



Rapport 240012001/2008

G.A.M. Berbers | N. Jones

# Serologisch onderzoek naar het effect van de kinkhoestvaccinwisselingen in het RVP van 2004 tot 2008

Overgang van whole cell naar acellulair vaccin

bij 1-jarige kinderen

## **Serologisch onderzoek naar het effect van de kinkhoestvaccinwisselingen in het RVP van 2004 tot 2008**

Overgang van whole cell naar acellulair vaccin bij 1-jarige kinderen

G.A.M. Berbers (editor),  
N. Jones

Met medewerking van:

Nico Bolscher, hoofdonderzoeker

Stichting Carinova: Margot Baardse (Hardenberg), Marja Slotje (Dedemsvaart), Karin de Jonge (Staphorst)

Zorggroep Almere: Dionne Mooij, Rudy Liagre, Doeko de Vries

GGD Gooi en Vechtstreek: Marjo Oey, Henny Vonk (Huizen-Hilversum)

Stichting Thuiszorg Brabant Noord Oost (STBNO): Henriette Duys (Uden-Veghel), Elise Buiting  
Laboranten van het Flevoziekenhuis, Ziekenhuis Hilversum, Ziekenhuis Gooi-Noord, Röpcke-Zweers ziekenhuis, Ziekenhuis Meppel en last but not least alle JGZ medewerkers bij de betrokken consultatiebureaus

LIS-IMM (RIVM): Michiel van de Wetering, Pieter van Gageldonk, Ton Marzec, Corine Nellestijn, Femke van Nunen, Debbie van Rooijen, Gaby Smits, Rutger Schepp, Irina Tcherniaeva, Fiona van der Klis

EMI (RIVM): Maarten Schipper, Jan van den Kassteele

Contact:

G.A.M. Berbers

Laboratorium voor Infectieziekten en Screening

[guy.berbers@rivm.nl](mailto:guy.berbers@rivm.nl)

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van en ten laste van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport in Nederland, binnen het raamwerk van het project Immuunsurveillance V230421 (deelproject V/240012/01/VK)

© RIVM 2008

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: 'Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave'.

## Rapport in het kort

### Serologisch onderzoek naar het effect van de kinkhoestvaccinwisselingen in het RVP van 2004 tot 2008

#### Overgang van whole cell naar acellulair vaccin bij 1-jarige kinderen

Kinderen die sinds 2005 met het nieuwe kindhoestvaccin zijn gevaccineerd, maken meer antistoffen tegen de ziekte aan dan bij gebruik van het oude vaccin. Aangezien het effect van het vaccin pas op lange termijn merkbaar is in de bevolking, is nu nog niet duidelijk of hierdoor het aantal gevallen van kinkhoest zal dalen. Dit blijkt uit een onderzoek van het RIVM naar het effect van de wisselingen van het kinkhoestvaccin tussen 2004 en 2008 in het Rijksvaccinatieprogramma (RVP) bij ruim 400 kinderen van 1 jaar oud.

Sinds 2005 wordt aan 1-jarigen een nieuw kinkhoestvaccin toegediend. Bovendien is in 2001 op een leeftijd van 4 jaar een herhaalenting toegevoegd aan het prikschema. Aanleiding voor de aanpassingen is een forse toename van het aantal kinkhoestgevallen sinds de jaren negentig.

Het RIVM beveelt aan om niet alleen de samenstelling van het RVP in het eerste levensjaar te onderzoeken, maar ook het tijdschema waarop de vaccins worden toegediend. Momenteel geldt voor het eerste jaar het zogeheten 3+1-schema, waarbij kinderen op 2, 3, 4 maanden een prik krijgen, gevolgd door een 'booster' op de leeftijd van 11 maanden. De in 1999 ingevoerde vervroeging van 3, 4, 5 naar 2, 3, 4 maanden lijkt minder effectief te zijn. Uit het onderzoek blijkt ook dat een gelijktijdige toediening van combinatievaccins zijn beperkingen kent. Een te groot aantal kan de effectiviteit van de vaccins onverwacht negatief beïnvloeden. Elke aanpassing in het RVP verdient daarom een degelijke evaluatie. Tegelijkertijd is het door de vele wisselingen van kinkhoestvaccins in de afgelopen tien jaar moeilijker geworden om de bescherming op lange termijn van een type vaccin te meten.

Trefwoorden:

Rijksvaccinatieprogramma, *Bordetella pertussis*, kinkhoestvaccinwisseling, acellulair en whole cell vaccin, antistoffen, serologie, interferentie



## Abstract

### **Serological surveillance of the effect of the changes to pertussis vaccines in the NIP from 2004 till 2008**

Switch from whole cell to acellular vaccine in children of 1 year of age

Children who have been vaccinated with the new pertussis vaccine since 2005 produce more antibodies directed against whooping cough compared with the old vaccine. Because the effect of this improved vaccination response will only be noticeable in the population at long term it is not clear at present whether or not the incidence of whooping cough will decrease. This is the main result of an RIVM study to monitor the effect of the pertussis vaccine changes in the national immunisation program (NIP) between 2004 and 2008 conducted in over 400 children of 1 year of age.

Since 2005 a new pertussis vaccine has been administered to children in their first year of life. This followed the 2001 introduction of a booster vaccination to the NIP schedule at the age of 4 years. The reason for these changes was the sharp increase in the incidence of pertussis cases from 1996 onwards.

The RIVM recommends investigating not only the composition of the NIP in the first year of life but also the used vaccination schedule. At present, the so-called 3+1 schedule is employed during the first year of life where children are vaccinated at 2, 3 and 4 months followed by a booster at 11 months. The change made to the schedule in 1999 – from 3, 4, 5 months to 2, 3, 4 months – appears to be less effective. The study has also revealed that the simultaneous administration of combination vaccines has limitations. If too many vaccines are combined this can unexpectedly have a negative influence on the effectivity. Consequently, all changes made to the NIP deserve a good serological evaluation. At the same time, the many changes of pertussis vaccines in the NIP during the last ten years have made it difficult to study the protection of one type of vaccine at long term.

Key words:

National immunisation programme, *Bordetella pertussis*, whooping cough, acellular and whole cell vaccine changes, antibodies, serology, interference



# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>9</b>
<b>Aanbevelingen</b>	<b>11</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>13</b>
1.1 Vraagstelling	14
1.2 Beleidsrelevantie	15
<b>2 Materialen en methoden</b>	<b>17</b>
2.1 Vaccins	17
2.2 Studie opzet	17
2.3 Groepsgrootte	18
2.4 Deelnemers en locaties	18
2.5 Vaccinatie en bloedafname	18
2.6 Immunogeniciteit (serologie)	18
2.7 Data analyse	19
2.8 Studie monitoring	19
<b>3 Resultaten</b>	<b>21</b>
3.1 Deelname	21
3.2 Antistof respons	22
3.2.1. Groep 1 (volledig gevaccineerd met WCV)	23
3.2.2. Groep 2 (primaire serie WCV met ACV-boosters)	23
3.2.3. Groep 3 (volledig gevaccineerd met ACV-GSK)	23
3.2.4. Groep 4 (volledig gevaccineerd met ACV-SP)	24
3.3 Beschermende niveaus	29
3.3.1. Groep 1 (volledig gevaccineerd met WCV)	29
3.3.2. Groep 2 (primaire serie WCV met ACV-boosters)	29
3.3.3. Groep 3 (volledig gevaccineerd met ACV-GSK)	32
3.3.4. Groep 4 (volledig gevaccineerd met ACV-SP)	32
3.4 Data van oude studies	33
3.4.1. Antistof respons 86A studie	33
3.4.2. Antistof respons 21A studie	35
3.5 Vergelijking vaccins/vaccincomponenten	36
3.5.1. Statistische analyse	36
3.5.2. Vergelijking GMT's kinkhoestvaccincomponenten	36
3.5.3. Vergelijking GMT's andere vaccincomponenten	38
<b>4 Discussie</b>	<b>41</b>
4.1 Deelnemerspercentage en groepsgrootte	41
4.2 Kinkhoest respons WCV/ACV	42
4.2.1. Prevaccinatie titers	42
4.2.2. Boosterrespons	42
4.3 Vergelijking van WCV in combinatie met oude studies (voor en na productieaanpassingen)	44
4.4 Mogelijk effect van wisseling WCV naar ACV op bescherming tegen kinkhoest	44
4.4.1. Samenstelling vaccins	45
4.4.2. Immunomechanisme voor vaccins	45
4.4.3. Bescherming vaccins	45
4.5 Bescherming op andere vaccincomponenten	46
4.6 Mogelijk effect van wisseling WCV naar ACV op andere vaccins	46



4.6.1.	Interferentie tussen Pediacel en Prevenar	46
4.6.2.	Groep 4c	47
<b>5</b>	<b>Conclusies</b>	<b>49</b>
	<b>Literatuur</b>	<b>51</b>
	<b>Appendix</b>	<b>54</b>

## Samenvatting

Dit onderzoek heeft tot doel om de veranderingen van de kinkhoestcomponent in het RVP van de afgelopen jaren serologisch te monitoren aan de hand van antistoftiters voor en na de 11-maanden-boostervaccinatie. Sinds 1997 heeft er een aantal veranderingen plaatsgevonden in het RVP waaronder enkele aanzienlijke en het is van belang deze aanpassingen goed te monitoren. In 1997 is het productieproces van het whole cell kinkhoestvaccin (WCV) aangepast om de effectiviteit en de houdbaarheid te vergroten. Op 1 januari 2005 heeft de overgang van het WCV naar het acellulaire kinkhoestvaccin (ACV met 3 kinkhoestcomponenten) als onderdeel van het combinatievaccin Infanrix (GSK) plaatsgevonden. Begin 2006 is het programma overgegaan op het ACV van Sanofi-Pasteur (met 5 kinkhoestcomponenten) als onderdeel van het combinatievaccin Pediacel (SP) en vanaf juni 2006 is het 7-valente pneumokokken vaccin (Prevenar, Wyeth) aan het RVP toegevoegd.

In 9 onderzoekslocaties verdeeld over 4 centra zijn vanaf eind 2004 tot medio 2007 443 kinderen geïncludeerd. Deze zijn als volgt verdeeld over 4 onderzoeksgroepen:

1. 32 kinderen volledig gevaccineerd met WCV in het eerste levensjaar;
2. 75 kinderen gevaccineerd in de primaire serie met WCV en een ACV-GSK booster;
3. 92 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-GSK;
- 4a. 128 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-SP;
- 4b. 109 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-SP en Prevenar.

Van deze kinderen werd, voorzover aanwezig, zowel het pre- als het postvaccinatie monster op de leeftijd van 11 en 12 maanden geanalyseerd op antistof titers tegen alle vaccincomponenten uit het RVP. Na de per protocol analyse bleven er in totaal 385 kinderen over waarvan de analyseresultaten voor de evaluatie van deze studie gebruikt konden worden.

In combinatie met studies waarbij WCV gebruikt is van voor 1997, valt te concluderen dat de aanpassingen van de kinkhoestvaccinproductie in 1997 niet hebben geleid tot hogere serologische kinkhoestantistoftiters. Ook zijn er geen aanwijzingen gevonden voor een adjuverend effect van het WCV op de andere vaccincomponenten op de korte termijn. De vervroeging van het schema van 3, 4, 5 naar 2, 3, 4 maanden zou een oorzaak kunnen zijn voor de lagere titers voor D, T, Hib en polio gevonden met het combinatievaccin van na 1997 ten opzichte van hetzelfde vaccin van voor 1997. Ondanks de lage antigene concentratie van enkele kinkhoestantigenen in het WCV vindt er toch priming van het immuunsysteem plaats bij de primaire serie vaccinaties, zoals blijkt uit de boosterrespons met ACV op de leeftijd van 11 maanden van groep 2. De ACV's vertonen, zoals verwacht op grond van hun hoge antigene dosis, zeer goede kinkhoestantistoftiters op de korte termijn met het in Nederland gehanteerde 3+1-vaccinatieschema. Het GSK-vaccin lijkt daarbij iets immunogener dan het SP-vaccin, maar dit laatste bevat twee componenten meer waardoor conclusies over verschillen in effectiviteit niet mogelijk zijn. Het is nu nog te vroeg om te beoordelen of deze goede serologische responsen een positieve invloed op de kinkhoestsituatie in Nederland hebben.

Voor de andere vaccincomponenten (D, T, Hib en polio) wordt met het Infanrix en Pediacel nagenoeg 100% bescherming volgens de internationale WHO-normen gehaald. Dit geldt ook voor het DKTP-Hib combinatievaccin met WCV, uitgezonderd de polio titers. Door de lagere D-antigeenconcentratie van de poliocomponenten in dit vaccin varieert het percentage kinderen met een beschermende titer tussen 82% en 93%. Het 7-valente pneumokokkenvaccin (Prevenar, Wyeth) geeft een goede bescherming van nagenoeg 100% voor 6 serotypes en 95% voor 1 serotype. Verder is het opvallend dat er sprake is van interferentie tussen het ACV-SP en Prevenar, zowel in positieve zin als in negatieve zin. Dit geeft aan dat het combineren van vaccins en/of vaccincombinaties zijn limieten kent en dat elke verandering in het RVP een degelijke serologische evaluatie verdient.



## Aanbevelingen

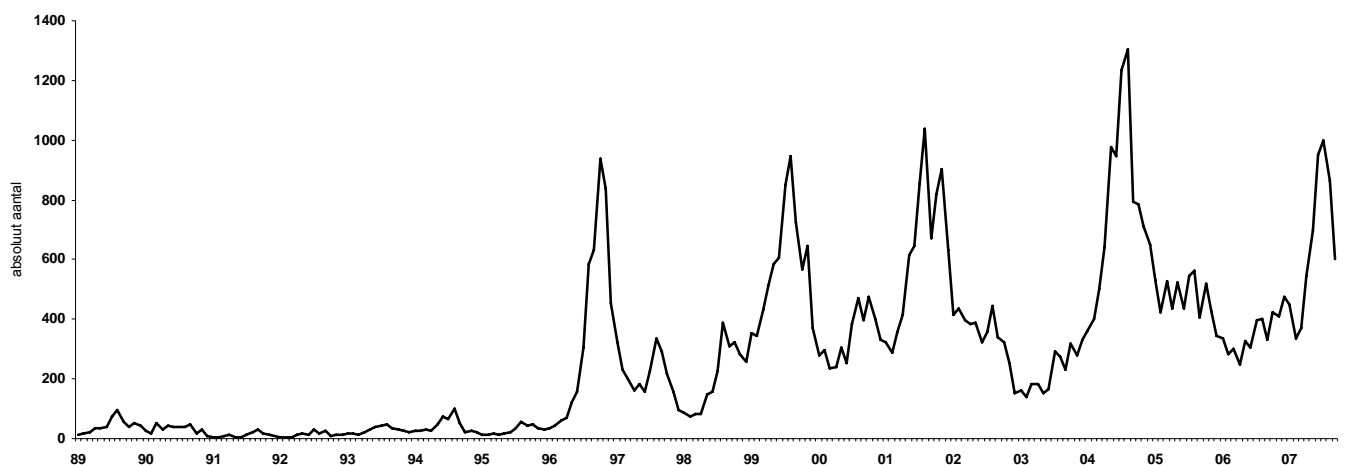
1. De overgang van WCV naar ACV leidt tot betere serologische responsen en het lijkt waarschijnlijk dat dit op de korte termijn de kinkhoestlast in Nederland zal verminderen. Het effect op langere termijn is echter onzeker gezien de nog onduidelijke rol van de wisseling van deze kinkhoestvaccins op de cellulaire immuniteit en het immunologisch geheugen en verdient nader onderzoek.
2. Veranderingen en/of aanpassingen in het RVP verdienen een zorgvuldige monitoring. Naast de klinische surveillance is er ook een serologische en cellulair immunologische evaluatie nodig.
3. Door de vele, recente veranderingen op het gebied van de kinkhoestvaccins van de laatste jaren is een serologische evaluatie en onderzoek naar langdurige immuniteit aanzienlijk bemoeilijkt. Een dergelijk groot aantal wijzigingen in een kort tijdsbestek is niet wenselijk.
4. Er zijn grenzen aan het combineren van vaccins en/of vaccincombinaties omdat er dan steeds meer sprake kan zijn van (onverwachte) interferentie tussen de verschillende vaccincomponenten, wat een negatieve invloed kan hebben op de serologische respons.
5. Het lijkt zinvol om niet alleen naar de samenstelling van het RVP in het eerste levensjaar te kijken maar tevens het gebruikte schema nader te onderzoeken. Is het mogelijk om het in Nederland gehanteerde 3+1-schema (2, 3, 4, 11 maanden) te optimaliseren? Voor een aantal vaccins/vaccincombinaties lijkt een 2+1-schema met een zelfde mate van bescherming goed denkbaar, dat dan ook nog op andere tijdstippen (2, 4, 11 versus 3, 5, 12) kan worden uitgevoerd. Ervaring met dergelijke schema's in het buitenland kan hierbij helpen. Zo'n reductie kan enorme besparingen opleveren (bijvoorbeeld 1 pneumokokkendosis minder levert een besparing van 8.000.000 € per jaar op).
6. Vervroeging van het schema van 3, 4, 5 naar 2, 3, 4 maanden lijkt een mindere serologische respons op te leveren. De reden voor deze vervroeging was om de zeer jonge baby's een betere bescherming tegen kinkhoest te bieden. Onderzoek naar de bescherming en de effecten van kinkhoestvaccinaties voor deze zeer jonge kinderen lijkt gewenst.



# 1 Inleiding

Sinds 1996 doen zich in Nederland om de 2-3 jaar epidemische verheffingen van het aantal kinkhoestincidenties voor (zie Figuur 1). De reden voor deze plotselinge re-emergence van *Bordetella pertussis* is nog steeds onderwerp van wetenschappelijke discussie maar lijkt nu verklaard te kunnen worden door wegebbende immuniteit (waning immunity) en door veranderde ecologie van *B. pertussis* [1]. De wegebbende immuniteit na de vaccinaties in het eerste levensjaar ontstaat doordat zowel natuurlijke infecties als vaccinaties onvoldoende immunologisch geheugen lijken op te wekken voor bescherming op de lange termijn. Hierdoor is het mogelijk dat men gedurende het leven meerdere keren geïnfecteerd raakt met *B. pertussis* met weliswaar vaak mildere klachten [2, 3].

Antigene variatie tussen de natuurlijk circulerende stammen en de vaccinstammen uit de jaren 50 is aangetoond bij verschillende virulentiefactoren (Pertussis toxine (Ptx), de promotor van Ptx, Pertactine (Prn) en Fimbriae (Fim)) [4, 5]. Deze variatie is weliswaar klein maar door de mismatch tussen vaccinstammen en circulerende stammen lijkt er toch een selectie te zijn opgetreden voor deze ‘nieuwe’ *B. pertussis* stammen. Deze stammen kunnen blijkbaar efficiënter partieel en/of slecht immuun individuen besmetten, waardoor ze beter worden verspreid onder de populatie [6].



Figuur 1: Wettelijke meldingen van kinkhoest vanaf 1989

In de jaren na de eerste verheffing in 1996 zijn er verschillende maatregelen genomen om de verontrustende kinkhoestsituatie in Nederland het hoofd te bieden. Allereerst is in 1997 het kinkhoest whole-cell vaccin aangepast en getracht te verbeteren door een potency verhoging en een productie-aanpassing. Vervolgens is in 1999 het schema aangepast door de primaire serie te verschuiven naar 2, 3, 4 maanden om het interval (‘window’) van onbeschermd zijn voor neonaten zo klein mogelijk te maken. Ten slotte zijn er vaccinwijzigingen-aanpassingen in het RVP-schema doorgevoerd met de introductie van een booster op 4 jarige leeftijd met acellulair vaccin in 2001 en de overschakeling van WCV naar ACV in het eerste levensjaar in 2005. Deze laatste maatregel werd genomen op het advies van de Gezondheidsraad (GR) en werd mede ingegeven door de verhoogde bijwerkingen van het WCV. In Tabel 1 is een compleet overzicht gegeven van alle kinkhoestvaccinveranderingen in het RVP sinds 1997. Het advies van de GR hield onder meer in om over te schakelen op een acellulair vaccin met tenminste 3 componenten. Vanaf 1 januari 2005 is voor de 4 vaccinaties in het eerste levensjaar gebruikgemaakt van een DaKTPHib-combinatievaccin van GSK (Infanrix-IPV-Hib), dat 3 kinkhoestcomponenten bevat, namelijk pertussis toxine (Ptx), filamenteus hemagglutinine (FHA) en pertactine (Prn) (zie Figuur 2). Vanaf begin 2006 is voor dezelfde vaccinaties het DaKTPHib-combinatievaccin van Sanofi-Pasteur (Pediaceel) gebruikt, dat 5 kinkhoestcomponenten bevat. Naast Ptx, FHA en Prn

bevat dit vaccin ook de aanhechtingsfactoren Fimbriae 2 en 3 (Fim2/3, Figuur 2)). In 2008 wordt er weer geswitched mede gezien het feit dat het dossier voor de productie van het DaKT-IPV-Hib-combinatievaccin van het Nederlands Vaccin Instituut (NVI) door het College ter beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) is afgewezen en de minister heeft besloten dit traject stop te zetten. Bij de Europese aanbesteding voor levering van het combinatievaccin is er voor 2008 weer gekozen voor Infanrix in het eerste levensjaar, maar eind van 2008 gaat dit weer veranderen in Pediacel. Ook bij de booster op 4-jarige leeftijd hebben er de laatste jaren diverse vaccinwisselingen plaatsgevonden (zie Tabel 1).

**Tabel 1: Veranderingen in de kinkhoestvaccinatie in het Rijksvaccinatieprogramma in Nederland sinds 1997 (kinkhoestcomponenten vetgedrukt)**

Tijdstip	Vaccinatieschema	Wijzigingen
Eind 1997	3, 4, 5 en 11 maanden: <b>DK<sub>WCV</sub>TP</b> + Hib*	potency (4→7 internationale eenheden)
1999	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>WCV</sub>TP</b> + Hib	vervroeging van het schema
2001	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>WCV</sub>TP</b> + Hib 4 jaar booster: DTP + <b>K<sub>ACV</sub></b>	introductie boostervaccinatie : monovalent ACV (GSK**)
2003	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>WCV</sub>TP</b> -Hib combi 4 jaar booster: DTP + <b>K<sub>ACV</sub></b>	gecombineerd met Hib monovalent ACV (GSK)
2005	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b> -Hib 4 jaar booster: DTP + <b>K<sub>ACV</sub></b>	InfanrixIPV-Hib (GSK), los HepB (SP***) monovalent ACV (GSK)
2006	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b> -Hib 4 jaar booster: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b>	Pediacel (SP), Infanrix Hexa voor HepB Triaxis (SP)
2007	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b> -Hib 4 jaar booster: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b>	Pediacel (SP) Triaxis (SP)/Infanrix-IPV#
2008	2, 3, 4 en 11 maanden: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b> -Hib 4 jaar booster: <b>DK<sub>ACV</sub>TP</b>	InfanrixIPV-Hib (GSK) Infanrix-IPV (GSK)/Triaxis (SP)##

\* DKTP-Hib: difterie, kinkhoest, tetanus, polio, Haemophilus influenza type B; \*\* GSK: GlaxoSmithKline; \*\*\* SP: Sanofi-Pasteur; # Infanrix-IPV wordt in enkele regio's van Nederland gegeven; ## Infanrix-IPV is de keuze voor 2008, maar voorraden Triaxis worden eerst opgemaakt.

## 1.1 Vraagstelling

Doel van dit serosurveillance-onderzoek is meerledig.

- Allereerst is het essentieel om de serologische immunusstatus van kinkhoest te meten, toen het DwKTP nog gebruikt werd. Deze data zijn immers nodig als referentie waartegen eventueel veranderingen in de immunusstatus nu moeten worden afgezet. De invloed van de (ingrijpende) veranderingen aan de wK-component uit 1997 is echter nog nooit onderzocht. Door de scheiding van het NVI en het RIVM in aparte agentschappen is het nu beter mogelijk dergelijke veranderingen in het RVP onafhankelijk te toetsen. Bovendien is er nu het besef dat veranderingen in het RVP gepaard moeten gaan met nauwkeurige monitoring van de immunusstatus van de bevolking.

In dit onderzoek konden we de eventuele effecten van de reeds ingevoerde wijzigingen in productie van het whole-cell vaccin uit 1997 onderzoeken. Door de uitkomsten van deze studie te vergelijken met gegevens van de DKTPHib-mengtrial uit 1993, waar de kinderen in het eerste levensjaar nog met het WCV van voor 1997 werden gevaccineerd [7]. Ook het eerste Pienter-project (bemonstering in 1995-

1996, vaccinatie met WCV van voor 1997), de Apeldoorn-studie (bemonstering in 1998 voor testen van een booster met aK bij 4-jarigen, ook gevaccineerd met WCV van voor 1997) [8] en de BMR-studie (bemonstering in 2000 na vaccinatie met WCV van na 1997) [9] kunnen inzicht verschaffen in de immunusstatus van een recent gevaccineerde populatiegroep ten aanzien van kinkhoest uit het toenmalige RVP.

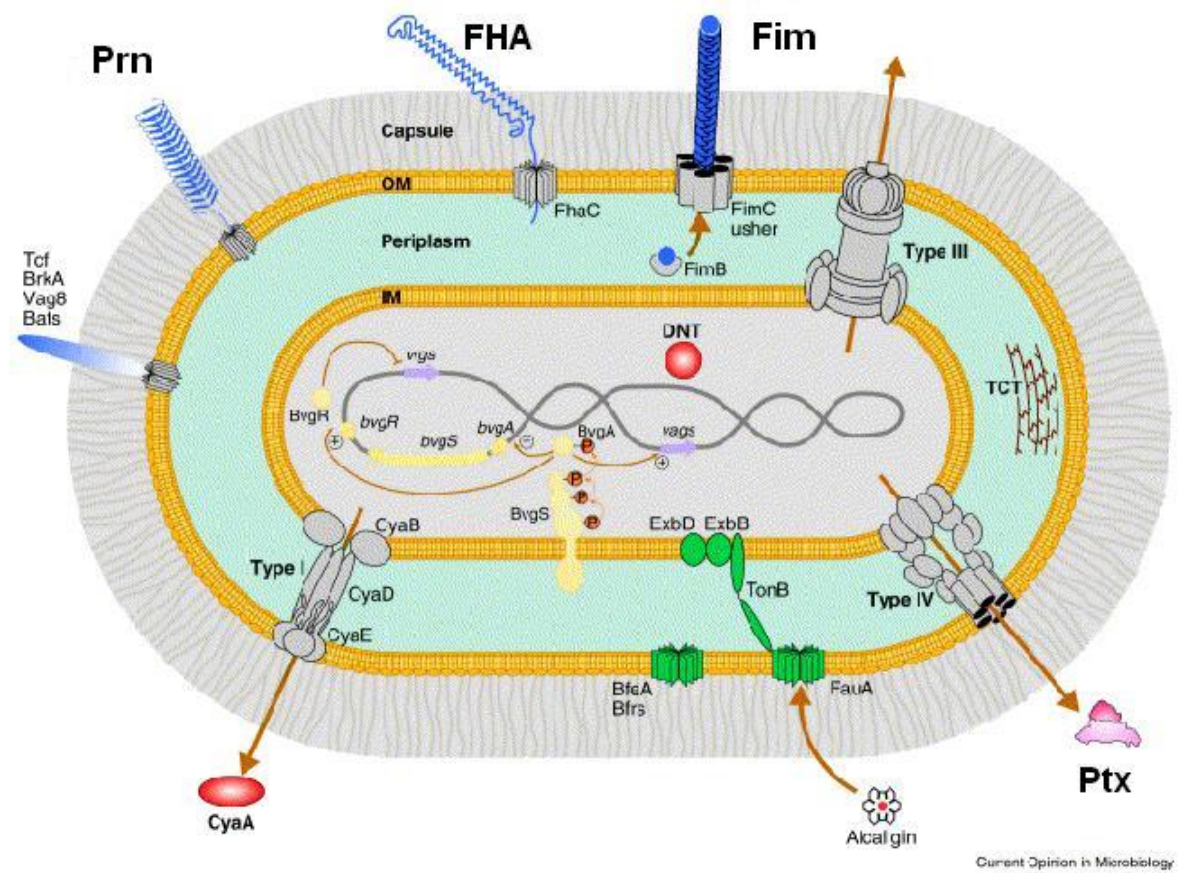
- Ten tweede kan er een vergelijking gemaakt worden tussen het WCV en ACV wat betreft de serologische immunusrespons gericht tegen de verschillende kinkhoestvaccinocomponenten. Hierbij dient in acht te worden genomen dat het WCV uit hele gedode bacteriën bestaat en derhalve een immunusrespons opwekt tegen veel meer antigenen. Wellicht biedt het WCV daardoor een bredere immuniteit en een betere bescherming. De algemeen aanvaarde conclusie uit veel grote fase-3 kinkhoest trials, gehouden in Zweden, Duitsland en Italië gedurende de jaren 80-90 om de effectiviteit van acellulaire vaccins te bestuderen, is dan ook dat de acellulaire vaccins bestaande uit 3 of meer componenten een hooguit vergelijkbare efficacy vertonen met die van goede whole-cell vaccins [10, 11]. De doorslaggevende reden voor de overstap van WCV naar ACV is het duidelijk geringere aantal bijwerkingen van dit vaccin.
- Een derde doelstelling van dit serosurveillance-onderzoek is om een mogelijke adjuverende werking van het WCV op de korte termijn in kaart te brengen. Een van de eventuele neveneffecten van de overschakeling van WCV naar ACV in het DKTPHib-combinatievaccin is het mogelijke verlies van adjuverende werking van het WCV op de immunusstatus ten aanzien van difterie, tetanus, polio en Hib. De minder adjuverende werking van aK-vaccins is al eerder beschreven en wordt ook door de GR gemeld. Invoering van aK kan resulteren in lagere difterie-, tetanus- en Hib-titers. In Engeland zijn er aanwijzingen dat de overschakeling van DwKTPHib op DaKTPHib wellicht geresulteerd heeft in een toename van het aantal Hib-gevallen, maar waarschijnlijk is het specifieke Engelse schema hier ook medeoorzaak van [12].

Tijdens het onderzoek ontstond de mogelijkheid om twee acellulaire vaccins te vergelijken omdat er in begin 2006 overgestapt werd van Infanrix van GSK naar Pediacel van Sanofi-Pasteur. Door de invoering van Prevenar in juni 2006 werd het tevens mogelijk om een eventuele interferentie tussen het heptavalente pneumokokkenvaccin van Wyeth en het DaKTPHib-combinatievaccin van SP te onderzoeken.

## 1.2 Beleidsrelevantie

Dit onderzoek verschaft inzicht in de effecten van de wijzigingen van het RVP ten aanzien van kinkhoest. Doorgaans kan immunus-surveillance in een beperkte groep ook informatie opleveren over de immunusstatus van de hele Nederlandse bevolking. Op basis van immunus-surveillancegegevens kan het vaccinatieprogramma geëvalueerd worden. Een verlaging van antistoftiters in de bevolking kan een verminderde bescherming tot gevolg hebben. Ook om de kinkhoestsituatie in Nederland op de lange termijn goed te kunnen begrijpen is deze studie van essentieel belang.





Figuur 2: Schematische weergave van de *Bordetella pertussis* bacterie met de verschillende vaccincomponenten weergegeven [13]

## 2 Materialen en methoden

### 2.1 Vaccins

In de onderstaande Tabel is de samenstelling en de hoeveelheid kinkhoestantigenen aanwezig in de verschillende vaccins weergegeven.

Tabel 1: Samenstelling in Nederland geregistreerde vaccins

Vaccins	Kinkhoest componenten				DT	TT	Polio			Hib	
	Ptx	FHA	Prn	FIM 2+3			Type I	Type II	Type III	PRP	PRP-T
WCV RIVM (RVP 96)	0,2	7	±	+	>60	>60	40	4	7.5	10	20
ACV GSK (Infanrix)	25	25	8	-	>30	>40	40	8	32	10	20-40
ACV SP (Pediaceel)	20	20	3	5	>30	>40	40	8	32	10	20

Ptx, FHA, Prn, Fim2+3 : µg eiwit

DT : IE, waarbij alle vaccins een concentratie van 15 Lf/ml bevatten

TT : IE, waarbij alle vaccins een concentratie van 5 Lf/ml bevatten

Polio type I, II en III : D antigeen eenheden (DE)

WCV-RIVM : 16 internationale opacity eenheden (IOU)

Hib : µg Polysaccharide gekoppeld aan µg TT

Prevenar (Wyeth) : 16 µg PS van 7 serotypes gekoppeld aan 20 µg CRMmutant van D-toxine;  
2 µg per serotype en 4 µg voor type 6B

### 2.2 Studie opzet

Deze studie, aKwKtrial 134, heeft als doel het bestuderen van de antistoftiters tegen de verschillende onderdelen van het DwKTPHib-combinatievaccin in vergelijking met het DaKTPHib-combinatievaccin. De focus ligt op de analyse van het vaccineffect op de kinkhoestantistoftiters. Daarnaast wordt een mogelijke interferentie met de andere vaccincomponenten onderzocht.

Gezien de korte tijd die resteerde tot de invoering van het commerciële DaKTPHib-combinatievaccin (Infanrix) per 01-01-2005 bij de start van de studie, bleef het aantal meetpunten beperkt tot het bepalen van het effect op antistoftiters van de booster op de leeftijd van 11 maanden en niet na de primaire serie vaccinaties op 5 maanden. Tijdens het onderzoek bleek dat er in begin 2006 overgeschakeld zou gaan worden op een ander DaKTPHib-vaccin (Pediaceel) en dat gedurende 2006 een nieuw pneumokokken-vaccin (Prevenar) toegevoegd zou worden aan het RVP. Om de serosurveillance van deze twee groepen te monitoren, werden groep 4a (alleen Pediaceel) en 4b (Pediaceel met Prevenar) toegevoegd aan het onderzoek.

Er zijn daarom 4 onderzoeksgroepen te onderscheiden:

1. Kinderen die volledig gevaccineerd zijn met DwKTPHib, inclusief booster op de leeftijd van 11 maanden. Intake was mogelijk van oktober tot december 2004.
2. Kinderen die de primaire serie met DwKTPHib toegediend krijgen en de booster op de leeftijd van 11 maanden met DaKTPHib. Intake heeft plaats gevonden vanaf januari 2005 tot oktober 2005.
3. Kinderen die volledig gevaccineerd zijn met het combinatievaccin DaKTPHib van GSK (Infanrix). Intake heeft plaatsgevonden vanaf oktober 2005 tot april 2006.

4. Kinderen die volledig gevaccineerd zijn met het combinatievaccin DaKTPHib van SP (Pediaceel) en al dan niet met Pneumo PCV7 (Prevenar, Wyeth). Intake was mogelijk vanaf oktober 2006 tot maart 2007 voor groep 4a en voor groep 4b heeft de intake geduurd vanaf maart 2007 tot en met juli 2007, De deelnemers krijgen de vaccinatie die ze volgens het RVP ook zouden krijgen. Er is daarmee sprake van een open label, niet gerandomiseerd onderzoek.

## 2.3 Groepsgrootte

De groepsgrootte werd vastgesteld op 50 kinderen per groep. Deze grootte is voldoende om bij een tweevoudige titerstijging tussen twee vaccingroepen dit verschil statistisch significant te doen zijn. De noodzaak van een dergelijke serologische evaluatie was aangegeven in een vergadering van VWS, GR en RIVM op 22 juni 2004. De goedkeuring van VWS werd in augustus 2004 ontvangen. Vervolgens is er in allerijl een studieprotocol geschreven en zijn er de benodigde voorbereidingen uitgevoerd (onder andere zoeken van locaties). De goedkeuring van de CCMO duurde echter wat langer dan verwacht (1x vergadering per maand en goedkeuring werd verkregen na 2 vergaderingen). Dit alles heeft ertoe geleid dat de inclusie periode van groep 1 slechts 2 maanden bedroeg. Omdat daardoor het aantal van 50 kinderen niet gehaald werd, is de groepsgrootte voor onderzoeksgroep 2 en 3 bijgesteld naar 75 deelnemers teneinde de mogelijk grotere variatie in onderzoeksgroep 1 te compenseren. Voor groep 4a en 4b is eenzelfde grootte aangehouden, waarbij er wel rekening gehouden is met mogelijke switch van vaccins tijdens de primaire serie.

## 2.4 Deelnemers en locaties

Consultatiebureaus in Hardenberg, Slagharen, Dedemsvaart, Staphorst, Hilversum, Huizen, Uden, Veghel en Almere hebben meegewerkt aan het onderzoek. Alle ouders met kinderen van 11 maanden kregen thuis een informatiebrief. Tijdens het 11-maandenbezoek aan het consultatiebureau werd de ouders gevraagd of ze mee wilden werken aan het onderzoek. Als de ouders mee wilden werken, werd de DKTPHib-vaccinatie niet op het consultatiebureau toegediend maar later bij het eerste onderzoeksbezoek. De ouders kregen een uitgebreide patiënteninformatie en toestemmingsverklaring mee naar huis. Er werd vervolgens een afspraak gemaakt voor het eerste onderzoeksbezoek.

## 2.5 Vaccinatie en bloedafname

Tijdens het eerste onderzoeksbezoek werd de vaccinatiegeschiedenis van de deelnemer genoteerd op het Case Record Form, vervolgens 2 ml. volbloed afgenomen en daarna de vaccinatie toegediend. De vaccinatie werd toegediend door een consultatiebureau-arts of een bevoegde wijkverpleegkundige. Op het Case Record Form werd ingevuld wie de vaccinatie had toegediend en welk lotnummer het betrof. Ook werd ingevuld wie het bloed had afgenomen. Na afloop van de onderzoeksavond werden alle bloedmonsters verpakt in blisters per post verzonden naar het RIVM.

Het tweede onderzoeksbezoek vond plaats 4 tot 8 weken na de vaccinatie. Tijdens het tweede onderzoeksbezoek werd nogmaals bloed afgenomen en kreeg de deelnemer een cadeaubon overhandigd.

## 2.6 Immunogeniciteit (serologie)

De bloedmonsters werden per onderzoeksgroep verzameld en geblindeerd gemeten. Analyse van de antistofiters gericht tegen de kinkhoestantigenen, alsmede voor difterie, tetanus, polio, Hib en pneumokokken werd uitgevoerd in duplo met behulp van de volgende serologische tests:

- Kinkhoest: IgG antistoftiter (EU/ml) tegen de kinkhoestantigenen Ptx, Prn, FHA, Fim2 en Fim3 door middel van een ELISA met een tweevoudige verdunningsreeks van de samples en een in-house referentieserum dat gecalibreerd is op het internationale referentie serum (lot 3 en 4 van de FDA) [14, 15].
- Difterie en tetanus: IgG antistoftiter (IU/ml) door middel van een ToBI-ELISA met een tweevoudige verdunningsreeks van de samples en het nationale referentieserum, dat gekalibreerd is op de WHO-standaard (SSI en NIBSC) [15, 16].
- Hib: IgG-antistoftiter ( $\mu\text{g/ml}$ ) door middel van een ELISA met een tweevoudige verdunningsreeks van de samples en het referentieserum van CBER-FDA [17].
- Polio: IgG-totaal tegen Polio type I, II en III door middel van een neutralisatietest op Vero cellen met een tweevoudige verdunningsreeks van de samples en het WHO referentie serum [8].
- Pneumokokken: IgG-antistoftiter ( $\mu\text{g/ml}$ ) door middel van een ELISA met een tweevoudige verdunningsreeks van de samples met het 89S-referentieserum [18, 19].

## 2.7 Data analyse

De serologiedata zijn opgeslagen en bewerkt in MS Excel. De data die genoteerd zijn op de Case Report Forms, zoals de vaccinatiegeschiedenis van de deelnemers, vaccinatietijdstippen en het soortvaccin is geanalyseerd en gebruikt bij de intention to treat (ITT) en per protocol (PP)-analyses.

Om de antistofniveaus per groep te berekenen is de geometric mean titer (GMT) gebruikt. Bij de statistische analyse is voor het aantonen van significante verschillen tussen de GMT's van de groepen de Student t-toets gebruikt ('paired samples, two-tailed'). Om te toetsen of de datasets van verschillende trials een gelijke verdeling bezaten, is gebruikgemaakt van de T-toets (gelijkheid van gemiddelden), de F-toets (gelijkheid van varianties) en de Kolmogorov-Smirnov-toets (normaal verdeling).

Als beschermende waarden zijn de internationaal gehanteerde normen gebruikt :

voor D en T 0,01 IU/ml [20, 21], voor Hib 0,15  $\mu\text{g/ml}$  [22, 23], voor polio 2log titer=3 [24] en voor pneumokkoken 0,35  $\mu\text{g/ml}$  [18]. Ook is er aandacht geschonken aan de extra strenge norm voor D en T van 0,1 IU/ml en van 1,0  $\mu\text{g/ml}$  voor Hib. Voor pertussis zijn er geen internationaal geaccepteerde normen vastgesteld. Wel is uit veldstudies gebleken dat antistoffen gericht tegen met name de virulentie factoren Ptx, Prn en Fim beschermend werken [25, 26]. Voor het antigeen FHA ligt dit wat complexer [27]. In dit rapport is de arbitraire norm van 25 EU/ml als beschermingsgrens aangehouden.

## 2.8 Studie monitoring

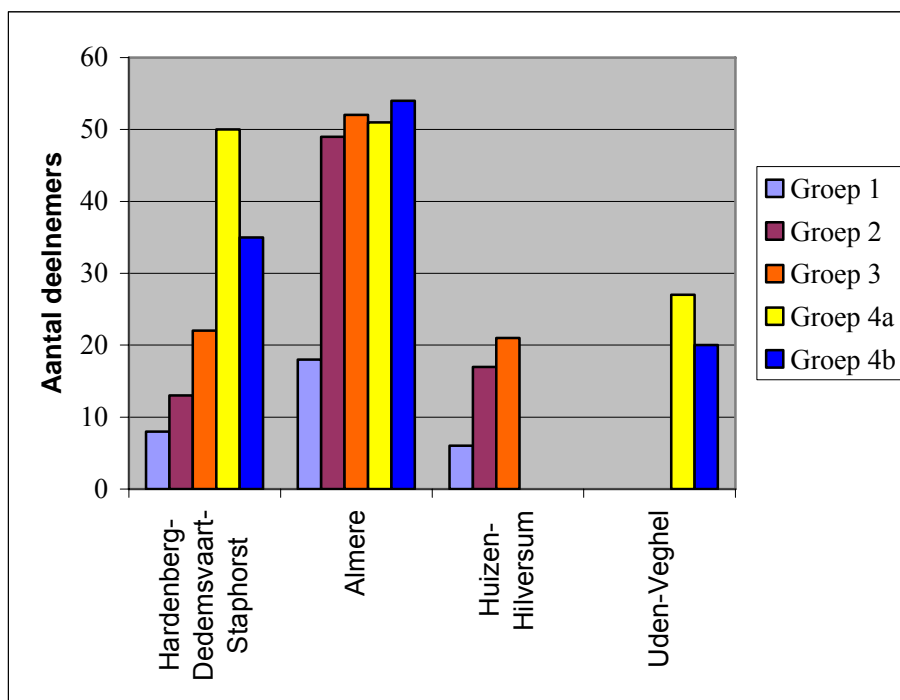
Voor dit onderzoek is een monitor aangesteld zoals wordt beschreven in de Richtlijn Goede Klinische Praktijken (GCP). De monitor had als taak het bewaken van de voortgang en de uitvoering van het onderzoek conform het protocol, GCP en relevante wettelijke vereisten. Hiertoe werden regelmatig monitoringbezoeken afgelegd.



### 3 Resultaten

#### 3.1 Deelname

De consulatiebureaus die meewerkten aan het onderzoek waren verdeeld over vier regio's. In Figuur 3 staan de aantallen deelnemers aangegeven per regio. Hierbij dient vermeld te worden dat in de regio Hardenberg voor de inclusie van groep 3 ook de locatie Dedemsvaart bij het onderzoek betrokken was. Voor de inclusie van groep 4a en 4b heeft locatie Dedemsvaart zich teruggetrokken, maar werd locatie Staphorst bereid gevonden deel te nemen. In de regio Almere waren het gedurende het onderzoek steeds dezelfde locaties, te weten Almere Filmwijk en Almere Buiten. De regio Huizen-Hilversum haakte na de inclusie van groep 3 af. Als vervanging werd in de regio Brabant Noord-Oost de locatie Uden en Veghel bereid gevonden aan het onderzoek deel te nemen. Regio Almere heeft de meerderheid van de deelnemers ingebracht, zij hebben echter ook de grootste populatie van potentiële deelnemers.



Figuur 3: Deelname per regio

Rekening houdend met het aantal potentiële deelnemers, heeft in Hardenberg-Dedemsvaart-Staphorst het hoogste percentage ouders deelgenomen ten opzichte van het totaal aantal uitgenodigde ouders (zie Tabel 2). Over het algemeen nam het percentage ouders dat mee wilde werken aan het onderzoek toe bij de groepen 1, 2 en 3, wat verklaard kan worden doordat de JGZ-medewerkers steeds beter op de hoogte waren van het onderzoek. Voor de inclusie van groep 4a en 4b moest na een tussenperiode van een half jaar het onderzoek weer opgestart worden, wat het deelnemerspercentage ongunstig kan hebben beïnvloed. Toch zijn de percentages van groep 4a en 4b een redelijke afspiegeling van de voorafgaande periodes. Wat opvalt is het hoge aantal deelnemers in de regio Hardenberg voor groep 4a en 4b, hetgeen voor een groot deel op het conto van locatie Staphorst terug te voeren is. Over het geheel is de deelname in een grote stad als Almere gemiddeld zo'n 5%, terwijl in kleinere en meer landelijke plaatsen (Hardenberg, Dedemsvaart, Staphorst, Uden, Veghel) het deelnemerspercentage gemiddeld 15% voor

Tabel 2: Percentage deelname van verschillende locaties

	Groep 1		Groep 2		Groep 3		Groep 4a+ 4b	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Hardenberg-Dedemsvaart-Staphorst	7	9,7	13	22,4	22	17,1	85	15,1
Almere-Filmwijk en -Buiten	19	4,1	49	5,4	52	6,1	105	5,0
Huizen-Hilversum	6	5	17	7,4	21	10,5		
Uden-Veghel							47	11,8
<b>Totaal</b>	<b>32</b>	<b>4,9</b>	<b>79</b>	<b>6,6</b>	<b>95</b>	<b>8,1</b>	<b>237</b>	<b>7,7</b>

regio Hardenberg bedraagt en 12% voor Uden-Veghel. In Tabel 3 staat een overzicht van de aantallen deelnemers waarbij een of meerdere bloedafnames mislukt zijn. Het percentage waarbij beide bloedafnames gelukt zijn ligt voor alle groepen boven de 90 %.

Voor de tussenrapportages is alleen de Intention To Treat-analyse (ITT) uitgevoerd, dus inclusief alle bloedmetingen die gelukt zijn. Voor de eindrapportage is de Per Protocol-analyse (PP) gebruikt en hierdoor vallen een aantal deelnemers af, omdat ze van het protocol afwijken. In Tabel 4 staat een overzicht van de deelnemers die zijn afgefallen en de reden hiervoor. Het interval tussen de vaccinatie en de tweede bloedafname is ruim gehanteerd, zodat hierdoor slechts 7 deelnemers afvielen. In groep 4a waren er 26 deelnemers die een mix van de 2 combinatievaccins hadden toegediend gekregen in de primaire serie. Deze groep van 26 kinderen is wel geanalyseerd en vormt in dit rapport een aparte subgroep, genaamd 4c.

Acht deelnemers van groep 4b vielen af omdat ze met HepB gevaccineerd zijn en dus een ander combinatievaccin (Hexavax, GSK) toegediend hebben gekregen. Bij 2 deelnemers uit groep 4b was er per ongeluk geen Prevenar toegediend en zij vielen automatisch in groep 4a. Bij 1 deelnemer was niet het gangbare RVP-schema gevolgd (deels in Turkije gevaccineerd). De leeftijd van de deelnemers was oorspronkelijk in het protocol vastgesteld op 11-12 maanden bij aanvang van het onderzoek, maar dit criterium is later weggelaten omdat veel deelnemers al ouder dan 12 maanden bleken te zijn bij aanvang van het onderzoek. Leeftijd is daarom geen reden voor uitsluiting van de Per Protocol-analyse.

## 3.2 Antistof respons

In Tabel 5 zijn de GMT's van de verschillende vaccincomponenten voor en na vaccinatie in de vier onderzoeksgroepen van deze studie (aKwK trial134) weergegeven met hun respectievelijke 95% betrouwbaarheidsinterval van dat gemiddelde. In de Appendix zijn in grafieken alle waarden van alle deelnemers uitgezet om een idee te geven van de spreiding van titers binnen de verschillende groepen per vaccinanteen. De resultaten voor de kinkhoestvaccincomponenten van de verschillende trials zijn samengevat in Tabel 9A en die voor de andere vaccincomponenten in Tabel 9B.

Tabel 3: Overzicht deelnemers met gelukte bloedafname

Aantal deelnemers:	Groep 1	Groep 2	Groep 3	Groep 4a	Groep 4b
met twee bloedafnames	29 (91%)	73 (92%)	92 (97%)	127 (99%)	105 (96%)
met alleen pre- of postmonster	2	3	1	1	3
zonder afnames (bijv. bloed prikken niet gelukt)	1	3	2	0	1

Tabel 4: Het aantal deelnemers dat uitgesloten wordt bij de Per Protocol analyse

	Groep 1	Groep 2	Groep 3	Groep 4a	Groep 4b
<b>Totaal aantal inclusie (ITT analyse)</b>	<b>32</b>	<b>79</b>	<b>95</b>	<b>128</b>	<b>109</b>
Reden voor uitsluiting:					
Tijd tussen vaccinatie en bloedafname 2 is te lang	1	2		4	
Bloedafname 2 ontbreekt	2	3	1	1	2
Beide bloedafnames ontbreken	1	3	2		1
Mix van Infanrix en Pediacel toegediend				26	
HepB vaccin toegediend (Hexavax)					8
Vergeeten Prevnaar toe te dienen				(+2)	2
Geen goed schema				1	
<b>Totaal aantal uitgesloten deelnemers</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>30</b>	<b>13</b>
<b>Totaal aantal PPanalyse</b>	<b>28</b>	<b>71</b>	<b>92</b>	<b>98</b>	<b>96</b>

### 3.2.1. Groep 1 (volledig gevaccineerd met WCV)

#### *Pertussis*

De prevaccinatie GMT's zijn zes maanden na de primaire serie voor alle pertussisantigenen heel erg laag, uitgezonderd die van FIM3. Na de boostervaccinatie op de leeftijd van 11 maanden is er nauwelijks sprake van een stijging in titer voor Ptx, is er een zeer lichte stijging voor FHA te zien, een redelijke stijging voor Prn en FIM2 en een goede stijging voor FIM3. Dit reflecteert de antigene samenstelling van het WCV voor deze componenten.

#### *DTHib*

De prevaccinatiewaarden liggen nog boven het beschermend niveau (0,01 IU/ml en 0,15 µg/ml). Na vaccinatie is er een goede stijging te zien.

#### *Polio*

De prevaccinatiewaarden liggen voor de drie types rondom het beschermend niveau (2log titer=3, titer=8) Voor type 1 en 2 er net boven en voor type 3 eronder. Na booster is er een goede stijging te zien voor alle drie types waarbij type 1 de hoogste waarde vertoont en type 3 de laagste (2log titer=7, titer=128).

### 3.2.2. Groep 2 (primaire serie WCV met ACV-booster)

#### *Pertussis*

Het effect van de booster met Infanrix is meteen merkbaar. De postvaccinatietiters voor Ptx, FHA en Prn, de bestanddelen van het ACV van GSK, zijn fors gestegen ten opzichte van het wederom zeer lage prevaccinatie-niveau. De postvaccinatietiters voor FIM zijn gelijk aan de prevaccinatietiters want dit antigeen is geen component van het ACV van GSK. Ze blijven net boven het achtergrondniveau steken en reflecteren een kleine resttiter van de vaccinaties van de primaire serie op 2, 3 en 4 maanden.

#### *DTHib*

De GMT's voor D, T en Hib zijn iets hoger in deze groep vergeleken met groep 1, maar dit is niet statistisch significant.

#### *Polio*

De poliotiters zijn vergelijkbaar met die van groep 1 zowel voor als na vaccinatie. Het valt op dat ook in deze groep net als in groep 1 de pretiter voor type 3 beneden beschermend niveau is teruggezaakt.

### 3.2.3. Groep 3 (volledig gevaccineerd met ACV-GSK)

#### *Pertussis*

De prevaccinatietiters voor Ptx, FHA en Prn bewegen zich rondom de hier arbitraire norm van



25 EU/ml en liggen voor Ptx en FHA boven het postvaccinatieniveau van groep 1 (zie Appendix). Het ACV-GSK induceert na de booster een excellente respons. De titers van FIM zijn voor en na vaccinatie gelijk en liggen op achtergrondniveau.

#### *DTHib*

Voor vaccinatie zijn de titers nog boven beschermend niveau en na vaccinatie is er een goede stijging waarneembaar. De postGMT's voor tetanus en Hib lijken hoger dan die in groep 1 en 2, terwijl de GMT voor difterie juist wat lager lijkt te zijn.

#### *Polio*

Zowel de pre- als de postvaccinatie GMT's voor alle drie types liggen hoger dan die van groep 1 en 2. De prevaccinatietiters liggen nog ruim boven beschermend niveau (2log titer $\geq$  4, titer $\geq$ 16 of meer) en de postvaccinatie GMT's zijn een factor 8 hoger dan geïnduceerd met DKTPHib van NVI (2log titer=10, titer=1024).

### **3.2.4. Groep 4 (volledig gevaccineerd met ACV-SP)**

#### *Pertussis*

De prevaccinatietiters voor Ptx, FHA, Prn en Fim2/3 zijn ook hier nog niet helemaal teruggezakt naar achtergrondniveau op de leeftijd van 11 maanden. Ze liggen echter onder de gehanteerde norm van 25 EU/ml met uitzondering van FHA. Het ACV-SP induceert na de booster een zeer goede respons tegen alle componenten met uitzondering van Fim3 die wat achter blijft. Wel zijn de GMT's voor FHA en Prn duidelijk lager (zo'n 60 %) dan bij groep 3 met ACV-GSK. Ook het GMT voor Ptx is iets lager (ruim 10%). Opvallend is dat er verschillen in de postGMT's waarneembaar zijn tussen de twee subgroepen (4a en 4b) geïmmuniseerd met hetzelfde ACV-SP. Voor Prn en de Fim2 en 3 lijkt het niet zo uit te maken maar voor Ptx en FHA liggen de GMT's in groep 4b zo'n 20-25% lager dan in groep 4a.

#### *DTHib*

Vergelijkbaar met groep 3 zijn voor vaccinatie de titers nog niet teruggezakt beneden beschermend niveau en na vaccinatie is er een goede stijging te zien. Ook hier zijn er wel onderlinge verschillen in de postGMT's tussen de twee subgroepen. Echt opvallend zijn de zeer hoge GMT's voor T en Hib in subgroep 4c.

#### *Polio*

Zowel de pre- als postvaccinatie GMT's liggen boven het beschermende niveau. De titers voor de drie types zijn vrijwel identiek voor de twee subgroepen. Ze liggen een factor 2-4 lager dan die van groep 3, maar nog wel een factor 2-4 hoger dan groep 1 en 2.

#### *Pneumo*

De GMT's voor vaccinatie liggen voor 5 van 7 serotypen onder beschermend niveau (0,35 µg/ml) met uitzondering van serotype 14 en 19F. Na vaccinatie is er een zeer goede stijging waarneembaar voor alle serotypes tot ver boven het beschermend niveau.

Tabel 5 : GMT's (Geometric Mean Titer) voor de verschillende vaccincomponenten opgesplitst voor de vier groepen van studie-134. Voor iedere vaccincomponent is het GMT met zijn respectievelijke 95% CI (confidence interval) in de pre- en postvaccinatie-sera weergegeven met daarbij het aantal sera dat in de desbetreffende assay gemeten is

**Groep 1: Volledig gevaccineerd met WCV**

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	31	<b>1,2</b>	[1,0 – 1,4]	28	<b>3,4</b>	[2,1 – 5,4]	EU/ml
FHA	31	<b>3,1</b>	[2,1 – 4,7]	28	<b>17</b>	[12 – 25]	EU/ml
Prn	31	<b>5,3</b>	[3,7 – 7,7]	28	<b>34</b>	[24 – 49]	EU/ml
Fim 2	31	<b>4,2</b>	[2,6 – 6,7]	27	<b>50</b>	[29 – 85]	EU/ml
Fim 3	31	<b>19</b>	[13 – 28]	28	<b>183</b>	[142 – 235]	EU/ml
<b>Difterie</b>							
	31	<b>0,08</b>	[0,06 – 0,12]	28	<b>1,54</b>	[1,05 – 2,27]	IU/ml
<b>Tetanus</b>							
	31	<b>0,14</b>	[0,1 – 0,21]	28	<b>1,99</b>	[1,25 – 3,17]	IU/ml
<b>HiB</b>							
	31	<b>0,45</b>	[0,29 – 0,71]	28	<b>6,05</b>	[3,34 – 10,97]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	30	<b>3,7</b>	[3,1 – 4,4]	27	<b>7,5</b>	[6,2 – 9,0]	2log titer
type II	30	<b>3,1</b>	[2,6 – 3,6]	27	<b>7,2</b>	[6,2 – 8,4]	2log titer
type III	30	<b>2,7</b>	[2,3 – 3,1]	27	<b>5,6</b>	[4,6 – 6,9]	2log titer

**Groep 2: primaire serie met WCV en booster met ACV-GSK**

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	74	<b>1,3</b>	[1,1 – 1,5]	71	<b>42</b>	[32 – 54]	EU/ml
FHA	73	<b>3,0</b>	[2,4 – 3,8]	71	<b>77</b>	[57 – 96]	EU/ml
Prn	74	<b>4,4</b>	[3,6 – 5,3]	71	<b>96</b>	[74 – 126]	EU/ml
Fim 2	74	<b>4,6</b>	[3,5 – 5,7]	71	<b>9,5</b>	[7,1 – 13]	EU/ml
Fim 3	74	<b>11</b>	[9,4 – 14]	71	<b>11</b>	[9,6 – 13]	EU/ml
<b>Difterie</b>	73	<b>0,05</b>	[0,03 – 0,06]	71	<b>1,79</b>	[1,39 – 2,27]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	73	<b>0,09</b>	[0,06 – 0,13]	71	<b>3,01</b>	[2,17 – 3,98]	IU/ml
<b>HiB</b>	74	<b>0,71</b>	[0,51 – 1,00]	70	<b>7,70</b>	[5,50 – 10,66]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	71	<b>3,1</b>	[2,8 – 3,4]	68	<b>7,4</b>	[6,7 – 8,3]	2log titer
type II	71	<b>3,2</b>	[2,9 – 3,5]	68	<b>7,7</b>	[6,9 – 8,5]	2log titer
type III	71	<b>2,5</b>	[2,3 – 2,7]	68	<b>6,7</b>	[5,9 – 7,6]	2log titer

**Groep 3: volledig gevaccineerd met ACV-GSK**

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	93	<b>20</b>	[17 – 23]	92	<b>134</b>	[119 – 151]	EU/ml
FHA	93	<b>36</b>	[31 – 44]	92	<b>422</b>	[367 – 484]	EU/ml
Prn	93	<b>26</b>	[21 – 32]	92	<b>410</b>	[344 – 488]	EU/ml
Fim 2	93	<b>1,3</b>	[1,2 – 1,5]	89	<b>2,4</b>	[2,1 – 2,9]	EU/ml
Fim 3	93	<b>3,0</b>	[2,5 – 3,6]	92	<b>5,9</b>	[5,0 – 6,9]	EU/ml
<b>Difterie</b>	93	<b>0,05</b>	[0,04 – 0,06]	92	<b>1,01</b>	[0,82 – 1,23]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	93	<b>0,18</b>	[0,15 – 0,22]	92	<b>3,72</b>	[3,20 – 4,33]	IU/ml
<b>HiB</b>	93	<b>0,21</b>	[0,16 – 0,29]	89	<b>9,84</b>	[6,99 – 13,86]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	90	<b>4,1</b>	[3,8 – 4,6]	87	<b>9,8</b>	[9,4 – 10,3]	2log titer
type II	90	<b>4,5</b>	[4,1 – 5,0]	87	<b>10,2</b>	[9,8 – 10,6]	2log titer
type III	90	<b>4,4</b>	[3,9 – 4,9]	87	<b>10,4</b>	[9,8 – 11,0]	2log titer

**Groep 4a: volledig gevaccineerd met ACV-SP**

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	98	<b>15</b>	[13 – 18]	98	<b>119</b>	[101 – 140]	EU/ml
FHA	98	<b>29</b>	[24 – 36]	98	<b>177</b>	[152 – 206]	EU/ml
Prn	98	<b>12</b>	[10 – 15]	98	<b>180</b>	[150 – 217]	EU/ml
Fim 2	94	<b>16</b>	[13 – 19]	92	<b>156</b>	[129 – 190]	EU/ml
Fim 3	92	<b>7</b>	[5,5 – 7,9]	91	<b>38</b>	[31 – 47]	EU/ml
<b>Difterie</b>	97	<b>0,05</b>	[0,04 – 0,07]	98	<b>0,91</b>	[0,74 – 1,14]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	97	<b>0,24</b>	[0,20 – 0,28]	98	<b>3,01</b>	[2,52 – 3,59]	IU/ml
<b>HiB</b>	94	<b>0,46</b>	[0,36 – 0,58]	96	<b>10,92</b>	[8,28 – 14,41]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	95	<b>3,3</b>	[3,0 – 3,6]	91	<b>8,1</b>	[7,6 – 8,6]	2log titer
type II	95	<b>3,9</b>	[3,5 – 4,3]	91	<b>9,0</b>	[8,6 – 9,5]	2log titer
type III	95	<b>3,6</b>	[3,2 – 4,0]	91	<b>9,1</b>	[8,5 – 9,7]	2log titer

**Groep 4c: tijdens primaire serie overgang van ACV-GSK naar ACV-SP**

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	26	<b>14</b>	[11 – 18]	26	<b>153</b>	[112 – 209]	EU/ml
FHA	26	<b>24</b>	[18 – 32]	26	<b>170</b>	[129 – 224]	EU/ml
Prn	26	<b>18</b>	[14 – 24]	26	<b>308</b>	[226 – 419]	EU/ml
Fim 2	24	<b>11</b>	[7 – 17]	22	<b>185</b>	[104 – 328]	EU/ml
Fim 3	24	<b>4</b>	[2,8 – 5,3]	22	<b>34</b>	[19 – 59]	EU/ml
<b>Difterie</b>	26	<b>0,05</b>	[0,04 – 0,07]	26	<b>1,53</b>	[1,05 – 2,21]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	26	<b>0,48</b>	[0,36 – 0,64]	26	<b>7,91</b>	[5,81 – 10,78]	IU/ml
<b>HiB</b>	25	<b>0,85</b>	[0,52 – 1,41]	24	<b>29,88</b>	[20,02 – 44,59]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	26	<b>3,3</b>	[2,7 – 4,0]	25	<b>8,4</b>	[7,1 – 10,1]	2log titer
type II	26	<b>3,9</b>	[3,3 – 4,7]	25	<b>9,6</b>	[8,8 – 10,4]	2log titer
type III	26	<b>4,0</b>	[3,4 – 4,9]	25	<b>9,1</b>	[7,8 – 10,7]	2log titer

### Groep 4b: volledig gevaccineerd met ACV-SP en Prevenar

Vaccincomponent	#sera	prevacc. GMT	[95%CI]	#sera	postvacc. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>							
Ptx	98	<b>9</b>	[7,7 – 10,6]	96	<b>89</b>	[76 – 104]	EU/ml
FHA	98	<b>25</b>	[21 – 30]	96	<b>134</b>	[117 – 154]	EU/ml
Prn	98	<b>13</b>	[11 – 16]	96	<b>177</b>	[152 – 205]	EU/ml
Fim 2	98	<b>19</b>	[16 – 23]	96	<b>183</b>	[151 – 222]	EU/ml
Fim 3	98	<b>6</b>	[5,0 – 6,6]	96	<b>36</b>	[30 – 43]	EU/ml
<b>Difterie</b>	96	<b>0,16</b>	[0,14 – 0,19]	94	<b>3,45</b>	[2,99 – 3,97]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	96	<b>0,10</b>	[0,08 – 0,12]	94	<b>1,81</b>	[1,54 – 2,13]	IU/ml
<b>HiB</b>	98	<b>0,41</b>	[0,33 – 0,49]	96	<b>14,62</b>	[10,87 – 19,65]	µg/ml
<b>Polio</b>							
type I	98	<b>3,1</b>	[2,9 – 3,4]	96	<b>8,1</b>	[7,5 – 8,6]	2log titer
type II	98	<b>3,7</b>	[3,4 – 4,0]	96	<b>9,1</b>	[8,7 – 9,5]	2log titer
type III	98	<b>3,7</b>	[3,4 – 4,0]	96	<b>9,2</b>	[8,5 – 10,0]	2log titer
<b>Pneumo</b>							
type 4	98	<b>0,30</b>	[0,26 – 0,34]	96	<b>2,96</b>	[2,52 – 3,48]	µg/ml
type 6B	98	<b>0,40</b>	[0,32 – 0,49]	96	<b>4,47</b>	[3,45 – 5,79]	µg/ml
type 9V	98	<b>0,31</b>	[0,27 – 0,37]	96	<b>2,32</b>	[1,99 – 2,71]	µg/ml
type 14	98	<b>1,56</b>	[1,28 – 1,90]	96	<b>10,45</b>	[8,79 – 12,42]	µg/ml
type 18C	98	<b>0,22</b>	[0,19 – 0,26]	96	<b>1,89</b>	[1,60 – 2,22]	µg/ml
type 19F	98	<b>0,96</b>	[0,75 – 1,24]	96	<b>4,54</b>	[3,80 – 5,42]	µg/ml
type 23F	98	<b>0,22</b>	[0,18 – 0,26]	96	<b>3,07</b>	[2,50 – 3,77]	µg/ml

### 3.3 Beschermende niveaus

In Tabel 6 is het aantal deelnemers in de vier verschillende groepen weergegeven die na de boostervaccinatie beneden het beschermend niveau scoorden. De hier gehanteerde beschermende waarden voor D,T, Hib en polio zijn internationaal aanvaard, maar dat geldt niet voor pertussis. Voor pertussis hebben we twee cut-off's meegenomen, een van 25 EU/ml als arbitraire (ook wel door de industrie gehanteerde) beschermingsgrens en een van 10 EU/ml, omdat beneden die waarde er eigenlijk niet of nauwelijks sprake is van een biologisch relevante antistof titer.

#### 3.3.1. Groep 1 (volledig gevaccineerd met WCV)

##### *Pertussis*

Voorals bij Ptx en FHA zijn er weinig kinderen met een beschermde titer, hetgeen de antigene samenstelling van het WCV reflecteert. De percentages variëren van 7% en 28% < 25 en 10 EU/ml respectievelijk voor Ptx en 31% en 76% < 25 en 10 EU/ml respectievelijk voor FHA. Voor Prn is de situatie al beter, slechts 2 kinderen vertoonden nauwelijks een titer (< 10 EU/ml) en 66% (10/29) van de kinderen had een titer > 25 EU/ml. Voor Fim 3 scoren alle kinderen boven 25 EU/ml. Voor FIM2 is dit wat minder en eerder vergelijkbaar met Prn.

##### *DTHib*

Voor alle kinderen zijn er beschermende waarden volgens de WHO-norm (0,01 IU/ml en 0,15 µg/ml) bereikt. Alleen voor de extra strenge normen (0,1 IU/ml en 1µg/ml) zijn de titers bij 1 kind voor difterie en bij 1 kind voor Hib te laag.

##### *Polio*

Relatief veel kinderen in groep 1 vertonen geen beschermende titer (< 2log titer=3) tegen de verschillende types polio, vooral tegen type 3 (18%). Bij 2 kinderen waren de titers tegen alle drie types beneden het beschermende niveau. Deze kinderen is een revaccinatie aangeboden.

#### 3.3.2. Groep 2 (primaire serie WCV met ACV-booster)

##### *Pertussis*

Het effect van de booster met ACV is ook duidelijk zichtbaar op het aantal beschermde titers voor Ptx, FHA en Prn. Vergelijken met groep 1 nemen deze aantallen sterk toe. Nu heeft 89% van de kinderen een titer > 10 EU/ml voor Ptx, 97% voor FHA en 99% voor Prn. Bij 1 kind was de titer voor zowel Ptx als FHA erg laag, verder was er geen verband te ontdekken tussen de titers onderling. Het tweede kind met een lage FHA-titer had wel een hoge pretiter. Daarentegen stijgt het aantal met een onbeschermd titer tegen Fim2 en 3 sterk, zelfs voor de cut-off van 10 EU/ml. Fim is geen component van het ACV-GSK en er vindt dus geen booster plaats op de leeftijd van 11 maanden.

##### *DTHib*

Voor alle kinderen zijn er beschermende waarden volgens de WHO norm bereikt. Voor de extra strenge normen lijken er in deze groep meer kinderen een te lage titer te bezitten, met name voor Hib (8%). Een kind had zowel voor D als T een titer beneden 0,1 IU/ml.

##### *Polio*

Ook in groep 2, net zoals groep 1, zijn er relatief veel kinderen, die geen beschermende titer tegen de verschillende types polio vertonen na de booster. Wederom werd bij 2 kinderen een waarde beneden 8 gemeten voor alle drie types. Ook deze kinderen is een revaccinatie aangeboden.

Tabel 6 : Aantal kinderen met beschermde titers in de postvaccinatie sera aan de hand van arbitraire cut-off's (pertussis) en internationaal gehanteerde cut-off's (DTHib-IPV)

### Groep 1

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	29	25 EU/ml	2/29	6,9	10 EU/ml	8/29	27,6
FHA	29	25 EU/ml	9/29	31,0	10 EU/ml	22/29	75,9
Prn	29	25 EU/ml	19/29	65,5	10 EU/ml	27/29	93,1
Fim 2	28	25 EU/ml	19/28	67,9	10 EU/ml	23/28	82,1
Fim 3	29	25 EU/ml	29/29	100	10 EU/ml	29/29	100
<b>Difterie</b>	29	0,01 IU/ml	29/29	100	0,1 IU/ml	28/29	96,6
<b>Tetanus</b>	29	0,01 IU/ml	29/29	100	0,1 IU/ml	29/29	100
<b>HiB</b>	29	0,15 µg/ml	29/29	100	1 µg/ml	28/29	96,6
<b>Polio</b>							
type I	28	3 (2log titer)	26/28	92,9			
type II	28	3 (2log titer)	26/28	92,9			
type III	28	3 (2log titer)	23/28	82,1			

### Groep 2

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	73	25 EU/ml	45/73	61,6	10 EU/ml	65/73	89,0
FHA	73	25 EU/ml	59/73	80,8	10 EU/ml	71/73	97,3
Prn	73	25 EU/ml	64/73	87,7	10 EU/ml	72/73	98,6
Fim 2	73	25 EU/ml	23/73	31,5	10 EU/ml	43/73	58,9
Fim 3	73	25 EU/ml	11/73	15,1	10 EU/ml	48/73	65,8
<b>Difterie</b>	73	0,01 IU/ml	73/73	100	0,1 IU/ml	72/73	98,6
<b>Tetanus</b>	73	0,01 IU/ml	73/73	100	0,1 IU/ml	70/73	95,9
<b>HiB</b>	72	0,15 µg/ml	72/72	100	1 µg/ml	66/72	91,7
<b>Polio</b>							
type I	68	3 (2log titer)	63/68	92,6			
type II	68	3 (2log titer)	64/68	94,1			
type III	68	3 (2log titer)	61/68	89,7			

### Groep 3

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	92	25 EU/ml	92/92	100	10 EU/ml	92/92	100
FHA	92	25 EU/ml	92/92	100	10 EU/ml	92/92	100
Prn	92	25 EU/ml	92/92	100	10 EU/ml	92/92	100,0
Fim 2	89	25 EU/ml	1/89	1,1	10 EU/ml	5/88	5,7
Fim 3	92	25 EU/ml	1/92	1,1	10 EU/ml	28/92	30,4
<b>Difterie</b>	92	0,01 IU/ml	92/92	100	0,1 IU/ml	90/92	97,8
<b>Tetanus</b>	92	0,01 IU/ml	92/92	100	0,1 IU/ml	92/92	100
<b>HiB</b>	89	0,15 µg/ml	89/89	100	1 µg/ml	81/89	91,0
<b>Polio</b>							
type I	87	3 (2log titer)	87/87	100			
type II	87	3 (2log titer)	87/87	100			
type III	87	3 (2log titer)	86/87	98,9			

### Groep 4a

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	98	25 EU/ml	95/98	96,9	10 EU/ml	97/98	99,0
FHA	98	25 EU/ml	97/98	99,0	10 EU/ml	98/98	100
Prn	98	25 EU/ml	95/98	96,9	10 EU/ml	98/98	100
Fim 2	92	25 EU/ml	90/92	97,8	10 EU/ml	90/92	97,8
Fim 3	91	25 EU/ml	65/91	71,4	10 EU/ml	83/91	91,2
<b>Difterie</b>	98	0,01 IU/ml	98/98	100	0,1 IU/ml	96/98	98
<b>Tetanus</b>	98	0,01 IU/ml	98/98	100	0,1 IU/ml	98/98	100
<b>HiB</b>	96	0,15 µg/ml	93/93	100	1 µg/ml	89/93	95,7
<b>Polio</b>							
type I	91	3 (2log titer)	89/91	97,8			
type II	91	3 (2log titer)	90/91	98,9			
type III	91	3 (2log titer)	90/91	98,9			

### Groep 4b

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	96	25 EU/ml	90/96	93,8	10 EU/ml	96/96	100
FHA	96	25 EU/ml	93/96	96,9	10 EU/ml	96/96	100
Prn	96	25 EU/ml	96/96	100	10 EU/ml	96/96	100
Fim 2	96	25 EU/ml	93/96	96,9	10 EU/ml	95/96	99,0
Fim 3	96	25 EU/ml	67/96	69,8	10 EU/ml	86/96	89,6
<b>Difterie</b>	94	0,01 IU/ml	94/94	100	0,1 IU/ml	94/94	100
<b>Tetanus</b>	94	0,01 IU/ml	94/94	100	0,1 IU/ml	94/94	100
<b>HiB</b>	96	0,15 µg/ml	95/96	99,0	1 µg/ml	91/96	94,8
<b>Polio</b>							
type I	96	3 (2log titer)	93/96	96,9			
type II	96	3 (2log titer)	96/96	100			
type III	96	3 (2log titer)	92/96	95,8			
<b>Pneumo</b>							
type 4	96	0,35 µg/ml	96/96	100			
type 6b	96	0,35 µg/ml	91/96	94,8			
type 9v	96	0,35 µg/ml	95/96	99,0			
type 14	96	0,35 µg/ml	96/96	100			
type 18c	96	0,35 µg/ml	95/96	99,0			
type 19f	96	0,35 µg/ml	96/96	100			
type 23f	96	0,35 µg/ml	96/96	100			

### Groep 4c

Vaccincomponent	#postsera	cut-off	# beschermd	%	cut-off	# beschermd	%
<b>Pertussis</b>							
Ptx	26	25 EU/ml	26/26	100	10 EU/ml	26/26	100
FHA	26	25 EU/ml	26/26	100	10 EU/ml	26/26	100
Prn	26	25 EU/ml	26/26	100	10 EU/ml	26/26	100
Fim 2	22	25 EU/ml	21/22	95,5	10 EU/ml	21/22	95,5
Fim 3	22	25 EU/ml	12/22	54,5	10 EU/ml	19/22	86,4
<b>Difterie</b>	26	0,01 IU/ml	26/26	100	0,1 IU/ml	26/26	100
<b>Tetanus</b>	26	0,01 IU/ml	26/26	100	0,1 IU/ml	26/26	100
<b>HiB</b>	24	0,15 µg/ml	24/24	100	1 µg/ml	24/24	100
<b>Polio</b>							
type I	25	3 (2log titer)	23/25	92,0			
type II	25	3 (2log titer)	25/25	100			
type III	25	3 (2log titer)	24/25	96,0			



### 3.3.3. Groep 3 (volledig gevaccineerd met ACV-GSK)

#### *Pertussis*

De uitstekende respons op het ACV-GSK is ook terug te zien in het aantal kinderen met beschermde titers. Alle kinderen had een titer voor Ptx, FHA en Prn boven de 25 EU/ml. Voor Fim is de situatie precies tegenovergesteld; slechts 1 kind had een titer boven 25 EU/ml voor Fim2 en ook 1 voor Fim3. Relatief veel kinderen vertoonden toch een titer boven 10 EU/ml nl. 7% voor Fim2 en 30% voor Fim3.

#### *DTHib*

Voor alle kinderen zijn er beschermende waarden volgens de WHO norm bereikt. Twee kinderen voldoen niet aan de extra strenge norm van 0,1 IU/ml voor D. Ondanks het hoge GMT voor Hib dat 10 µg/ml benadert, zijn er relatief veel kinderen (9%) die de extra strenge norm van 1 µg/ml niet halen.

#### *Polio*

Alle kinderen in deze groep hadden een titer boven het beschermend niveau voor alle drie types met uitzondering van 1 kindje dat voor type 3 een 2log titer=2 scoorde.

### 3.3.4. Groep 4 (volledig gevaccineerd met ACV-SP)

Voor deze analyse van DKTPHib zijn de deelnemers van groep 4a en 4b gepoold.

#### *Pertussis*

Ook bij het ACV-SP vertaalt de goede respons zich terug in het aantal kinderen met beschermde titers muv Fim3. Slechts 4 kinderen van de 194 hadden een titer < 10 EU/ml voor 1 van de 4 antigenen. Het aantal kinderen met een titer boven 25 EU/ml bedraagt voor Ptx, FHA, Prn en Fim2 respectievelijk 94,3%, 97,9%, 98,4% en 97,3%. Voor Fim3 is de situatie niet zo rooskleurig. Ruim 30% (57/187) heeft een titer beneden de norm van 25 EU/ml en toch nog 10% beneden 10 EU/ml.

#### *DTHib*

Voor D en T hebben alle kinderen (194) de beschermende waarden volgens de WHO-norm en voor Hib is er 1 kind dat beneden de norm van 0,15 µg/ml scoort. Aan de extra strenge norm voldoen 2 kinderen niet voor difterie (1%) en 9 niet aan die van Hib (5%).

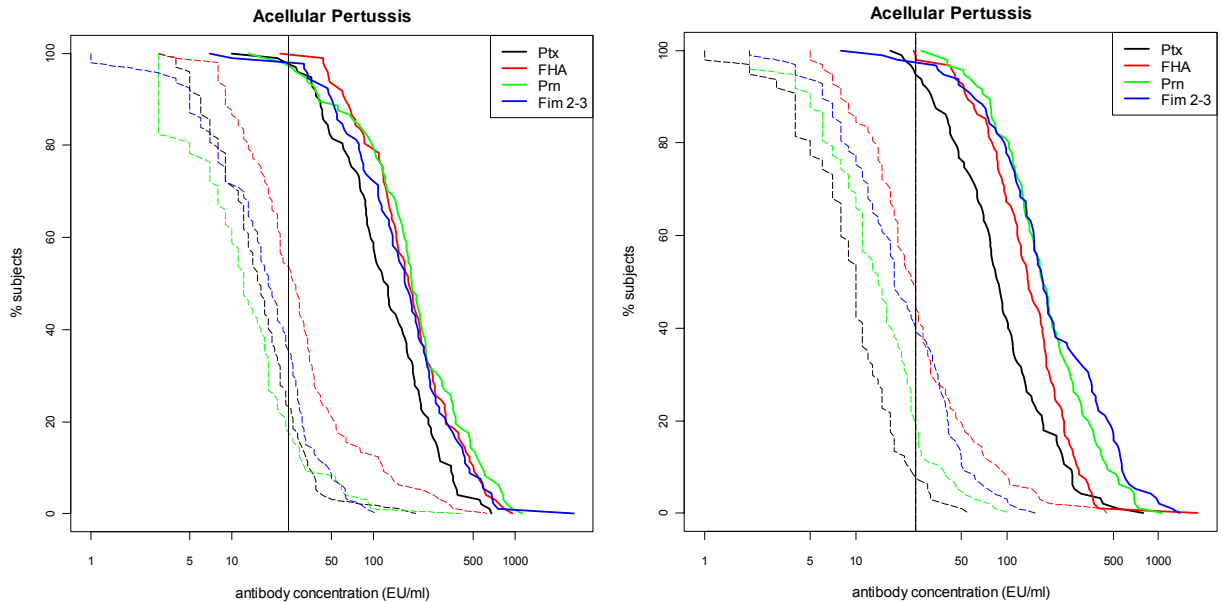
#### *Polio*

Van de 194 kinderen in deze groep hadden voor de types 1, 2 en 3 respectievelijk 5, 1 en 5 kinderen een titer beneden 8. Geen van de kinderen had een titer beneden het beschermende niveau voor meerdere types.

#### *Pneumo*

Van de 96 kinderen uit groep 4b hebben er slechts enkele een titer net onder het beschermende niveau van 0,35 µg/ml, namelijk 1 voor serotype 9V, 1 voor serotype 18C en 5 voor serotype 6B. Voor 4 serotypes is 100% bescherming bereikt na vaccinatie, voor 2 serotypes 99% en voor serotype 6B 95%.

Om het effect van vaccinatie op de antistofconcentraties binnen een hele (sub)groep te illustreren, kunnen er zogenaamde reverse cumulative distribution curves (RCDC) worden gemaakt. Deze curves geven het percentage deelnemers weer met een bepaalde antistofconcentratie. Zo is in een oogopslag te zien welk percentage boven een bepaalde beschermingsgrens uitkomt voor en na vaccinatie. Deze grafieken geven dus een goede indruk van de effectiviteit van een vaccin op de antistoftiter. In Figuur 4 zijn de RCDC's van het ACV-SP weergegeven voor de pre- en postvaccinatiemonsters van groep 4a en 4b en in Figuur 5 de RCDC van het 7-valente pPneumokokkenvaccin (Prevenar) voor groep 4b.



Figuur 4: Het effect van vaccinatie: de RCDC's van de 4 pertussis vaccincomponenten (Ptx, FHA, Prn en Fim2) van groep 4a (links) en groep 4B (rechts) in verschillende kleuren weer-gegeven. De gestippelde lijnen zijn de prevaccinatietiters en de doorgetrokken lijnen de postvaccinatietiters. De verticale lijn geeft de arbitraire beschermingsgrens van 25 EU/ml weer

### 3.4 Data van oude studies

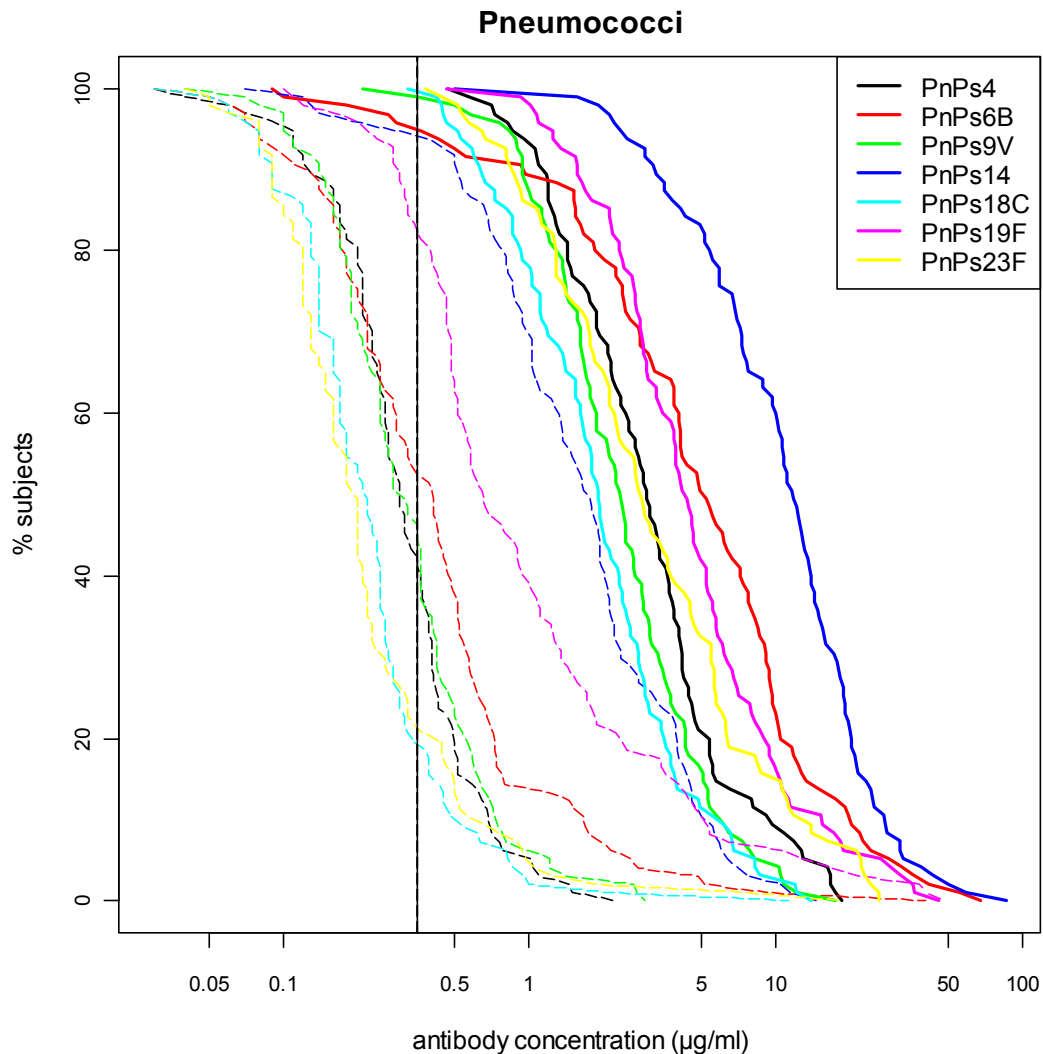
Om een vergelijking te kunnen maken tussen het WCV van voor 1997 en het WCV van na 1997, is gebruikgemaakt van oude studies. Hiervoor kwamen in aanmerking de DKTP-Hib-meng studie 21A uit 1993 [7] en de BMR 86A-studie uit 2000 [9]. De 21A-studie was een studie waar DKTP- en Hibvaccin gelijktijdig, gemengd of apart werd toegediend en de kinderen werden toen dus ook gevaccineerd met WCV van voor 1997. De 86A-studie was een studie waarbij subcutane en intramusculaire toediening van BMR werd vergeleken. De kinderen uit die studie zijn toen gevaccineerd met WCV van na 1997.

Om een mogelijk verschil in methode van analyse te vermijden zijn er respectievelijk 92 en 60 monsters uit die twee studies opnieuw ontdooid en geanalyseerd. De GMT's per vaccincomponent zijn weergegeven in Tabel 7. Echter, aangezien deze studies al een aantal jaren geleden zijn uitgevoerd, waren een paar andere verschillen in design niet te vermijden. De premonsters van de 86A-studie, die hier nu zijn gebruikt, zijn voor BMR vaccinatie op de leeftijd van 14 maanden afgenomen en dus niet op de leeftijd van 12 maanden zoals in de 134-studie. Van de 21A-studie zijn wel de postvaccinatiemonsters op de leeftijd van 12 maanden gebruikt, maar volgens het toenmalige RVP-schema werd de primaire serie op 3, 4, 5 maanden toegediend en niet volgens het huidige schema van 2, 3, 4 maanden.

#### 3.4.1. Antistof respons 86A studie

##### *Pertussis*

De GMT's van de monsters uit de 86A-studie zijn goed vergelijkbaar met die van de groep 1 van de 134-studie (Tabel 7). Hier zien we ook lage postvaccinatie GMT's voor Ptx en FHA en dus ook grote groepen kinderen met een onbeschermd titer ten opzichte van de arbitraire cut-off's van 10 en 25 EU/ml. De situatie voor Ptx lijkt in de 86A-studie wat beter dan in de 134-studie. Voor Prn en met name voor Fim3 zijn de GMT's veel beter en ook weer goed vergelijkbaar met



Figuur 5: Het effect van de vaccinatie met 7-valent pneumokokkenvaccin (PCV7, Wyeth) in groep 4b. De 7 serotypes zijn in verschillende kleuren weergegeven. De gestippelde lijnen zijn de prevaccinatietiters en de doorgetrokken lijnen de postvaccinatietiters. De verticale lijn geeft de beschermingsgrens weer (0,35 µg/ml)

groep 1 van de 134 studie. 5% (3/58) van de kinderen heeft een titer < 10 EU/ml en 21% (12/58) van de kinderen een titer < 25 EU/ml voor Prn, terwijl voor Fim3 alle kinderen een titer > 25 EU/ml hebben. Het GMT voor Fim3 is ruim tweemaal hoger dan gemeten in de 134-studie.

#### *DTHib*

Alle kinderen bezaten een titer boven de extra strenge norm voor D, T en Hib, met uitzondering van 1 kind dat een titer had van 0,07 IU/ml voor difterie. Dit is nog wel ruim boven de WHO-norm. De GMT's van de 86A-studie liggen voor tetanus en Hib wat hoger dan gevonden in de 134-studie en voor difterie juist iets lager.

#### *Polio*

Alle monsters vertoonden een titer die voldoet aan de beschermende waarde van  $2 \log \text{ titer} = 3$ , met uitzondering van twee kindjes met een  $\text{titer} = 2$  voor type 3. De GMT's liggen ongeveer een factor 2 hoger dan die van de 134-studie.

Tabel 7: GMT's van de 86A- en 21A-studie met zijn respectievelijk 95% CI in de postvaccinatie-monsters weergegeven met daarbij het aantal sera dat in de desbetreffende assay gemeten is

### BMR 86A studie

Vaccin component	#sera	post-imm. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>				
Ptx	60	10,4	[7,6 – 14,3]	EU/ml
FHA	56	13,3	[10,5 – 17,0]	EU/ml
Prn	58	43	[35 – 54]	EU/ml
Fim 3	58	457	[363 – 575]	EU/ml
<b>Difterie</b>	58	0,89	[0,69 – 1,14]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	58	2,79	[2,18 – 3,56]	IU/ml
<b>HiB</b>	58	8,9	[6,85 – 11,58]	µg/ml
<b>Polio</b>				
type I	51	8,4	[7,7 – 9,1]	2log titer
type II	51	8,0	[7,4 – 8,7]	2log titer
type III	51	6,5	[5,8 – 7,4]	2log titer

### DKTP-Hib 21A studie

Vaccin component	#sera	post-imm. GMT	[95%CI]	Eenheid
<b>Pertussis</b>				
Ptx	92	5,7	[4,0 – 8,1]	EU/ml
FHA	92	11	[8,9 – 15]	EU/ml
Prn	92	36	[29 – 46]	EU/ml
Fim 3	91	319	[263 – 385]	EU/ml
<b>Difterie</b>	91	2,40	[1,96 – 2,95]	IU/ml
<b>Tetanus</b>	91	6,16	[5,05 – 7,52]	IU/ml
<b>HiB</b>	92	20,7	[16,1 – 26,7]	µg/ml
<b>Polio</b>				
type I	71	9,7	[9,2 – 10,3]	2log titer
type II	70	9,8	[9,5 – 10,1]	2log titer
type III	69	8,8	[8,3 – 9,3]	2log titer

### 3.4.2. Antistof respons 21A studie

#### *Pertussis*

Het beeld van de GMT's voor de verschillende vaccincomponenten in de 21A-studie is vrijwel gelijk aan dat van de 134-studie. Wederom lage GMT's voor Ptx en FHA met daaraan gekoppeld grote aantallen kinderen ( 50-60% < 10 EU/ml en 75% < 25 EU/ml) met onbeschermd titers. Ook hier is het beeld van percentages onbeschermd kinderen voor Prn (respectievelijk 30% < 25 EU/ml en 8% < 10 EU/ml) en met name Fim3 (2% < 25 EU/ml en 0% < 10 EU/ml) veel beter en wederom vergelijkbaar met de 134-studie. Het GMT voor Fim3 is vergelijkbaar met dat van de 86A-studie en dus ruim hoger dan dat van de 134-studie.

### *DTHib*

Alle kinderen bezaten een titer boven de extra strenge norm voor difterie, tetanus en Hib, met uitzondering van 1 kindje dat een titer had van 0,35 µg/ml voor Hib. Dit is echter nog ruim boven de WHO-norm. De GMT's van de 21A-studie liggen voor difterie, tetanus en Hib ruim hoger, met name voor tetanus en Hib, dan gemeten in de 134-studie en ook in de 86A-studie.

### *Polio*

Alle monsters vertoonden een titer die voldoet aan de beschermende waarde van  $2 \log \text{ titer} = 3$ . De GMT's komen ook hier hoger uit, namelijk een factor 2-4 hoger ten opzichte van de 86A studie en een factor 4-8 hoger ten opzichte van de 134 studie.

## 3.5 Vergelijking vaccins/vaccincomponenten

Het uitgangspunt van deze serologische evaluatie studie was dat een tweevoudige titerstijging van de antistofrespons tegen een van de kinkhoestvaccincomponenten van het WCV na 1997 ten opzichte van het WCV voor 1997 statistisch significant zou moeten zijn. Daarvoor dienden er 50 kinderen per groep geïncubeerd te worden. Door de zeer korte inclusieperiode voor groep 1 hebben we slechts 29 postvaccinatiemonsters in die groep verkregen. Om voor dit lage aantal (minder dan 50) te compenseren is er getracht in de volgende groepen 75 deelnemers te includeren. Dit is voor alle vier de groepen ruimschoots gelukt met 79, 95, 128 en 107 deelnemers in respectievelijk groep 2, 3, 4a en 4b. In groep 4a is er geanticipeerd op een aantal deelnemers die in de primaire serie een mix van Infanrix en Pediacel toegediend gekregen hadden en daardoor buiten de PP-analyse moeten worden gehouden.

Voor een goede vergelijking tussen het WCV voor en na 1997 en dus ter compensatie voor het lage aantal in groep 1 van de 134-studie is ervoor gekozen om de data van die groep 1 aan te vullen met de data van de BMR 86A-studie.

### 3.5.1. Statistische analyse

Allereerst is statistisch getoetst (t-toets) of de aantallen (29 uit de 134-studie en 92 uit de 21A-studie) voldoende zijn voor een uitspraak over een tweevoudige titerstijging per kinkhoestvaccincomponent. Voor een tweevoudige titerstijging met een statistische significantie van 0,05 werd voor Prn en Fim3 een onderscheidingsvermogen van minimaal 90% bereikt (zie Tabel 8, respectievelijk 90% en 99%). Voor FHA en Ptx werd dit onderscheidingsvermogen niet bereikt (respectievelijk 85% en 65%).

Vervolgens is getoetst of de waarnemingen uit trial 134 groep 1 samengevoegd kunnen worden met die van trial 86A, kortom of de data een vergelijkbare verdeling bezitten. Dit blijkt het geval te zijn voor Prn en FHA, maar niet voor Ptx.

Bij een t-toets tussen trial 21A enerzijds en de 86A-studie samengevoegd met trial 134 groep 1 anderzijds bereiken we dan voor FHA wel het minimale onderscheidingsvermogen van 90% met dezelfde statistische significantie van 0,05 (zie Tabel 8, 99%). Omdat voor Ptx een dergelijke samenvoeging van de data van de 86A-studie met die van trial 134 groep 1 niet geoorloofd was, is met een t-toets de vergelijking tussen trial 21A en 86A alleen geanalyseerd. Dit bleek niet het minimale onderscheidingsvermogen van 90% te bereiken (zie Tabel 8, 82%).

### 3.5.2. Vergelijking GMT's kinkhoestvaccincomponenten

In Tabel 9A zijn de postGMT's voor de 5 kinkhoestvaccincomponenten uit de verschillende groepen van deze studie weergegeven en in Tabel 9C de postGMT's voor diezelfde componenten uit de verschillende trials. In Tabel 9C zijn de data van trial 134 groep 1 en 86A gepoold en is er een GMT voor deze 86 samples berekend, hoewel dit voor Ptx eigenlijk statistisch niet geoorloofd is gezien de verdeling van de datasets (zie boven). In Tabel 9B zijn de postGMT's voor de andere

Tabel 8: Test power van de vergelijking tussen verschillende trials per pertussis vaccincomponent met een significantie van 0,05 en een tweevoudige titerstijging als maat

Pertussis Vaccin component	# 21A trial oud WCV	# 134 groep1 verbeterd WCV	# 86A trial verbeterd WCV	# 86 A + 134 verbeterd WCV	Test power (%)
Ptx	92	29			65
Ptx	92		60		82
FHA	92	29			85
FHA	92			85	99
Prn	92	29			90
Fim3	91	29			99

vaccincomponenten, te weten difterie, tetanus, Hib, polio en pneumokokken weergegeven en in Tabel 9D staan weer de overeenkomstige data uit de verschillende trials.

#### *WCV van voor 1997 versus WCV van na 1997*

De GMT's van de gepoolde data set gegenereerd met verbeterd WCV zijn vrijwel identiek aan de GMT's van trial 21A gegenereerd met het oude WCV. Voor FHA en Prn geldt dat ook voor de twee trials met verbeterd WCV (134 groep1 en 86A) afzonderlijk. De (kleine) verschillen in het GMT voor Ptx en Fim3 in de twee trials met verbeterd WCV worden door het samenvoegen juist genivelleerd en zijn dan vrijwel identiek met het GMT van de trial 21A met oud WCV.

Er kan met een onderscheidingsvermogen van minimaal 90% voor FHA, Prn en Fim3 en voor Ptx van 82% met een statistische significantie van 0,05 geconcludeerd worden dat er geen tweevoudige titerstijging is waargenomen bij toediening van het verbeterd WCV ten opzichte van het oude WCV. De gemeten waarden in de verschillende trials geven eerder aanleiding om te veronderstellen dat er geen verschil is tussen deze WCV's wat betreft de serologische respons van de onderzochte vaccincomponenten.

#### *WCV versus ACV*

Het moge duidelijk zijn dat er bij de ACV's wel meer dan tweevoudige en dus statistisch significante titerstijgingen optreden ten opzichte van de GMT's van het WCV. Deze hoge titers weerspiegelen de (veel) hogere antigene samenstelling van de 3-5 kinkhoestvaccincomponenten ten opzichte van het whole cell vaccin. Alleen voor Fimbriae zijn de titers vergelijkbaar, waaruit de conclusie kan worden getrokken dat het WCV redelijk wat Fimbriae bevat. Groep 2 met een WCV-primaire serie en ACV-booster op de leeftijd van 11 maanden illustreert perfect de intermediaire situatie.

#### *ACV-GSK versus ACV-SP*

Door inclusie van groep 4 is een vergelijking tussen de twee acellulaire vaccins mogelijk, namelijk het 3-componenten van GSK en het 5-componenten van SP. De Ptx GMT's zijn nog wel redelijk vergelijkbaar voor beide vaccins als we groep 3 en 4a vergelijken, maar als we die van groep 3 en 4b vergelijken, is er wel een statistisch significant lagere titer bij het ACV-SP (zie Tabel 9A). Bij de responsen tegen FHA en Prn is het zeer duidelijk dat deze voor het GSK vaccin ruim een factor 2 beter zijn en dus ook statistisch significant verschillend. Het ACV-SP bevat ook Fim2/3 in tegenstelling tot het ACV-GSK en dat is natuurlijk een voordeel, maar de titer tegen Fim 3 is niet echt geweldig. Opvallend is dat de respons tegen Fim2 en3 bij het ACV-SP vaccin gespiegeld is ten opzichte van de WCV-respons maar wel in hoogte vrijwel gelijk.

#### *ACV-SP versus ACV-SP + Prevenar*

In de onderlinge vergelijking tussen groep 4a en 4b valt het op dat de GMT's voor Ptx en FHA statistisch significant lager zijn wanneer tegelijkertijd Prevenar wordt toegediend, terwijl dit geen invloed heeft op de GMT's voor Prn, Fim 2 en Fim3. Er is hier mogelijk sprake van een negatieve interferentie.

### 3.5.3. Vergelijking GMT's andere vaccincomponenten

#### *WCV van voor 1997 versus WCV van na 1997*

Als we de gepoolde data sets van groep1 van de 134-studie en de 86A-studie (met WCV van na 1997) wederom vergelijken met de 21A-studie (WCV van voor 1997) dan valt het op, dat de GMT's voor de 21A-studie hoger uitvallen met een factor 2-2,5 voor difterie, tetanus en Hib en ruim een factor 4 voor polio (zie Tabel 9D).

#### *WCV versus ACV*

In de vergelijking van de ACV's (groep 3 en 4a) met het WCV (groep1 + 86A-studie) zijn de GMT's voor tetanus en Hib hoger bij de ACV's, terwijl de respons op difterie nagenoeg gelijk is voor beide vaccins. Alleen het verschil in tetanus-respons is statistisch significant tussen WCV en ACV-GSK (zie Tabel 10). Echter de polio GMT's bij de ACV's zijn beduidend hoger dan die bij het WCV oplopend met een factor 4 -16 van type 1 naar 3 voor het GSK-vaccin en met een factor 1-8 voor het SP-vaccin. Uiteraard zijn deze verschillen statistisch significant met uitzondering van de respons op type 1 voor WCV en ACV-SP (zie Tabel 10).

#### *ACV-GSK versus ACV-SP*

In de onderlinge vergelijking tussen de twee acellulaire vaccins (groep 3 en 4a, Tabel 9B) zijn de D-,T- en Hib-titers nagenoeg gelijk en dus ook niet statistisch significant verschillend (zie Tabel 10). De poliotiters voor de drie types zijn een factor 2-4 hoger bij het GSK-vaccin dan bij het ACV-SP en dat is wel een statistisch significant verschil.

#### *ACV-SP versus ACV-SP + Prevenar*

Naast de verschillen bij de pertussistiters zijn er ook bij difterie, tetanus en Hib opvallende verschillen tussen groep 4a en 4b waar te nemen, terwijl de titers voor polio in deze twee groepen nagenoeg identiek zijn. De GMT voor Hib is net niet statistisch significant hoger in groep 4b ten opzichte van 4a (Tabel 10). De verschillen in de GMTs voor difterie en tetanus zijn dat wel en liggen voor difterie een factor 3 hoger en voor tetanus bijna een factor 2 lager in groep 4b ten opzichte van 4a. De verhoogde difterietiter is natuurlijk te wijten aan het tegelijkertijd toegediende Prevenar vaccin waar de 7 polysaccharides zijn gekoppeld aan de CRM- mutant van difterietoxine. Echter de verhoogde Hib-titer en de verlaagde tetanustiter zijn niet zo gemakkelijk te verklaren en hier lijkt dus ook weer sprake te zijn van interferentie tussen de twee combinatievaccins.

Tabel 9A: Postvaccinatie GMT's van pertussiscomponenten uit verschillende groepen van de aKwK trial 134

aKwK Trial	Vaccin	Leeftijd	N	Ptx	FHA	Prn	Fim2	Fim3
Groep 1 (2004)	WCV na 1997	12	28	3	17	34	50	183
Groep 2 (2005)	WCV na 1997 + ACV (Infanrix)	12	71	42	77	96	9	11
Groep 3 (2005)	ACV (Infanrix)	12	92	134	422	410	2	6
Groep 4a (2006/7)	ACV (Pediaceel)	12	98	119	177	180	156	38
Groep 4b (2007)	ACV (Pediaceel + PCV7)	12	96	89	134	177	183	36

Tabel 9B: Postvaccinatie GMT's van andere vaccincomponenten uit verschillende groepen van de aKwKtrial 134

Trial	Vaccin	Leeftijd	N	Hib	Dif	Tet	Polio-I	Polio-II	Polio-III	
Groep 1 (2004)	WCV na 1997	12	28	6,7	1,5	2,0	7,5	7,2	5,6	
Groep 2 (2005)	WCV na 1997 + ACV	12	71	7,7	1,8	3,0	7,4	7,7	6,7	
Groep 3 (2005)	ACV (Infanrix)	12	92	10,1	1,0	3,7	9,9	10,3	10,4	
Groep 4a (2006/7)	ACV (Pediaceel)	12	98	10,9	0,9	3,0	8,1	9,0	9,1	
Groep 4b (2007)	ACV (Pediaceel + PCV7)	12	96	14,6	3,4	1,8	8,1	9,1	9,2	
				Pn 4	Pn 6B	Pn 9V	Pn 14	Pn 18C	Pn 19F	Pn 23F
Groep 4b (2007)	ACV (Pediaceel + PCV7)	12	96	2,96	4,47	2,32	10,45	1,89	4,54	3,07



Tabel 9C: Postvaccinatie GMT's van pertussiscomponenten van WCV's uit verschillende trials

Trial	Vaccin	Leeftijd	N	Ptx	FHA	Prn	Fim2	Fim3
aKwK 134 groep 1 (2004)	WCV na '97	12	28	3	17	34	50	183
BMR 86 (2001)	WCV na '97	14	58	10	13	43		457
134 groep 1 + 86A	WCV na '97	12/14	86	7*	15	40		337
DKTPHib 21A (1993)	WCV voor '97	12	92	6	11	36		318

Tabel 9D: Postvaccinatie GMT's van andere vaccincomponenten van WCV's uit verschillende trials

Trial	Vaccin	Leeftijd	N	Hib	Dif	Tet	Polio-I	Polio-II	Polio-III
aKwK 134 Groep 1 (2004)	WCV na 1997	12	28	6,7	1,5	2,0	7,5	7,2	5,6
BMR 86 (2001)	WCV na 1997	14	58	8,9	0,9	2,8	8,4	8,3	6,5
134 groep 1 + 86A	WCV na 1997	12/14	86	7,8	1,1	2,5	8,0	7,7	6,2
DKTPHib 21A (1993)	WCV voor 1997	12	92	20,7	2,4	6,2	9,7	9,8	8,8

Tabel 10: Pwaarden met t-toets tussen de vaccincomponenten uit groep 1+86A, 3, 4a en 4b. Blauw gemarkeerde hokjes geven een statistisch significant verschil aan

t-toets (p-waarde)	Ptx	FHA	Prn	Fim2	Fim3	Hib	Dif	Tet	Polio-I	Polio-II	Polio-III
Groep (1+86A) - 3	<<0,001	<<0,001	<<0,001	nvt	nvt	0,303	0,692	0,004	<<0,001	<<0,001	<<0,001
Groep (1+86A) - 4a	<<0,001	<<0,001	<<0,001	nvt	<<0,001	0,092	0,318	0,191	0,890	<0,001	<<0,001
Groep 3 - 4a	0,242	<<0,001	<<0,001	nvt	nvt	0,643	0,521	0,079	<<0,001	<0,001	0,004
Groep 3 - 4b	<0,001	<<0,001	<<0,001	nvt	nvt	0,087	<<0,001	<<0,001	<<0,001	<0,001	0,025
Groep 4a - 4b	0,013	0,009	0,867	0,258	0,702	0,161	<<0,001	<0,001	0,920	0,850	0,827

## 4 Discussie

In deze studie zijn de effecten van de invoering van het verbeterd WCV en van de vervanging van het WCV door ACV's op de serologische antistofresponsen gericht tegen met name kinkhoest maar ook tegen difterie, tetanus, polio en Hib (en pneumokokken) onderzocht.

Op 9 onderzoekslocaties verdeeld over 4 centra zijn binnen een periode van 2 ½ jaar 443 kinderen geïncludeerd. Deze zijn als volgt verdeeld over 4 onderzoeksgroepen:

1. 32 kinderen volledig gevaccineerd met WCV in het eerste levensjaar,
2. 75 kinderen gevaccineerd in de primaire serie met WCV en een booster met ACV-GSK,
3. 92 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-GSK,
- 4a. 128 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-SP,
- 4b. 109 kinderen volledig gevaccineerd met ACV-SP en Prevenar.

Voor zover aanwezig zijn van deze kinderen zowel het pre- als het postvaccinatiemonster, afgenomen op de leeftijd van 11 en 12 maanden, geanalyseerd op antistoftiters tegen alle vaccincomponenten uit het RVP. Na de PP-analyse bleven er in totaal 385 kinderen over waarvan de analyseresultaten gebruikt konden worden in de uiteindelijke evaluatie. In combinatie met oudere studies waarbij WCV gebruikt is, valt te concluderen dat de aanpassingen van de vaccinproductie in 1997 niet hebben geleid tot hogere serologische antistoftiters. Ook zijn er geen aanwijzingen gevonden voor een adjuverend effect van het WCV op de andere vaccincomponenten op de termijn van 1 maand. De ACV's vertoonden zoals verwacht op grond van hun hoge antigene dosis zeer goede kinkhoestantistoftiters 1 maand na vaccinatie. Het GSK-vaccin lijkt daarbij iets immunogener dan het SP-vaccin. Het SP-vaccin bevat 2 componenten meer waardoor conclusies over verschillen in effectiviteit niet mogelijk zijn. Verder is het opvallend dat er sprake is van interferentie, zowel positief als negatief, tussen het ACV-SP en Prevenar, hetgeen aangeeft dat het combineren van vaccins zijn limieten kent en een degelijke serologische evaluatie verdient.

### 4.1 Deelnemerspercentage en groepsgrootte

Het deelnemerspercentage is over het algemeen goed te noemen. Het varieerde tussen de 5 % en 10% gemiddeld over de 4 centra voor de verschillende groepen. Zo'n deelnemerspercentage valt te verwachten voor een dergelijke studie waar er toch relatief veel van de ouders gevraagd wordt (2 extra bezoeken met bloedafnames) en een relatief lage 'beloning' (cadeaubon €10 en geen extra vaccin). De uitschieters van 15% tot 22% op de locatie Hardenberg-Dedemsvaart-Staphorst reflecteren waarschijnlijk de goede verstandhouding tussen WVK's en ouders in de wat kleinere gemeenten ten opzichte van de grotere steden als Almere en Hilversum. De bijdrage van Staphorst (52 deelnemers voor groep 4a en 4b) is opvallend te noemen, omdat deze gemeente het hardnekkige imago heeft van een strikt orthodoxe gemeenschap met (zeer) lage vaccinatiegraad. Door dit hoge aantal deelnemers aan deze studie en een vaccinatiegraad van boven de 80% is dit beeld wellicht aan herziening toe.

Met het aantal locaties, dat bereid gevonden werd in de herfst van 2004 om deel te nemen aan deze studie en de nog resterende inclusieperiode van 2 maanden in 2004 was het onmogelijk het beoogde aantal van 50 kinderen te halen voor groep 1. Echter door de grootte van de andere groepen te verhogen naar 75 kinderen is er niet ingeboet aan statistische relevantie van deze studie. Ook was er de mogelijkheid om gegevens en sera uit oudere vaccinstudies te gebruiken en zodoende het aantal van groep 1 te verhogen. De inclusie van de andere groepen verliep in het algemeen voorspoedig. Alleen voor groep 4a was er wederom een beperkte tijdspanne waarin

kinderen werden gevaccineerd met Pediacel en nog niet met Prevenar (november 2006–april 2007). Tevens moest rekening gehouden worden met een aanzienlijk aantal kinderen waarbij er tijdens de primaire serie geschwicht werd van Infanrix naar Pediacel. De overschakeling van ACV-GSK naar ACV-SP verliep namelijk geleidelijk op de consultatiebureaus en niet zoals bij de overgang van WCV naar ACV op 1 dag. De voorraden van het nog aanwezige ACV (Infanrix) werden eerst opgemaakt. Hierdoor is er een groep 4c ontstaan met een mix van de combinatievaccins van GSK en SP in de primaire serie (N=26).

## 4.2 Kinkhoest respons WCV/ACV

### 4.2.1. Prevaccinatie titers

Het valt op dat de prevaccinatie GMT's in groep 1 en 2, waar in de primaire serie gevaccineerd is met WCV, ver zijn teruggezak in 7 maanden tijd na de primaire serie en niet boven de achtergrond uitkomen. Het percentage kinderen met een titer beneden de arbitraire beschermingsgrens van 25 EU/ml is voor Ptx 100% en nagenoeg ook voor de andere antigenen, uitgezonderd Fim3. Voor Fim3 is er nog wel een licht vaccineffect waarneembaar. Deze lage prevaccinatie GMT's gelden echter ook voor de ACV's, alleen in iets mindere mate. Voor Ptx varieert het percentage kinderen met een beschermende titer (>25 EU/ml) tussen de 10 % en 30% voor de verschillende ACV-groepen. De wat hogere prevaccinatie GMT's bij FHA zullen zeer waarschijnlijk veroorzaakt zijn door kruisreacties met antistoffen, die opgewekt zijn door andere pathogenen, die eiwitten bevatten die verwant zijn aan FHA [28, 29]. In de ACV-groepen zijn behoorlijk wat kinderen met een nog hoge FHA-pretiter > 100 EU/ml (52 in totaal). Van de 314 kinderen in alle ACV-groepen (3, 4a, 4b en 4c) vertonen er tenminste 8 erg hoge titers tegen meerdere kinkhoestantigenen voor de boostervaccinatie. Dit kan erop duiden dat zij mogelijk een natuurlijke infectie met *Bordetella pertussis* hebben doorgemaakt in de 7 maanden tussen de primaire serie en de booster. Zij hebben die infectie dan subklinisch doorgemaakt, want bij geen van de kinderen in de studie zijn kinkhoest klachten gemeld. Bij 3 kinderen van deze subgroep van 8 zijn de titers zeer hoog over de hele linie en dus ook tegen Ptx (> 100 EU/ml) [30]. Daar kan de diagnose van een doorgemaakte natuurlijke infectie met zekerheid gesteld worden. Bij de WCV-groepen waren er geen kinderen met een dergelijke aanwijzing.

### 4.2.2. Boosterrespons

#### *Groep 1*

De lage respons tegen de kinkhoestantigenen Ptx en FHA, de iets betere respons tegen Prn en een goede respons tegen Fim (met name Fim3) weerspiegelt zeer waarschijnlijk de antigene samenstelling van het WCV. Dergelijke responsen waren ook al geconstateerd in andere studies (DTP-Hib 21A voor Ptx, [6]). Het productieproces van het WCV is er van oudsher altijd op gericht geweest de concentratie van Ptx in het vaccin zo laag mogelijk te houden vanwege de mogelijke reactogeniciteit van het toxine [31]. De aanpassingen in het vaccin en het productieproces in 1997 hebben wel geleid tot een verhoging (van 4 naar 7 IU) en een betere standaardisering van de potency van het vaccin en een gegarandeerde houdbaarheid van 18 maanden. Zij lijken echter geen invloed te hebben op de serologische respons tegen de hier onderzochte kinkhoestantigenen. In een recente publicatie worden de gehaltes aan Ptx en FHA in het WCV van na 1997 vermeld (respectievelijk 0,2 en 6 µg/dosis) [32]. Met name voor FHA wordt deze antigene dosis niet vertaald in de hoogte van de titer. Als er inderdaad zoveel FHA in het WCV aanwezig is, is er sprake van een sterk verminderde immunogeniciteit van dit antigeen.

### *Groep 2*

De verhoogde respons op de drie kinkhoestantigenen (Ptx, FHA en Prn) in groep 2 heeft natuurlijk te maken met de antigene samenstelling van het ACV, maar het geeft ook inzicht in de priming van het WCV bij de primaire serie vaccinaties. Ondanks de aanwezigheid van een lagere concentratie Ptx, FHA en Prn in het WCV lijkt de verhoogde boosterrespons op deze antigenen bij veel kinderen in groep 2 te wijzen op aanwezigheid van memory immuniteit. Dit impliceert dat de kinderen wel geprimeerd zijn in de primaire serie voor deze antigenen. Ook in de 66A-studie werd een dergelijke aanwijzing van priming gevonden [8]. Bij deze studie is in 1998 de invloed van een boosterrespons met WCV en 3 verschillende ACV's op de antistof titer bij 180 kinderen op 4-jarige leeftijd onderzocht.

### *Groep 3*

Het ACV-GSK induceert een excellente respons tegen de 3 eiwitten waaruit het vaccin is samengesteld. Als we de hier gevonden resultaten vergelijken met de grote internationale trials met ACV's uit de jaren 90 en studies naar verschillende schema's en boosters in diverse landen, dan liggen de GMT's in deze studie aan de hoge kant, met name voor FHA en Prn [33-37]. De reden hiervoor ligt zeer waarschijnlijk in het gehanteerde vaccinatieschema. In de grote veldstudies zijn vrijwel altijd de titers bepaald na een schema van 2, 4, 6 maanden of 3, 5, 12 maanden, maar nooit na het in Nederland gehanteerde 3+1-schema. Voorwaarde voor een dergelijke vergelijking is natuurlijk wel dat in de verschillende studies van eenzelfde assay en referentieserum (FDA-ELISA, Lot3 en 4) gebruikgemaakt wordt [14].

Antistoftiters tegen andere componenten van *Bordetella pertussis* dan de 3 uit het GSK-vaccin worden logischerwijs niet geïnduceerd. Het feit dat een aantal kinderen van groep 3 toch nog een resttiter vertonen tegen Fim2 en/of Fim3 moet dan ook eerder verklaard worden door de onzuiverheid van het antigeen dat voor deze ELISA gebruikt werd. Op een SDS-gel waren in het eiwitpatroon van deze Fim-preparaten zeker lichte verontreinigingen aantoonbaar (data niet getoond).

### *Groep 4*

De respons op het 5 componenten ACV van SP is ook goed met uitzondering van Fim3 waar het GMT wat achterblijft. In de vergelijking met het ACV-GSK vallen de GMT's voor de 3 gemeenschappelijke componenten toch behoorlijk en zelfs statistisch significant lager uit, maar zijn de titers wel nog steeds overeenkomstig met andere, internationale studies. De verschillen in respons tussen de 2 ACV's zijn waarschijnlijk voor een deel terug te voeren op de wisselende concentratie van de kinkhoestantigenen in de twee vaccins. Zo bevat het GSK-vaccin 1,25 en 2,67 keer meer Ptx en Prn dan het SP-vaccin. Deze ratio's worden goed weerspiegeld in de ratio van antistof GMT's voor deze eiwitten (respectievelijk 1,13 en 2,28). Hoewel het GSK-vaccin slechts 25 % meer FHA-eiwit in een dosis aanbiedt dan het SP-vaccin, levert dit wel een ruim 2 keer hogere respons op.

Wat voor beide ACV's geldt is dat de relatief hoge Ptx-hoeveelheid niet leidt tot een groot effect op het GMT zoals wel voor de andere kinkhoestantigenen gezien wordt. De detoxificering van het Ptx en de daarmee gepaard gaande afname in immunogeniciteit is hier zeer waarschijnlijk debet aan. Het lijkt zeker zinvol om een andersoortig gedetoxificeerd Ptx op te nemen in de ACV's zoals bijvoorbeeld het genetisch gemodificeerde Ptx van Novartis (Sklavo), dat een veel betere respons opwekt [38, 39].

### 4.3 Vergelijking van WCV in combinatie met oude studies (voor en na productieaanpassingen)

Het RIVM heeft sera bewaard van vaccinstudies (onder andere. 21A uit 1993 en 86A uit 1999) die bruikbaar zijn voor uitbreiding van groep 1 en voor de vergelijking van voor en na de productieaanpassingen. Deze sera zijn echter gemeten volgens de toen aanwezige methoden. Om goed te kunnen vergelijken met de huidige studie zijn deze sera opnieuw gemeten met de huidige procedures, waardoor methodeverschillen kunnen worden uitgesloten. Als we dan de data van groep 1 van deze studie combineren met die van 86A-studie en vervolgens vergelijken met data van studie 21A, dan geeft dat aanleiding te veronderstellen dat de productieaanpassingen uit 1997 geen invloed hebben gehad op serologische respons gericht tegen de hier onderzochte kinkhoestcomponenten (zie Tabel 9C).

Er moet echter wel een kanttekening geplaatst worden bij de data van de 21A-studie. Hoewel de waarden voor de kinkhoestcomponenten vergelijkbaar zijn met die van de 134- en 86A-studies (Tabel 9C), liggen de GMT's voor difterie, tetanus, Hib en polio van de 21A-studie toch beduidend hoger dan die van de 134- en 86A-studie (zie Tabel 9D). De ouderdom van de sera (13 jaar) van de 21A-studie zou hier iets mee te maken kunnen hebben, hetgeen vooral voor Hib-titers zou kunnen gelden. Het is bekend dat vooral de assays voor polysaccharidevaccins veel a-specifieke binding kunnen vertonen. De GMT van de Hib-metingen valt nu ook behoorlijk hoger uit dan die van de oorspronkelijke (20,7 nu tegen 11,2 toen). De in 1994-95 gemeten GMT's voor difterie, tetanus en polio waren echter niet lager, maar eerder een factor 2-4 hoger. Aangezien de waarden voor alle vaccincomponenten, uitgezonderd kinkhoest, van het DKwcvTPHib-combinatievaccin van voor 1997 hoger uitvallen dan die van het combivaccin van na 1997, terwijl deze vaccincomponenten in principe hetzelfde zijn gebleven, kan de oorzaak voor dit toch wel aanzienlijke verschil gelegen zijn aan de vervoeging van het vaccinatie schema. Door het vaccinatieschema te vervroegen van 3, 4, 5 naar 2, 3, 4 maanden wordt er nu gevaccineerd in kinderen met een nog minder gematureerd immuunsysteem en dat kan de immuunrespons negatief beïnvloeden, hetgeen weerspiegeld wordt in de boosterresponsen op de leeftijd van 12 maanden. Daarentegen waren de GMT's voor de kinkhoestantigenen van het WCV van voor 1997 niet afwijkend met de nu gemeten waarde van het WCV van na 1997. Maar de meeste kinkhoesttiters geïnduceerd door het WCV zijn wel aan de (erg) lage kant, zodat het überhaupt moeilijk zal zijn een om een verschil te genereren. Een waterdichte verklaring voor het verschil in deze resultaten van de DTHibIPV-componenten van het RIVM/NVI-combinatievaccin hebben we dus vooralsnog niet, maar de vervroeging van het vaccinatieschema zou daar dus een belangrijke rol in kunnen spelen en verdient daarom zeker nader onderzoek.

### 4.4 Mogelijk effect van wisseling WCV naar ACV op bescherming tegen kinkhoest

Het effect van wisseling van WCV naar ACV in de serologische respons is heel duidelijk merkbaar op het percentage kinderen met een beschermende titer met de arbitraire cut-off van 25 EU/ml. Voor WCV loopt dit percentage op van 7% bij Ptx via 30% bij FHA, 60% bij Prn naar 100% voor Fim3. Voor het ACV-GSK wordt voor alle drie de antigenen 100% bereikt, terwijl voor het ACV-SP dit varieert tussen 94% en 100% met uitzondering van Fim3 dat rond de 70% schommelt. Dit zijn natuurlijk responsen op de korte termijn (1 maand na vaccinatie) en naar verwachting zullen deze titers weer snel afnemen binnen 1 à 2 jaar [35, 37].

#### 4.4.1 Samenstelling vaccins

De beschermende werking van het WCV valt moeilijk te vergelijken met die van de ACV's. Het WCV induceert een goede respons tegen Fim en in mindere mate tegen Prn, maar wellicht ook tegen andere buitenmembraancomponenten. Deze respons is veel breder van aard dan bij de ACV's, aangezien de hele bacterie als antigeen dient en er dus een immunoreactie tegen (veel) meer bacteriële eiwitten optreedt. Van de ACVs induceert het GSK-vaccin een 10-40 keer hogere antistofrespons en het SP-vaccin een 5-30 keer hogere respons tegen de drie componenten, Ptx, FHA en Prn in vergelijking met het WCV. Het GSK-vaccin bevat geen Fim als vaccincomponent. De Fim-respons van het ACV-SP is vergelijkbaar in hoogte met die van het WCV maar dan gespiegeld voor de twee Fim-componenten. Het WCV bestaat uit twee stammen (134 en 509), die elk een verschillend Fim-type produceren. De stam 134 produceert mogelijk meer Fim3 dan stam 509 Fim2, hetgeen resulteert in een hogere GMT voor Fim3 dan voor Fim2 na WCV vaccinatie. De verhouding tussen de twee Fim-componenten in het ACV-SP is  $Fim2 : Fim3 = 2:1$ . Hierdoor wordt het GMT voor FIM2 juist beduidend hoger dan die voor Fim3. Door de wisseling van WCV naar ACV-SP vindt er als het ware een switch plaats tussen de Fim2- en 3-antistoftiters. De verlaging in Fim3-titers die ontstaat door de vervanging van het WCV door ACV's is mogelijk ongunstig omdat de huidige circulerende stammen voornamelijk van het Fim3-type zijn.

#### 4.4.2. Immuneunmechanisme voor vaccins

Van drie kinkhoestvaccincomponenten (Ptx, Prn en Fim) is aangetoond dat antistoftiters beschermend werken, terwijl dat voor de vierde component (FHA) discutabel is. Hierbij lijkt het ACV-SP dus in het voordeel, omdat dit vaccin deze 3 antigenen bevat, terwijl het ACV-GSK geen Fim bevat. Het WCV bevat in principe alle antigenen, maar de respons tegen met name Ptx is erg mager in vergelijking met de ACV's. Ook over de invloed die de vaccins op de cellulaire immuniteit hebben valt nog niet veel te zeggen. De vraag is of deze invloed voor de ACV's die slechts uit enkele gezuiverde eiwitcomponenten bestaan even groot zal zijn als die van het WCV, dat uit hele gedode bacteriën bestaat. De hoge eiwitconcentraties in de ACV's zullen eerder een Th2 type of hooguit een gemengde Th1/Th2 immunerespons opwekken. Het WCV daarentegen bevat minder gezuiverde eiwitten, wel LPS en andere meer ongedefinieerde substanties die in staat zijn een activatie van Th1 cellen te induceren welke geassocieerd zijn met cellulaire immuneresponsen. Bovendien is het immuunsysteem nog in ontwikkeling wanneer de primaire serie vaccinaties plaatsvinden en met name het Th1 gedeelte van het immuunsysteem is nog niet volledig uitgerijpt. [40-46]. Deze gegevens zouden in het voordeel van het WCV spreken, maar data die deze theorie onderbouwen zijn niet echt voor handen. Kortom de invloed van de cellulaire en a-cellulaire vaccinaties op de Th1/Th2-balans is verschillend en dit wordt samen met bescherming op de langere termijn tegen kinkhoest momenteel nader onderzocht in verschillende studies (Memoryproject, SOR)

#### 4.4.3. Bescherming vaccins

Of de hogere antistoftiters, geïnduceerd door de ACV's, voldoende zijn om een positief effect op de kinkhoestsituatie in Nederland met regelmatig terugkerende verheffingen in incidenties te weeg te brengen, kan nu nog niet beantwoord worden. Wel is nu al duidelijk dat invoering van de acellulaire boostervaccinatie op 4 jarige leeftijd in 2001 een vermindering van de kinkhoest-incidentie in de leeftijdsgroep van 4-7 jaar en een verschuiving van de gemiddelde leeftijdspiek van de incidentie van 4 naar 8 jaar tot gevolg heeft gehad. Ook heeft deze booster een positieve invloed gehad op de kinkhoestincidentie in het eerste levensjaar [2]. Daarentegen is de kinkhoest-incidentie bij adolescenten en volwassenen de laatste jaren weer gestegen. Ook is nu wel duidelijk dat in landen die al veel langer geleden een ACV hebben geïntroduceerd (USA, Canada, Japan) de kinkhoestsituatie niet veel anders is dan in Nederland. Kortom, de invoering van het ACV in plaats van WCV kan op de korte termijn zeker een 'honeymoon' effect hebben door de zeer hoge

antistoftiters die het induceert, zeker gecombineerd met de booster op 4 jarige leeftijd, waardoor de persistentie van antistoffen voor langere duur gewaarborgd lijkt. Echter gezien de ervaringen en de huidige kinkhoestsituatie in het buitenland, is het de vraag of op de lange termijn het kinkhoestprobleem in Nederland weggewerkt wordt met alleen de vervanging van WCV door een van deze ACV's op de huidige vaccinatietijdstippen.

## 4.5 Bescherming op andere vaccincomponenten

Voor de D-, T- en Hib-vaccincomponenten wordt bij alle vaccins nagenoeg 100% bescherming volgens de internationale WHO-norm gehaald. Bij polio zijn er wel duidelijke verschillen waar te nemen in beschermingspercentages. Voor het WCV varieert dit voor de 3 types van 82-93%, terwijl het voor ACV-GSK varieert van 99-100% en voor het ACV-SP van 96-100%. Het pneumokokkenvaccin (Prevenar, Wyeth) geeft een goede bescherming: 100% voor 4 serotypes, 99% voor 2 serotypes (9V en 18C) en 95% voor serotype 6B.

Voor polio vallen de titers in groep 1 (WCV) erg laag uit. Het kleine aantal kinderen van groep 1 kan hier debet aan zijn. Door combinatie van deze resultaten met de data van de 86A-studie vallen de titers wat hoger uit, maar ongetwijfeld zijn de grote verschillen met de ACV's terug te voeren op het verschil in D-antigeenunits (40-4-7,5 voor WCV ten opzichte van. 40-8-32 voor ACV) van de verschillende poliovaccincomponenten (zie paragraaf 2.1). Dit lijkt echter niet het enige verschil in immunogeniciteit te zijn, want ondanks een gelijke concentratie D-antigeen-eenheden voor type 1 (40) in de drie vaccins, is het GMT voor dit type bij het ACV-GSK bijna een factor 4 hoger dan dat voor het ACV-SP en zelfs meer dan een factor 4 dan bij het WCV (zie Tabel 9B). Opvallend is verder het verschil in poliotiters (een factor 4, zie Tabel 9D) tussen het DKTPHib voor en na de productieaanpassingen aan het WCV in 1997. Dit valt eigenlijk alleen te verklaren door de vervroeging van het RVP-schema, daar beide vaccins eenzelfde polioantigeensamenstelling bezitten en er voor de titerbepaling binnen ons laboratorium uiteraard gebruik gemaakt is van dezelfde testprocedure voor de neutralisatie assay met dezelfde virus batch en dezelfde referentie- en controlesera.

## 4.6 Mogelijk effect van wisseling WCV naar ACV op andere vaccins

Er zijn enkele aanwijzingen dat WCV's in het algemeen een positief adjuverend effect kunnen hebben op de respons op de andere vaccincomponenten in de DKTPHibcombinaties [47, 48]. Als we de GMT's uit de verschillende groepen, dus WCV versus ACV's en met name de gecombineerde WCV groep (134 groep 1 en 86A) hierbij betrekken, lijkt er geen sprake te zijn van een adjuverend effect op de termijn van 1 maand. Sterker nog de titers voor Tet, Hib en de 3 poliotypes zijn lager en wel significant voor tetanus en polio. Als er al sprake zou zijn van een adjuverend effect dan geldt dat alleen voor difterie (groep 1 en 2 ten opzichte van. groep 3 en 4a in Tabel 9B). Echter in de gecombineerde WCV-groep is de GMT voor difterie nagenoeg gelijk aan die van de ACV's.

### 4.6.1. Interferentie tussen Pediacel en Prevenar

Zeer opvallend is de waarneming dat er interferentie optreedt tussen het Pediacel DaKTPHib) en het Prevenar (pneumokokken) vaccin. Als Pediacel samen met Prevenar toegediend wordt, zijn de titers anders dan voor Pediacel zonder simultane toediening met Prevenar. Tegelijkertijd vaccineren van Pediacel met Prevenar leidt tot lagere Ptx-, FHA- en tetanustiters. Juist hogere titers worden dan gezien voor Fim2, Hib en difterie. Voor difterie is dit verschil ook statistisch

significant. Voor Prn, Fim3 en de 3 poliotypes is er geen verschil. De verklaring voor de difterietiter ligt voor de hand, want de pneumokokkenpolysaccharides zijn gekoppeld aan de CRM-mutant van difterietoxine en derhalve wordt er viermaal extra difterie antigeen toegediend. De gelijktijdige toediening van Prevenar zou een positieve rol kunnen spelen voor de Hib-titer. De suggestie zou zijn dat door het mede vaccineren met een relatief hoge dosis van een soortgelijk conjugaatvaccin (Prevenar) het immuunsysteem/-mechanisme extra getriggered wordt in deze richting. Echter de positieve invloed op de Fim2titer en de negatieve invloed op de Ptx-, FHA- en tetanustiters zijn volkomen onverwachts en op dit moment niet verklaarbaar.

We mogen aannemen dat de fabrikant tijdens het onderzoek voor de registratie van dit vaccin (Prevenar) deze interferentie ook heeft gezien. Maar omdat de postvaccinatie GMT's nog ver boven de internationaal geaccepteerde norm voor bescherming liggen, hebben de registratie autoriteiten dit wellicht goedgekeurd.

Het is bekend dat uitbreiding van combinatievaccins ten koste kan gaan van de hoogte van sommige antistoftiters. Zo blijkt dit van toepassing te zijn op de immunogeniciteit van het hexavalente combinatievaccin ten opzichte van het pentavalente combinatievaccin van GSK [49]. Nu moet wel vermeld worden dat de hier gevonden interferentie geen noemenswaardige invloed heeft op de beschermingspercentages omdat de antistoftiters (ver) boven de internationaal gehanteerde norm liggen. Een negatieve interferentie is ook geconstateerd bij het mengen van geconjugerd MenC-vaccin met het pneumokokken-vaccin [50]. Wel geeft het duidelijk aan dat er niet straffeloos steeds meer verschillende vaccins en/of vaccincombinaties simultaan kunnen worden toegediend zonder in te boeten in de hoogte van de antistofrespons!!

#### **4.6.2. Groep 4c**

Ten slotte is het eveneens zeer opvallend dat een behoorlijk aantal GMT's van de groep 4c extra hoog uitvallen ten opzichte van groep 3 en 4a. Bij deze groep kinderen zijn de vaccinaties gestart met Infanrix in de primaire serie en tijdens die serie is er overgeschakeld op Pediacel. Als alleen de antigene samenstelling van de vaccins van invloed zou zijn op de GMT's, zou je een gemiddelde van de twee afzonderlijke ACV's (van groep 3 en groep 4a) verwachten. Dit zien we echter alleen voor Prn en de 3 poliotypes. Voor FHA en Fim3 zijn de GMT's gelijkwaardig met die van Pediacel alleen. Echter opvallend genoeg zijn de GMT's voor Ptx, Fim2, difterie, tetanus en Hib hoger dan voor de twee ACV's afzonderlijk. Met name voor tetanus en Hib zijn deze stijgingen zeer fors met bijna een factor 3. Deze verschillen zijn niet te verklaren doordat groep 4c slechts uit 26 kinderen bestaat en de andere twee groepen (3 en 4a) uit meer dan 90 kinderen. Dat het toedienen van de twee ACV-vaccincombinaties in de primaire serie een extra positief effect op de immuunrespons heeft, is zeer opmerkelijk en op dit moment niet uit te leggen.





## 5 Conclusies

- Er zijn geen aanwijzingen gevonden om aan te nemen dat de productiewijziging van het WCV uit 1997 enige invloed heeft gehad op de serologische respons een maand na vaccinatie gericht tegen Ptx, FHA, Prn en Fim3 in het vaccin.
- Er zijn geen aanwijzingen gevonden voor een adjuverend effect van het WCV op de andere vaccincomponenten een maand na vaccinatie.
- De vervroeging van het vaccinatieschema van 3, 4, 5 naar 2, 3, 4 maanden in 1999 heeft waarschijnlijk een (gering) negatief effect op de titers tegen D, T, Hib en Polio. Het combinatievaccin geproduceerd voor 1997 induceert namelijk hogere titers voor deze vaccincomponenten (D, T, Hib, polio) dan het combinatievaccin van na 1997, terwijl de vaccincomponenten in principe hetzelfde zijn.
- Ondanks de lage concentratie van Ptx, FHA (en in mindere mate Prn) in het WCV vindt er toch priming van het immuunsysteem plaats bij de primaire serie vaccinaties, zoals blijkt uit de boosterrespons met ACV op de leeftijd van 11 maanden.
- Het ACV-GSK vaccin (Infanrix) en het ACV-SP (Pediaceel) induceren met het in Nederland gehanteerde 3+1 vaccinatieschema (zeer) hoge antistoftiters. Het is nu nog te vroeg om een eventuele invloed hiervan op kinkhoestsituatie op populatieniveau in Nederland te kunnen beoordelen.
- De hogere D-antigeen concentratie van de polio type II en III componenten in het combinatievaccin Infanrix van GSK en Pediaceel van SP in vergelijking met het DKTP-Hib combinatievaccin van het NVI kan debet zijn aan het verschil in antistoftiterrespons tussen deze 3 vaccins. Echter voor de polio type-I component zijn deze hetzelfde en toch zijn er aanzienlijke verschillen in de respons met ACV-GSK > ACV-SP > WCV.
- Het ACV-GSK lijkt wat immunogener te zijn dan het ACV-SP. Deze verschillen zijn statistisch significant voor FHA en Prn, maar niet voor Ptx en de 3 poliotypes. Het ACV-GSK bevat echter geen Fim.
- De groep 4c, waarbij kinderen eerst met Infanrix en vervolgens met Pediaceel in de primaire serie zijn gevaccineerd, vertoont extra hoge titers voor Ptx, Fim2, difterie, en met name voor tetanus en Hib ten opzichte van groep 3 (Infanrix) en groep 4a (Pediaceel).
- Er treedt interferentie op tussen het Pediaceel- en Prevenar-vaccin. Tegelijkertijd toedienen van deze twee vaccins leidt tot hogere titers voor Fim2, Hib en difterie en tot lagere titers voor Ptx, FHA en tetanus. Dit geeft aan dat het combineren van vaccins en/of vaccincombinaties zijn limieten kent en majeure veranderingen in het RVP een degelijke serologische evaluatie verdienen.
- De resultaten uit deze studie laten zien dat het RVP-schema verder te optimaliseren is. De laatste jaren is de aandacht vooral gericht geweest op mogelijke uitbreiding van het programma, maar het lijkt zeker zinnig om onderzoek te doen naar een optimalisering van het vaccinatieschema.



## Literatuur

- [1] de Melker HE, Schellekens JF, Neppelenbroek SE, Mooi FR, Rumke HC, Conyn-van Spaendonck MA. Reemergence of pertussis in the highly vaccinated population of the Netherlands: observations on surveillance data. *Emerg Infect Dis* 2000;6(4):348-57.
- [2] de Greeff SC, Mooi FR, Schellekens JF, de Melker HE. Impact of acellular pertussis preschool booster vaccination on disease burden of pertussis in The Netherlands. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27(3):218-23.
- [3] Mooi FR, van Loo IH, King AJ. Adaptation of *Bordetella pertussis* to vaccination: a cause for its reemergence? *Emerg Infect Dis* 2001;7(3 Suppl):526-8.
- [4] King AJ, Berbers G, van Oirschot HF, Hoogerhout P, Knipping K, Mooi FR. Role of the polymorphic region 1 of the *Bordetella pertussis* protein pertactin in immunity. *Microbiology* 2001;147(Pt 11):2885-95.
- [5] Mooi FR, He Q, van Oirschot H, Mertsola J. Variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors pertussis toxin and pertactin in vaccine strains and clinical isolates in Finland. *Infect Immun* 1999;67(6):3133-34.
- [6] de Melker HE, Versteegh FG, Schellekens JF, Teunis PF, Kretzschmar M. The incidence of *Bordetella pertussis* infections estimated in the population from a combination of serological surveys. *J Infect* 2006;53(2):106-13.
- [7] Labadie J, Sundermann LC, Rumke HC. Multi-center study on the simultaneous administration of DPT-IPV and Hib PRP-T vaccines. Part 1. Immunogenicity; 1996. Report No.: RIVM Report 124001003.
- [8] Berbers GAM, Lafeber AB, Labadie J, Vermeer-de Bondt PE, Bolscher DJA, Plantinga AD. A randomised controlled study with whole-cell or acellular pertussis vaccines in combination with regular DT-IPV vaccine and a new poliomyelitis (IPV-Vero) component in children 4 years of age in the Netherlands; 1999. Report No.: RIVM Report 105000 001.
- [9] Lafeber AF, Klis FRMvd, Marzec A, Labadie J, Ommen Rv, Strieder TG, et al. MMR vaccine in 14 months old children, intramuscular versus subcutaneous administration. Bilthoven; 2001. Report No.: RIVM Rapport 000002001.
- [10] Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. *New England Journal Of Medicine* 1996;334(18):349-55.
- [11] Miller E. Overview of recent clinical trials of acellular pertussis vaccines. *Biologicals* 1999;27(2):79-86.
- [12] Slack MH, Schapira D, Thwaites RJ, Burrage M, Southern J, Goldblatt D, et al. Responses to a fourth dose of *Haemophilus influenzae* type B conjugate vaccine in early life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004;89(3):F269-71.
- [13] Loch C, Antoine R, Jacob-Dubuisson F. *Bordetella pertussis*, molecular pathogenesis under multiple aspects. *Curr Opin Microbiol* 2001;4(1):82-9.
- [14] Meade BD, Deforest A, Edwards KM, Romani TA, Lynn F, O'Brien CH, et al. Description and evaluation of serologic assays used in a multicenter trial of acellular pertussis vaccine. *Pediatrics* 1995;96(3 Pt 2):570-75.
- [15] van Gageldonk PG, van Schaijk FG, van der Klis FR, Berbers GA. Development and validation of a multiplex immunoassay for the simultaneous determination of serum antibodies to *Bordetella pertussis*, diphtheria and tetanus. *J Immunol Methods* 2008;335(1-2):79-89.
- [16] Hendriksen CF, van der Gun JW, Kreeftenberg JG. Combined estimation of tetanus and diphtheria antitoxin in human sera by the in vitro Toxin-Binding Inhibition (ToBI) test. *J Biol Stand* 1989;17(2):191-200.
- [17] Phipps DC, West J, Eby R, Koster M, Madore DV, Quataert SA. An ELISA employing a *Haemophilus influenzae* type b oligosaccharide-human serum albumin conjugate correlates with the radioantigen binding assay. *J Immunol Methods* 1990;135(1-2):121-8.
- [18] Goldblatt D, Southern J, Ashton L, Richmond P, Burbidge P, Tasevska J, et al. Immunogenicity and boosting after a reduced number of doses of a pneumococcal conjugate vaccine in infants and toddlers. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(4):312-9.

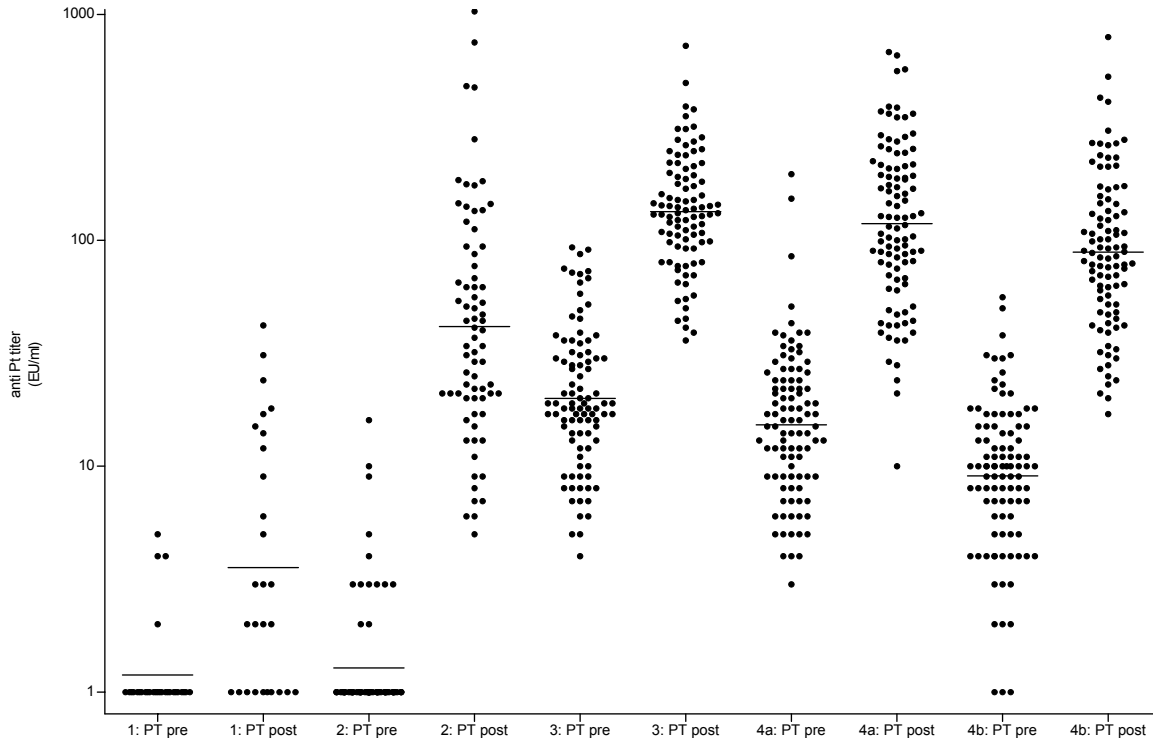
- [19] Concepcion NF, Frasch CE. Pneumococcal type 22f polysaccharide absorption improves the specificity of a pneumococcal-polysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8(2):266-72.
- [20] Galazka AM. The immunological basis for immunisation. Diphtheria. World Health Organization Geneva WHO/EPI/GEN/9312 1993.
- [21] Galazka AM. The immunological basis for immunisation. Tetanus. World Health Organization Geneva WHO/EPI/GEN/9313 1993.
- [22] Anderson P. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis* 1984;149(6):1034-5.
- [23] Kayhty H, Peltola H, Karanko V, Makela PH. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis* 1983;147(6):1100.
- [24] Robertson SE. The immunological basis for immunisation. Poliomyelitis. World Health Organization Geneva WHO/EPI/GEN/9316 1993.
- [25] Cherry JD, Gornbein J, Heininger U, Stehr K. A search for serologic correlates of immunity to *Bordetella pertussis* cough illnesses. *Vaccine* 1998;16(20):1901-06.
- [26] Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, Olin P. Levels of anti-pertussis antibodies related to protection after household exposure to *Bordetella pertussis*. *Vaccine* 1998;16(20):1907-16.
- [27] Hewlett EL, Halperin SA. Serological correlates of immunity to *Bordetella pertussis*. *Vaccine* 1998;16(20):1899-900.
- [28] Balder R, Hassel J, Lipski S, Lafontaine ER. *Moraxella catarrhalis* strain O35E expresses two filamentous hemagglutinin-like proteins that mediate adherence to human epithelial cells. *Infect Immun* 2007;75(6):2765-75.
- [29] Barenkamp SJ, St Geme JW, 3rd. Identification of a second family of high-molecular-weight adhesion proteins expressed by non-typable *Haemophilus influenzae*. *Mol Microbiol* 1996;19(6):1215-23.
- [30] de Melker HE, Versteegh FG, Conyn-Van Spaendonck MA, Elvers LH, Berbers GA, van Der Zee A, et al. Specificity and sensitivity of high levels of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol* 2000;38(2):800-6.
- [31] Cohen H. Pertussis "A shrew still to be tamed" Een onderzoek naar de kwaliteit van het kinkhoestvaccin, wat betreft immuniserende waarde en bijwerkingen, geproduceerd in het RIVM (periode 1986-1997); 1999.
- [32] Thalen M, van der Ark A, van den Ijssel J, van Straaten I, Jansen D, Beuvery C, et al. Improving the cellular pertussis vaccine: increased potency and consistency. *Vaccine* 2008;26(5):653-63.
- [33] Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. *N Engl J Med* 1996;334(6):349-55.
- [34] Edwards KM, Meade BD, Decker MD, Reed GF, Rennels MB, Steinhoff MC, et al. Comparison of 13 acellular pertussis vaccines: overview and serologic response. *Pediatrics* 1995;96(3 Pt 2):548-57.
- [35] Guiso N, Njamkepo E, Vie le Sage F, Zepp F, Meyer CU, Abitbol V, et al. Long-term humoral and cell-mediated immunity after acellular pertussis vaccination compares favourably with whole-cell vaccines 6 years after booster vaccination in the second year of life. *Vaccine* 2007;25(8):1390-7.
- [36] Edelman K, He Q, Makinen J, Sahlberg A, Haanpera M, Schuerman L, et al. Immunity to pertussis 5 years after booster immunization during adolescence. *Clin Infect Dis* 2007;44(10):1271-7.
- [37] Hallander HO, Gustafsson L, Ljungman M, Storsaeter J. Pertussis antitoxin decay after vaccination with DTPa. Response to a first booster dose 3 1/2-6 1/2 years after the third vaccine dose. *Vaccine* 2005;23(46-47):5359-64.
- [38] Pebody RG, Gay NJ, Giammanco A, Baron S, Schellekens J, Tischer A, et al. The seroepidemiology of *Bordetella pertussis* infection in Western Europe. *Epidemiol Infect* 2005;133(1):159-71.
- [39] Tozzi AE, Anemona A, Stefanelli P, Salmaso S, Ciofi degli Atti ML, Mastrantonio P, et al. Reactogenicity and immunogenicity at preschool age of a booster dose of two three-component

diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccines in children primed in infancy with acellular vaccines. *Pediatrics* 2001;107(2):E25.

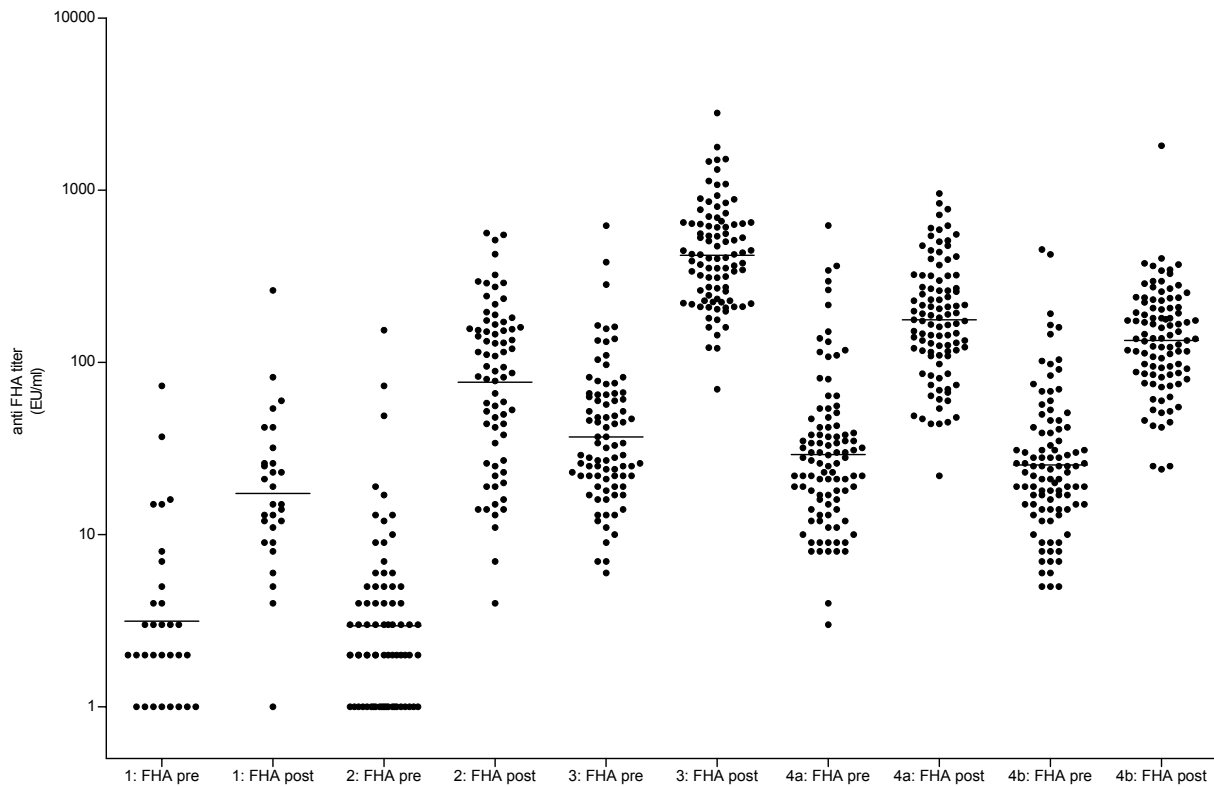
- [40] Ausiello CM, Fedele G, Urbani F, Lande R, Di Carlo B, Cassone A. Native and genetically inactivated pertussis toxins induce human dendritic cell maturation and synergize with lipopolysaccharide in promoting T helper type 1 responses. *J Infect Dis* 2002;186(3):351-60.
- [41] Ausiello CM, Lande R, la Sala A, Urbani F, Cassone A. Cell-mediated immune response of healthy adults to *Bordetella pertussis* vaccine antigens. *J Infect Dis* 1998;178(2):466-70.
- [42] Dagan R, Goldblatt D, Maleckar JR, Yaich M, Eskola J. Reduction of antibody response to an 11-valent pneumococcal vaccine coadministered with a vaccine containing acellular pertussis components. *Infect Immun* 2004;72(9):5383-91.
- [43] Mascart F, Verscheure V, Malfroot A, Hainaut M, Pierard D, Temerman S, et al. *Bordetella pertussis* infection in 2-month-old infants promotes type 1 T cell responses. *J Immunol* 2003;170(3):1504-9.
- [44] Rowe J, Yerkovich ST, Richmond P, Suriyaarachchi D, Fisher E, Feddema L, et al. Th2-associated local reactions to the acellular diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in 4- to 6-year-old children. *Infect Immun* 2005;73(12):8130-5.
- [45] Ryan M, Murphy G, Ryan E, Nilsson L, Shackley F, Gothefors L, et al. Distinct T-cell subtypes induced with whole cell and acellular pertussis vaccines in children. *Immunology* 1998;93(1):1-10.
- [46] Zepp F, Knuf M, Habermehl P, Schmitt HJ, Meyer C, Clemens R, et al. Cell-mediated immunity after pertussis vaccination and after natural infection. *Dev Biol Stand* 1997;89:307-14.
- [47] Plotkin SA. The effectiveness of whole-cell pertussis vaccines. *Dev Biol Stand* 1997;89:171-74.
- [48] Plotkin SA, Cadoz M. The acellular pertussis vaccine trials: An interpretation. *Pediatric Infectious Disease Journal* 1997;16(5):508-17.
- [49] Mallet E, Belohradsky BH, Lagos R, Gothefors L, Camier P, Carriere JP, et al. A liquid hexavalent combined vaccine against diphtheria, tetanus, pertussis, poliomyelitis, *Haemophilus influenzae* type B and hepatitis B: review of immunogenicity and safety. *Vaccine* 2004;22(11-12):1343-57.
- [50] Buttery JP, Riddell A, McVernon J, Chantler T, Lane L, Bowen-Morris J, et al. Immunogenicity and safety of a combination pneumococcal-meningococcal vaccine in infants: a randomized controlled trial. *Jama* 2005;293(14):1751-8.

# Appendix

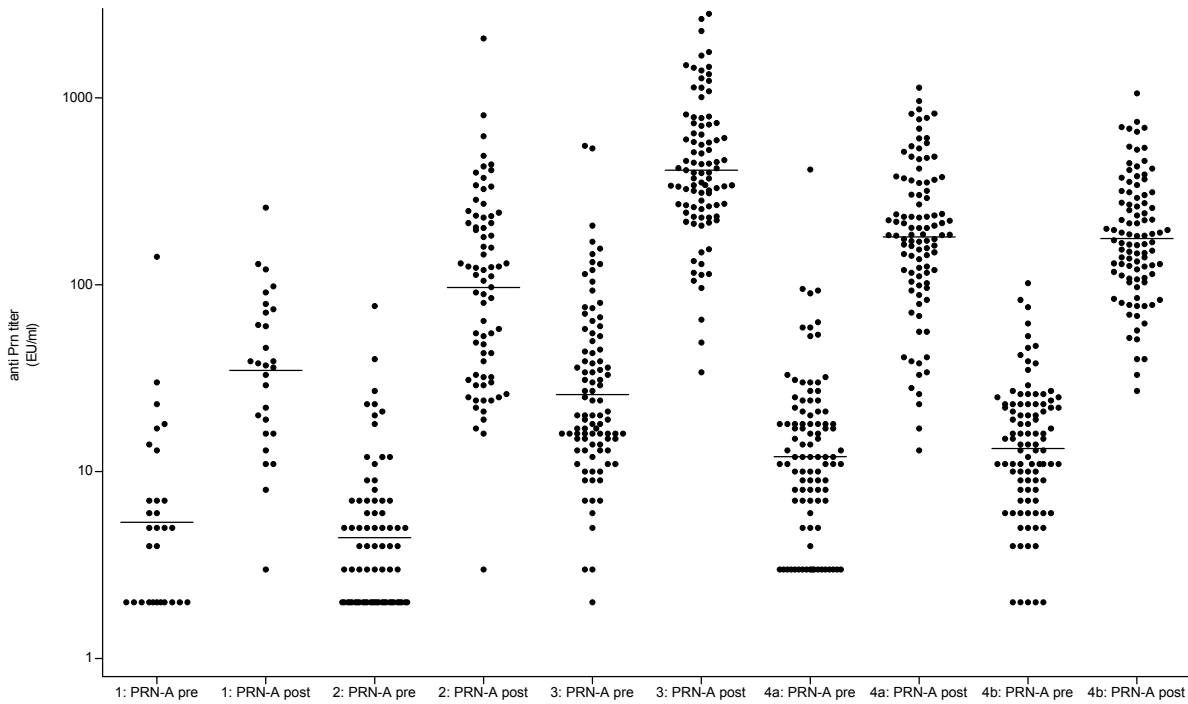
### Antistoftiters tegen PT voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



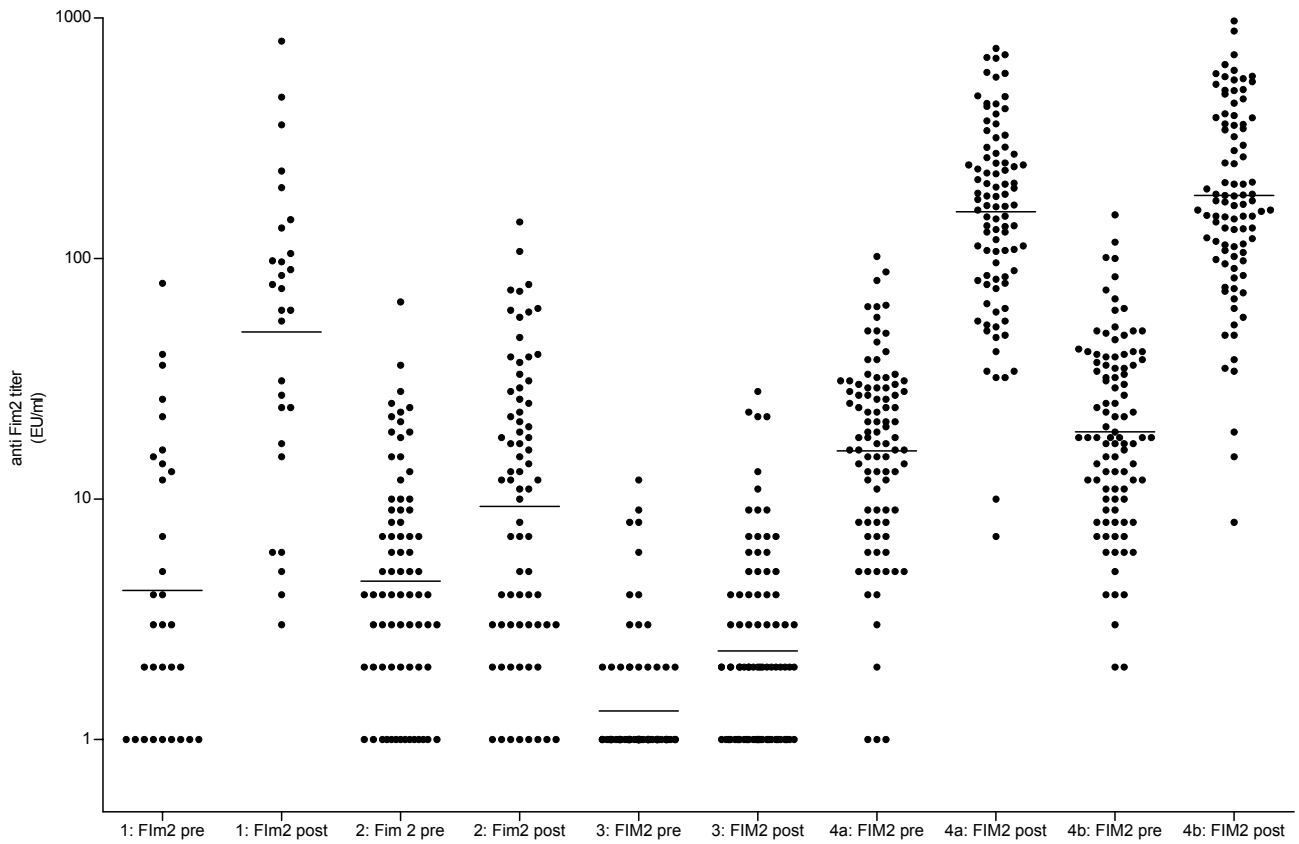
### Antistoftiters tegen FHA voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



Antistoftiters tegen PRN voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b

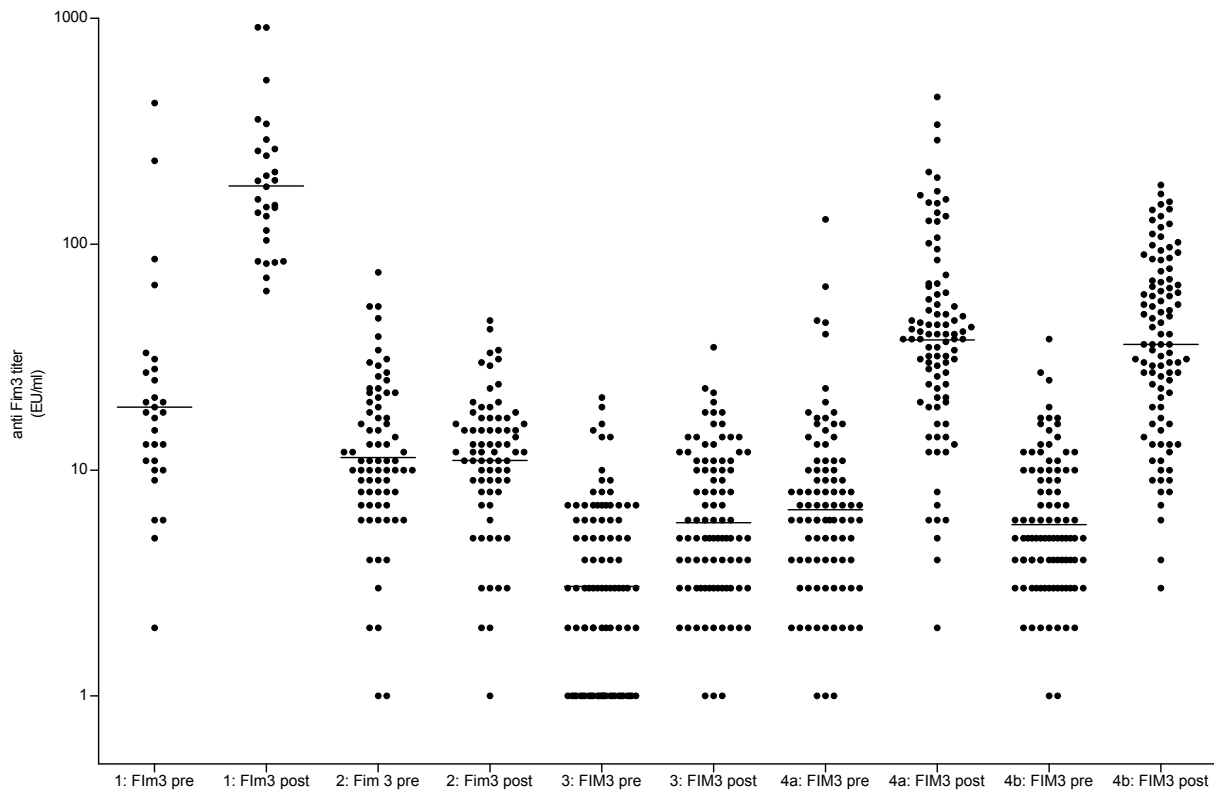


Antistoftiters tegen Fim2 voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b

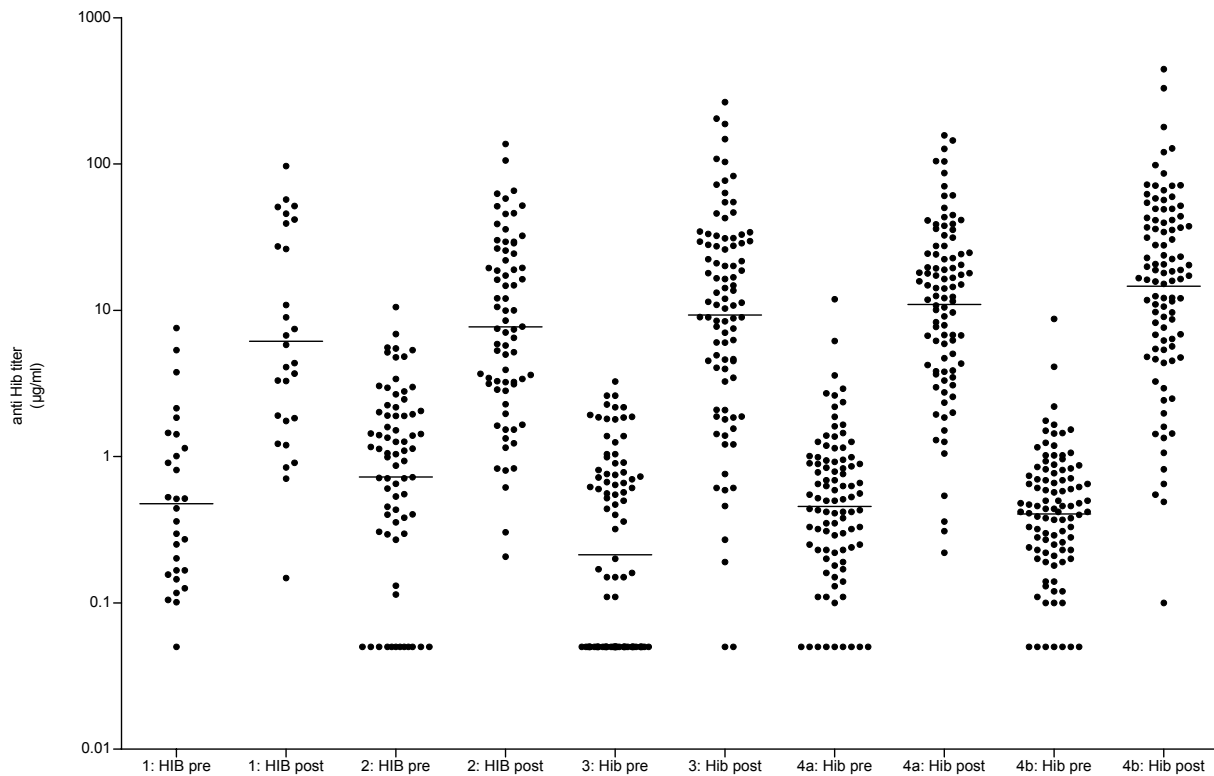




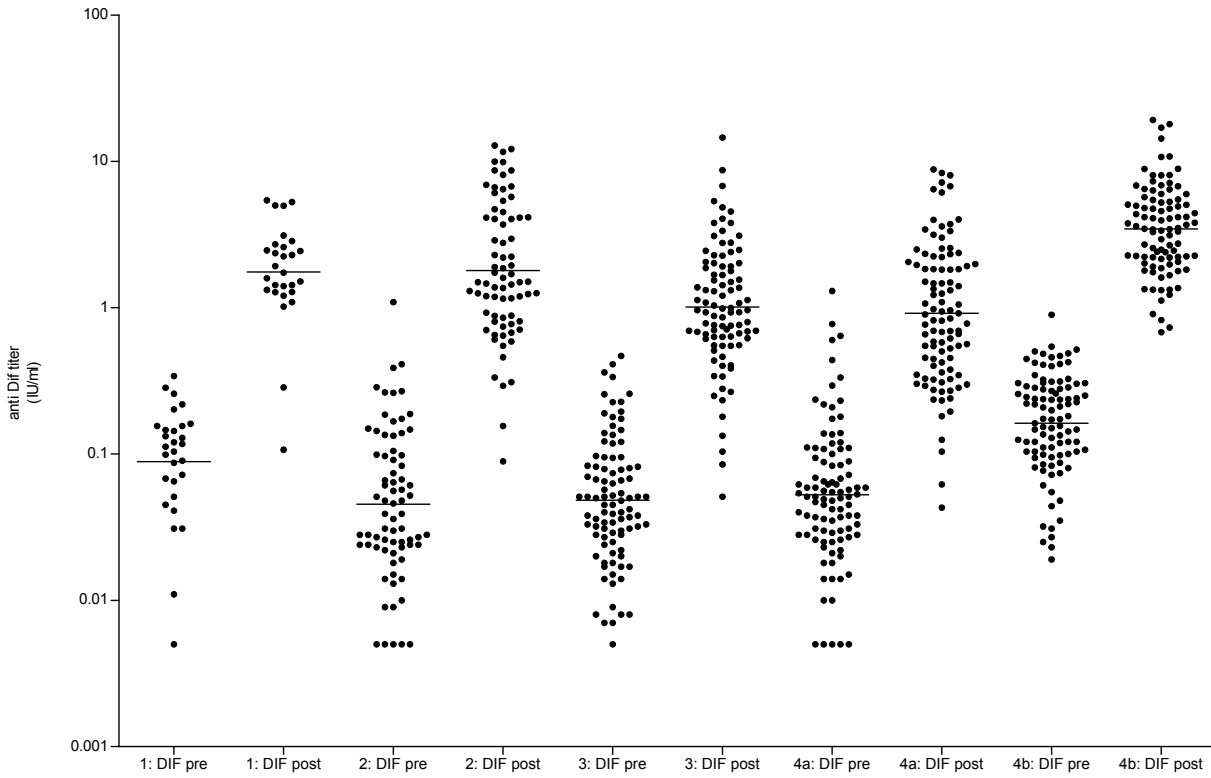
### Antistoftiters tegen Fim3 voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



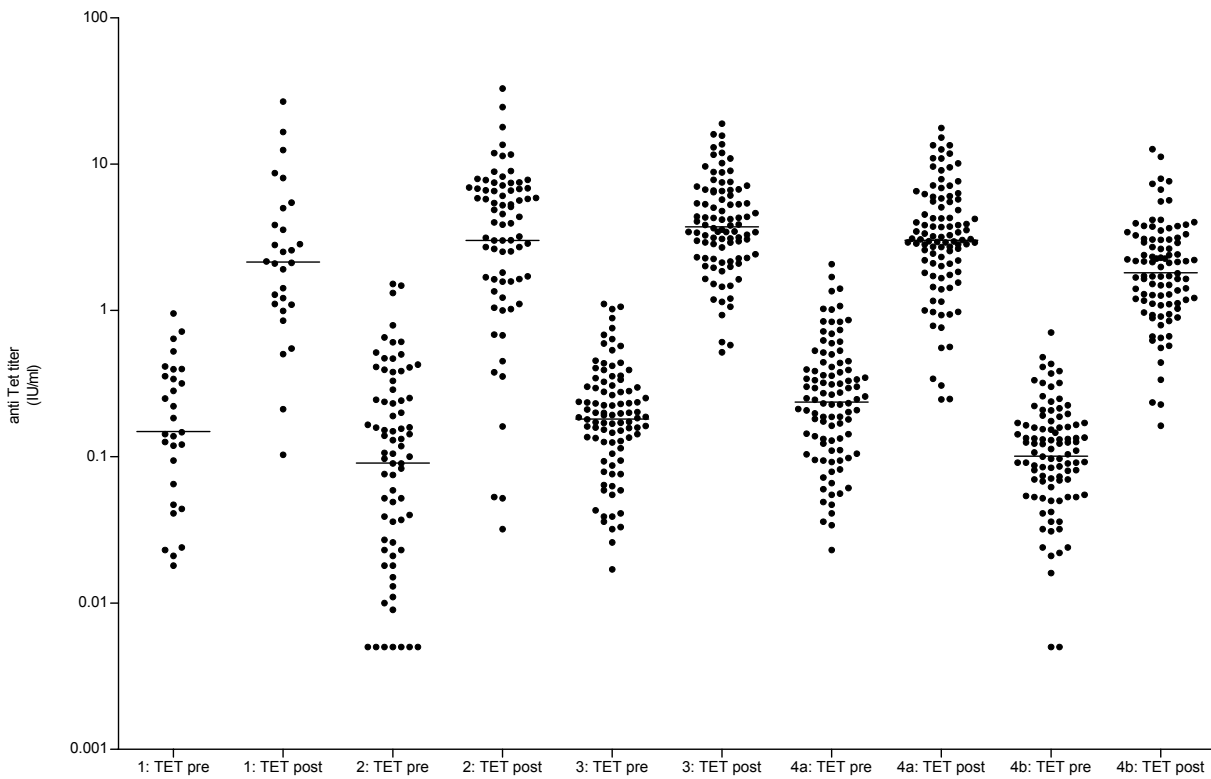
### Antistoftiters tegen Hib voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



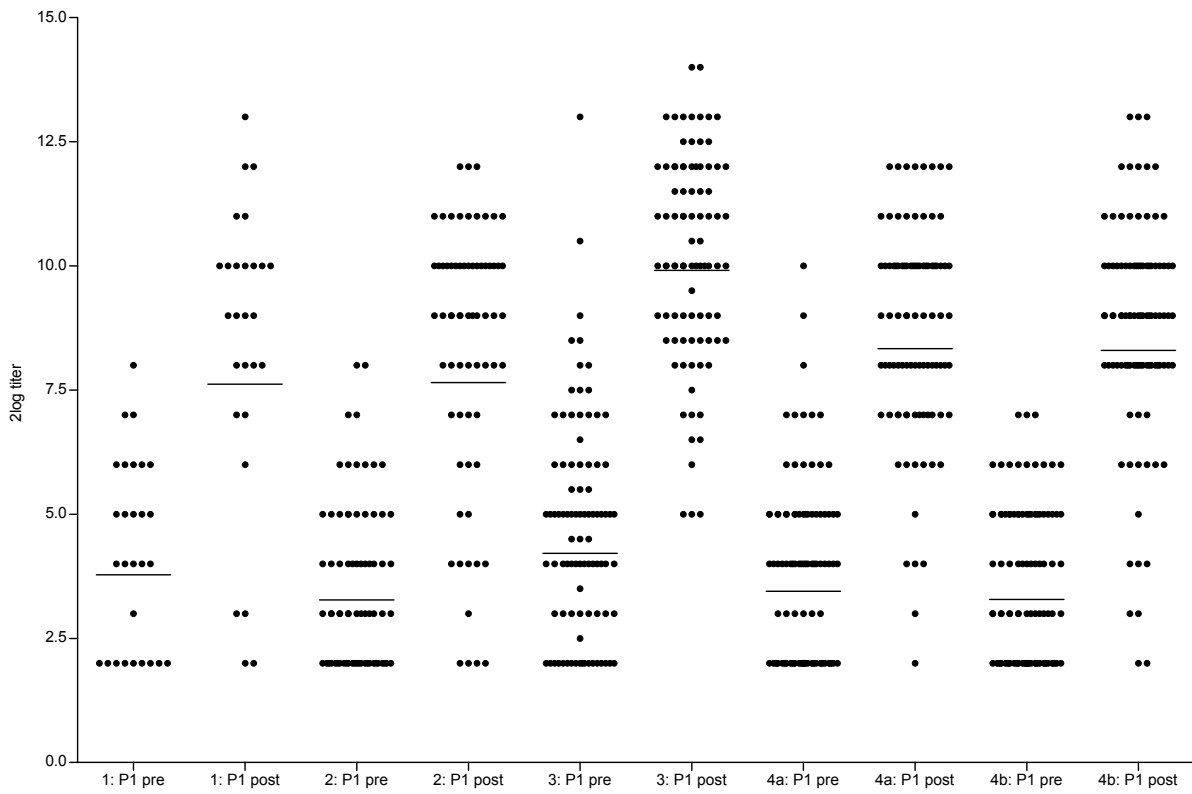
Antistoftiters tegen Difterie voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



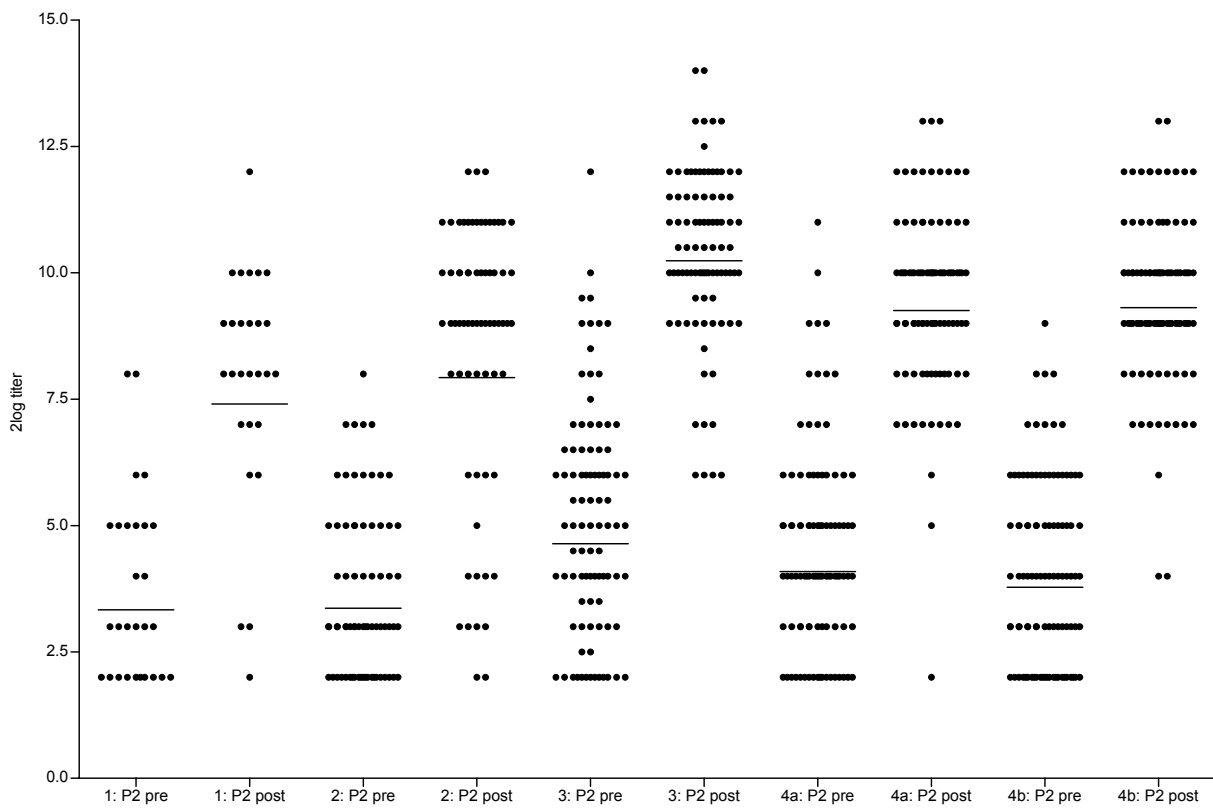
Antistoftiters tegen Tetanus voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



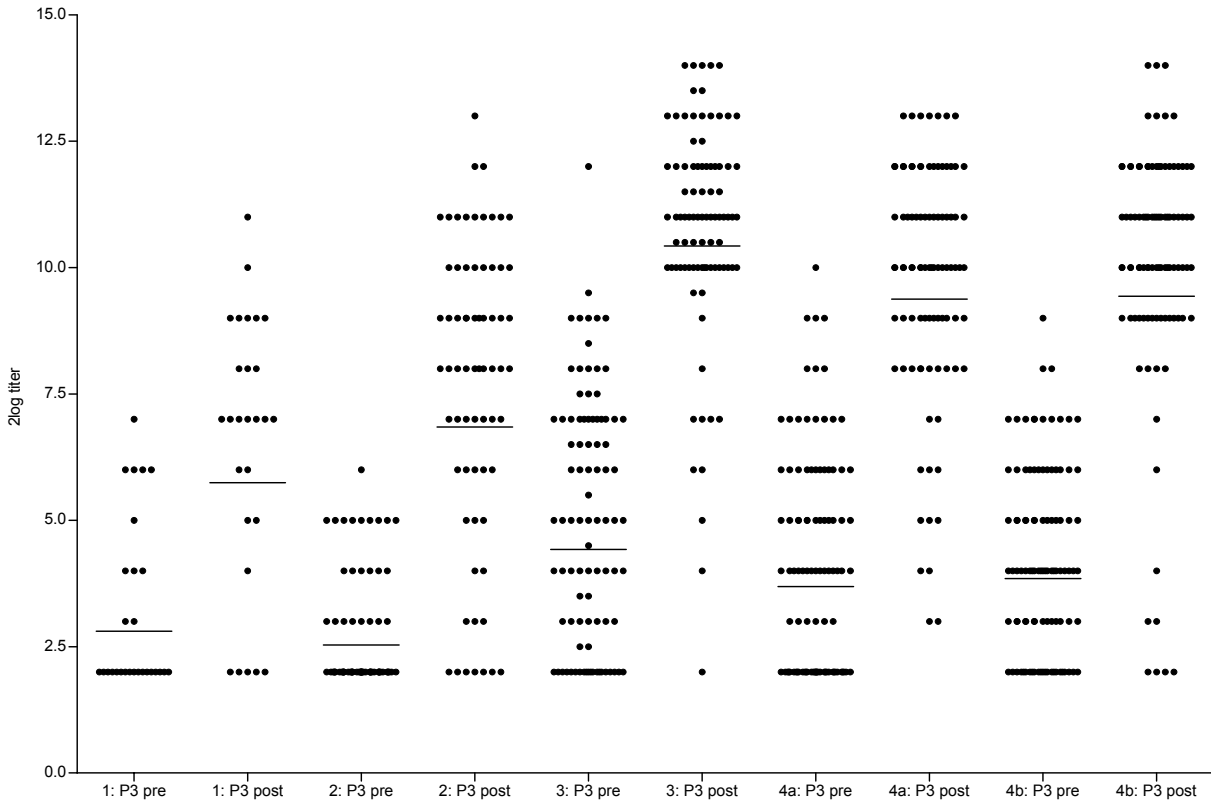
### Antistoftiters tegen Polio type I voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



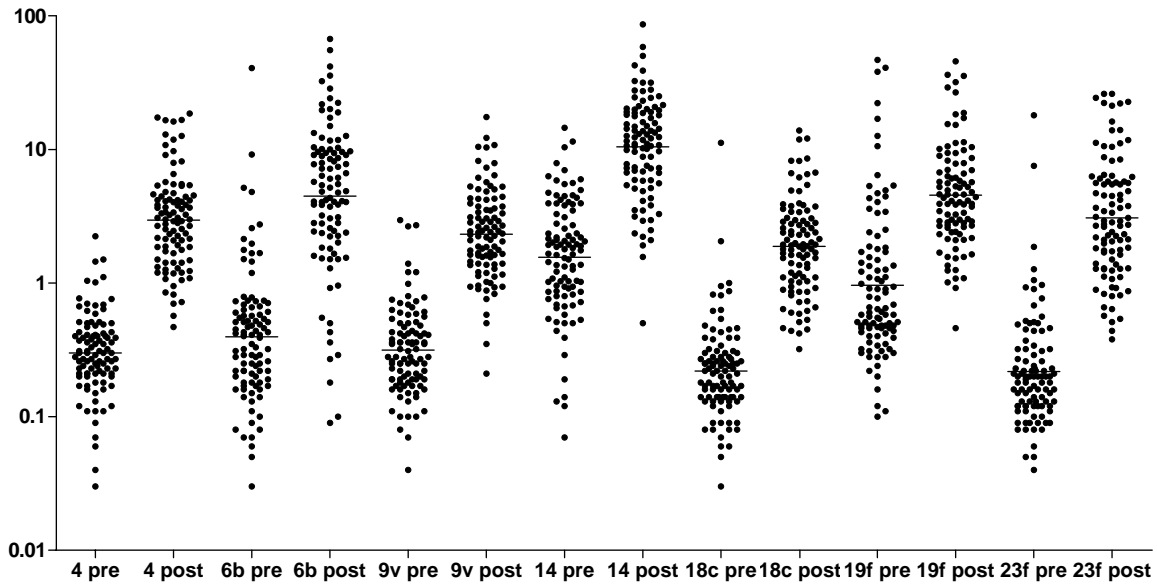
### Antistoftiters tegen Polio type II voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



Antistoftiters tegen Polio type III voor groep 1, 2, 3, 4a en 4b



Pneumo



**RIVM**

Rijksinstituut  
voor Volksgezondheid  
en Milieu

Postbus 1  
3720 BA Bilthoven  
[www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)