

## AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE IMUNIZAÇÃO CONTRA O SARAMPO COM DUAS DOSES ADMINISTRADAS AOS 6 E 11 MESES DE IDADE: ESTUDO PROSPECTIVO

Claudio S. PANNUTI (1), Vanda A. U. F. de SOUZA (1), Helena K. SATO (2), Maria C. D. S. FINK (1), Mirian I. RIBEIRO (3), Sumie K. HISI (4), Adauto CASTELO (5) & João S. de MENDONÇA (6)

### RESUMO

A eficácia sorológica de um esquema de vacinação contra o sarampo empregando duas doses da vacina BIKEN CAM 70, sendo a primeira dose administrada aos 6 meses de idade e a segunda aos 11 meses de idade foi avaliada através de um estudo prospectivo. A amostra de sangue foi colhida entre 6 e 12 meses (média de  $8,0 \pm 1,7$  meses) após a segunda dose da vacina, tendo-se empregado para pesquisa de anticorpos específicos a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e a técnica imunoenzimática ELISA. Anticorpos para o sarampo na amostra de sangue pós-vacinal foram detectados em 88,5% (85/96) das crianças quando foi empregada a RIFI e em 96,8% (93/96) quando se empregou a técnica imunoenzimática ELISA. Nenhuma das crianças apresentou, durante o período do estudo, quadro clínico compatível com sarampo. Em regiões em que uma proporção significativa de casos ocorrem antes dos 9 meses de idade, o esquema de vacinação de 2 doses, a primeira aos 6 e a segunda aos 11 meses de idade, pode representar alternativa válida para o controle do sarampo.

**UNITERMOS:** Sarampo; Vacinação.

### INTRODUÇÃO

A despeito da disponibilidade de vacinas seguras e eficientes há mais de 25 anos, o sarampo continua sendo um importante problema de saúde pública em países em desenvolvimento. Dados fornecidos pelo Ministério da Saúde do Brasil mostram que em 1986 foram notificados 129.126 casos de sarampo. As dezenas de milhares de casos registrados anualmente fornecem uma imagem da problemática do sarampo no

Brasil, especialmente se for considerado que os casos notificados representam uma parcela muito reduzida da totalidade de casos que efetivamente ocorrem em nosso meio. A observação dos coeficientes de incidência por faixas etárias mostra ser o grupo de menores de um ano o mais atingido, seguido pelos grupos de 1 a 4, de 5 a 14 e de maiores de 15 anos.

(1) Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM-52, HC FMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

(2) Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

(3) ERSA 12, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

(4) CSE Cotia, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

(5) Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brasil.

(6) Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

**Endereço para correspondência:** Dr. Claudio Sérgio Pannuti, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Laboratório de Virologia, Av. Enéas de Carvalho Aguiar, 470. CEP 05403 São Paulo, SP, Brasil.

Dentre os óbitos causados pelo sarampo, 41,6% ocorrem em crianças abaixo de um ano de idade, sendo 9,1% na faixa etária compreendida entre 0-5 meses e 26,4% na faixa etária de 0-8 meses<sup>14</sup>. Fica deste modo evidente que o período compreendido entre a perda de anticorpos passivos maternos e a vacinação contra o sarampo aos 9 meses de idade, embora curto, é extremamente importante em termos de morbidade e mortalidade. Infelizmente as vacinas para o sarampo disponíveis atualmente apresentam baixa eficácia quando administradas nos primeiros meses de vida. Assim, aos 6 meses de idade, somente 47,6% das crianças vacinadas em São Paulo apresentaram soroconversão após a vacinação<sup>11</sup>. A baixa eficácia da vacinação em crianças abaixo de 9 meses de idade poderia ser contornada pela administração de uma segunda dose da vacina por volta de um ano de idade, quando a eficácia sorológica da vacina atinge taxas superiores a 90%<sup>11</sup>. Contudo, relatos de que uma parcela significativa das crianças vacinadas antes do primeiro ano de vida passariam a apresentar um estado de imunidade alterada à revacinação, não respondendo a uma segunda e mesmo a uma terceira dose<sup>3, 7, 20</sup> trouxeram dificuldades adicionais à vacinação precoce contra o sarampo.

A resposta alterada à vacinação se caracterizaria por títulos muito baixos de anticorpos, detectáveis somente por técnicas mais sensíveis que a reação de inibição de hemaglutinação, usada classicamente para avaliação de soroconversão vacinal, ou por uma resposta transitória, na qual os anticorpos seriam detectados logo após a revacinação mas após alguns meses cairiam a níveis abaixo do limite de sensibilidade da reação de inibição da hemaglutinação. Embora não tenham sido confirmados por outros autores<sup>5, 8, 12, 19</sup> estes achados poderiam eventualmente comprometer qualquer esquema de imunização que envolvesse a administração precoce da vacina do sarampo.

No presente trabalho avaliou-se a eficácia sorológica de um esquema de vacinação para o sarampo empregando-se duas doses da vacina, no qual a primeira dose é aplicada aos 6 meses de idade e a segunda aos 11 meses de idade.

## METODOLOGIA

### CRITÉRIO PARA INCLUSÃO NO ESTUDO

Foram incluídas no estudo crianças que receberam duas doses da vacina contra o sarampo (cepa BIKEN CAM 70, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro): a primeira aos 6 meses de idade e a segunda aos 11 meses de idade. As crianças foram vacinadas em 4 Centros de Saúde da região de Cotia e no Centro de imunizações do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo, no período compreendido entre novembro de 1986 a setembro de 1988. Foram incluídas somente as crianças cujos pais, após terem recebido explanação detalhada sobre o esquema vacinal, concordaram com a coleta de uma amostra de sangue para pesquisa de anticorpos contra sarampo 6 meses após a segunda dose da vacina. O intervalo mínimo de 6 meses para coleta da amostra pós-vacinal foi escolhido para que se pudesse avaliar a ocorrência de respostas alteradas à revacinação<sup>3</sup>. Não foi colhida amostra de sangue para pesquisa de anticorpos para o sarampo antes da vacinação.

### CRITÉRIOS PARA EXCLUSÃO DO ESTUDO

Foram excluídas do estudo:

1. Crianças com antecedente de sarampo ou contacto com casos de sarampo.
2. Crianças vacinadas fora da idade prevista no protocolo do estudo (6 e 11 meses).
3. Crianças que não voltaram para coleta da amostra de sangue pós-vacinal, ou colheram a referida amostra com intervalo inferior a 6 meses ou superior a 12 meses após a segunda dose de vacina.

### PESQUISA DE ANTICORPOS IgG PARA O VÍRUS DO SARAMPO

Os anticorpos para o vírus do sarampo foram pesquisados por duas técnicas: imunofluorescência indireta e ensaio imunoenzimático (ELISA).

Na reação de imunofluorescência indireta<sup>16</sup>, empregou-se como fonte de antígeno células VERO infectadas com a amostra Toyoshima do vírus do sarampo. Foram consideradas positivas as amostras de soro com títulos iguais ou superiores a 1:5. O conjugado anti-IgG humano, com isotiocianato de fluoresceína, foi obtido comercialmente (Bio-Merieux).

A reação imunoenzimática (ELISA) foi executada segundo técnica padronizada no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo<sup>17</sup> empregando-se microplacas (Hemobag, São Paulo) sensibilizadas com a amostra Toyoshima do vírus do sarampo mantida em células VERO. As amostras de soro foram testadas na diluição de 1:20 e a absorbância foi medida em uma leitora Titertek Multiskan Plus MK II (Flow Laboratories). As amostras foram consideradas positivas quando a diferença entre a média da densidade óptica de 2 cavidades sensibilizadas com antígeno e a densidade óptica do controle de células (dDO) era igual ou superior a 0,12.

## RESULTADOS

Das 182 crianças incluídas originalmente no estudo, 86 (47,2%) foram posteriormente excluí-

das. Destas, 61 (33,7%) foram excluídas porque foram vacinadas fora da idade prevista no protocolo, 12 (6,6%) porque colheram a amostra pós-vacinal fora da época estipulada, 10 (5,5%) por dados incompletos e 3 por terem recebido uma 3ª dose de vacina antes da coleta da amostra de sangue. As restantes 96 atenderam a todas as exigências do protocolo. Nenhuma das crianças apresentou, durante o período do estudo, quadro clínico sugestivo de sarampo.

Anticorpos para o sarampo nas amostras de sangue pós-vacinal colhidas  $8,0 \pm 1,71$  meses após a segunda dose da vacina, foram detectados em 88,5% (85/96) das crianças quando empregou-se a reação de imunofluorescência indireta e em 96,8% (93/96) dos casos quando se empregou a técnica imunoenzimática ELISA (Fig. 1). A média das dDO dos casos positivos foi de 0,773 ( $\pm 0,267$ ). Dentre as crianças, excluídas do estudo, 22 receberam a primeira dose de vacina aos 7 meses e a segunda aos 11 meses. A pesquisa de anticorpos para o sarampo 6 a 12 meses (média de 8,3 meses) após a segunda dose da vacina foi positiva em 90,9% (20/22) quando os soros foram testados pela RIFI, e 95,4% (21/22) quando empregou-se a técnica imunoenzimática ELISA, com média de dDO de  $0,874 \pm 0,265$ .

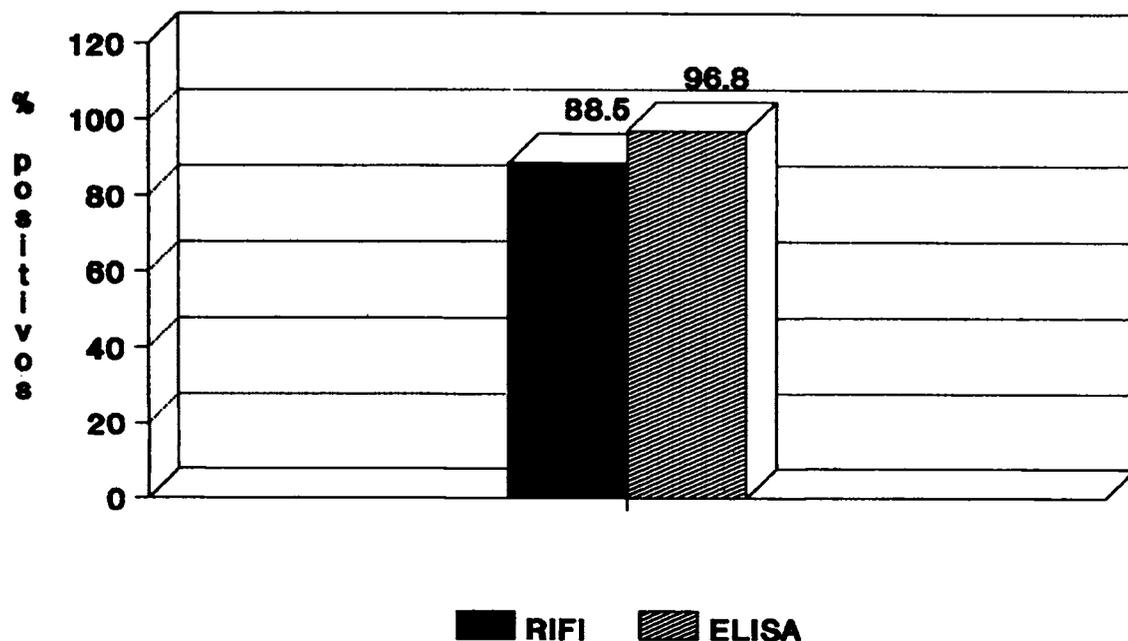


Fig. 1 — Eficácia sorológica. Vacina do sarampo, 2 doses: 6-11 meses.

## DISCUSSÃO

Dados fornecidos pelo CIS e CVE, órgãos da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo mostram que no período de 1983 a 1987 a incidência de casos hospitalizados de sarampo em crianças menores de 1 ano variou, no Estado de São Paulo, de 20,1% a 26,3% do total de casos notificados. Nesta faixa etária, 63,2% dos casos ocorreram em crianças abaixo dos 9 meses de idade. Em relação aos óbitos, 59,2% do total, incluídas todas as faixas etárias, ocorreram em crianças abaixo de um ano de idade. Neste grupo etário, 65,6% dos casos ocorreram em crianças abaixo dos nove meses de idade, correspondendo a 38,5% do total de óbitos por sarampo no Estado de São Paulo. Por outro lado, dados levantados durante surto de sarampo ocorrido no Distrito Federal, em 1983, indicam que crianças menores de 1 ano de idade são infectadas quase que exclusivamente por crianças maiores de 1 ano, no domicílio ou no peridomicílio<sup>14</sup>. Deste modo, os objetivos de um programa de imunização para o sarampo deveriam ser basicamente dois:

- 1º) Impedir que crianças adquiram sarampo durante o primeiro ano de vida, onde o risco de complicações e óbitos é muito maior.
- 2º) Reduzir o número de crianças susceptíveis na faixa etária de um a quatorze anos de idade, e com isto reduzir as fontes de infecção para as crianças com menos de um ano de idade.

O grande obstáculo que se coloca no sentido de alcançar estes objetivos está ligado à baixa eficácia das vacinas contra o sarampo disponíveis atualmente quando administradas durante o primeiro ano de vida. Esta baixa eficácia é determinada pela presença, nesta faixa etária, de anticorpos passivos maternos, que mesmo em pequena concentração impedem a multiplicação do vírus vacinal<sup>1</sup>. A persistência destes anticorpos maternos parece variar de país para país. Assim, no Kênia, estão ausentes já aos 7/8 meses de idade em praticamente todas as crianças<sup>10</sup>, enquanto que nos EUA demonstrou-se que 20% das crianças ainda apresentam anticorpos maternos aos 9 meses de idade<sup>5</sup>. No Brasil, os estudos disponíveis acerca da extinção de anticorpos

passivos maternos são escassos e seus resultados discrepantes,<sup>15, 18</sup>. Contudo, as taxas de soroconversão para o sarampo quando a vacina é administrada aos 6 meses de idade são baixas, variando de 43,0 a 72,4%, sendo em média, pouco superiores a 50%<sup>9, 11</sup>. Por outro lado, crianças que recebem a vacina do sarampo aos 11 meses de idade apresentam taxas de soroconversão bastante elevadas, variando de 93,9 a 100%<sup>11</sup>. Esta seria portanto a idade ideal para vacinar contra o sarampo, não fosse a alta incidência da doença em crianças com menos de um ano de idade. Desta forma, se a vacina é oferecida precocemente, sua eficácia será inaceitavelmente baixa, deixando conseqüentemente altas taxas de susceptíveis remanescentes. No outro extremo, se a vacina for dada mais tardiamente, muitas crianças poderão contrair o sarampo antes de atingirem a idade ideal para vacinação, com conseqüências desastrosas em termos de adoecimento e mortalidade.

O Ministério da Saúde do Brasil, seguindo recomendação do Programa Ampliado de Imunização da OMS<sup>21</sup>, optou em 1982 pela aplicação da vacina do sarampo em dose única aos 9 meses de idade. Nesta faixa etária, as taxas de soroconversão variam, de acordo com a região estudada, de 75,0 a 90,5%<sup>11, 13</sup>, abaixo portanto da ideal. Contudo, considerando que praticamente não há transmissão do sarampo entre menores de 1 ano de idade, admitiu-se que a proteção das crianças até atingirem a idade de vacinação seria feita indiretamente através do controle das fontes de infecção, ou seja, as crianças maiores de um ano. Dentro desta estratégia, a prioridade seria para o controle dos susceptíveis remanescentes. Esta política entretanto tem sido contestada com base no fato de que a vacinação aos 9 meses, mesmo que atingisse 100% da população alvo, deixaria taxas de susceptíveis remanescentes, variando, dependendo da região analisada, de 10 a 25%<sup>11</sup>. Deste modo, ao longo de poucos anos, o número de crianças de 1 a 4 anos susceptíveis seria consideravelmente grande, podendo propiciar o surgimento de surtos epidêmicos<sup>4</sup>. Nestas condições, as crianças menores de 1 ano seriam provavelmente infectadas.

Os resultados observados no presente trabalho indicam que 6 meses após a segunda dose da vacina do sarampo 88,5% das crianças apre-

sentavam anticorpos específicos ao se empregar a reação de imunofluorescência indireta e 96,8% apresentavam anticorpos detectáveis pela reação imunoenzimática ELISA, mais sensível<sup>17</sup>. Portanto, além de conferir anticorpos para o sarampo em uma parcela das crianças vacinadas já aos 6 meses de idade, este esquema resultaria em um número menor de susceptíveis remanescentes. A possibilidade de que a vacinação aos 6 meses de idade resultasse em número considerável de crianças com resposta imunológica alterada, avaliada no presente trabalho através da coleta da amostra de soro pós-vacinal somente 6 meses após a vacinação, foi afastada pelas altas taxas de soroconversão por nós observadas. Estes resultados são compatíveis com outros estudos em que técnicas mais sensíveis para detecção de anticorpos foram empregadas<sup>8, 12, 19</sup>. Deve-se, contudo, levar em consideração que, em relação às reações de neutralização e ELISA, existem poucos dados sobre os títulos mínimos que seriam necessários para proteger contra infecção.

O esquema de 2 doses, sendo a primeira aos 7 meses e a segunda aos 11 meses, pode ser avaliado em 22 crianças no presente estudo e não se mostrou significativamente superior ao esquema de 6 e 11 meses em termos de conversão sorológica.

Conclui-se que um esquema de vacinação para o sarampo com duas doses, sendo a primeira administrada aos 6 meses de idade e a segunda aos 11 meses de idade, pode representar alternativa válida para o controle do sarampo em nosso meio.

### SUMMARY

**Serologic efficacy of a two dose measles vaccination schedule at 6 and 11 months of age: a prospective study.**

A prospective study was designed to evaluate the serologic efficacy of a two dose measles vaccination schedule, at 6 months and 11 months of age. Infants were given a further attenuated measles virus vaccine (BIKEN CAM 70, Fundação Oswaldo Cruz) and serum samples were tested for measles antibodies using the indirect immunofluorescence technique (IFA) and

ELISA. Seroconversion rates 6 to 12 months (mean of  $8.0 \pm 1.7$  months) following the second dose of measles vaccine were 88.5% (85/96) by IFA and 96.8% (93/96) by ELISA. No measles cases were reported during the study period. In regions where a significant proportion of measles cases occurs before nine months of age, vaccination with a two doses schedule, at 6 and 11 months of age, may represent an alternative for measles control.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às enfermeiras Wandia Toghnofo Negrão, Nádia L. C. Lovse e Mary Camargo Monteiro, da Associação Hospitalar de Cotia, e Hatsune Yamamoto Ciuffa, do Posto de Imunizações do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo pela coordenação da fase de coleta do material, e à Dra. Lourdes de Freitas Carvalho, pelo apoio administrativo. Este projeto foi financiado parcialmente pelo FESIMA (Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBRECHT, P.; ENNIS, F. A.; SALTZMAN, E. J. & KRUGMAN, S. — Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months: mechanism of measles vaccine failure. *J. Pediat.*, 91: 715-718, 1977.
2. BECKER, R. A. & OLIVEIRA, R. C. — Eficácia da vacina e outros aspectos do sarampo em surto ocorrido em Planaltina, Distrito Federal, Brasil. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 98: 454-463, 1985.
3. BLACK, F. L.; BERMAN, L. L.; LIBEL, M.; REICHEL, C. A.; PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A.; FIGUEIRA, F. & GONZALES, E. S. — Inadequate immunity to measles in children vaccinated at an early age: effect of revaccination. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 62: 315-319, 1984.
4. FOX, J. P. — Herd immunity and measles. *Rev. infect. Dis.*, 5: 463-466, 1983.
5. KRUGMAN, S.; GILES, J. P.; FRIEDMAN, H. & STONE, S. — Studies on immunity to measles. *J. Pediat.*, 66: 471-488, 1965.
6. LAMPE, R. M.; WEIR, M. R.; SCOTT, R. M. & WEEKS, J. L. — Measles reimmunization in children immunized before 1 year of age. *Amer. J. Dis. Child.*, 139: 33-35, 1985.
7. LINNEMANN, C. C.; DINE, M. S.; ROSELLE, G. A. & ASKEY, P. A. — Measles immunity after revaccination: results in children vaccinated before 10 months of age. *Pediatrics*, 69: 332-335, 1982.

8. LOPES, M. H.; MENDONÇA, J. S.; PANNUTI, C. S.; ALBRECHT, P.; BIANCALANA, M. L. N.; MANTESE, O. C.; CORREA, J. F. & AMATO NETO, V. — Measles vaccination: influence of age on its efficacy. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 31: 322-327, 1989.
9. MALUF, E. M. C. P.; RIBEIRO, R. C.; RODRIGUEZ, M. A. L.; SKRABA, I. & CARVALHO, J. F. — Indução de anticorpos específicos pela vacina anti-sarampo. Estudo em crianças nutridas e desnutridas de 6 a 24 meses. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 27: 353-360, 1985.
10. MEASLES immunity in the first year after birth and the optimum age for vaccination in Kenyan children. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 55: 21-31, 1977.
11. MINISTRIES of Health of Brazil, Chile, Costa Rica, Ecuador, and the Pan American Health Organization. Seroconversion rates and measles antibody titers induced by measles vaccine in Latin American children 6-12 months of age. *Bull. Panamer. Hlth. Org.*, 16: 272-284, 1982.
12. MURPHY, M. D.; BRUNELL, P. A.; LIEVENS, A. W. & SHEHAB, Z. M. — Effect of early immunization on antibody response to reimmunization with measles vaccine as demonstrated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Pediatrics*, 74: 90-93, 1984.
13. PANNUTI, C. S.; SOUZA, V. A. U. F.; TAKAOKA, N.; LEME, S. T. S.; PEREIRA, C. R.; CARVALHO, R. P. S. & AMATO NETO, V. — Interferência entre as vacinas anti-sarampo e antipoliomielite. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 103: 227-232, 1987.
14. RISI JR., J. B. — Control of measles in Brazil. *Rev. infect. Dis.*, 5: 583-587, 1983.
15. SOERENSEN, B.; TAKEDA, A. K.; NAKANDAKARE, I. K.; CURI, L. C.; UMEKITA, L. F.; ZUCCAS, W. A.; GUIDONI, R.; MAGALHÃES, E.; BRITTO, S. S. & FELJÓ, I. C. — Sarampo: idade ótima e número de doses recomendadas para a vacinação no Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 27: 55-65, 1985.
16. SOUZA, V. A. U. F.; PANNUTI, C. S.; GODOY, C. V. F.; ALBRECHT, P.; LOPES, M. H. L. & MENDONÇA, J. S. — Comparison of indirect immunofluorescence test for measles antibodies with haemagglutination inhibition and plaque neutralization tests. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32: 360-363, 1990.
17. SOUZA, V. A. U. F.; PANNUTI, C. S.; SUMITA, L. M. & ALBRECHT, P. — Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measles antibody. A comparison with haemagglutination inhibition, immunofluorescence and plaque neutralization tests. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. (in press, 1991).
18. STEWIEN, K. E.; BARBOSA, V.; LIMA, O. S. & OSIRO, K. — The influence of maternally derived antibody on the efficacy of further attenuated measles vaccine. *Infection*, 6: 207-210, 1978.
19. STETLER, H. C.; ORENSTEIN, W. A.; BERNIER, R. H.; HERRMANN, K. L. L.; SIROTKIN, B.; HOPFENSBERGER, D.; SCHUH, R.; ALBRECHT, P.; LIEVENS, A. W. & BRUNELL, P. A. — Impact of revaccinating children who initially received measles vaccine before 10 months of age. *Pediatrics*, 77: 471-476, 1986.
20. WILKINS, J. & WEHRLE, P. F. — Additional evidence against measles vaccine administration to infants less than 12 months of age: altered immune response following active/passive immunization. *J. Pediat.*, 94: 865-869, 1979.
21. WORLD Health Organization Expanded Programme on Immunization (EPI). *Wkly. Epidem. Rec.*, 56: 9-12, 1981.

Recebido para publicação em 23/5/1990.