaciones por el virus de polio incluyendo algunas derivadas de la vacuna de polio oral que puede ocasionar poliomielitis parálitica asociada y convertirse en portadores crónicos de virus de polio y otros enterovirus. Diecinueve individuos con inmunodeficiencias primarias han sido identificados hasta la fecha como excretores de virus de polio por un periodo mayor a 6 meses. Las personas que excretan virus de polio por tiempo prolongado constituyen una fuente para la reintroducción del virus de la polio neurovirulentos entre personas no inmunizadas o con inmunidad inadecuada.

Objetivo: Estimar la tasa de excretores crónicos (> 6 meses) de virus de polio en individuos con inmunodeficiencias primarias de células B.

Métodos: Realizamos una búsqueda activa de excreción prolongada de virus de la polio entre 33 individuos conocidos por tener inmunodeficiencias primarias de células B en México, como parte de un proyecto multicéntrico que incluyó pacientes de los Estados Unidos, Brasil y el Reino Unido.

Resultados: En el presente trabajo, no encontramos individuos con excreción prolongada de virus de polio entre 33 niños mexicanos con inmunodeficiencias

primarias de células B, ni entre el total de 347 pacientes estudiados en los 4 países antes mencionados, a pesar de que la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio multicéntrico y la totalidad de los pacientes mexicanos habían estado expuestos a la vacuna de polio oral y a contactos intradomiciliarios que habían recibido la vacuna.

Se encontró un portador mexicano de virus de polio de reciente adquisición y otros tres entre los niños incluidos en Brasil, donde la vacuna de polio oral se recomienda de manera rutinaria.

Conclusión: Nuestros hallazgos sugieren que aunque la excreción prolongada de virus de polio puede presentarse en individuos con inmunodeficiencias primarias de células B, parece ser un fenómeno raro.

Search for Poliovirus Carriers Among Mexican Children with Primary Immune Deficiency

Abstract

Objective: To estimate the rate of long-term poliovirus excretors in people known to have B-cell immune deficiency disorders.

Methods: An active search for chronic excretors was conducted among 33 Mexican children known to have immunoglobulin G primary immune deficiency in a multi center study including patients from United States, Mexico, Brazil, and the United Kingdom. Written informed consent or assent was obtained from the participants or their legal guardians, and the studies were formally approved. Stool samples were collected from participants and cultured for polioviruses. Calculation of the confidence interval for the proportion of participants with persistent virus de polio excretion was based on the binomial distribution.

Results: No individuals with long-term excretion of poliovirus were identified. Most participants (all Mexican participants) had received oral polio vaccine, and almost all had been exposed to household contacts who had received OPV. Polioviruses of recent vaccine origin were transiently found in one Mexican child and three from Brazil, both countries recommend OPV for all children.

Conclusion: Although chronic virus de polio excretion can occur in immunodeficient persons, it appears to be rare.

**Excreción Prolongada de Virus de polio en Niños Mexicanos con
Inmunodeficiencias Primarias**

Investigador Principal

Neal A. Halsey, M.D

Professor and Director, Division of Disease Control, Department of International
Health.

The Johns Hopkins School of Public Health

615 N. Wolfe Street, Room 5515

Baltimore MD, 21205

USA

Investigador en México

Dr. Francisco Javier Espinosa Rosales

Servicio de Inmunología

Instituto Nacional de Pediatría

Insurgentes Sur # 3700-C colonia Insurgentes Cuicuilco

Delegación Coyoacán México D.F.,

México 04530

Introducción

Los individuos susceptibles usualmente excretan el virus de la polio por un periodo de 2–6 semanas, y ocasionalmente pueden excretarlo hasta por 137 días después de haber sido inmunizados con la vacuna de polio oral (VPO) (1–5). Los virus que son excretados, generalmente muestran una mayor neurovirulencia y con frecuencia se transmiten a las personas que están en contacto cercano. Los pacientes con inmunodeficiencias de células B (IDCB) tienen un riesgo mayor de complicaciones asociadas con la infección por enterovirus, incluyendo meningoencefalitis crónica, excreción intestinal de virus por tiempo prolongado y polio paralítica asociada a la vacuna (PPAV) (6). Hasta el momento, se han reportado en revistas o a la organización mundial de la salud (OMS) diecinueve individuos en los que se ha demostrado excreción por 6 meses o más de virus de polio derivados de la vacuna (7–9) (D. Wood, comunicación personal, 2003). Todos estos pacientes con la excepción de tres, han dejado de excretar virus de polio o han muerto. Algunos desarrollan una parálisis severa años después de haber adquirido la infección intestinal (7, 10). Los virus aislados de las heces de individuos vacunados, típicamente han revertido a un patrón de mayor neurovirulencia y, los virus aislados de pacientes identificados como excretores prolongados, frecuentemente tienen una neurovirulencia tan fuerte como los virus silvestres de polio (7, 11–13). Las personas que excretan a través del intestino virus de polio por tiempo

prolongado, pueden en teoría, reintroducir los virus de la polio a la circulación general. Una vez que se detenga la inmunización de rutina en niños después de la erradicación de los virus de polio silvestres (10–14). Nosotros estudiamos a personas con diagnóstico establecido de IDCB en cuatro países, para tratar de estimar la tasa de excretores de virus de polio por tiempo prolongado en esta población de riesgo.

Métodos

Población de Estudio

México

Los pacientes elegibles para participar en el estudio fueron reclutados de los servicios de inmunología en el Instituto Nacional de Pediatría y de la clínica de inmunodeficiencias del Hospital Infantil de México "Dr Federico Gomez". El protocolo de investigación fue aprobado en ambas instituciones por los comités de investigación y ética. El número de registro en el Instituto Nacional de Pediatría fue el 33/99.

Los detalles de cómo fueron reclutados los pacientes en los restantes tres países pueden leerse en el artículo publicado en el boletín de la OMS en enero de 2006 (27).

Recolección y procesamiento de muestras

Se utilizaron "kits" recomendados por la OMS para la obtención de 5 a 10 g de heces fecales (*Protopcult* ©1990 ABC Medical Enterprises, Rochester, MN). Las muestras fueron mantenidas bajo congelación a -70°C, hasta su análisis en el laboratorio del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica en la Ciudad de México. Los detalles de cómo fueron procesadas las muestras en los otros tres países pueden leerse en la publicación antes citada (27). Los cultivos celulares que resultaron positivos para virus de polio, fueron caracterizados por secuenciación genómica en el centro para el control de enfermedades (CDC) de los Estados Unidos (17). Los resultados fueron entregados a los familiares y/o médicos tratantes según había sido solicitado por las familias participantes. Se recolectó una segunda muestra, aproximadamente tres meses después, a aquellos individuos que tuvieron cultivos positivos para polio, usando el mismo procedimiento. En el Reino Unido se usó también la prueba de reacción de polimerasa en cadena para la detección de virus de polio. El cálculo del intervalo de confianza para la proporción de participantes con excreción prolongada de virus de polio fue realizado sobre la base de una distribución en binomio (Stata Corporation, Stata Statistical Software: Release 7.0; College Station, TX, 2001).

Resultados

Las características basales de la población reclutada para el estudio en México puede observarse en la Tabla 1. Las características de los pacientes incluidos

en los demás países pueden leerse en la referencia 27. La edad de los pacientes al enrolarse en el estudio tuvo un rango de 1 a 19 años de edad, con un promedio de 7.9 años. La gran mayoría de los pacientes reclutados fueron varones con XLA. Existe una mujer en el grupo de XLA con diagnóstico de agammaglobulinemia autonómica recesiva.

Los inmunólogos que participaron en el estudio estiman que se incluyó aproximadamente un 90% de los pacientes elegibles en ambos hospitales.

Todos los participantes en México habían recibido alguna dosis de VPO.

Todos los participantes de nuestro país, estaban recibiendo terapia de reemplazo con inmunoglobulina intravenosa (IGIV).

Resultados de los Cultivos

Se aisló virus de polio de la muestra de uno solo de los participantes de nuestro país. Dicho paciente negó haber recibido VPO en los 6 meses previos. El virus de polio aislado fue considerado de adquisición reciente en el CDC en los Estados Unidos, ya que tuvo una variación genética menor del 1% en la secuencia de nucleótidos del gen VP1 con el virus original de la VPO. Se hicieron cultivos de seguimiento en este paciente que fueron negativos 4 meses después de la primera muestra. Los resultados de cultivos obtenidos en los otros tres países están consignados en la referencia 27.

Riesgo Teórico

El límite superior para obtener el 95% de intervalo de confianza para observar cero excretores prolongados de polio entre los 306 participantes de los 4 países con agammaglobulinemia, IDCV y otras deficiencias severas de la inmunidad mediada por IgG fue de 1.0%.

Otros enterovirus no-polio

Se identificaron otras especies de enterovirus (no polio) en 4 de los 33 participantes mexicanos, que no fueron caracterizados con precisión.

Discusión

No identificamos ningún individuo que fuera excretor prolongado de polio entre nuestros pacientes con inmunodeficiencias primarias de anticuerpos, a pesar de que todos ellos habían recibido VPO con anterioridad y habían estado en contacto reciente con individuos vacunados. Solamente se aisló un virus de Polio de reciente adquisición en uno de nuestros pacientes que fue autolimitado en forma espontánea. Debido al hecho de que nuestro paciente no había recibido VPO recientemente, asumimos que fue adquirido a través de contactos domiciliarios.

La mayoría de individuos con defectos de células B que sobreviven los primeros años de vida parecen ser capaces de eliminar los virus de la VPO sin convertirse en excretores prolongados. Sin embargo, se han reportado por lo menos 19 pacientes con IDCB a la OMS con excreción por más de 6 meses de virus de

polio derivado de la vacuna (D. Wood, comunicación personal, 2003) y se ha documentado la excreción de este virus hasta por 10 años. Existe información muy limitada sobre la verdadera incidencia y prevalencia de agammaglobulinemia e IDCV en nuestro país. Sin lugar a dudas, se dejaron de identificar a algunos excretores prolongados de polio, ya que sólo se incluyó un porcentaje muy pequeño de los pacientes con estos padecimientos en nuestro medio. Se estima que la incidencia de agammaglobulinemia es de aproximadamente 1 de cada 100 000 nacidos vivos en los Estados Unidos y Europa, pero no disponemos de estimaciones de lo que sucede en países en desarrollo como México (J. Winkelstein, comunicación personal, 2003). Tampoco contamos con una estimación confiable de la incidencia de IDCV debido a que se utilizan diferentes definiciones de la enfermedad en los diferentes centros del país y no existe un registro nacional confiable. Los pacientes con deficiencia selectiva de IgA, pueden excretar virus de polio hasta por 6 meses (18). Nosotros decidimos no incluir a pacientes con esta enfermedad, debido a que no se habían encontrado excretores en los primero 40 individuos con este padecimiento que habían sido incluidos en los estados Unidos. No existe evidencia de que estos pacientes tengan un mayor riesgo de desarrollar PPAV y no se han reportado casos de pacientes con defecto selectivo de IgA y excreción prolongada de virus de polio u otros enterovirus.

De manera similar, tomamos la decisión de no incluir pacientes con defecto de subclases de IgG, ya que no se asocian con un riesgo mayor de complicaciones después de la infección por enterovirus (6).

Investigadores de Túnez, monitorearon de forma prospectiva a 16 niños con inmunodeficiencias primarias, incluyendo seis con IDCV y tres con síndrome de hiper IgM ligado al X, después de una campaña de un "Día Nacional de Inmunización contra la Polio" (19). Los niños con inmunodeficiencias no recibieron VPO, pero cuatro pacientes, incluyendo uno con IDCV, adquirieron el virus derivado de la vacuna a través de contactos domiciliarios. Estos pacientes eliminaron virus derivado de la VPO por 1 a 7 semanas. Todos los niños mexicanos con diagnóstico de IDCB incluidos en nuestro estudio, habían recibido al menos una dosis de VPO y ninguno de ellos era excretor crónico. Esto nos permite inferir que la mayoría de pacientes con estas enfermedades son capaces de eliminar de manera efectiva al virus derivado de la VPO. Todos los pacientes recibían tratamiento con IGIV, y se ha demostrado que la administración pasiva de inmunoglobulinas puede prevenir el desarrollo de parálisis asociada con los virus de polio silvestres (20). El reemplazo con inmunoglobulina puede disminuir el riesgo de complicaciones paralíticas por la vacuna en pacientes con IDCB, pero esta protección es incompleta ya que algunos pacientes persisten con excreción prolongada de virus de polio derivado de la vacuna y desarrollan parálisis a pesar de estar recibiendo el tratamiento de reemplazo con IGIV (8) (D. Wood, comunicación personal, 2003). El tratamiento

de reemplazo con inmunoglobulina no sirve para prevenir o tratar infecciones persistentes por enterovirus en pacientes con IDCB (6, 21). Un paciente desarrolló excreción persistente de virus de polio después del tratamiento con inmunoglobulina (22).

Los pacientes con IDCV con frecuencia manifiestan las primeras infecciones y características clínicas de inmunodeficiencia hasta la vida adulta (23). Todos los niños incluidos en México con IDCV, habían estado expuestos a la VPO antes del inicio de los síntomas de la enfermedad. Lo mismo sucedió en los pacientes adultos enrolados en los otros tres países con diagnóstico de IDCV, y habían estado expuestos de manera repetida a la VPO. Al momento de la primera exposición, pudo ser que sus sistemas inmunes estuvieran todavía intactos.

Nuestro estudio puede no reflejar de manera precisa lo que sucede en todas las personas con IDCB ya que las personas con cuadros clínicos más severos con frecuencia fallecen en los primeros meses o años de vida o desarrollan parálisis después de la exposición a virus de polio.

La VPO se transmite con frecuencia a partir de contactos cercanos en las primeras semanas después de la vacunación, vía secreciones del tracto respiratorio y/o gastrointestinal (1, 3, 4, 14). La excreción faríngea de los virus derivados de la VPO ocurre de manera transitoria en personas inmunocompetentes (3). No existen estudios prospectivos en personas con IDCB, pero no se han reportado individuos con excreción respiratoria persistente de virus de polio. La excreción intestinal persistente en países industrializados

con niveles elevados de higiene puede representar un riesgo bajo de transmisión.

La erradicación de la circulación de virus de polio silvestres deberá completarse en los próximos años. Como se pensó originalmente, una vez que se pare la circulación de virus de polio deberá evaluarse cuando se dejará de usar la vacuna. Sin embargo, la identificación de excretores prolongados o crónicos de virus de polio y los brotes que se han observado de virus de polio derivado de la vacuna en Haití, República Dominicana, Filipinas y Madagascar en años recientes, han forzado una revaloración de esta estrategia (7, 14, 24). Muchos países industrializados han cambiado al uso de vacuna de polio inactivada (VPI) para disminuir los riesgos relacionados con la VPO; estos países continuarán aplicando VPI por años hasta que los últimos casos de virus de polio silvestre hayan sido identificados (25). El costo más elevado de la VPI es una barrera para el uso de esta vacuna en los países en desarrollo. Sin embargo, la existencia de vacunas combinadas que contienen VPI podrá permitir que más países hagan el cambio a VPI en el futuro (26).

De los 19 pacientes identificados en los pasados 40 años con excreción de polio por más de 6 meses, todos excepto tres, murieron o dejaron de eliminarlo de manera espontánea. (D. Wood, comunicación personal, 2003). Por tanto, el riesgo de reintroducción de virus de polio neurovirulentos a partir de individuos inmunodeficientes parece ser bajo pero no de cero.

Los excretores persistentes de virus de polio pueden ser una fuente de transmisión de virus neurovirulentos a sus contactos cercanos. Los inmunólogos que atienden pacientes con XLA, IDCV, e inmunodeficiencias combinadas graves, deben enfatizar a los pacientes y sus familias de la necesidad de cultivos para la detección de virus de polio. Si llega a identificarse un virus de polio de uno de estos pacientes, deberán hacerse esfuerzos para asegurar la administración de IGIV de manera sistemática y puntual para evitar complicaciones. El Pleconaril es un agente antiviral que puede ser efectivo contra algunos virus de polio y puede ser de utilidad en los esfuerzos para eliminar la excreción persistente (21, 22).

Agradecimientos

Agradecemos al laboratorio de enterovirus del Instituto De Diagnóstico y Referencia Epidemiológica por el procesamiento y análisis de las muestras tomadas a los pacientes mexicanos incluidos en el estudio.

Fondos: Este estudio fue realizado con fondos derivados de becas de la “ United States Agency for International Development” , Rotary Foundation, y el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos.

Conflictos de interés: ninguno.

Tabla 1. Diagnóstico y Relación Hombre Mujer de los Pacientes Mexicanos

	XLA	IDCV	Hipogammaglobulinemia	Total
México	20	5	8*	33
Hombre/Mujer	19/1**	5/1	4/4	

* Dos pacientes con síndrome de hiper IgM e hipogammaglobulinemia severa

** Una niña con agammaglobulinemia autosómica recesiva

Bibliografia

1. Benyesh-Melnick M, Melnick JL, Rawls WE, Wimberly I, Oro JB, Ben-Porath E, et al. Studies of the immunogenicity, communicability and genetic stability of oral poliovaccine administered during the winter. *American Journal of Epidemiology* 1967;86:112-36.
2. Melnick JL, Benyesh-Melnick M, Brennan JC. Studies on live virus de polio vaccines. Its neurotropic activity in monkeys and its increased neurovirulence after multiplication in vaccinated children. *JAMA* 1959;171:1165-72.
3. Gelfand HM, Potash L, LeBlanc DR, Fox JP. Revised preliminary report on the Louisiana observations of the natural spread within families of living vaccine strains of virus de polio. In: *Live virus de polio vaccines: papers presented and discussions held at the first international conference on live virus de polio vaccines*. Special Publication No. 44. Washington (DC): Pan American Sanitary Bureau; 1959.
4. Fox JP, Gelfand HM, LeBlanc DR, Potash L, Clemmer DI, LaPenta D. The spread of vaccine strains of virus de polio in the household and in the community in southern Louisiana. In: *International Poliomyelitis Congress*, ed. *Poliomyelitis: papers and discussions presented at the fifth international poliomyelitis conference*. Philadelphia: Lippincott; 1961:368-83.
5. Sutter RW, Cochi SL, Melnick JL. Live attenuated virus de polio vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. *Vaccines*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999:364-408.

6. Modlin JF. Coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, 5th ed. Philadelphia (PA): Churchill-Livingstone; 2000. pp. 1904-19.
7. Wood DJ, Sutter RW, Dowdle WR. Stopping virus de polio vaccination after eradication: issues and challenges. *Bulletin of the World Health Organization* 2000;78:347-57.
8. Kew OM, Sutter RW, Nottay BK, McDonough MJ, Prevots DR, Quick L, et al. Prolonged replication of a type 1 vaccine-derived virus de polio in an immunodeficient patient. *Journal of Clinical Microbiology* 1998;36:2893-9.
9. Buttinelli G, Donati V, Fiore S, Marturano J, Plebani A, Balestri P, et al. Nucleotide variation in Sabin type 2 virus de polio from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *Journal of General Virology* 2003;84:1215-21.
10. John TJ, Walker DH. Enterovirus infections, including poliomyelitis. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, editors. *Tropical infectious diseases, principles, pathogens, and practice*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 1999. pp. 1123-32.
11. Minor P. Characteristics of virus de polio strains from long-term excretors with primary immunodeficiencies. *Developmental Biology* 2001;105:75-80.
12. Minor PD, Ferguson JA, Icenogle JP. Antigenic and molecular evolution of the vaccine strain of type 3 virus de polio during the period of excretion by a primary vaccinee. *Journal of General Virology* 1986;67:693-706.

13. Dunn G, Begg NT, Cammack N, Minor PD. Virus excretion and mutation by infants following primary vaccination with live oral poliovaccine from two sources. *Journal of Medical Virology* 1990;32:92-5.
14. Sutter RW, Tangermann RH, Aylward RB, Cochi SL. Poliomyelitis eradication: progress, challenges for the end game, and preparation for the post-eradication era. *Infectious Disease Clinics of North America* 2001;15:41-64.
15. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clinical Immunology* 1999;93:190-7.
16. Manual of the virological investigation of poliomyelitis. Geneva: World Health Organization; 1997. WHO document WHO/EPI/GEN/97.01.
17. Liu HM, Zheng DP, Zhang LB, Oberste MS, Pallansch MA, Kew OM. Molecular evolution of a type 1 wild-vaccine virus de polio recombinant during widespread circulation in China. *Journal of Virology* 2000;74:11153-61.
18. Savilahti E, Klemola T, Carlsson B, Mellander L, Stenvik M, Hovi T. Inadequacy of mucosal IgM antibodies in selective IgA deficiency: excretion of attenuated polio viruses is prolonged. *Journal of Clinical Immunology* 1988;8:89-94.
19. Triki H, Barbouche MR, Bahri O, Bejaoui M, Dellagi K. Community acquired virus de polio infection in children with primary immunodeficiency in Tunisia. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;41:1203-11.

20. Hammon WD, Coriell LL, Wehrle PF, Stokes J. Evaluation of Red Cross gammaglobulin as a prophylactic agent for poliomyelitis. 4. Final report of results based on clinical diagnosis. *JAMA* 1953;151:1272-85.
21. Halliday E, Winkelstein J, Webster AD. Enteroviral infections in primary immunodeficiency (PID): a survey of morbidity and mortality. *The Journal of Infection* 2003;46:1-8.
22. Buttinelli G, Donati V, Fiore S, Marturano J, Plebani A, Balestri P, et al. Nucleotide variation in Sabin type 2 virus de polio from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *Journal of General Virology* 2003;84:1215-21.
23. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clinical Immunology* 1999;92:34-48.
24. Kew O, Morris-Glasgow V, Landaverde M, Burns C, Shaw J, Garib Z, et al. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived virus de polio. *Science* 2002;296:356-9.
25. Halsey NA. Commentary: Poliomyelitis and unnecessary injections. *International Journal of Epidemiology* 2003;32:278-9.
26. Halsey NA. Combination vaccines: defining and addressing current safety concerns. *Clinical Infectious Diseases* 2001;33 Suppl 4:S312-8.
27. Halsey NA, Pinto J, Espinosa-Rosales F, Faure-Fontenla MA, da Silva E, Khan AJ, Webster AD, Minor P, Dunn G, Asturias E, Hussain H, Pallansch MA, Kew OM, Winkelstein J, Sutter R; Polio Project Team.. Search for Polio virus

carriers among persons with primary immune deficiency diseases in the United States, Mexico, Brazil, and the United Kingdom. Bulletin of the World Health Organization 2004, 82:3-8.

Se anexa publicación en el Boletín de la Organización Mundial de la Salud, de Enero de 2004, en donde se reportan todos los pacientes incluidos en los 4 países participantes.

Theme Papers

Search for poliovirus carriers among people with primary immune deficiency diseases in the United States, Mexico, Brazil, and the United Kingdom

Neal A. Halsey,^{1,2} Jorge Pinto,³ Francisco Espinosa-Rosales,⁴ Maria A. Faure-Fontenla,⁵ Edson da Silva,⁶ Aamir J. Khan,¹ A.D.B. Webster,³ Philip Minor,⁷ Glynis Dunn,⁷ Edwin Asturias,¹ Hamidah Hussain,¹ Mark A. Pallansch,⁹ Olen M. Kew,⁹ Jerry Winkelstein,² Roland Sutter,⁹ & the Polio Project Team*

Objective To estimate the rate of long-term poliovirus excretors in people known to have B-cell immune deficiency disorders. **Methods** An active search for chronic excretors was conducted among 306 persons known to have immunoglobulin G (IgG) deficiency in the United States, Mexico, Brazil, and the United Kingdom, and 40 people with IgA deficiency in the United States. Written informed consent or assent was obtained from the participants or their legal guardians, and the studies were formally approved. Stool samples were collected from participants and cultured for polioviruses. Calculation of the confidence interval for the proportion of participants with persistent poliovirus excretion was based on the binomial distribution. **Findings** No individuals with long-term excretion of polioviruses were identified. Most participants had received oral poliovirus vaccine (OPV) and almost all had been exposed to household contacts who had received OPV. Polioviruses of recent vaccine origin were transiently found in four individuals in Mexico and Brazil, where OPV is recommended for all children. **Conclusion** Although chronic poliovirus excretion can occur in immunodeficient persons, it appears to be rare.

Keywords Poliovirus/isolation and purification; Carrier state; Poliomyelitis/chemically induced/transmission; Poliovirus vaccine, Oral/ adverse effects; IgA deficiency; IgG deficiency; Common variable immunodeficiency; Agammaglobulinemia; United States; Mexico; Brazil; United Kingdom (source: MeSH, NLM).

Mots clés Poliovirus humain/isolement et purification; Porteur germes; Poliomyélite antérieure aiguë/induite chimiquement/transmission; Vaccin antipoliomyélique Sabin/effets indésirables; IGA, Déficit; IgG, Déficit; Immunodéficit commun variable; Agammaglobulinémie; Brésil; Etats-Unis; Mexique; Royaume-Uni (source: MeSH, INSERM).

Palabras clave Poliovirus/ aislamiento y purificación; Portador; Poliomiélitis/inducida químicamente/transmisión; Vacuna antipolio oral/efectos adversos; Deficiencia de IgA; Deficiencia de IgG; Inmunodeficiencia variable común; Agammaglobulinemia; Estados Unidos; México; Brasil; Reino Unido (fuente: DeCS, BIREME).

Bulletin of the World Health Organization 2004;82:3-8

Voir page 7 le résumé en français. En la página 7 figura un resumen en español.

¹ Institute for Vaccine Safety, Department of International Health, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, 615 N. Wolfe Street, Baltimore, MD 21205, USA (email: tproveau@jhsph.edu). Correspondence should be sent to Dr Halsey at this address.

² Department of Pediatrics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

³ Department of Pediatrics, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

⁴ Immunology Department, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, Mexico.

⁵ Immunology and Rheumatology Laboratory, Hospital Infantil de México Federico Gomez, Mexico City, Mexico.

⁶ Department of Immunology, University College Medical School, London, England.

⁷ National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, England.

⁸ Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

⁹ Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA.

* Polio Project Team

Brazil: Claudete Araujo (Universidade Federal de Minas Gerais), Marluce Vilela (Universidade de Campinas-UNICAMP), Cristina Jacob and Antonio Pastorino (Instituto da Criança-Universidade de São Paulo), Anete Grumach and Dewton Vasconcelos (Universidade de São Paulo-São Paulo), Beatriz Carvalho (Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP), Virginia Ferriani (Universidade de São Paulo-Ribeirão Preto), Nelson Rosario (Universidade Federal do Paraná), Aline Quirici (Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro), and Norma Rubini (Universidade Estadual do Rio de Janeiro).

United States: Roger H. Kobayashi (UCLA School of Medicine), Craig M. Moffat (Salt Lake Clinic), Mark A. Posner (Allergy/Asthma Specialists PC), Robert Albert Drucker (North Syracuse, NY), Alexander R. Lawton (Vanderbilt University School of Medicine), A. Timothy Linehan (Burns Clinic, Petoskey, MI), and William R. Lumry (Dallas, TX).

Ref. No. 03-005496

(Submitted: 20 June 03 – Final revised version received: 26 August 03 – Accepted: 14 October 03)

Introduction

Susceptible individuals usually excrete polioviruses for 2–6 weeks, and occasionally for up to 137 days after they have been immunized with oral poliovirus vaccine (OPV) (1–5). The shed viruses frequently show increased neurovirulence and are often transmitted to close contacts. Patients with B-cell immune deficiency disorders are at increased risk of complications associated with enterovirus infections, including chronic meningoencephalitis, long-term intestinal excretion of the viruses, and vaccine-associated paralytic poliomyelitis (VAPP) (6). Nineteen individuals with excretion of vaccine-derived polioviruses for six or more months have been reported in the literature or to WHO (7–9) (D. Wood, personal communication, 2003). All but three of these individuals are known to have stopped excreting polioviruses or died. Some became paralysed several years after acquiring the intestinal infection (7, 10). Viruses isolated in the stool of vaccinated individuals typically revert to increased neurovirulence, and long-term excretors shed viruses that are often as neurovirulent as wild-type viruses (7, 11–13). Persistent intestinal poliovirus excretors could theoretically reintroduce polioviruses into general circulation if routine immunization of children was stopped after the eradication of wild-type viruses (10–13). We studied people known to have B-cell immune deficiency disorders in four countries in order to estimate the rate of long-term poliovirus excretors in this at-risk population.

Methods

Study population United States

Families registered with the Immune Deficiency Foundation (www.primaryimmune.org) were sent a letter inviting people 3–35 years of age with common variable immune deficiency (CVID), X-linked agammaglobulinaemia (XLA) or selective immunoglobulin A (IgA) deficiency to participate in the study. Participants who returned a postcard were mailed a consent form, a brief questionnaire, a request for laboratory results validating the diagnosis, and instructions for collecting and shipping a stool specimen. Subsequently, selected immunologists were asked to enroll patients with CVID or XLA who were two or more years of age.

Mexico

Eligible people were recruited from the immunology clinics at the Hospital Infantil de Mexico “Dr Federico Gomez” and Instituto Nacional de Pediatría.

Brazil

Participants were recruited from nine referral centres for the treatment of primary immunodeficiencies, and virus cultures were performed at the Enterovirus Laboratory (WHO Regional Reference Laboratory at Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro). The diagnostic criteria for CVID, XLA, and selective IgA deficiency were based on the International Consensus Guidelines for Diagnosis of Primary Immunodeficiencies (15).

United Kingdom

Participants with primary immunodeficiency were recruited from patients attending an immunology clinic at the Royal Free Hospital in London.

Consent and Institutional Review Board approvals

Written informed consent was obtained from participants or their legal guardians and assent was obtained from children aged five years or more. These studies were approved by the Joint Committee on Clinical Investigation (JC-CI) at the Johns Hopkins University School of Medicine or the Committee on Human Research (CHR) at the Johns Hopkins Bloomberg School of Hygiene and Public Health. The study of people in the United States was approved by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, GA) Institutional Review Board, the study in Mexico by Instituto Nacional de Pediatría, and the study in Brazil by the Federal University of Minas Gerais and other participating institutions.

Specimen collection and processing

WHO-recommended kits were used for collection of 5–10 g of stool. *Protocol* (©1990 ABC Medical Enterprises, Rochester, MN) receptacle collection devices were shipped to individuals in the United States. Specimens were then shipped by overnight delivery to New York, Wisconsin, Texas, or California state health department laboratories in the United States or transported in refrigerator packs by participants to the immunologists and then to laboratories in Mexico City (Instituto Nacional Diagnóstico y Referencia Epidemiológico) and Brazil. In the United Kingdom, stool samples were sent by post to the National Institute for Biological Standards and Control. Specimens not processed immediately were frozen at -70°C until cultured for polioviruses in accordance with WHO guidelines on L20B and either HEp-2 or RD cell lines (16). In the United Kingdom samples were cultured on L20B, RD, and HEp-2 cells. Cell cultures testing positive for polioviruses were further characterized by partial genomic sequencing at either the CDC or at the Oswaldo Cruz Foundation (Rio de Janeiro, Brazil) (17). The results of the cultures were submitted to the family and/or treating physician as per the family's request. Individuals with positive cultures for poliovirus had an additional specimen collected approximately three months later, which was tested using the same procedure. Polymerase chain reaction for poliovirus was also performed on stool samples in the United Kingdom.

Calculation of the confidence interval for the proportion of participants with persistent poliovirus excretion was based on the binomial distribution (Stata Corporation, Stata Statistical Software: Release 7.0; College Station, TX, 2001).

Results

Baseline characteristics of the study population recruited from different centres are shown in Table 1. Participants with IgG deficiency ranged from 1.5 to 71 years of age, but the median ages were from 11.8 to 18.1 years. There was a slight predominance of males with CVID and a striking predominance of males with agammaglobulinaemia. Four females had one of the different forms of autosomal recessive congenital agammaglobulinaemia.

In the United States, 212/529 potentially eligible members of the Immune Deficiency Foundation returned a postcard and were mailed consent forms and instructions, and 88 submitted specimens to laboratories. An additional 37 patients were contacted directly by their immunologists. In Mexico, Brazil, and the United Kingdom, participants were enrolled by their immunologist or primary care provider. Participants were recruited as they presented for routine care. Immunologists estimated that 75–100% of eligible persons participated at different centres.

Table 1. Baseline characteristics of the study population recruited from different centres

	Agammaglobulinaemia	CVID ^a	Hypogammaglobulinaemia	IgA ^b	Total
United States					
No. of participants	20	65	0	40	125
Gender (M/F) ^c	19/1	31/34	NA ^d	20/20	
Median age at enrollment (years)	11.81 (5–38) ^e	18.08 (5–71) ^e	NA ^d	26.69 (5–89) ^e	
Mexico					
No. of participants	20	5	8 ^f	0	33
Gender (M/F) ^c	18/2	4/1	5/3	NA ^d	
Median age at enrollment (years)	7.2 (1.5–19) ^e	6.9 (5.5–8.27) ^e	6.76 (1–16.7) ^e	NA ^d	
Brazil					
No. of participants	25	70	0	0	95
Gender (M/F) ^c	24/1	42/28	NA ^d	NA ^d	
Median age at enrollment (years)	13.21 (2.4–31) ^e	15.29 (1.5–45.6) ^e	NA ^d	NA ^d	
United Kingdom					
No. of participants ^g	18	75	1 ^f	0	94
Gender (M/F) ^c	18/0	39/36	1/0	NA ^d	
Total	83	215	9	40	347

^a CVID = common variable immune deficiency.

^b IgA = immunoglobulin A.

^c M/F = male/female.

^d NA = not applicable.

^e Figures in parentheses are ranges.

^f Two individuals had hyper IgM syndrome with severe hypogammaglobulinaemia.

^g Age range: 5–75 years.

Table 2. Virus isolations from people with IgG^a deficiency disorders, by country

	Vaccine-like polioviruses	Adenoviruses	Non-polio enteroviruses	No viruses	Total studied
United States	0	3	0	81	84 ^b
Mexico	1	0	4	28	33
Brazil	3	0	15	77	95
United Kingdom	0	0	0	94	94
Total	4	3	19	280	306

^a IgG = immunoglobulin G.

^b Stool culture from one participant with common variable immune deficiency was lost.

One stool specimen was obtained from all participants in the United States, Mexico, and Brazil unless the first culture tested positive for a poliovirus. In the United Kingdom, 74 patients provided two separate stool samples on different days, and 20 provided one sample.

In the United States, at least 91/125 (73%) participants had received one or more doses of OPV and 63 (50%) were known to have received three doses. In the United States, one or more family members had received oral polio vaccine after the diagnosis of immune deficiency disorder in 36 (29%) participant families. All participants in Mexico and Brazil had received OPV. In the United Kingdom, 24/94 (26%) patients provided data showing that they had been given OPV in childhood; information was inadequate for the remaining participants.

In the United States, all participants with XLA were receiving intravenous immune globulin (IVIG), and most participants with CVID were receiving replacement IVIG. In Mexico and

Brazil, all participants with XLA or CVID were receiving IVIG replacement therapy. In the United Kingdom, all participants were receiving IVIG.

Culture results

One specimen from a participant with CVID was lost. No polioviruses were isolated from the other participants in the United States (Table 2). Adenoviruses were isolated from two participants with CVID and one with selective IgA deficiency.

Polioviruses were isolated from one participant in Mexico and from three in Brazil; none of these four people had received OPV in the previous 6 months. All polioviruses were consistent with recently-acquired vaccine viruses with less than 1.0% variation from the parent vaccine viruses based on the nucleotide

sequence of the VP1 gene. Follow-up stool cultures obtained 2–4 months later were negative for polioviruses in three of the four originally positive participants, and the fourth was culture negative two months later. All samples were negative on culture and polymerase chain reaction for polioviruses.

Theoretical risk

The upper bound of the 95% confidence interval for observing zero persistent poliovirus excretors among the 306 participants with agammaglobulinaemia, CVID, or other severe deficiencies of IgG production was 1.0%.

Non-polio enteroviruses

Non-polio enteroviruses were identified in 4/33 participants in Mexico and 15/95 in Brazil. These viruses were not further characterized. Decisions regarding follow-up cultures on these participants were deferred to their immunologists.

Discussion

We did not identify any individuals with long-term excretion of polioviruses. Most participants had received OPV and almost all had been exposed to household contacts who had received OPV. Polioviruses of recent vaccine origin were transiently found in four individuals in Mexico and Brazil, where OPV is recommended for all children. Given that these participants had not received OPV recently, the viruses were probably acquired from contacts. Most individuals with B-cell deficiency disorders who survive early childhood appear to eliminate polio vaccine viruses without developing long-term excretion. Nevertheless, 19 individuals with B-cell immune deficiency disorders have been reported to WHO with polio excretion for six or more months (D. Wood, personal communication, 2003) and some have excreted the virus for more than 10 years. There are limited data on the incidence and prevalence of agammaglobulinaemia and CVID in different countries, but these disorders have been identified in countries throughout the world. Undoubtedly, some chronic polio excretors have not been identified and only a very small percentage of the affected population has been studied. The incidence of agammaglobulinaemia has been estimated to be approximately 1 per 100 000 live births in the United States and Europe, but no estimates have been made for developing countries (J. Winkestein, personal communication, 2003). No reliable estimates of the incidence of CVID can be made because of variability in case definitions used from different countries.

Patients with selective IgA deficiency can excrete polioviruses for up to six months (18). After studying 40 individuals with selective IgA deficiency we decided not to enroll additional such patients following consultations with immunologists and a review of the literature; there was no evidence to indicate that these patients are at increased risk of developing VAPP, and no cases of long-term persistent poliovirus or enterovirus infections have been reported. Similarly, we did not study patients with IgG subclass deficiency disorders that are not associated with increased risk of complications from enterovirus infections (6). We are currently completing studies of adults and children with HIV infection, children with leukaemia, and children in developing countries with recurrent infections or past history of acute flaccid paralysis from poliovirus infections. To date, we have not identified any additional persons with long-term polio virus excretion.

Investigators in Tunisia prospectively monitored 16 children with immune deficiency disorders, including six with CVID and three with X-linked hyper-IgM syndrome, following National Immunization Day (Polio Campaign) (19). The immune-deficient children did not receive OPV, but four patients, including one with CVID, acquired the vaccine viruses from contacts. These patients shed the OPV viruses for 1–7 weeks. Also, most of the individuals with XLA and CVID in our study had received OPV, but none were chronic excretors. Thus, most patients with these disorders appear to have the ability to eliminate polioviruses.

Almost all participants with IgG deficiency disorders in our study were receiving replacement immunoglobulin therapy. Passive administration of immunoglobulins can prevent paralysis associated with wild-type polioviruses (20). Replacement immunoglobulin therapy may decrease the risk of paralytic complications from vaccine viruses in persons with B-cell immune deficiency, but the protection is incomplete as some patients with persistent poliovirus excretion were receiving replacement immunoglobulins at the time they developed paralysis (8) (D. Wood, personal communication, 2003). Replacement immunoglobulin therapy does not prevent or treat persistent enterovirus infections in persons with B-cell deficiency disorders (6, 21). One patient developed persistent poliovirus excretion following immunoglobulin therapy (22).

People with CVID often do not develop signs or symptoms of immune deficiency until they are young adults (23). Most individuals with CVID in our study had been repeatedly exposed to OPV before the onset of their immune deficiency. At the time of exposure to polioviruses their immune systems may have been intact. The study may not be an accurate reflection of all persons with B-cell immunodeficiency disorders since severely affected individuals may have died at an early age or developed paralysis following exposure to polioviruses.

OPV is often transmitted to close contacts within the first few weeks after vaccination via respiratory and/or gastrointestinal tract secretions (1, 3, 4, 14). Pharyngeal excretion of polio vaccine viruses occurs, but only transiently in immunologically intact individuals (3). No prospective studies have been done or could be done on persons with known B-cell deficiency disorders, but no persons with persistent respiratory excretion of polioviruses have been identified. Persistent intestinal excretion in industrialized countries with high levels of sanitation may represent a low risk of transmission.

The eradication of wild polioviruses from circulation should be completed within the next few years. As originally envisioned, eradication was to be followed by stopping vaccination against polioviruses. However, identification of persistent poliovirus excretors and outbreaks of vaccine-derived polioviruses in Haiti, the Dominican Republic, the Philippines, and Madagascar in recent years have forced a reassessment of this strategy (7, 14, 24). Many industrialized countries have switched to IPV to reduce the risks associated with OPV; these countries will continue to use IPV for years after the last cases of wild-type virus have been identified (25). The higher cost of IPV is a barrier to the use of this vaccine in all developing countries. Nevertheless, an increasing number of combination vaccines that include IPV may allow more countries to switch to IPV (26).

Of the 19 patients identified in the past 40 years with polio excretion for more than 6 months, all but three have spontaneously stopped excreting, or died (D. Wood, personal

communication, 2003). Therefore, the risk of reintroduction of neurovirulent polioviruses from individuals with immune deficiency disorders in industrialized countries appears to be very low, but not zero.

Persistent poliovirus excretors could be a source of transmission of neurovirulent viruses to close contacts. Immunologists caring for patients with XLA, CVID, and severe combined immunodeficiency disorder (SCID) should encourage their patients to have a stool culture for polioviruses. If a poliovirus is identified extra efforts should be made to assure that IVIG is administered in a timely manner. Pleconaril is an antiviral agent with known effectiveness against some polioviruses and may be of value in efforts to eliminate the persistent excretion [21, 22]. ■

Acknowledgements

We thank the Immune Deficiency Foundation for their assistance in contacting individuals with immune deficiency disorders; Elynn Ogden for providing technical advice and administrative support; Rebecca Prevots, Aasma Shaikat, Mahmood Ali Shah and Melissa Romine for logistical support on the US study, and Tina Proveaux for assistance with manuscript preparation.

Funding: These studies were funded by grants from the United States Agency for International Development, Rotary Foundation, and the Centers for Disease Control and Prevention.

Conflicts of interest: none declared.

Resumé

Recherche des porteurs de poliovirus chez les sujets atteints d'immunodéficience primaire au Brésil, aux Etats-Unis d'Amérique, au Mexique et au Royaume-Uni

Objectif Estimer la proportion de sujets excréteurs de poliovirus sur le long terme chez les personnes présentant une immunodéficience liée aux lymphocytes B.

Méthode Les auteurs ont recherché activement les cas d'excrétion chronique de virus parmi 306 personnes connues pour avoir une carence en immunoglobulines G (IgG) au Brésil, aux Etats-Unis d'Amérique, au Mexique et au Royaume-Uni et chez 40 autres ayant une carence en immunoglobulines A (IgA) aux Etats-Unis d'Amérique. Les participants ou leurs tuteurs légaux ont donné par écrit leur consentement éclairé et les études ont été officiellement approuvées. Des échantillons de selles ont été prélevés pour tous les participants et mis en culture pour rechercher les poliovirus. Le calcul de l'intervalle de confiance pour

la proportion de participants présentant une excrétion persistante repose sur la loi binomiale.

Résultats Les auteurs n'ont trouvé aucun sujet présentant une excrétion prolongée de poliovirus. Le vaccin antipoliomyélique buccal (VPO) avait été administré à la plupart des participants et presque tous avaient été en contact dans leur foyer avec des sujets vaccinés par le VPO. Des poliovirus d'origine vaccinale récente ont été retrouvés de manière transitoire chez quatre sujets au Brésil et au Mexique où la vaccination par le VPO est recommandée pour tous les enfants.

Conclusion Bien que l'excrétion chronique de poliovirus soit possible chez le sujet immunodéficient, elle semble rare.

Resumen

Búsqueda de portadores del poliovirus entre personas afectadas por una inmunodeficiencia primaria en los Estados Unidos, México, el Brasil y el Reino Unido

Objetivo Estimar la tasa de excretores crónicos de poliovirus entre las personas con trastornos de inmunodeficiencia de células B.

Métodos Se llevó a cabo una búsqueda activa de excretores crónicos entre 306 personas con deficiencia demostrada de inmunoglobulina G (IgG) en los Estados Unidos, México, el Brasil y el Reino Unido, y entre 40 personas con deficiencia de IgA en los Estados Unidos. Se obtuvo el consentimiento o asentimiento informado de los participantes o de sus representantes legales, así como la autorización oficial pertinente para realizar el estudio. Se recogieron muestras de heces de los participantes para determinar en cultivo la presencia de poliovirus. A partir de la distribución binomial se calculó el intervalo de confianza del

porcentaje de pacientes con excreción persistente del poliovirus.

Resultados Ninguno de los individuos resultó ser excretor crónico del poliovirus. La mayoría de los participantes habían recibido vacuna antipoliomielítica oral (OPV), y casi todos habían estado expuestos a contactos familiares que habían recibido OPV. Se encontraron transitoriamente poliovirus de origen vacunal reciente en cuatro personas de México y el Brasil, donde se recomienda administrar OPV a todos los niños.

Conclusión Aunque se puede dar una excreción crónica de poliovirus entre las personas con inmunodeficiencia, el fenómeno parece ser infrecuente.

References

1. Benyesh-Melnick M, Melnick JL, Rawls WE, Wimberly I, Oro JB, Ben-Porath E, et al. Studies of the immunogenicity, communicability and genetic stability of oral poliovaccine administered during the winter. *American Journal of Epidemiology* 1967;86:112-36.
2. Melnick JL, Benyesh-Melnick M, Brennan JC. Studies on live poliovirus vaccines. Its neurotropic activity in monkeys and its increased neurovirulence after multiplication in vaccinated children. *JAMA* 1959;171:1165-72.
3. Gelfand HM, Potash L, LeBlanc DR, Fox JP. Revised preliminary report on the Louisiana observations of the natural spread within families of living vaccine strains of poliovirus. In: *Live poliovirus vaccines: papers presented and discussions held at the first international conference on live poliovirus vaccines*. Special Publication No. 44. Washington (DC): Pan American Sanitary Bureau; 1959.
4. Fox JP, Gelfand HM, LeBlanc DR, Potash L, Clemmer DI, LaPenta D. The spread of vaccine strains of poliovirus in the household and in the community in southern Louisiana. In: *International Poliomyelitis Congress, ed. Poliomyelitis: papers and discussions presented at the fifth international poliomyelitis conference*. Philadelphia: Lippincott; 1961:368-83.
5. Sutter RW, Cochi SL, Melnick JL. Live attenuated poliovirus vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. *Vaccines*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999:364-408.
6. Modlin JF. Coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, 5th ed. Philadelphia (PA): Churchill-Livingstone; 2000. pp 1904-19.
7. Wood DJ, Sutter RW, Dowdle WR. Stopping poliovirus vaccination after eradication: issues and challenges. *Bulletin of the World Health Organization* 2000;78:347-57.
8. Kew OM, Sutter RW, Nottay BK, McDonough MJ, Prevost DR, Quick L, et al. Prolonged replication of a type 1 vaccine-derived poliovirus in an immunodeficient patient. *Journal of Clinical Microbiology* 1998;36:2893-9.
9. Buttinelli G, Donati V, Fiore S, Marturano J, Plebani A, Balestri P, et al. Nucleotide variation in Sabin type 2 poliovirus from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *Journal of General Virology* 2003;84:1215-21.
10. John TJ, Walker DH. Enterovirus infections, including poliomyelitis. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, editors. *Tropical infectious diseases, principles, pathogens, and practice*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 1999. pp. 1123-32.
11. Minor P. Characteristics of poliovirus strains from long-term excretors with primary immunodeficiencies. *Developmental Biology* 2001;105:75-80.
12. Minor PD, Ferguson JA, Icenogle JP. Antigenic and molecular evolution of the vaccine strain of type 3 poliovirus during the period of excretion by a primary vaccinee. *Journal of General Virology* 1986;67:693-706.
13. Dunn G, Begg NT, Cammack N, Minor PD. Virus excretion and mutation by infants following primary vaccination with live oral poliovaccine from two sources. *Journal of Medical Virology* 1990;32:92-5.
14. Sutter RW, Tangermann RH, Aylward RB, Cochi SL. Poliomyelitis eradication: progress, challenges for the end game, and preparation for the post-eradication era. *Infectious Disease Clinics of North America* 2001;15:41-64.
15. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiencies) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clinical Immunology* 1999;93:190-7.
16. *Manual of the virological investigation of poliomyelitis*. Geneva: World Health Organization; 1997. WHO document WHO/EPI/GEN/97.01.
17. Liu HM, Zheng DP, Zhang LB, Oberste MS, Pallansch MA, Kew OM. Molecular evolution of a type 1 wild-vaccine poliovirus recombinant during widespread circulation in China. *Journal of Virology* 2000;74:1153-61.
18. Savilahti E, Klemola T, Carlsson B, Mellander L, Stenik M, Hovi T. Inadequacy of mucosal IgM antibodies in selective IgA deficiency: excretion of attenuated polio viruses is prolonged. *Journal of Clinical Immunology* 1988;8:89-94.
19. Triki H, Barbouche MR, Bahri O, Bejaoui M, Dellagi K. Community-acquired poliovirus infection in children with primary immunodeficiency in Tunisia. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;41:1203-11.
20. Hammon WD, Coriell LL, Wehrle PF, Stokes J. Evaluation of Red Cross nanmaninulin as a serological agent for poliomyelitis. 4. Final report of results based on clinical diagnosis. *JAMA* 1953;151:1272-85.
21. Halliday E, Winkelstein J, Webster AD. Enteroviral infections in primary immunodeficiency (PID): a survey of morbidity and mortality. *The Journal of Infection* 2003;46:1-8.
22. Buttinelli G, Donati V, Fiore S, Marturano J, Plebani A, Balestri P, et al. Nucleotide variation in Sabin type 2 poliovirus from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *Journal of General Virology* 2003;84:1215-21.
23. Cunningham-Rundles C, Bocian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clinical Immunology* 1999;92:34-48.
24. Kew O, Morris-Glasgow V, Landaverde M, Burns C, Shaw J, Garib Z, et al. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science* 2002;296:356-9.
25. Halsey NA. Commentary: Poliomyelitis and unnecessary injections. *International Journal of Epidemiology* 2003;32:278-9.
26. Halsey NA. Combination vaccines: defining and addressing current safety concerns. *Clinical Infectious Diseases* 2001;33 Suppl 4:S312-8.