

Revista de Saúde Pública

Journal of Public Health

Estudo de soroconversão com formulações da vacina Biken CAM-70 contra sarampo

Comparison of seroconversion rates with CAM-70 measles vaccine at different dosages

Luiz Antonio B Camacho, Marcos Silva Freire, Anna MY Yamamura, Maria da Luz Leal e George Mann

Departamento de Epidemiologia. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Estudo de soroconversão com formulações da vacina Biken CAM-70 contra sarampo*

Comparison of seroconversion rates with CAM-70 measles vaccine at different dosages

Luiz Antonio B Camacho, Marcos Silva Freire, Anna MY Yamamura, Maria da Luz Leal e George Mann

Departamento de Epidemiologia. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Descritores

Vacina contra sarampo, administração e dosagem[#]. Ensaio controlado aleatórios[#]. Sarampo, prevenção e controle[#]. Testes sorológicos[#]. Anticorpos antivírus, análise. Vacinas virais.

Keywords

Measles vaccine, administration and dosage[#]. Randomized controlled trials[#]. Measles, prevention and control[#]. Serologic tests[#]. Antibodies, viral, analysis. Viral vaccines.

Resumo

Objetivo

Comparar a resposta sorológica induzida por formulações com diferentes concentrações de vírus da vacina contra sarampo da cepa Biken CAM-70.

Métodos

Crianças saudáveis de 9 a 18 meses de um centro de saúde do Rio de Janeiro, RJ, cujos responsáveis concordaram em participar, foram randomizadas em três grupos vacinados com concentrações de 5.000, 1.000 ou 200 CCID₅₀ (50% *Tissue Culture Infective Dose*). Os participantes e o pessoal da pesquisa ignoravam o tipo de vacina administrado. A avaliação sorológica foi realizada pelo teste de redução em *plaque* de lise. Duas análises intermediárias dos dados foram programadas.

Resultados

Das 223 crianças recrutadas, 84% completaram todos os procedimentos; 79% tinham idade menor que 10 meses; e 93% não tinham anticorpos contra sarampo no soro pré-vacinal. As proporções de soroconversão (quadruplicação das concentrações pré-vacinais) foram 82%, 55% e 37% ($p < 0,0000$), nos grupos vacinados com 5.000, 1.000 ou 200 CCID₅₀, respectivamente. As diferenças nas concentrações médias de anticorpos pós-vacinais também foram substanciais e estatisticamente significativas ($p < 0,000$). A soroconversão (independente da formulação da vacina) foi de 73% nas crianças com 10 ou mais meses de idade e 53% naquelas com menos de 10 meses.

Conclusões

Formulações da vacina com concentrações inferiores a 5.000 CCID₅₀ não induziram soroconversão satisfatória. O desempenho da vacina por faixas etárias foi compatível com o observado em outros estudos com a vacina Biken CAM-70 e indica que uma proporção apreciável de crianças vacinadas aos 9 meses pode não obter resposta imunológica plena.

Abstract

Objectives

To compare seroconversion rates induced by Biken CAM-70 measles vaccines at different viral concentrations.

Methods

Healthy children aged 9 to 18 months from a primary health care unit in Rio de

Correspondência para/Correspondence to:

Luiz Antonio B. Camacho
Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ
Rua Leopoldo Bulhões, 1480, sala 820,
Manguinhos
21041-210 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
E-mail: lcamacho@ensp.fiocruz.br

*Trabalho realizado no Departamento de Epidemiologia e no Centro de Saúde Escola Germano Sinval Faria da Escola Nacional de Saúde Pública e em Bio-Manguinhos da FIOCRUZ. Subvencionado pelo CNPq (Projeto Integrado Processo nº 520673/95-6). Apresentado no V Congresso de Saúde Coletiva, Águas de Lindóia-SP, 1997. Recebido em 22/7/1999. Reapresentado em 21/2/2000. Aprovado em 15/3/2000.

Janeiro, Brazil, and whose guardians agreed with their participation, were randomly assigned to receive one of the following vaccine formulations: 5,000, 1,000 or 200 CCID₅₀ (50% Tissue Culture Infective Dose). The research team, participants, and data analysts were blinded to the type of vaccine administered. Pre- and post-vaccination antibody levels were assessed through Plaque Reduction Neutralization Test. Two interim data analyses were planned to assess unequivocal evidence of the superiority of one of the vaccine types.

Results

From 223 recruited children, 84% completed the whole course. Of them, 79% were less than 10 months of age, and 93% did not show detectable measles antibodies in pre-vaccination serum. Seroconversion (four-fold increase in antibody levels) in groups vaccinated with 5,000, 1,000 or 200 CCID₅₀ were 82%, 55%, and 37% ($p < 0.0000$), respectively. Differences in the mean concentration of post-vaccination antibodies were also substantial and statistically significant ($p < 0.000$). Seroconversion rates (pooling data from all vaccine formulations) were 73% to children aged 10 months or more, and 53% in those below 10 months.

Conclusions

Vaccines with concentrations below 5,000 CCID₅₀ did not produce satisfactory seroconversion rates. The vaccine performance by age was consistent with that seen in other studies using Biken CAM-70 strain in which a sizable proportion of 9-month-old children failed to achieve full immunological response.

INTRODUÇÃO

A interrupção da circulação do vírus do sarampo nas Américas depende da disponibilidade de vacinas eficazes e seguras em serviços públicos de saúde, de modo a permitir alcançar as altas coberturas exigidas para o controle do sarampo. A epidemia de sarampo de 1997 em diversos Estados brasileiros, após cinco anos com baixo número de casos notificados, indicou a necessidade de intensificar as ações de vacinação contra sarampo em períodos de baixa incidência, conforme as recomendações da Organização Pan-Americana da Saúde.⁹

A redução na dependência externa para fornecimento de vacinas tem sido considerada estrategicamente importante na garantia de altas coberturas vacinais e levou o Ministério da Saúde a apoiar a implantação, pela Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ (Bio-Manguinhos), de uma unidade de produção de vacinas anti-sarampo em cooperação com institutos de pesquisa e agências de cooperação internacional. Como resultado de cooperação técnica e científica, Bio-Manguinhos vem produzindo desde 1984 vacinas anti-sarampo da cepa Biken CAM-70 (cepa Tanabe adaptada à membrana cório-alantóide de embrião de galinha), desenvolvida no Japão. Esta tem imunogenicidade comparável às cepas Moraten e Schwarz, porém induz proporção menor de reações febris.^{12,13}

O conteúdo mínimo de vírus na vacina contra sarampo deve ser fixado pelas autoridades nacionais de controle de cada país, respeitado o limite inferior de mil unidades virais infectantes por dose, recomendado pela Organização Mundial da Saúde.¹⁵ A vacina anti-sarampo da cepa CAM-70 foi licenciada no Brasil na

dose de 5.000 CCID₅₀ (50% Tissue Culture Infective Dose), prescrita com base nos testes de campo originais conduzidos no Pará e Pernambuco, em 1984.⁷ Naquela ocasião, toda a tecnologia de produção, controle de qualidade e avaliação clínica foi implantada em Bio-Manguinhos sob a supervisão de técnicos do Instituto Biken. Não foi utilizado na técnica de neutralização o soro referência internacional com unidades de proteção estabelecidas que permitisse a comparação com títulos obtidos em outros estudos. Nos testes de potência, deve-se utilizar preparações de vírus-padrão. Esse procedimento evita a perda de parâmetros como o de dose-resposta de uma vacina. Em 1993, Bio-Manguinhos requisitou ao Instituto Biken preparações de vírus-referência para que pudesse ser preparado o vírus-padrão, que permitisse a calibração de testes. A amostra de vírus-referência proveniente do Japão indicou a necessidade de uma correção nos títulos em aproximadamente dez vezes. Isto levou à realização de estudo para avaliar a possibilidade de redução da concentração de vírus na vacina.

O objetivo principal do presente trabalho foi avaliar se a concentração de partículas virais usada na formulação da vacina estava adequada ou se, por redução da sensibilidade nos testes de potência, devido à troca da semente de células usadas nos ensaios de potência, as vacinas estavam sendo formuladas com excesso de vírus (*high dose*). Se altas taxas de soroconversão pudessem ser obtidas com concentrações de vírus mais baixas, o impacto nos custos e na capacidade de produção da vacina no Brasil poderia ser expressivo. Concentrações menores por dose de vacina também poderiam reduzir a frequência de reações adversas.

A comparação da eficácia das diversas doses não

foi objeto do presente estudo porque a incidência de casos de sarampo confirmados por sorologia seguia sendo muito baixa nos anos que precederam o trabalho de campo. Além disso, o título de anticorpos neutralizantes pós-vacinais no soro permite aproximação satisfatória da proteção contra o sarampo.⁶

Para alcançar o objetivo proposto, o presente estudo propôs-se a: avaliar e comparar as taxas de soroconversão obtidas com a vacina anti-sarampo Biken CAM-70 nas doses de 5.000, 1.000 e 200 CCID₅₀, em crianças com idade entre 9 e 18 meses sem história de vacinação contra o sarampo; comparar as concentrações médias de anticorpos induzidos pelas formulações da vacina referidas; medir a frequência de eventos adversos pós-vacinação com as três formulações da vacina.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo comparativo, randomizado, triplo-cego, em que o desfecho primário de interesse foi a resposta imunológica à vacinação contra sarampo. A aplicação das vacinas e a coleta de sangue foram realizadas no Centro de Saúde Escola Germano Sinval Farias (CSEGSF) da Escola Nacional de Saúde Pública, que oferece atendimento primário de saúde às populações das favelas localizadas nas adjacências do campus da FIOCRUZ, localizado no bairro de Manguinhos, zona Norte da cidade do Rio de Janeiro. As dosagens de anticorpos neutralizantes, bem como o monitoramento da potência das vacinas, foram realizados nos laboratórios de Bio-Manguinhos.

As crianças cujos pais concordaram em participar do estudo foram distribuídas aleatoriamente pelos três grupos de comparação, correspondentes às diferentes formulações da mesma vacina. A inclusão de um grupo-controle recebendo placebo não era eticamente aceitável porque vacinas eficazes e seguras já estavam disponíveis na rede pública de saúde. O grupo vacinado com a formulação de maior concentração por dose (5.000 CCID₅₀) serviu como referência pois se tratava da dose administrada de rotina.

Em que pese a eficácia comprovada da vacina contra o sarampo, o presente estudo se justificava pela necessidade de se determinar a dose ótima da vacina, capaz de determinar proteção com boa margem de segurança. O risco a que estiveram expostos aqueles que receberam a formulação de menor potência da vacina foi pequeno pelo fato de não estarem ocorrendo casos confirmados de sarampo na época e porque as crianças que não apresentaram soroconversão eram revacinadas no espaço de 8 a 12 semanas.

A vacina aplicada nos três grupos de comparação diferiam apenas na concentração de partículas virais, sendo a de maior potência equivalente a que vinha sendo utilizada na rotina de vacinação. Testes de potência e de esterilidade bacteriana e fúngica das vacinas foram realizados pelo departamento de controle de qualidade em Bio-Manguinhos. O estudo incluiu o monitoramento dos eventos indesejáveis pós-vacinais e a comparação da frequência deles entre os grupos.

Os critérios de inclusão no estudo foram: idade entre 9 e 18 meses e consentimento do responsável pela criança. Os critérios de exclusão foram: antecedentes de vacinação ou infecção prévia pelo sarampo; antecedentes de distúrbios convulsivos, reações anafiláticas à neomicina ou administração recente de imunoglobulina ou outros hemoderivados; e imunossupressão.

As crianças participantes do estudo foram recrutadas entre as que se apresentaram espontaneamente para vacinação de rotina. As mães eram informadas sobre os objetivos do estudo e o termo de consentimento, por uma auxiliar de pesquisa treinada. As mães que concordavam em participar eram entrevistadas para obtenção dos dados demográficos, história clínica, peso e comprimento das crianças. Uma amostra de 3 ml de sangue através de punção de veia do antebraço era coletada para dosagem de anticorpos contra sarampo. Os procedimentos realizados eram assinalados em um cartão de controle com o número de identificação no estudo.

Os frascos de vacina foram rotulados com letras de A a I de tal forma que a cada tipo de vacina foram atribuídas aleatoriamente três, de forma a minimizar as chances de desvendamento dos códigos. Cada criança recebia a formulação da vacina correspondente à letra que lhe cabia pela ordem de chegada. Os códigos eram conhecidos apenas pelo consultor estatístico do projeto e pelo responsável pelo envasamento e rotulação das vacinas em Bio-Manguinhos.

A randomização dos participantes foi feita por blocos de nove crianças consecutivas, de modo a garantir um equilíbrio na distribuição pelos três grupos de comparação ao longo do processo de recrutamento. A seqüência das letras em cada bloco era aleatória e não podia ser prevista pela vacinadora. A letra do frasco de vacina aplicada na criança era registrada nos questionários. O treinamento para o trabalho de campo enfatizou a aderência estrita à seqüência das vacinas, sem mencionar a divisão por blocos, nem outros detalhes do processo de randomização. As amostras de sangue encaminhadas ao laboratório foram rotula-

das com números aleatórios de forma a impedir a identificação da criança pelo responsável pelas dosagens.

Para verificação dos eventos adversos pós-imunização foi agendado um retorno da criança ao centro de saúde após 10 dias, mas as mães eram estimuladas a comparecer em datas não agendadas em caso de febre, exantema ou qualquer outro sinal ou sintoma. O retorno de todas as crianças um mês após a vacinação foi agendado para coleta de amostra de sangue para dosagem de anticorpos contra sarampo. Visitas domiciliares, telefonemas e telegramas foram também utilizados no caso de não comparecimento na data agendada.

Foi formulado um lote de vacina-padrão, contendo um mínimo de 5.000 CCID₅₀/dose (metodologia de Bio-Manguinhos) ou 50.000 p.f.u. (metodologia do Instituto Biken). Parte desse lote foi diluído a 1:5 e 1:25, resultando em outras duas vacinas contendo um mínimo de 1.000 CCID₅₀/dose e 200 CCID₅₀/dose, respectivamente. Todas essas atividades foram realizadas dentro da área de produção, utilizando-se os mesmos equipamentos de acordo com as "boas práticas de fabricação". Os três lotes de vacina formulados foram submetidos a todos os testes de controle de qualidade requeridos para a vacina contra o sarampo, tendo sido aprovados os resultados de potência como segue: Lotes 958SB024Z, Experimental 24-4B e Experimental 24-4C, com Log₁₀ CCID₅₀/dose igual a 4,23, 3,35 e 2,63, respectivamente. Após a liberação pelo Controle de Qualidade de Bio-Manguinhos, as vacinas foram rotuladas de acordo com os códigos fornecidos por estatístico, sendo totalmente desconhecidos pelo pessoal responsável pela aplicação da vacina e pelo que executou a avaliação sorológica.

A avaliação sorológica foi realizada pelo método de micro PRNT, em placas de 96 orifícios, utilizando-se uma placa para cada 10 amostras. Para cada placa, ou grupo de 10 amostras, foi utilizado um soropadrão calibrado a partir de um soro-referência internacional, com número de unidades internacionais definidas. As amostras foram tituladas à medida que chegavam ao laboratório, e os resultados em miliunidades internacionais por mililitro (mUI/ml) foram enviados para análise estatística.

Os desfechos de interesse para o estudo eram: soroconversão (quadruplicação da concentração pré-vacinal de anticorpos anti-sarampo); soropositividade (concentração de anticorpos anti-sarampo pós-vacinais ≥ 200 mUI/ml); razão entre níveis de anticorpos pós e pré-vacinais; e eventos adversos pós-vacinais. As covariáveis de interesse para a análise foram: idade, sexo, estado nutricional e intercorrência clínica.

Os eventos adversos de interesse incluíam febre (com medida da temperatura ou somente com relato da mãe), exantema, convulsão febril, reações anafiláticas moderadas e graves (hipotensão e choque e broncospasmo) e alterações neurológicas (encefalopatia, síndrome de Guillan-Barré, paralisia do nervo ocular-motor e outros).

Intercorrências clínicas eram quaisquer eventos relacionados com a saúde da criança, que ocorressem a partir do momento da vacinação. Elas incluíam eventos adversos da própria vacina, outras vacinas aplicadas no espaço de uma semana e comorbidade em geral, com potencial para alterar a resposta à vacina anti-sarampo.

A hipótese do estudo era de que formulações com concentrações menores seriam capazes de induzir soroconversão com frequência semelhante a que já era aplicada de rotina. O tamanho de amostra necessário⁵ para testar a hipótese de equivalência entre as intervenções (diferença inferior a 0,10 na proporção de soroconversão), com erro α de 0,01 (corrigido para comparações múltiplas e para análises múltiplas¹) e erro β de 0,10, era de 450 crianças nos três grupos de comparação, incluindo uma margem de perdas de 15%. Com duas análises intermediárias previstas, foi estimada em 220 mUI a diferença nas concentrações médias de anticorpos neutralizantes que o estudo poderia detectar examinando os 150 primeiros indivíduos recrutados.

Foram previamente definidas duas análises intermediárias, de modo a detectar diferenças com magnitude e significância estatística, antes do exame do total da amostra. Para manter o erro alfa global em 5%, foi estabelecido um nível de significância nominal de 1%. A evidência estatística em favor da diferença entre as respostas às doses especificadas da vacina e a decisão de interromper o recrutamento foram avaliadas por um estatístico vinculado ao projeto.

As proporções de soroconversão e de eventos adversos foram comparadas através do teste qui-quadrado (χ^2). O efeito dose-resposta foi avaliado com o teste do χ^2 para tendência linear (Mantel-Haenszel). As concentrações médias de anticorpos neutralizantes dos três grupos foram comparadas através de análise de variância. Os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram usados quando os pressupostos de distribuição normal da variável dependente e homogeneidade das variâncias (teste de Levene) não se confirmaram.¹

O ajustamento do efeito das vacinas para as variáveis com distribuição desigual pelos grupos de com-

paração utilizou a técnica de regressão logística. A variável-resposta foi a soroconversão e a variável explanatória de interesse central foi o tipo de vacina aplicada (5.000, 1.000 e 200 CCID₅₀). As covariáveis foram introduzidas no modelo uma por vez, sendo mantidas ou excluídas de acordo com a alteração que determinavam no coeficiente de regressão da variável-resposta de interesse (tipo de vacina) e com sua relevância científica. Da variável tipo de vacina derivou-se variáveis indicadoras (*dummies*) para contrastar os diferentes tipos de vacinas com relação à probabilidade de soroconversão. O tipo de vacina também foi considerado como variável quantitativa para avaliação da relação dose-efeito. A regressão múltipla foi aplicada na modelagem da resposta sorológica expressa pela razão das concentrações de anticorpos pós e pré-vacinais como função do tipo de vacina (como variável quantitativa e como categórica) ajustada para o efeito de outras covariáveis de interesse.

Os dados foram digitados e analisados no *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS para Windows versão 6.1). Foram considerados para efeito de análise todas as crianças randomizadas para receber a vacina anti-sarampo da pesquisa (análise por intenção de tratamento), inclusive as crianças com idade superior a 18 meses incluídas inadvertidamente e crianças com presença de anticorpos anti-sarampo pré-vacinais.

Dado que o limiar de detecção de anticorpos era de 50 mUI/ml no método utilizado, atribuiu-se, para fins de cálculos da razão de concentrações pós/pré-vacinais, o valor médio 25 mUI/ml às crianças sem anticorpos detectáveis.

RESULTADOS

Entre janeiro de 1996 e fevereiro de 1997 foram recrutadas 223 crianças, das quais 187 (83,9%) completaram todos os procedimentos. As perdas foram por não-retorno para o exame de sangue pós-vacinal, por dificuldades na coleta de sangue e por extravio de amostras.

As idades variaram entre 8,6 e 23,5 meses, estando 78,5% dos recrutados abaixo de 10 meses. A média e a mediana de idade eram, respectivamente, 9,8 e 9,3 meses. Os três grupos de comparação correspondentes às três formulações da vacina não apresentavam diferenças substanciais nas principais características, indicando sucesso da aleatorização (Tabela 1).

O percentual de crianças que não tinha anticorpos anti-sarampo detectáveis no soro antes da vacinação foi de 93%, enquanto 5,5% tinham concentrações inferiores a 70 mUI/ml. O título pré-vacinal máximo detectado foi de 155 mUI/ml.

Tabela 1 – Características pré-vacinais selecionadas dos grupos de vacinação.

Variável	Grupo 200 CCID ₅₀ n=75	Grupo 1.000 CCID ₅₀ n=73	Grupo 5.000 CCID ₅₀ n=75
Idade (meses)			
Média	9,7	9,7	10,0
Mediana	9,3	9,3	9,3
Sexo Masculino (%)	54,7	49,3	57,3
Peso no recrutamento (gramas)			
Média	8.908	8.748	8.963
Mediana	8.750	8.795	8.740
Aleitamento materno exclusivo			
Média (meses)	3,2	3,7	3,3
Mediana (meses)	3,0	3,0	3,0
% sem anticorpos pré-vacinais detectáveis no soro	93,3	91,4	94,4

Apresentavam peso abaixo do limite normal para a idade (acima do percentil 10) e o sexo, 13% das crianças, mas não havia desnutridos graves (abaixo do percentil 3). As proporções de desnutridos leves e moderados era desigual nos grupos de vacinação: 9,6%, 14,1% e 17,8%, nos grupos de 200, 1000 e 5.000 CCID₅₀, respectivamente. Todas as crianças haviam recebido as vacinas previstas no esquema básico de vacinação, a saber, BCG, DPT (três doses) e Sabin (pelo menos três doses). A frequência de crianças com alguma intercorrência clínica à época da vacinação anti-sarampo variou de 43% a 55% entre os grupos. As intercorrências eram, na grande maioria, afecções menores do aparelho respiratório (resfriados, nasofaringites e outras) que não constituíram contra-indicação para a vacinação.

As crianças com dados completos, comparadas àquelas perdidas no seguimento, não apresentavam diferenças substanciais e estatisticamente significativas na distribuição por sexo, idade, peso, comprimento e tempo de aleitamento materno exclusivo.

As proporções de soroconversão assim como as de soropositividade mostraram diferenças substanciais e estatisticamente significativas entre os grupos, sendo a formulação de 5.000 CCID₅₀ a que induziu maior proporção (Tabela 2). A tendência linear de aumento da proporção em relação à concentração de vírus na vacina foi fortemente significativa. As diferenças entre os vacinados com 5.000 CCID₅₀ e as demais formulações apresentaram maior magnitude e significância estatística (partição do χ^2).

As concentrações de anticorpos pós-vacinais variaram de <50 a 6.823 mUI/ml, com acentuada assimetria

Tabela 2 – Resposta sorológica às diferentes formulações da vacina anti-sarampo Biken CAM-70.

Variável	Grupo 200 CCID ₅₀ n=75	Grupo 1.000 CCID ₅₀ n=73	Grupo 5.000 CCID ₅₀ n=75	p-valor
% de soroconversão	37,1	55,4	81,7	0,00000
% com concentrações pós-vacinais >200 mUI/ml	37,1	49,2	76,2	0,0004
Média geométrica das concentrações pós-vacinais (mUI/ml)	118 (71 - 198)	166 (102-271)	506 (339 - 755)	0,000
Média das razões entre concentrações pós e pré-vacinais	4,4 (2,6 - 7,4)	6,2 (3,7 - 10,4)	18,5 (12,2 - 28,0)	0,0001*
Perdas de seguimento (%)	17,3	23,3	20,0	0,6648

* 1-way ANOVA das diferenças entre Log₁₀ das concentrações pós-vacinais e Log₁₀ das concentrações pré-vacinais.

para valores mais elevados. As médias geométricas das concentrações de anticorpos pós-vacinais mostraram diferenças substanciais e estatisticamente significativas entre os grupos de vacinação ($F_{2,181} = 10,733$; $p=0,0000$) (Tabela 2). Os pares cujos contrastes mostraram significância estatística (Bonferroni, Scheffé e Tukey) foram os de vacinados com 5.000 e 1.000 CCID₅₀ ($p=0,005$) e 5.000 e 200 CCID₅₀ ($p=0,000$). O teste de Levene indicou rejeição da homogeneidade das variâncias ($p=0,001$). A comparação entre as médias de posições (teste de Kruskal-Wallis) e o teste das medianas apontaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p=0,0001$). Considerando o cenário hipotético mais desfavorável em que não houvesse soroconversão em nenhuma das crianças perdidas no seguimento, as taxas de vacinação favoreceriam as crianças que recebessem 5.000 CCID₅₀, em relação às outras formulações (65,3%, 42,5% e 30,7%, respectivamente).

As taxas de soroconversão nas crianças de 10 meses ou mais foram maiores do que nos menores de 10 meses (75% e 53,5%, respectivamente). Entre os desnutridos, 86,4% (19/22) soroconverteram, enquanto entre os eutróficos a taxa de soroconversão foi de 54,0% (81/150).

A probabilidade de soroconversão como função do tipo de vacina anti-sarampo recebida (regressão logística), ajustada para as variáveis que mostraram efeito de confundimento (estado nutricional, aleitamento exclusivo e idade no BCG), foi 14 vezes maior nos vacinados com 5.000 CCID₅₀ e 6 vezes maior entre os vacinados com 1.000 CCID₅₀, quando comparados aos vacinados com 200 CCID₅₀ (Tabela 3).

Na avaliação da dose-resposta, estimou-se que a variação de uma unidade em logaritmo da potência da vacina correspondia a uma variação de 5,7 vezes nas chances de soroconversão ($p=0,0000$), controlando para o efeito das demais variáveis. A regressão múltipla também revelou acentuado efeito dose-resposta ajustado para o efeito das variáveis de confundimento relevantes (Tabe-

Tabela 3 – Medidas de associação (razão de chances) brutas e ajustadas entre soroconversão pela vacina anti-sarampo e tipo de vacina aplicada.

Variável	R.C. brutas	R.C. ajustadas
Tipo de vacina (CCID ₅₀)		
5.000	1,00	1,00
1.000	0,28 (0,12-0,64)	0,17 (0,06-0,45)
200	0,13 (0,06-0,30)	0,07 (0,03-0,20)
Peso (kg)	0,78 (0,59-1,02)	0,69 (0,49-0,98)
Tempo de aleitamento materno exclusivo	0,90 (0,79-1,03)	0,87 (0,74-1,03)
Idade na aplicação do BCG	2,04 (1,03-4,08)	6,84 (1,44-32,63)

la 4): para cada unidade de logaritmo (base 10) de CCID₅₀, a razão entre as concentrações pós e pré-vacinais varia 0,468 log₁₀, ou 2,9 vezes.

No questionário de seguimento após a vacinação, 84% das crianças apresentaram algum tipo de problema de saúde. As diferenças entre os grupos de vacinação foram pequenas e sem significância estatística. Os eventos mais frequentes eram afecções de vias aéreas superiores (31%), pneumonia e bronquite (7%), gastroenterites e sinais e sintomas gastrointestinais (15%), febre sem outras alterações percebidas pela mãe (15%), afecções da pele e anexos (10%) e outros. Em quatro crianças houve relato de quadro exantemático não compatível com o exantema do sarampo. Considerando apenas os primeiros 15 dias após a vacinação, as afecções de vias aéreas superiores foram as mais frequentes (17%), vindo em seguida febre sem outros problemas aparentes (16,7%), problemas gastrointestinais (10%), dermatológicos (8%) e outros sem maior gravidade. Embora a distribuição desses problemas não mostrasse diferenças importantes entre os grupos de vacinação, o tamanho da amostra não confere poder estatístico para detectar diferenças na frequência desses eventos.

DISCUSSÃO

A produção da vacina anti-sarampo na FIOCRUZ

Tabela 4 – Variação na razão entre as concentrações de anticorpos pós e pré-vacinação anti-sarampo como função do logaritmo da potência da vacina aplicada, ajustada (regressão múltipla) para covariáveis selecionadas.

Variável	Coeficiente de regressão	
	Brutos	Ajustados
Log CCID ₅₀	0,444 (0,238 - 0,650)	0,468 (0,271 - 0,665)
Idade (meses)	0,090 (0,012 - -0,167)	0,086 (0,013 - -0,159)
Peso (kg)	-0,085 (-0,196 - -0,023)	-0,095 (0,195 - 0,004)
Aleitamento materno exclusivo (meses)	-0,064 (-0,118 - -0,011)	-0,077 (-0,128 - -0,026)
Idade no BCG (meses)	0,143 (0,057 - 0,229)	0,112 (0,026 - 0,193)

é de grande importância estratégica para o Programa de Imunizações, cujas metas incluem auto-suficiência na produção. A vacina Biken CAM-70 produzida em Bio-Manguinhos tem atendido aos padrões de segurança e eficácia, permitindo uma redução drástica do número de casos de sarampo entre 1992 e 1997.

A primeira análise dos dados prevista no desenho do estudo, quando o número de crianças com dados completos alcançasse um terço do total da amostra, mostrou que as taxas de soroconversão bem como as médias geométricas das concentrações foram substancialmente maiores entre as crianças que receberam 5.000 CCID₅₀, comparadas com aquelas vacinadas com 1.000 CCID₅₀ e com 200 CCID₅₀. Os vacinados com 5.000 CCID₅₀ apresentaram, em média, resposta imunológica muito mais intensa do que os vacinados com 1.000 CCID₅₀, cuja média era, por sua vez, superior à observada nos vacinados com 200 CCID₅₀. As diferenças observadas eram significativas estatisticamente e não puderam ser explicadas por outros fatores que influenciam a resposta à vacina. Dessa forma, considerou-se que a pergunta da pesquisa foi respondida de forma inequívoca e o recrutamento de crianças foi interrompido.

Embora o desempenho da formulação com 5.000 CCID₅₀ tenha sido muito superior às demais, a proporção de soroconversão (82%) não foi satisfatória. Em outros estudos com a vacina Biken CAM-70 o desempenho da vacina foi semelhante nas crianças de faixa etária comparável (Tabela 5). Naqueles estudos a comparabilidade das diversas formulações é de difícil avaliação. Nos estudos pré-comercialização da vacina, realizados no Pará e em Pernambuco,⁶ foram observadas taxas de soroconversão inversamente proporcionais à idade e ao percentual de crianças com anticorpos maternos. Nos demais estudos citados na Tabela 5, houve evidências de anticorpos maternos até os 11 meses de idade. No estudo de Berry et al.³ (1992), a proporção de soroconversão pela vacina Biken CAM-70 com 10^{5,4} p.f.u./dose foi semelhante ao da Schwarz (81%) mas inferior ao da Edmonston-Zagreb (94%), ambas com 10^{4,2} p.f.u./dose. Nos demais estudos as diferenças metodológicas eram mais acentuadas.

No presente estudo, a maior parte das crianças incluídas tinham menos de 10 meses de vida, idade em que os anticorpos maternos podem persistir em níveis capazes de interferir na resposta à vacinação. Com efeito, a taxa de soroconversão no subgrupo com idade igual ou

Tabela 5 – Resumo de estudos de campo com a vacina Biken CAM-70.

Autores, local, ano de vacinação	Idade e número de participantes	Método sorológico	Resultados	Observações
Ueda et al. ¹⁴ Japão, 1968	9 meses a 7 anos; n = 141	Neutralização	100% de soroconversão	≥2.500 CCID ₅₀ / dose
Mirchamsy et al. ⁸ Iran, 1968	9 meses a 7 anos; n = 523	Inibição de hemaglutinação e neutralização	81,5% (neutr.); 78,5% (HI)	500 CCID ₅₀ / dose
Sangkawibha et al. ¹² Tailândia, 1972	1 a 5 anos; n = 106	Neutralização	97,2% (títulos ≥1:4) 1 mês após.	5.000 CCID ₅₀ / dose
Ministério da Saúde ⁷ . Pará e Pernambuco, 1984	6 a 12 meses; n = 333	Inibição de hemaglutinação e neutralização	> 90% soroconversão acima de 9 meses de idade	10 ^{4,4} – 10 ^{4,9} CCID ₅₀ / dose
Pannuti et al. ¹⁰ São Paulo, 1984	9 meses; n = 205	Imunofluorescência indireta (IgG)	78,0% de soroconversão, 2 a 8 semanas após vacinação	Vacinação simultânea contra polio não interferiu.
Pannuti et al. ¹¹ São Paulo, 1986-1988	6 meses (1ª dose) e 11 meses (2ª dose); n = 96	Imunofluorescência indireta e ELISA	96,8% (ELISA) e 88,5 (RIFI) de soropositividade	Somente um teste 8 meses após segunda dose
Berry et al. ³ Lima, Peru, 1989-1990	8-9 meses; n = 182	PRNT*	80,7% ³ ≥200 mUI/ml, após 3 meses	10 ^{5,4} p.f.u./dose

PRNT: "Plaque reduction neutralization test"

maior que 10 meses foi de 73,2% (todos os grupos de vacinação), contrastando com os 53,3% entre as crianças de 9 meses, que constituíam a maior parte da amostra (77%). Esses achados são coerentes com os de Pannuti et al¹¹ (1990), em que alta positividade só foi alcançada com a segunda dose aos 11 meses.

As taxas de soroconversão maiores entre os desnutridos, embora em número muito pequeno, são compatíveis com os achados de Black et al⁴ (1986) e são apoiados pela plausível correlação inversa entre desnutrição e níveis de anticorpos maternos. Segundo Arya² (1993), crianças com má nutrição fetal perderiam anticorpos maternos mais precocemente e, em consequência, se tornariam suscetíveis ao antígeno vacinal mais cedo do que crianças eutróficas.

A vantagem maior do presente estudo está no seu desenho do tipo ensaio clínico aleatorizado triplo cego que permite o controle mais eficiente dos vieses de seleção e observação e do confundimento, inclusive para variáveis não medidas.

A impossibilidade de incluir um grupo-controle recebendo placebo limita o conhecimento do que está ocorrendo na comunidade, independente da vacinação, em relação às dosagens sorológicas. Os níveis de anticorpos pós-vacinais em uma proporção de cri-

anças poderiam estar refletindo exposição à infecção natural e não à vacina. Entretanto, na ausência de casos da doença, e em períodos curtos de um a dois meses (tempo entre dosagens pré e pós-vacinais), a probabilidade de que isso tenha ocorrido foi remota. Mesmo que o vírus estivesse circulando, não havia razões para que a exposição à infecção fosse diferente nos três grupos de comparação, e o impacto sobre o estudo seria a redução das diferenças na taxa de soroconversão e nas concentrações médias de anticorpos induzidos pelas diferentes formulações da vacina. A falta de grupo-placebo também privou o estudo de um referencial importante para avaliação dos efeitos adversos que incluíam freqüentemente sinais e sintomas comuns em outras infecções. Neste caso é legítimo supor que as reações inespecíficas se distribuíram igualmente nos três grupos de comparação, e que diferenças na freqüência de eventos relacionados à vacina refletiriam diferenças reais entre as formulações, única diferença entre os grupos de comparação.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Euclides Custódio, professor visitante da FIOCRUZ e à Dra. Isabella Maluf de Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, pela colaboração na geração e preservação dos códigos; aos Professores Takumi Iguchi e José Louzana, na avaliação dos resultados.

REFERÊNCIAS

1. Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1987.
2. Arya SC. Ideal age for measles vaccination with persisting maternal antibody, human immunodeficiency virus infection and protein-calorie malnutrition. *Infection* 1993;21:256-7.
3. Berry S, Hernandez H, Kanashiro R, Campos M, Azabache V, Gomez G et al. Comparison of higher titer Edmonston-Zagreb, Biken-CAM and Schwartz measles vaccines in Peruvian infants. *Pediatr Infect Diseases J* 1992;11:822-7.
4. Black FL, Berman LL, Borgono JM, Capper RA, Carvalho AA, Collins C et al. Geographic variation in infant loss of maternal measles antibody and in prevalence of rubella antibody. *Am J Epidemiol* 1986;124:442-52.
5. Friedman LM, Furberg CD, DeMets DL. *Fundamentals of clinical trials*. 2nd ed. Littleton, Massachusetts: PSG Publishing Company;1985.
6. Markowitz LE, Katz SL. Measles vaccines. In: Plotkin AS, Mortimer EA. *Vaccines*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company;1994. p. 242.
7. Ministério da Saúde. Fundação Serviços de Saúde Pública. Vacina CAM-70 contra o sarampo, produzida no Brasil: avaliações de campo em crianças com 6-12 meses de idade. *Bol Epidemiol Fundação SESP* 1986;18(21/26):121-9.
8. Mirchamsy H, Shafiyi A, Bassali Y, Bahrami S, Nazari F. A comparative study of two live measles vaccines in Iran. *J Hyg Camb* 1970;68:101-10.
9. Pan American Health Organization. Division of Vaccines and Immunization. Conclusions and Recommendations of the 13th Meeting of the PAHO Technical Advisory Group on Vaccine Preventable Diseases. *Final Report*. Hull, Quebec, Canada, 1999.
10. Pannuti CS, Souza VAUF, Takaoka N, Leme STS, Pereira CR, Carvalho RPS et al. Interferência entre as vacinas anti-sarampo e antipoliomielite. *Bol Oficina Sanit Panam* 1987;103:227-32.
11. Pannuti CS, Souza VAUF, Sato HK, Fink MCDS, Ribeiro MI, Hisi SK et al. Avaliação sorológica de imunização contra sarampo com duas doses administradas aos 6 e 11 meses de idade: estudo prospectivo. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1990;32:450-5.

12. Sangkawibha N, Ueda S, Tuchinda P, Sakuntanaga P, Sunthonsaratul A. Studies on measles in Thailand. VI. A clinical trial of "CAM 70" measles virus vaccine in home-dwelling children. *Biken J* 1973;16:167-71.
13. Ueda S, Okuno Y, Sakamoto Y, Sangkawibha N, Tuchinda P, Bukkavesa S et al. Studies on further attenuated live measles vaccine. VIII. Estimated duration of immunity after vaccination without natural infection. *Biken J* 1974;17:11-20.
14. Ueda S, Takahashi M, Yoshiichi M, Ogino T, Suzuki N, Yamanichi K et al. Studies on further attenuated live measles vaccine. II. Correlation between the titer of the vaccine, the antibody response and clinical reactions. *Biken J* 1970;13:117-20.
15. World Health Organization. *Requirements for measles vaccine (Live). Annex 5*. Geneva;1988. (WHO *Technical Report Series*, 771).