

RIVM rapport 000016001/2002

Prospectief Vaccinatie Onderzoek

Antistofrespons bij kinderen in het Rijksvaccinatie
programma, beschrijvend longitudinaal onderzoek.
Eindrapportage

AB Lafeber, HC Rümke, RJF Burgmeijer,
AHJO Marzec, GAM Berbers

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie voor de
Volksgezondheid (IGZ), in het kader van project V/000016/01/AA, Levering RVP-vaccins.

Abstract Nederlands

In 1980 is een longitudinaal onderzoek gestart naar de antistofrespons op vaccinaties verricht in het kader van het Rijksvaccinatie Programma (RVP). Via (para)medische tijdschriften werden aanstaande ouders benaderd voor deelname van hun kinderen aan het onderzoek. In de studie zijn 142 kinderen geïncludeerd waarbij vlak voor en ongeveer één maand na elke vaccinatie een bloedmonster is afgenomen. In 1997, toen de kinderen tussen de 12 en 17 jaar oud waren (mediaan 15,5 jaar), werd het laatste bloedmonster afgenomen om de persistentie van antistoffen over een langere periode vaststellen. Geometrisch gemiddelde titers en (indien mogelijk) de percentages kinderen met een beschermende antistoftiter tegen difterie, tetanus, polio, kinkhoest, mazelen, bof en rubella zijn bepaald.

Over het algemeen leidde vaccinatie tot een goede respons tegen alle antigenen. Bovendien wijst de boosterrespons in 4- en 9-jarige kinderen op het bestaan van een immunologisch geheugen voor difterie, tetanus en polio. Alle kinderen met een "primair vaccinfalen" na de eerste mazelen vaccinatie reageerden met een titerstijging na de tweede vaccinatie. Dit onderstreept het belang van de tweede BMR-vaccinatie op 9-jarige leeftijd zoals die in 1987 in het RVP is ingevoerd.

Abstract English

A longitudinal survey has started in 1980 to investigate the serological response after vaccination of children in the National Childhood Immunisation Programme (RVP) in the Netherlands. Through (para)medical journals future parents were asked to have their children participate in the study. A total of 142 children were included. Blood samples were taken just before and approximately one month after each vaccination. In 1997, when the children were 12 to 17 years old (median 15.5 years), a final blood sample was taken to assess the persistence of antibody levels over a longer period. Geometric mean titres and (where possible) percentages of children with protective antibody levels against diphtheria, tetanus, polio-, pertussis, measles, mumps, and rubella were determined. Overall, vaccination induced good responses to all antigens. Besides, the booster responses in 4 and 9-years-olds demonstrated the presence of an immunological memory for diphtheria, tetanus and polio. Children with a primary vaccine failure to the first measles vaccination all responded with a titre rise after the second vaccination. This underlines the need for the second MMR vaccination at the age of 9 years, as introduced in the RVP in 1987.

Voorwoord

De auteurs willen een woord van dank richten aan iedereen die de uitvoering van het Prospectief Vaccinatie Onderzoek mogelijk hebben gemaakt. Dat zijn op de eerste plaats alle deelnemers en hun ouders. Wij realiseren ons dat wij hen veel dank verschuldigd zijn en dat zonder hun medewerking het onderzoek nooit zover was gekomen. Verder gaat onze dank in het bijzonder uit naar alle medewerkers van zowel NIPG/TNO als RIVM die in de loop van de tijd gedurende een korte of langere periode meegewerkt hebben aan deze studie.

Afkortingen

95%BI	95% betrouwbaarheids interval
BMR	Bof, Mazelen en Rubella-vaccin
CCID ₅₀	Cell Culture Infectious Dose
DE	D-antigeeneenheden
DKTP	Difterie, Kinkhoest, Tetanus en Polio-vaccin
DTP	Difterie, Tetanus en Polio-vaccin
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GMT	geometrisch gemiddelde titer
HAR	Haemagglutinatie Remmingstest
Hib	Haemophilus Influenzae type b
IE	Internationale Eenheden
LVO	Laboratorium voor Veldonderzoek Vaccins
LVO-BI	LVO afdeling Bio- en Immunochemie
LVO-KO	LVO afdeling Klinisch Onderzoek
MCI	Medisch Centrum Immunisaties
NIPG	Nederlands Instituut voor Praeventieve Gezondheidszorg
PFU	Plaque Forming Unit
PVO	Prospectief Vaccinatie Onderzoek
RIV	Rijksinstituut voor Volksgezondheid
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
RVP	Rijksvaccinatieprogramma
ToBI	Toxin Binding Inhibition
WHO	World Health Organisation

Inhoud

Samenvatting 9

Summary 11

1. Inleiding 13

2. Materiaal en methoden 15

2.1 Studiepopulatie 15

2.2 Onderzoekschema 15

2.3 Vaccinaties 16

2.3.1 DKTP-vaccin 16

2.3.2 DTP-vaccin 17

2.3.3 Mazelen vaccin 17

2.3.4 BMR-vaccin 17

2.4 Bloedafnames 17

2.5 Antistofbepalingen 18

2.5.1 Difterie en tetanus 18

2.5.2 Poliomyelitis 18

2.5.3 Kinkhoest 18

2.5.4 Mazelen 19

2.5.5 Bof 19

2.5.6 Rubella 19

2.6 Statistische analyses 19

3. Resultaten 21

3.1 Onderzoekspopulatie 21

3.2 Serologie 22

3.2.1 Difterie 22

3.2.2 Tetanus 26

3.2.3 Polio 29

3.2.4 Kinkhoest 33

3.2.5 Mazelen – haemagglutinatie remmingstest 35

3.2.6 Mazelen – ELISA 38

3.2.7 Bof - ELISA 39

3.2.8 Rubella ELISA 40

4. Discussie 41

4.1 Difterie, tetanus en poliomyelitis 41

4.1.1 Maternale antistoffen 41

4.1.2 Effect van vaccinatie 42

4.2 Kinkhoest 43

4.3 Mazelen 43

4.3.1 Maternale antistoffen 43

4.3.2 Effect van vaccinatie(s) 44

4.4 Bof en rubella 46

5. Conclusies en aanbeveling 47

5.1 *Conclusies* 47

5.2 *Aanbeveling* 47

Literatuur 48

Bijlage 1 Verzendlijst 55

Samenvatting

Doel/Opzet

Het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en het toenmalige Nederlands Instituut voor Praeventieve Gezondheidszorg/TNO zijn in 1980 gestart met een longitudinaal onderzoek naar de antistofrespons op vaccinaties verricht in het kader van het Rijksvaccinatieprogramma (RVP). Het doel van het onderzoek was het verzamelen van referentiewaarden over de ontwikkeling en persistentie van de serologische immuunstatus gedurende 15 jaar. Een groep kinderen afkomstig uit heel Nederland werd, tijdens het doorlopen van het reguliere RVP, gevolgd waarbij vlak voor en circa één maand na iedere vaccinatie bloed werd afgenomen. De kinderen zijn gevaccineerd volgens het tijdens het onderzoek geldende RVP.

Resultaten en conclusies

Difterie

Vlak na de geboorte wordt een daling van het maternale antistofniveau gemeten, waarna op de leeftijd van 4 maanden het effect van vaccinatie zichtbaar wordt. Na vaccinatie stijgen de niveaus snel, maar na verloop van tijd dalen ze weer tot hetzelfde niveau als voor vaccinatie. De respons op de boostervaccinaties op 4- en 9-jarige leeftijd wijst op de aanwezigheid van een immunologisch geheugen. Op 15-jarige leeftijd heeft 26% van de kinderen echter weer een titer onder het beschermende niveau. Een aantal van deze kinderen ontving vervolgens een extra DTP-vaccinatie, waarop zij allen reageerden met een goede boosterrespons.

Tetanus

Het antistofverloop na vaccinatie tegen tetanus is vergelijkbaar met dat tegen difterie, maar zowel de geometrisch gemiddelde titers (GMT) als de percentages deelnemers met antistoffen boven het beschermend niveau zijn aanzienlijk hoger. Ondanks een afname van de antistofniveaus in de periode na vaccinatie, blijven de tetanus antistoffen boven het niveau van voor vaccinatie, in tegenstelling tot difterie antistoffen. De persistentie van tetanus antistoffen is goed.

Polio

Voor alle drie de typen poliovirus worden na vaccinatie, zowel bij de primaire serie als de boostervaccinaties, hoge GMT's en percentages beschermde kinderen waargenomen. De respons tegen polio type 1 is het beste, maar ook die tegen de andere twee typen zijn hoog. In de loop van de tijd is een stijgende lijn van de GMT's te zien als effect van de booster vaccinaties. Bij de laatste bloedafname in 1997 hebben alle kinderen een beschermende titer tegen polio type 1, 2 en 3.

Kinkhoest

Net als voor difterie, tetanus en polio is ook voor kinkhoest allereerst een afname van het maternale antistofniveau te zien, waarna vervolgens het effect van vaccinatie zichtbaar wordt. Vlak na de basisimmunisatie op de leeftijd van 11 maanden is het antistofniveau echter weer gedaald tot het maternale antistofniveau. Ondanks dat kinderen op 4-jarige leeftijd niet tegen kinkhoest gevaccineerd worden, is toch een stijging van antistoffen te zien. Waarschijnlijk is dit het gevolg van natuurlijke (re)infectie door intensief contact met leeftijdsgenoten op school. De ontwikkeling van kinkhoestantistoffen is echter moeilijk te interpreteren. Bekend is dat verhoogde agglutinatie titers correleren met bescherming tegen de ziekte maar over de exacte hoogte van de beschermende titers is geen duidelijkheid.

Mazelen

De kinderen in dit onderzoek zijn zowel op de leeftijd van 14 maanden als van 9 jaar gevaccineerd tegen mazelen. Al op de leeftijd van 6 maanden zijn de maternale antistoffen voor het merendeel van de kinderen gedaald tot onder het als beschermend beschouwde niveau. In de toekomst moet overwogen worden de eerste vaccinatie op jongere leeftijd te geven. De kinderen bij wie de eerste vaccinatie niet aangeslagen is, reageren alle met een sterke stijging van antistoffen na de tweede vaccinatie. Hieruit blijkt dat deze tweede vaccinatie, zoals die sinds 1987 in het RVP wordt aangeboden, zeer zinvol is.

Bof en rubella

Voor de BMR-vaccinatie op 9-jarige leeftijd heeft het merendeel van de kinderen al een hoog antistofniveau tegen bof en rubella waarschijnlijk als gevolg van natuurlijke infectie. De kinderen met antistoffen onder het als beschermend beschouwde niveau vertonen alle een zeer goede respons na vaccinatie. Na vaccinatie was het percentage kinderen met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau voor zowel bof als rubella hoog (resp. 94% en 99%). De resultaten uit deze studie zijn moeilijk te vergelijken met de huidige situatie in Nederland waar kinderen volgens het RVP tweemaal een BMR-vaccinatie krijgen op de leeftijd van 14 maanden en 9 jaar.

Summary

Study aim and design

In 1980, the National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) and the former Dutch institute for preventative health care/ TNO (Nederlands Instituut voor Praeventieve Gezondheidszorg/TNO) started a longitudinal survey to investigate the serological response after vaccination of children in the National Childhood Immunisation Programme (RVP) in the Netherlands. Aim of the study was to collect data on the development and maintenance of the serological immune status over a period of 15 years. Dutch children were followed during the regular RVP, and blood samples were taken before and one month after each vaccination.

Results and conclusions

Diphtheria

After birth, a decline is observed in the maternal antibody level. Subsequently, at the age of 4 months the effect of vaccination becomes noticeable by the increased antibody level. After the primary vaccination series the antibody levels quickly increase; however, this is followed by a fairly rapid decrease to the same level as before vaccination. The quick responses to the booster vaccinations at 4 and 9 years of age demonstrate the presence of an immunological memory. All children, who received an extra DTP vaccination in 1997 because of a non-protective antibody level showed a good booster response.

Tetanus

The development of antibodies against tetanus shows almost the same pattern as for diphtheria. However, both geometric mean titres (GMT) and percentages of participants with protective antibody levels against tetanus are much higher. Although the antibody levels decline in the period after vaccination, they remain, in contrast with diphtheria, above the pre-vaccination level. The persistence of antibodies against tetanus is good.

Polio

High GMTs and large percentages of children with protective antibody titres were observed after the primary vaccination series and booster vaccinations for all three types of poliovirus. The highest response is seen to polio type 1, but the responses to the other two types are also very high. All children were seen to have protective titres against all three types of polioviruses at the last blood sampling in 1997.

Pertussis

The development of antibody levels, as observed for diphtheria, tetanus and polio, is also seen for pertussis. Decline in the maternal antibodies followed by a rise during the primary vaccination series. Shortly after these primary series antibody levels decreased to the same level as the maternal antibodies. Although children were not vaccinated against pertussis at the age of 4, a rise in the antibody level was seen at that time. Probably due to natural pertussis, (re)infection because of intensive contact with other 4-year-olds at school. Interpretation of how antibodies develop against pertussis is difficult. Elevated agglutinin titers have been shown to correlate with protection from disease following whole-cell pertussis vaccination, but the exact correlates of protection are not clear.

Measles

The participants were vaccinated against measles at the age of 14 months and 9 years. For most of the children the maternal antibody level had already dropped below the level considered as protective at the age of 6 months. It is therefore recommended to consider advancing the age of the first vaccination in the future. Children with a primary vaccine failure all responded with a rise of antibodies after the second vaccination, which underlines the importance of the second MMR vaccination, as introduced in the RVP in 1987.

Mumps and rubella

Before the MMR-vaccination at the age of 9, most of the children already showed high levels of antibodies against mumps and rubella, probably caused by natural infection. All children with low antibody levels showed a good response to vaccination. After vaccination, the percentages of children with protective antibody levels was high for mumps as well as for rubella (94% and 99% respectively). The results from this study can not be easily compared compared with the current situation in the Netherlands where children are vaccinated twice with the MMR vaccine - at 14 months and 9 years.

1. Inleiding

In Nederland worden kinderen sinds 1957 in het kader van het Rijksvaccinatieprogramma (RVP) tegen een aantal verschillende infectieziekten gevaccineerd. De vaccinaties worden uitgevoerd op basis van vrijwilligheid. Dankzij de efficiënte organisatie van het RVP en de brede acceptatie van de vaccinaties bij het publiek ligt de vaccinatiegraad rond de 95%. Sinds 1962 wordt in Nederland een gecombineerd difterie, kinkhoest, tetanus en (geïnactiveerd) polio vaccin (DKTP) gebruikt. Dit vaccin werd toegediend op de leeftijd van 3, 4, 5 en 11 maanden. Sinds april 1999 is dit vervroegd tot 2, 3, 4 en 11 maanden. Revaccinatie tegen difterie, tetanus en polio met het DTP-vaccin wordt aangeboden op 4- en 9-jarige leeftijd. In 1974 werd rubella vaccinatie voor elfjarige meisjes ingevoerd in het RVP. In 1976 werd de vaccinatie tegen mazelen op de leeftijd 14 maanden toegevoegd ⁽¹⁾. Deze enting werd in 1987 vervangen door vaccinatie met een gecombineerd vaccin tegen bof, mazelen en rubella (BMR) op de leeftijd van zowel 14 maanden als 9 jaar. Hierdoor verviel de vaccinatie tegen rubella voor elfjarige meisjes. Per 1 april 1993 is de vaccinatie tegen ziekten veroorzaakt door *Haemophilus influenzae* type b (Hib) opgenomen in het RVP ⁽²⁾.

In 1980 is een longitudinaal onderzoek gestart naar de antistofrespons op vaccinaties verricht in het kader van het Rijksvaccinatieprogramma (RVP). Dit "Prospectief Vaccinatie Onderzoek"(PVO) is opgezet door het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in samenwerking met het toenmalige Nederlands Instituut voor Praeventieve Gezondheidszorg/TNO (NIPG) ⁽³⁾. Doel van het onderzoek was het verzamelen van referentiewaarden over de ontwikkeling en handhaving van de serologische immunstatus van 0 tot 15 jarigen. Hiervoor is een groep kinderen afkomstig uit heel Nederland gedurende het vaccinatieprogramma gevolgd. Zij zijn gevaccineerd volgens het tijdens het onderzoek geldende standaardschema van het RVP. Voor en na iedere vaccinatie is bloed afgenomen voor de bepaling van antistoffen tegen difterie, kinkhoest, tetanus, polio en mazelen. Antistoffen tegen bof en rubella zijn alleen bepaald vanaf 9-jarige leeftijd.

2. Materiaal en methoden

2.1 Studiepopulatie

Werving van de onderzoeksdeelnemers gebeurde door plaatsing van oproepen in een aantal Nederlandse (para)medische tijdschriften gericht aan toekomstige ouders. De advertenties zijn geplaatst in de periode van 1980 tot 1982. Onderstaande tabel laat zien in welke tijdschriften de advertenties zijn geplaatst en in welk jaar.

Tabel 1. Overzicht advertenties voor werving onderzoeksdeelnemers

Tijdschrift	Jaar van plaatsing
Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde	1980, 1981, 1982
Tijdschrift voor Kindergeneeskunde	1980, 1981
Medisch Contact	1980, 1981, 1982
Tijdschrift voor Sociale Geneeskunde	1980, 1981
Tijdschrift voor Jeugdgezondheidszorg	1980, 1981
Huisarts en Wetenschap	1980, 1981
Tijdschrift voor Maatschappelijke Gezondheidszorg	1981
Analyse	1981
Tijdschrift voor Ziekenverpleging	1981, 1982
Tijdschrift voor Diergeneeskunde	1981, 1982
Pharmaceutisch Weekblad	1981, 1982
Tijdschrift voor Fysiotherapie	1981, 1982

Eén of beide ouders van de onderzoeksdeelnemers was/waren werkzaam in een (para)medisch beroep. Er werd gestreefd naar spreiding van de geboortedata van de deelnemers om seizoensinvloeden van bepaalde infecties uit te sluiten. Om die reden werd de werving over twee jaar gespreid.

2.2 Onderzoekschema

Het onderstaande schema geeft weer wanneer bepaalde onderzoekshandelingen plaatsvonden. De genoemde leeftijden zijn zogenaamde "doelleeftijden" waarop de handelingen gepland waren. In een enkel geval kon hier individueel van afgeweken worden, bijvoorbeeld door uitstel van vaccinatie wegens ziekte. Bij elke vaccinatie en bloedafname zijn de werkelijke leeftijden van het kind vastgelegd.

Tabel 2. Onderzoeksschema

Leeftijd	Vaccinatie	Bloedafname
0 mnd		1
3 mnd	DKTP1	2
4 mnd	DKTP2	3
5 mnd	DKTP3	4
6 mnd		5
11 mnd	DKTP4	6
14 mnd	M (DKTP4*)	7
15 mnd		8
4 jr	DTP5	9
4 jr + 1 mnd		10
9 jr	DTP6 + BMR	11
9 jr + 1 mnd		12
15 jr		13

* Optioneel kon DKTP4 uitgesteld worden tot het moment van mazelen vaccinatie, in dat geval verviel bloedafname 6.

2.3 Vaccinaties

Vaccinaties werden toegediend volgens het tijdens het onderzoek geldende schema, hetgeen inhield DKTP op de leeftijd van 3, 4, 5 en 11 maanden, DTP op 4- en 9-jarige leeftijd, mazelen vaccin op 14 maanden en BMR-vaccin op 9 jaar. De vaccins waren afkomstig uit partijen die regulier gebruikt werden voor het RVP. Er zijn dus geen specifieke partijnummers gereserveerd voor het onderzoek.

2.3.1 DKTP-vaccin

Dit is een gecombineerd, geadsorbeerd vaccin tegen difterie, kinkhoest, tetanus en poliomyelitis. De D-component is het geïnactiveerde toxine afkomstig van *Corynebacterium diphtheriae*, stam Parke Williams No.8. De K-component is een suspensie van hitte geïnactiveerd *Bordetella pertussis* (stammen 134 en 509). De T-component bestaat uit toxine van *Clostridium tetani*, stam Harvard 49205. De P-component bestaat uit gezuiverd, geïnactiveerd virus van de drie typen: type 1 stam Mahoney, type 2 stam MEF I en type 3 stam Saukett. Formaldehyde is gebruikt voor de inactivatie van de D-, T- en P-componenten. Als adjuvant is aluminiumfosfaat toegevoegd en als conserveermiddel 2-fenoxyethanol.

De sterkte van de verschillende componenten per vaccindosis (1ml) is als volgt:

- difterie ≥ 30 IE
- kinkhoest ≥ 4 IE
- tetanus ≥ 60 IE
- polio type I ≥ 20 DE
- polio type II ≥ 2 DE
- polio type III $\geq 3,5$ DE

Het vaccin wordt intramusculair toegediend.

2.3.2 DTP-vaccin

Dit is een gecombineerd, geadsorbeerd vaccin tegen difterie, tetanus en poliomyelitis (zie DKTP-vaccin §2.3.1).

De sterkte van de verschillende componenten per vaccindosis (1ml) is als volgt:

- difterie ≥ 5 IE
- tetanus ≥ 20 IE
- polio type I ≥ 20 DE
- polio type II ≥ 2 DE
- polio type III $\geq 3,5$ DE

Het vaccin wordt intramusculair toegediend.

2.3.3 Mazelen vaccin

Dit vaccin bevat levend mazelenvirus, stam Edmonston, verzwakt door herhaalde passage in celculturen van kippenembryofibroblasten bij lage temperatuur. Het vaccin bevat tenminste 1000 TCID₅₀ levende virusdeeltjes per vaccindosis (0,5ml). Het vaccin, dat gevriesdroogd is en geresuspendeerd dient te worden met de bijgeleverde verdunningsvloeistof wordt subcutaan toegediend.

2.3.4 BMR-vaccin

Dit is een gevriesdroogd combinatievaccin tegen bof, mazelen en rubella.

De bofcomponent betreft levend verzwakt bofvirus, stam Jeryl Lynn. Dit virus wordt gekweekt op kippenembryofibroblasten. De mazelencomponent betreft levend verzwakt mazelenvirus, stam Moraten, verkregen door de reeds verzwakte Edmonston stam door herhaalde passage in celculturen verder te verzwakken. Dit virus wordt tevens gekweekt op kippenembryofibroblasten. De rubellacomponent is levend verzwakt rubellavirus, stam RA27/3, gekweekt op menselijke diploïde celculturen (WI-38). Het gevriesdroogde vaccin dient uitsluitend geresuspendeerd te worden met de bijgeleverde reconstitutievloeistof. Als kweekstabilisator is SPGA (sucrose, fosfaat, glutamaat, humaan albumine) toegevoegd en als vriesdroogstabilisator GOSP (gelatine, O-medium, sorbitol, fosfaat).

De sterkte van de verschillende componenten per vaccindosis (0,5ml) is na resuspensie als volgt:

- bof ≥ 5.000 pfu
- mazelen ≥ 1.000 pfu
- rubella ≥ 1.000 pfu

Het vaccin wordt subcutaan toegediend.

2.4 Bloedafnames

De beginwaarde van de immunstatus van de deelnemer is bepaald in navelstrengbloed (± 5 ml). Wanneer deze afname niet verricht was, is ± 5 ml veneus stolbloed afgenomen bij de moeder binnen 1 maand na de bevalling. Bij kinderen geboren via sectio caesarea is alleen navelstrengbloed onderzocht. Het moederlijk bloed is dan namelijk niet bruikbaar in verband met mogelijke bloedtransfusies rond een keizersnede, waardoor de moeder passief geïmmuniseerd kan worden. De bloedafnames bij de kinderen vonden plaats vlak voor en

ongeveer een maand na vaccinatie. Het laatste bloedmonster werd bij alle kinderen in 1997 afgenomen, dit is gemiddeld 6 jaar na het beëindigen van het RVP. Voor de bloedafnames bij baby's kon gekozen worden uit een venapunctie (± 2 ml) of een hiel- of vingerprik (6-8 capillairen à 100 μ l). Bij kleuters van ± 4 jaar was 2 ml bloed nodig voor de antistoffen, terwijl op oudere leeftijd ca. 10 ml werd afgenomen. De bloedafnames werden verricht door de huisarts, consultatiebureau-arts, kinderarts of door de ouders zelf. De bloedmonsters werden direct na afname per post naar het RIVM verzonden. In een enkel geval werd het bloed door een RIVM-medewerker afgenomen in het RIVM en vond dus geen postverzending plaats. Na aankomst van het bloed werd het gecentrifugeerd en het serum ingevroren. De serologische bepalingen werden vervolgens batchgewijs in de tijd uitgevoerd.

2.5 Antistofbepalingen

Alle serologische bepalingen zijn door laboratoria van het RIVM verricht. De coördinatie binnen het RIVM lag in handen van het toenmalige Medisch Centrum Immunisaties (MCI), dat intussen is opgegaan in het Laboratorium voor Veldonderzoek Vaccins (LVO).

2.5.1 Difterie en tetanus

In de eerste monsters zijn de difterie en tetanus antistoffen gemeten met een ELISA bepaling. In de loop van het onderzoek kwam een nieuwe meetmethode beschikbaar, nl. de Toxin Binding Inhibition (ToBI) test. Wanneer nog voldoende serum aanwezig was, zijn de eerste monsters dan ook opnieuw bepaald met de ToBI-test. In dit rapport zijn alleen de resultaten van de ToBI-test opgenomen. Deze test is beschreven door Hendriksen et al. ⁽⁴⁾.

Een verdunningsreeks van het serum wordt geïncubeerd met een vaste hoeveelheid difterie- en tetanustoxine. Vervolgens wordt het niet-geneutraliseerde toxine gedetecteerd in een ELISA. Tegenwoordig is deze test geoptimaliseerd en internationaal gevalideerd, o.a. door het gebruik van nationaal referentie serum gekalibreerd op internationaal referentie serum van de WHO ⁽⁵⁾.

De antistofniveaus zijn weergegeven in internationale eenheden (IU) per ml. Voor zowel difterie als tetanus is de ondergrens van de bepaling 0,03 IU/ml. Uitslagen onder deze grens zijn gecodeerd als 0,01 IU/ml. De bovengrens van de test is 16 IU/ml, waarden groter dan deze grens zijn gecodeerd als 20 IU/ml. Binnen het RIVM wordt als grenswaarde voor bescherming 0,1 IU/ml aangehouden voor zowel difterie als tetanus.

2.5.2 Poliomyelitis

Antistoffen tegen de drie typen poliovirus zijn gemeten met de microneutralisatie test zoals die beschreven is door Albrecht et al. ⁽⁶⁾. Elk serum werd getitreerd in een tweevoudige verdunningsreeks in 12 welltjes met 100 TCID₅₀ van het virus beginnend met een 1:2 verdunning. De resultaten werden geaccepteerd wanneer de titer van het controle serum op elke plaat binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval lag. De titers zijn weergegeven als de reciproke van de hoogste verdunning van het serum dat nog neutralisatie geeft. Polio antistoftiters kleiner dan 1/1 zijn berekend als 1 en titers groter dan de bovengrens van de bepaling (=1/4096) als 1/8192. Titers groter of gelijk aan 1/8 worden als beschermend beschouwd. Net als voor de andere antigenen geldt dat een lagere titer niet vanzelfsprekend betekent dat iemand niet beschermd is. Vaak heeft namelijk al voldoende priming plaatsgevonden, waardoor bij een volgend contact met het poliovirus de antistoftiter snel zal stijgen.

2.5.3 Kinkhoest

Agglutinerende antistoffen tegen kinkhoest zijn gemeten met behulp van de agglutinatie test met B. pertussis stam 3838 als antigeen ⁽⁷⁾. Hierbij is gestart met een voorverdunding van 1:10. Antistofniveaus zijn weergegeven als reciproke van de hoogste verdunning van het

serum dat nog resulteert in agglutinatie. De resultaten werden geaccepteerd als het antistofniveau van het referentie serum (FDA, lot 2) en het controle serum niet meer dan een tweevoudige verdunningsstap afwijkt van het niveau gemeten bij de vorige bepaling. Uit de literatuur is bekend dat verhoogde agglutinatie titers correleren met bescherming tegen kinkhoest, maar een exacte grenswaarde voor bescherming is niet bekend ⁽¹¹⁹⁾.

2.5.4 Mazelen

Mazelen antistoffen zijn op twee manieren bepaald. De monsters 1 tot en met 13 zijn gemeten met de Haemagglutinatie Remmingstest (HAR). Deze meetmethode is afgeleid van een vergelijkbare test voor het meten van rubella antistoffen ⁽⁸⁾. HAR-titers zijn uitgedrukt als reciproke van hoogste verdunning waarbij geen agglutinatie optreedt. Een duidelijke grens voor bescherming is niet bekend. In dit onderzoek nemen wij aan dat titers kleiner dan 1/8 onbeschermd zijn. De monsters zijn 11, 12 en 13 tevens bepaald met een indirecte ELISA, deze methode is vergelijkbaar met de test die gebruikt is om bof antistoffen te bepalen ⁽⁹⁾. ELISA titers zijn weergegeven in internationale eenheden (IU) per ml. Kinderen met een titer groter of gelijk aan 0,20 IU/ml worden als voldoende beschermd beschouwd.

2.5.5 Bof

Bof antistoffen zijn alleen gemeten in de monsters 11, 12 en 13. Hiervoor is een indirecte ELISA gebruikt waarbij het niveau van IgG-antistoffen gericht tegen het bofvirus (stam Enders) werd gemeten ^(10, 11). De uitvoering van deze bepaling is uitgebreid beschreven door Beaumont et al. ⁽¹⁰⁾. Antistofniveaus zijn weergegeven in RIVM-eenheden (RU) per ml, titers groter of gelijk aan 40 RU/ml worden als beschermend beschouwd.

2.5.6 Rubella

De IgG antistofconcentraties tegen het rubella virus (stam HPV77) in monsters 11 tot en met 13 zijn gemeten met een indirecte ELISA. Deze bepaling is uitgebreid beschreven door De Haas et al. ⁽¹²⁾. Antistofniveaus zijn uitgedrukt in internationale eenheden per ml, waarbij als grenswaarde voor bescherming 10 IU/ml werd aangehouden.

2.6 Statistische analyses

De gemeten waarden zijn verzameld na verificatie ingevoerd in een database. Voor bloedafname datum is de datum ingevoerd waarop het monster door het RIVM is ontvangen. Per vaccincomponent is het verloop van de geometrisch gemiddelde antistoftiter en (indien mogelijk) het percentage deelnemers met een beschermend antistofniveau bepaald. Om het effect van maternale antistoffen op de ontwikkeling van antistoffen tegen difterie, tetanus en polio te bepalen zijn de deelnemers ingedeeld in drie groepen:

- P25: antistofniveau in 1^e monster kleiner/gelijk aan het 25e percentiel (P25)
- P25-75: antistofniveau in 1^e monster groter dan P25 maar kleiner dan P75
- P75: antistofniveau in 1^e monster groter/gelijk aan P75.

Voor deze drie groepen is het verloop van de geometrisch gemiddelde antistoftiter tegen difterie, tetanus en polio bepaald. Bovendien is het verschil tussen de groepen bepaald d.m.v. Anova. Ook is het effect van pré titers op de vorming van antistoffen na BMR-vaccinatie bepaald. De deelnemers zijn daarbij op grond van het antistofniveau in de bloedafname op 9-jarige leeftijd ingedeeld in bovengenoemde groepen.

Voor de statistische analyses is gebruik gemaakt van SPSS 9.0 for Windows ⁽¹³⁾.

3. Resultaten

3.1 Onderzoekspopulatie

In totaal werden 169 deelnemers, geboren tussen 2 december 1979 en 3 maart 1985, aangemeld voor het onderzoek; vaak gebeurde dit al voor de geboorte van het kind. Een aantal ouders zag af van verdere deelname aan het onderzoek, veelal werden de frequente bloedafnames als te belastend beschouwd. Deelnemers waarvan slechts één bloedmonster ontvangen is, zijn uitgesloten voor de analyses. Van 142 deelnemers zijn twee of meer bloedmonsters ontvangen. Het aantal deelnemers varieert per bloedafname, zoals aangegeven in tabel 3. Deze tabel toont bovendien de leeftijden waarop de verschillende bloedafnames plaatsvonden. Bloedafname 13 werd voor alle kinderen uitgevoerd in 1997. De mediane leeftijd in deze groep is 15,5 jaar, hoewel de spreiding groot is (12-17 jaar).

Tabel 3. Deelnemers

Bloedafname	N	Sexe		Doelleeftijd	Doelleeftijd (wk)	Mediane leeftijd (wk)	Grenzen (wk) P25-P75
		♂	♀				
1	125	66	59	0 mnd	0	0,6	0,3 - 1,9
2	134	70	64	3 mnd	13	14	13 - 16
3	130	68	62	4 mnd	17	19	18 - 20
4	129	68	61	5 mnd	22	23	22 - 25
5	119	62	57	6 mnd	26	29	27 - 32
6	92	49	43	11 mnd	48	52	49 - 54
7	111	56	55	14 mnd	61	63	61 - 67
8	119	62	57	15 mnd	65	70	69 - 76
9	108	57	51	4 jr	209	200	187 - 215
10	102	50	52	4 jr + 1 mnd	213	206	193 - 222
11	108	56	52	9 jr	469	461	446 - 480
12	110	57	53	9 jr + 1 mnd	474	469	454 - 486
13	117	61	56	15 jr	782	809	777 - 838
TOTAAL	142	73	69				

3.2 Serologie

Zoals eerder gezegd varieert het aantal deelnemers per bloedafname. Bovendien was het niet altijd mogelijk alle antistofbepalingen uit te voeren voor elk bloedmonster. Hiervoor zijn twee belangrijke redenen:

- in een aantal gevallen werd onvoldoende serum ontvangen, vanwege inzending van te weinig materiaal of vanwege breuk tijdens het transport
- tijdens het onderzoek is de ELISA bepaling voor difterie en tetanus vervangen door de ToBI-test waardoor de monsters opnieuw gemeten moesten worden, voor niet elk monster was voldoende serum over.

Hieronder worden de serologie resultaten worden beschreven per ziekteverwekker waartegen is gevaccineerd.

3.2.1 Difterie

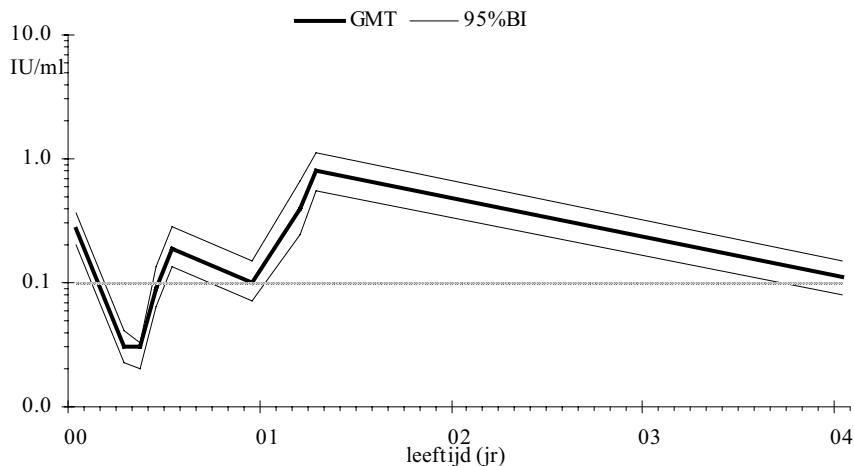
Tabel 4 toont de geometrisch gemiddelde difterie antistoftiters per bloedafname. Bij geen van de afnames is het verschil in GMT's tussen jongens en meisjes statistisch significant. Ook zijn in deze tabel de percentages deelnemers met antistoffen op beschermend ($\geq 0,1$ IU/ml), marginaal beschermend ($>0,01$ IU/ml maar $< 0,1$ IU/ml) en onbeschermend niveau ($\leq 0,01$ IU/ml) weergegeven.

Tabel 4. Difterie antistoffen

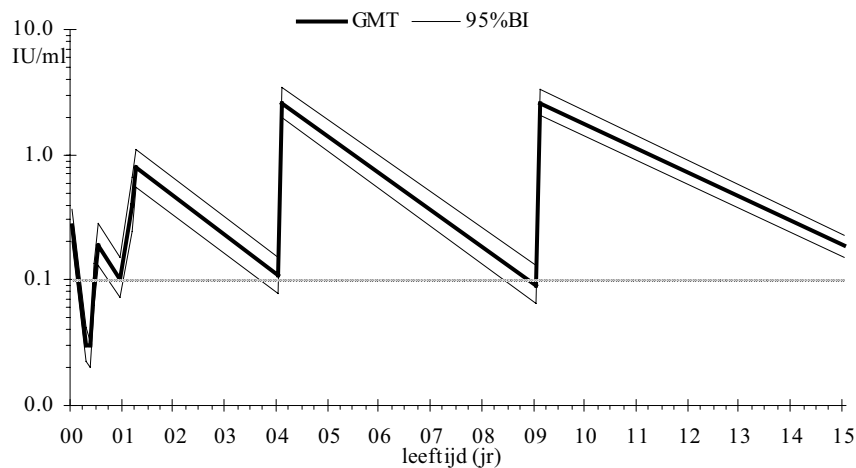
Afn.	Leeftijd	N	GMT (IU/ml)	[95%BI]	% Besch.	% Marg. besch.	% On-besch.
1	0 mnd	110	0,27	[0,20 - 0,37]	76	14	10
2	3 mnd	81	0,03	[0,02 - 0,04]	25	21	54
3	4 mnd	79	0,03	[0,02 - 0,03]	14	35	51
4	5 mnd	77	0,09	[0,06 - 0,13]	51	27	22
5	6 mnd	73	0,19	[0,13 - 0,28]	64	26	10
6	11 mnd	69	0,10	[0,07 - 0,15]	51	30	19
7	14 mnd	56	0,40	[0,25 - 0,66]	75	18	7
8	15 mnd	74	0,79	[0,55 - 1,12]	92	7	1
9	4 jr	64	0,11	[0,08 - 0,15]	53	38	9
10	4jr + 1 mnd	58	2,59	[1,95 - 3,44]	100	0	0
11	9 jr	105	0,09	[0,06 - 0,13]	54	13	32
12	9jr + 1 mnd	109	2,61	[2,08 - 3,28]	99	1	0
13	15 jr	116	0,19	[0,15 - 0,23]	74	25	1

Voor een duidelijk beeld van de antistofontwikkeling tijdens de primaire serie is het verloop tot 4-jarige leeftijd weergegeven in figuur 1A. De totale antistofontwikkeling tot 15-jarige leeftijd is weergegeven in figuur 1B en de verdeling in beschermend, marginaal beschermend en onbeschermend niveau in figuur 1C. In eerste instantie wordt een afname gezien van het niveau van de maternale antistoffen. Vanaf de leeftijd van 4 maanden, dus na twee DKTP-vaccinaties, wordt een stijging van het antistofniveau gevonden. Op de leeftijd 6 maanden is het niveau nog verder gestegen. Op de leeftijd van 11 maanden, dus vlak voor DKTP4, is het niveau iets gedaald, maar het stijgt weer na vaccinatie (14-15 mnd). Het difterie antistofniveau gemeten vlak voor de revaccinatie op 4 en 9 jaar is afgenomen tot het niveau van 11 maanden, maar het stijgt weer na vaccinatie.

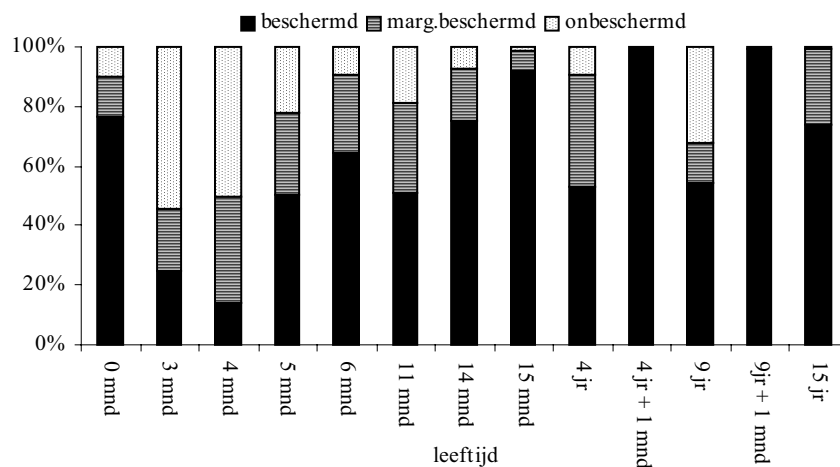
Ruim 70% van de pasgeborenen heeft op grond van maternale antistoffen een beschermende titer en 14% heeft een marginale titer. In eerste instantie neemt het percentage kinderen met antistoffen op beschermend niveau af in de tijd, terwijl ruim 70% na de 4e vaccinatie weer op of boven het beschermende niveau zit. Eén maand na de revaccinaties op 4 en 9 jarige leeftijd zijn voor alle kinderen de antistoffen boven het beschermend niveau gemeten, met uitzondering van één kind met een difterie antistofniveau van 0,09 IU/ml na DTP6. Deze jongen had voor deze vaccinatie een titer van 0,06 IU/ml en reageert dus zeer matig op revaccinatie. In 1997 is zijn antistofniveau gedaald tot 0,02 IU/ml. Bij de laatste antistofbepaling in 1997 zaten in het totaal 30 kinderen (26%) onder het beschermende niveau. Deze kinderen is op vrijwillige basis een extra DTP-vaccin aangeboden, waarbij twee keer bloed werd afgenomen (nl. 7 en 28 dagen na vaccinatie). In het totaal zijn 19 van de 30 kinderen gevaccineerd. Van één kind is echter alleen een bloedmonster van 28 dagen na vaccinatie ontvangen. Na 7 dagen hadden 15 kinderen (83%) een difterie titer $\geq 0,1$ IU/ml, terwijl dit na 28 dagen bij iedereen het geval was. Een titerstijging ≥ 4 waarbij de antistoffen boven het beschermende niveau stijgen, werd na 7 dagen gemeten voor 14 kinderen (74%) en na 28 dagen voor alle kinderen.



Figuur 1A. Antistofverloop difterie tot 4-jarige leeftijd



Figuur 1B. Antistofverloop difterie tot 15-jarige leeftijd

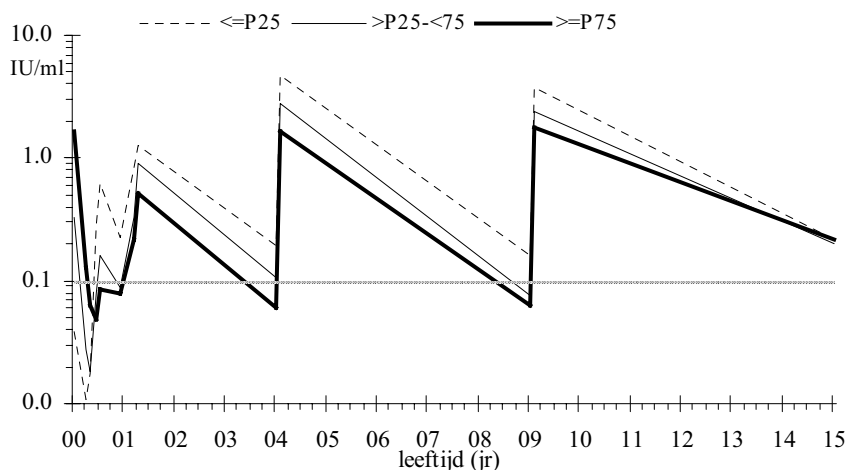


Figuur 1C. Verdeling difterie antistofniveaus

Om de invloed van maternale antistoffen op de ontwikkeling van het difterie antistofniveau te bepalen, zijn de kinderen op grond van het niveau vlak na de geboorte (d.w.z. in het eerste bloedmonster) ingedeeld in drie groepen:

- laag: $\leq P25$: $\leq 0,13$ IU/ml
- midden: $>P25 - < 75$: $>0,13 - < 1,0$ IU/ml
- hoog: $\geq P75$: $\geq 1,0$ IU/ml

Voor deze drie groepen is het antistofverloop bepaald en weergegeven in figuur 1D.



Figuur 1D. Antistofverloop difterie o.g.v. antistofniveau voor 1^e vaccinatie

Met Anova is per afname gekeken of een significant verschil tussen de drie groepen bestaat. Voor de eerste vaccinatie (0 en 3 mnd) wordt uiteraard een significant verschil tussen de drie groepen ($P75 > P25-75 > P25$) gevonden. Een maand na DKTP1 is het antistofniveau in groep P75 nog significant hoger dan in de groepen P25 en P25-75, die op hetzelfde niveau liggen. Echter na DKTP2 en DKTP3 (5 en 6 mnd) is het niveau in de P25 groep significant hoger dan dat in de P25-75 en P75 groep. Vanaf 11 maanden bestaat er geen statistisch significant verschil meer tussen de antistofniveaus in de drie groepen. Kinderen met lagere maternale antistofniveaus reageren op vaccinatie dus in eerste instantie met een hogere antistofniveau, maar dit verschil is na drie vaccinaties vrijwel verdwenen. Een vergelijkbaar resultaat wordt gevonden voor de percentages kinderen met antistoffen op beschermend niveau; aanvankelijk zijn de percentages beschermden het hoogst voor kinderen met een lage maternale antistoftiter, maar vanaf de leeftijd 14 maanden is dit verschil verdwenen.

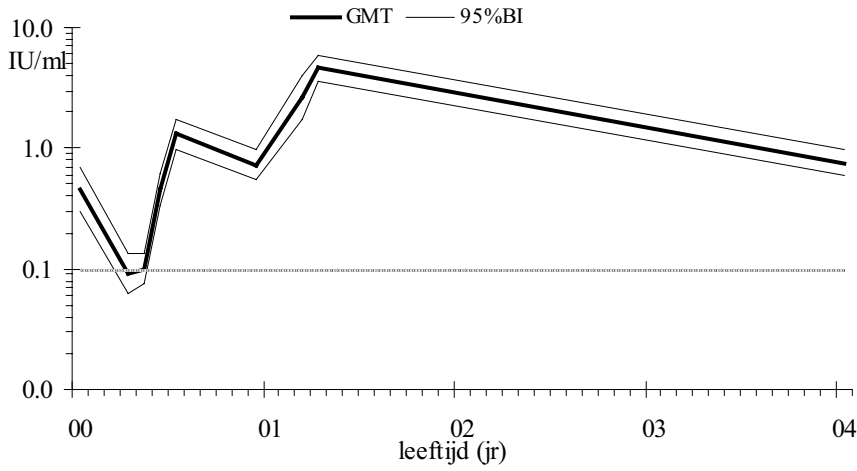
3.2.2 Tetanus

Tabel 5 toont de geometrisch gemiddelde tetanus antistoftiters per bloedafname. Bij geen van de afnames werd een significant verschil tussen jongens en meisjes gevonden met betrekking tot de hoogte van de GMT. Deze tabel toont ook de percentages deelnemers met antistoffen op beschermend ($\geq 0,1$ IU/ml), marginaal beschermend ($>0,01$ IU/ml maar $< 0,1$ IU/ml) en onbeschermend niveau ($\leq 0,01$ IU/ml).

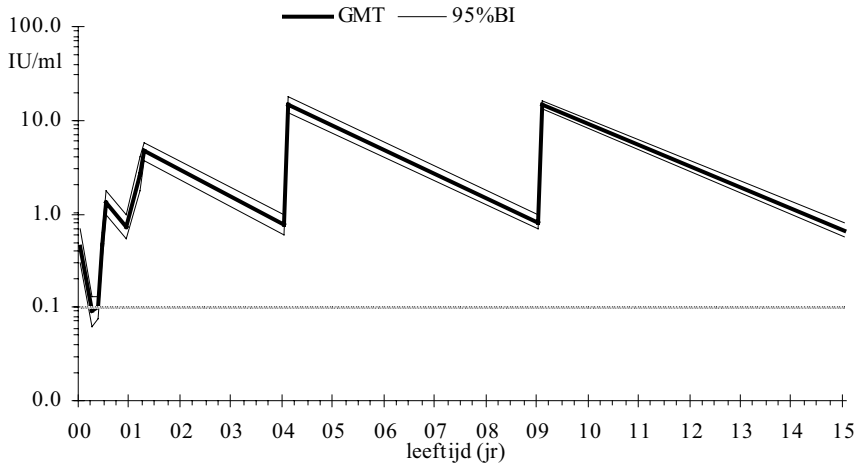
Tabel 5. *Tetanus antistoffen*

Afn.	Leeftijd	N	GMT (IU/ml)	[95%BI]	% Besch.	% Marg. besch.	% Onbesch.
1	0 mnd	110	0,45	[0,29 - 0,70]	76	5	19
2	3 mnd	81	0,09	[0,06 - 0,13]	51	19	30
3	4 mnd	79	0,10	[0,08 - 0,13]	53	36	11
4	5 mnd	77	0,46	[0,33 - 0,63]	91	8	1
5	6 mnd	73	1,31	[0,99 - 1,73]	99	1	0
6	11 mnd	69	0,73	[0,55 - 0,97]	97	3	0
7	14 mnd	56	2,65	[1,73 - 4,04]	95	5	0
8	15 mnd	74	4,61	[3,61 - 5,89]	100	0	0
9	4 jr	64	0,76	[0,60 - 0,97]	98	2	0
10	4jr + 1 mnd	58	14,55	[12,11 - 17,49]	100	0	0
11	9 jr	105	0,82	[0,67 - 0,99]	96	3	1
12	9jr + 1 mnd	109	14,72	[13,54 - 15,99]	100	0	0
13	15 jr	117	0,67	[0,57 - 0,80]	98	2	0

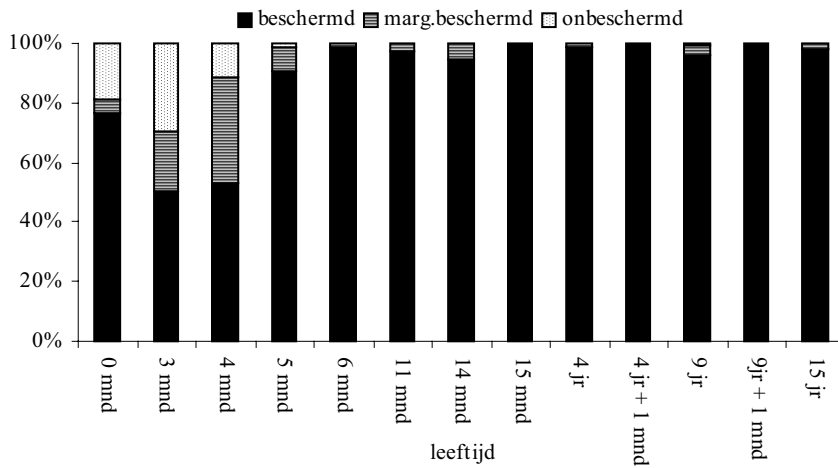
Het verloop van de antistoffen over 4 en 15 jaar is weergegeven resp. in figuur 2A en 2B. De verdeling van tetanus antistoffen in beschermend, marginaal beschermend en onbeschermend niveau is weergegeven in figuur 2C. Voor tetanus wordt globaal hetzelfde antistofverloop gevonden als voor difterie, hoewel de antistofniveaus hoger zijn. Na de revaccinaties op 11 maanden, 4 en 9 jaar is een goede boosterrespons te zien, gevolgd door een daling van de antistofniveaus. Ondanks deze daling blijven de antistoffen na de revaccinaties op een hoger niveau dan voor die tijd. De percentages kinderen met antistoffen tegen tetanus op beschermend niveau zijn hoger dan die tegen difterie. Ruim 70% van de pasgeborenen heeft op grond van maternale antistoffen een beschermende titer, terwijl 19% op een onbeschermend niveau zit. Vanaf de leeftijd van 5 maanden heeft ruim 90% van de kinderen antistoffen boven beschermend niveau en na de revaccinatie op 4- en 9-jarige leeftijd is dit het geval voor alle kinderen. Bij de laatste afname in 1997 hebben twee kinderen een marginaal beschermende titer, terwijl de rest boven beschermend niveau zit. Deze twee kinderen is op vrijwillige basis een extra DTP-vaccin aangeboden, waarop zij reageerden met een minimaal twintigvoudige titerstijging tot ruim boven het beschermend niveau.



Figuur 2A. Antistofverloop tetanus tot 4-jarige leeftijd



Figuur 2B. Antistofverloop tetanus tot 15-jarige leeftijd

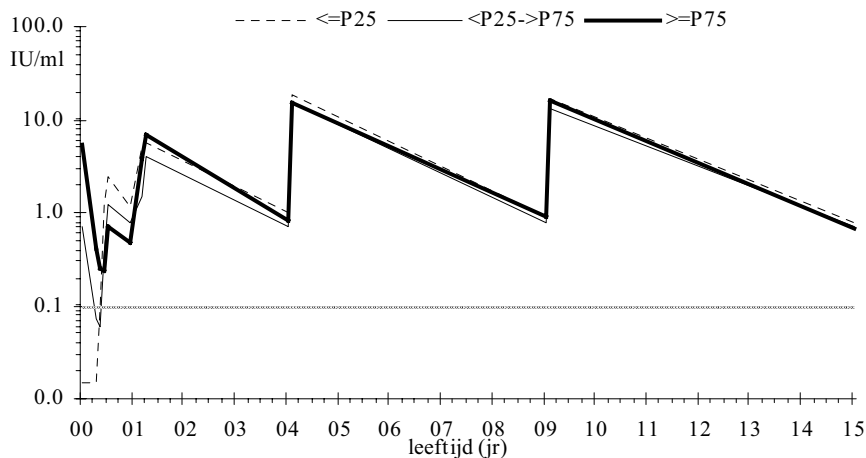


Figuur 2C. Verdeling tetanus antistofniveaus

Om de invloed van het maternale antistofniveau op het ontwikkelen van tetanus antistoffen te bepalen, zijn de kinderen op grond van de tetanus antistoftiter vlak na de geboorte (bloedafname 1) ingedeeld in drie groepen:

- laag: $\leq P25$: $\leq 0,13$
- midden: $> P25 - <75$: $> 0,13 - <2,8$
- hoog: $\geq P75$: $\geq 2,8$

Voor deze drie groepen is het antistofverloop bepaald en dit is weergegeven in figuur 2D.



Figuur 2D. Antistofverloop tetanus o.g.v. antistofniveau voor 1^e vaccinatie

Per afname is met Anova gekeken of een significant verschil tussen de drie groepen bestaat. Net als bij difterie wordt voor de eerste vaccinatie (0 en 3 mnd) een significant verschil tussen de 3 groepen ($P75 > P25-75 > P25$) gevonden. Een maand na DKTP1 is het antistofniveau in groep P75 nog significant hoger dan die in de groepen P25, terwijl tussen de andere groepen geen verschil wordt gevonden.

Na DKTP2 (5 mnd) is echter het antistofniveau in de P25 groep significant hoger dan dat in de P25-75 en P75 groep, terwijl daarna de niveaus in de drie groepen hetzelfde zijn. Kinderen met een lagere maternale antistoftiter reageren dus aanvankelijk op vaccinatie met een hoog antistofniveau, dit verschil is echter snel weer verdwenen. Ondanks de verschillen in antistofniveaus zijn de percentages beschermenden in de drie groepen vrijwel gelijk.

3.2.3 Polio

Tabel 6A, 6B en 6C tonen de GMT's voor de resp. polio type 1, 2 en 3 per bloedafname. Bovendien is het percentage deelnemers met een beschermende titer ($\geq 1/8$) weergegeven.

Tabel 6A. Polio type 1 antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (titer)	[95%BI]	%Beschermd
1	0 mnd	124	162	[110 - 239]	92
2	3 mnd	105	29	[20 - 41]	85
3	4 mnd	112	30	[23 - 40]	91
4	5 mnd	126	113	[79 - 160]	95
5	6 mnd	115	428	[300 - 609]	97
6	11 mnd	84	118	[79 - 176]	95
7	14 mnd	106	861	[580 - 1287]	96
8	15 mnd	114	1342	[1003 - 1808]	100
9	4 jr	96	465	[352 - 617]	100
10	4jr + 1 mnd	100	5367	[4545 - 6339]	100
11	9 jr	97	1978	[1489 - 2610]	100
12	9jr + 1 mnd	102	7281	[6747 - 7913]	100
13	15 jr	117	592	[488 - 719]	100

N.B. Bij afname 11 was de GMT voor meisjes significant hoger dan die voor jongens
 $GMT_{\sigma}=1370$ en $GMT_{\varphi}=3019$; $p=0,005$ (independent sample t-test)

Tabel 6B. Polio type 2 antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (titer)	[95%BI]	%Beschermd
1	0 mnd	120	167	[111 - 247]	95
2	3 mnd	108	28	[19 - 41]	82
3	4 mnd	107	20	[14 - 27]	79
4	5 mnd	118	67	[46 - 99]	90
5	6 mnd	115	155	[108 - 224]	96
6	11 mnd	82	38	[24 - 60]	82
7	14 mnd	106	343	[217 - 545]	93
8	15 mnd	112	676	[481 - 949]	100
9	4 jr	93	170	[122 - 236]	98
10	4jr + 1 mnd	101	2998	[2385 - 3795]	100
11	9 jr	97	885	[653 - 1201]	100
12	9jr + 1 mnd	102	6654	[5914 - 7434]	100
13	15 jr	117	304	[246 - 375]	100

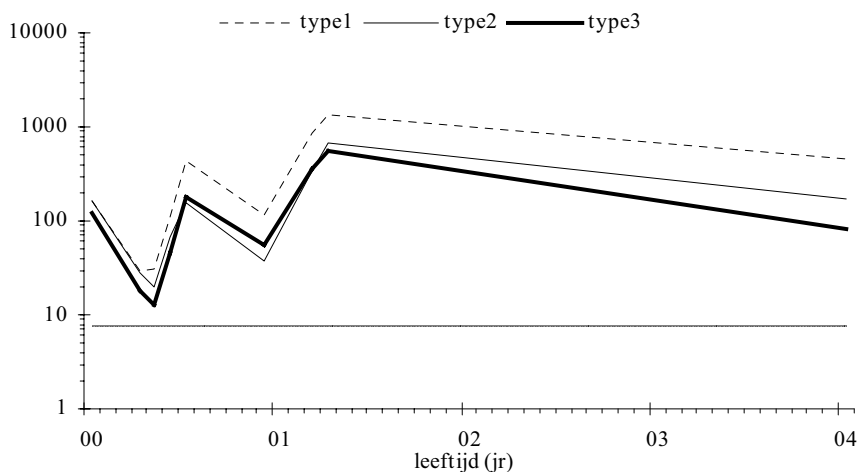
N.B. Bij afname 6 en 11 was de GMT voor meisjes significant hoger dan die voor jongens
 afn6: $GMT_{\sigma}=23$ en $GMT_{\varphi}=68$; $p=0,02$
 afn11: $GMT_{\sigma}=653$ en $GMT_{\varphi}=1269$; $p=0,03$
 (independent sample t-test)

Tabel 6C. Polio type 3 antistoffen

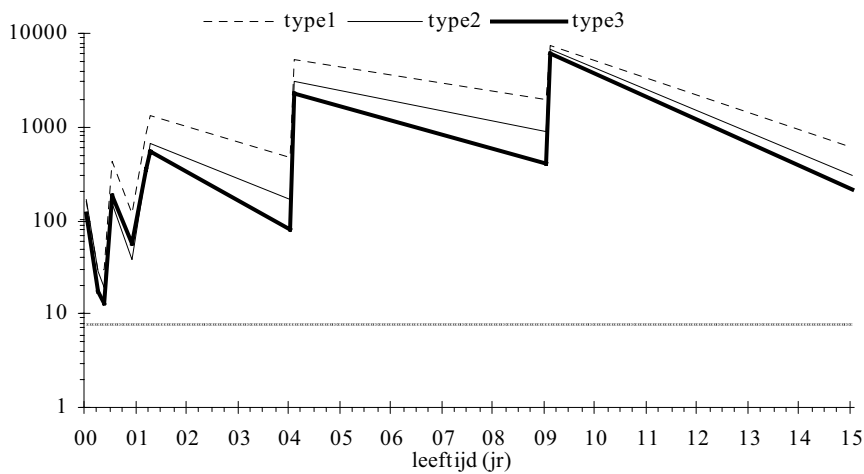
Afname	Leeftijd	N	GMT (titer)	[95%BI]	%Beschermd
1	0 mnd	121	119	[77 - 186]	88
2	3 mnd	108	18	[12 - 25]	74
3	4 mnd	104	13	[9 - 19]	64
4	5 mnd	120	46	[32 - 64]	88
5	6 mnd	117	182	[123 - 272]	94
6	11 mnd	76	56	[35 - 89]	88
7	14 mnd	103	352	[217 - 568]	91
8	15 mnd	112	560	[391 - 798]	98
9	4 jr	90	81	[57 - 116]	94
10	4jr + 1 mnd	97	2241	[1722 - 2937]	100
11	9 jr	97	399	[265 - 600]	99
12	9jr + 1 mnd	102	6081	[5221 - 7082]	100
13	15 jr	117	214	[167 - 276]	100

Figuur 3A en 3B tonen het verloop van de GMT's voor de drie typen polio over 4 en 15 jaar en figuur 3C de percentages deelnemers met een beschermende titer.

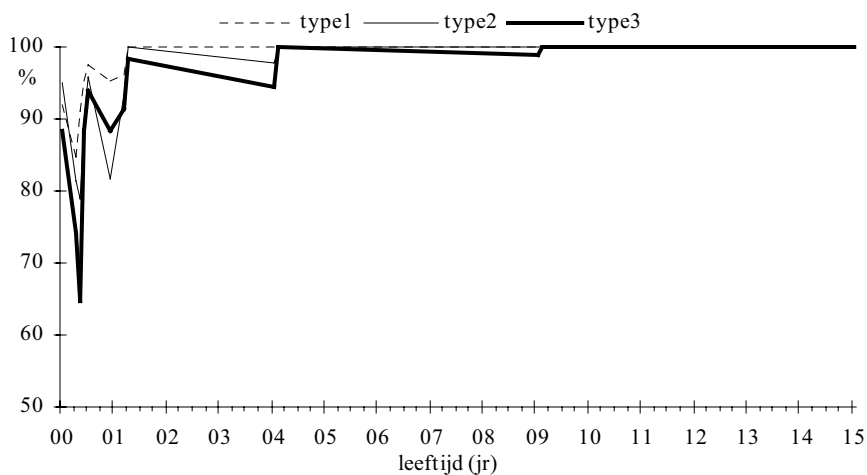
De poliotiters gemeten op de leeftijd van 3 of 4 maanden zijn lager dan die gemeten vlak na de geboorte. Na de eerste vaccinatie wordt voor polio type 1 al een titerstijging gemeten en na de tweede is dit ook het geval voor type 2 en 3. Over het algemeen is de polio type 1 antistoftiter het hoogst en type 3 titer het laagst, maar wel ruim boven het beschermende niveau. Vanaf de leeftijd 15 maanden heeft ruim 90% van de kinderen een titer boven het beschermende niveau. Na de revaccinatie op 4-jarige leeftijd is dit het geval voor vrijwel alle kinderen. Slechts één kind heeft op 9-jarige leeftijd een onbeschermende polio type 3 antistoftiter (1:4). Dit kind toont echter wel een uitstekende boosterrespons één maand na DTP6 (9jr + 1mnd) en heeft in op 16-jarige leeftijd (1997) een titer van 1:8.



Figuur 3A. Titerverloop polio tot 4-jarige leeftijd



Figuur 3B. Titerverloop polio tot 15-jarige leeftijd

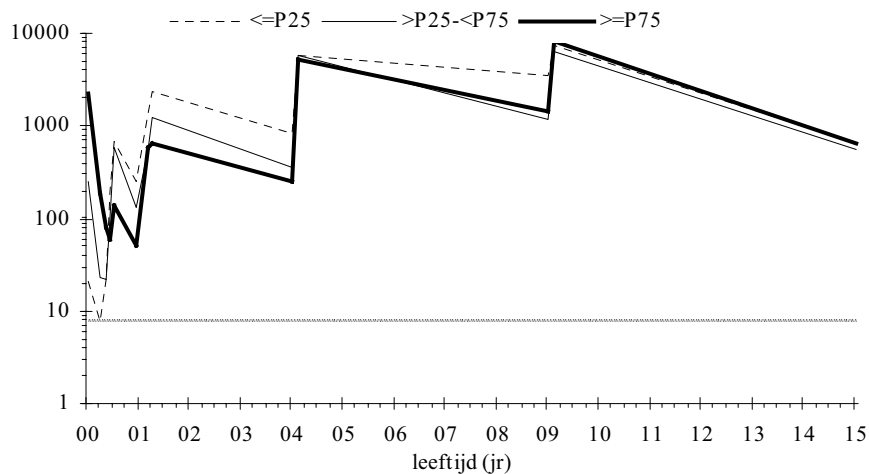


Figuur 3C. Percentages deelnemers met beschermende polio titers

De invloed van de maternale antistoftiter op de antistoftiter is bepaald door de kinderen in te delen in drie groepen (P25, P25-75 en P75).

	laag $\leq P25$	midden $> P25 - < P75$	hoog $\geq P75$
Type 1:	≤ 64	$> 64 - < 1024$	≥ 1024
Type 2:	≤ 32	$> 32 - < 512$	≥ 512
Type 3:	≤ 16	$> 16 - < 512$	≥ 512

Voor polio werd een vergelijkbaar verloop gevonden als voor difterie en tetanus (figuur 3D).



Figuur 3D. Titerverloop polio type 1 o.g.v. antistofniveau voor 1^e vaccinatie

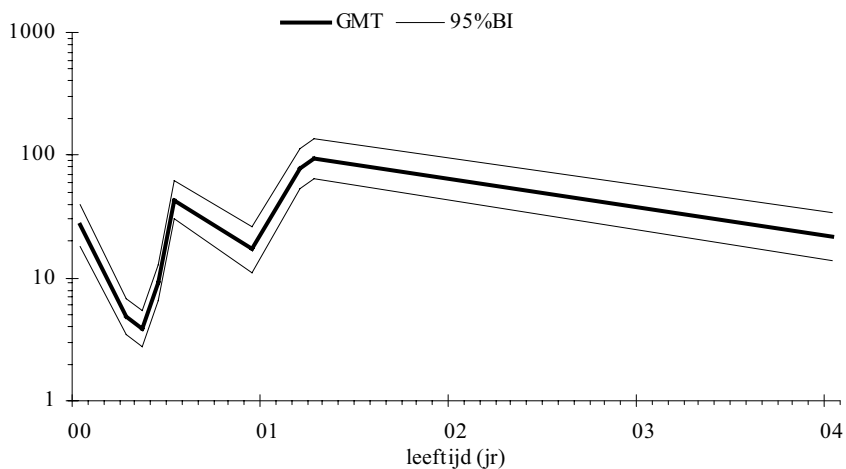
Na de DKTP-vaccinaties (afname 4, 5, 6 en 8) blijft de polio type 1 antistoftiter in de P25 groep significant hoger dan die in de groep P75 en soms ook hoger dan die in de P25-75 groep. Bovendien is de titer vóór de revaccinaties op 4- en 9-jarige leeftijd in de P25 groep minder ver gezakt dan in de andere twee groepen. Voor polio type 2 werden, ondanks de verschillen in pré titers tussen de drie groepen, geen relevante verschillen gevonden in antistofontwikkeling. Ook voor polio type 3 was de antistofontwikkeling vergelijkbaar. De hoogte van de maternale antistoftiter heeft dus een verwaarloosbaar effect op de uiteindelijke ontwikkeling van antistoffen.

3.2.4 Kinkhoest

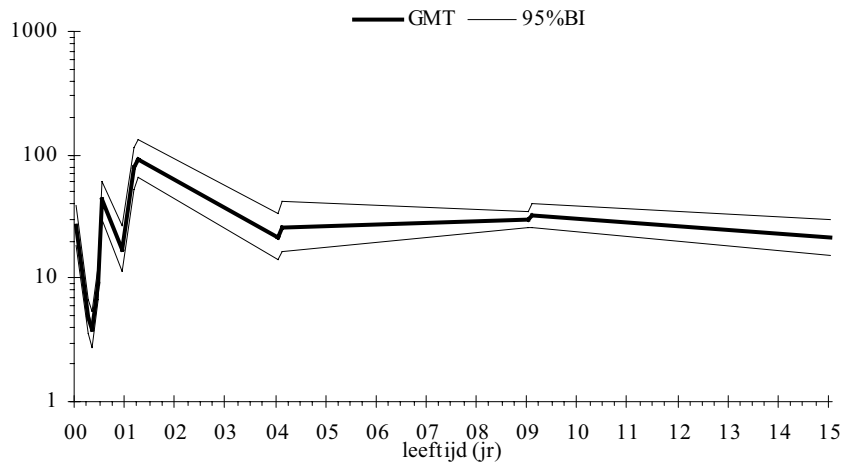
De geometrisch gemiddelde kinkhoest agglutinatietiters per bloedafname zijn weergegeven in tabel 7 en het verloop tot 4 en 15 jarige leeftijd in figuur 4A en 4B.

Tabel 7. Kinkhoest agglutinatie antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (titer)	[95%BI]
1	0 mnd	123	27	[18 - 39]
2	3 mnd	128	5	[4 - 7]
3	4 mnd	125	4	[3 - 5]
4	5 mnd	125	9	[7 - 13]
5	6 mnd	115	43	[30 - 61]
6	11 mnd	88	17	[11 - 26]
7	14 mnd	108	78	[53 - 114]
8	15 mnd	113	93	[65 - 134]
9	4 jr	105	22	[14 - 34]
10	4jr + 1 mnd	102	26	[16 - 42]
11	9 jr	105	30	[26 - 35]
12	9jr + 1 mnd	109	32	[26 - 40]
13	15 jr	117	21	[15 - 30]



Figuur 4A. Agglutinatie antistofverloop kinkhoest tot 4-jarige leeftijd



Figuur 4B. Agglutinatie antistofverloop kinkhoest tot 15-jarige leeftijd

Bij de aanvang van de studie wordt een vrij hoog niveau van maternale antistoffen gevonden, waarna vervolgens een snelle afname wordt gezien. Vanaf de leeftijd 4 maanden beginnen het antistofniveau als gevolg van vaccinaties langzaam te stijgen. Vóór de vierde DKTP-vaccinatie is het niveau gedaald tot dat van de maternale antistoffen. Vanaf 4 jaar stijgt van het niveau weer iets zonder dat gevaccineerd wordt.

3.2.5 Mazelen – haemagglutinatie remmingstest

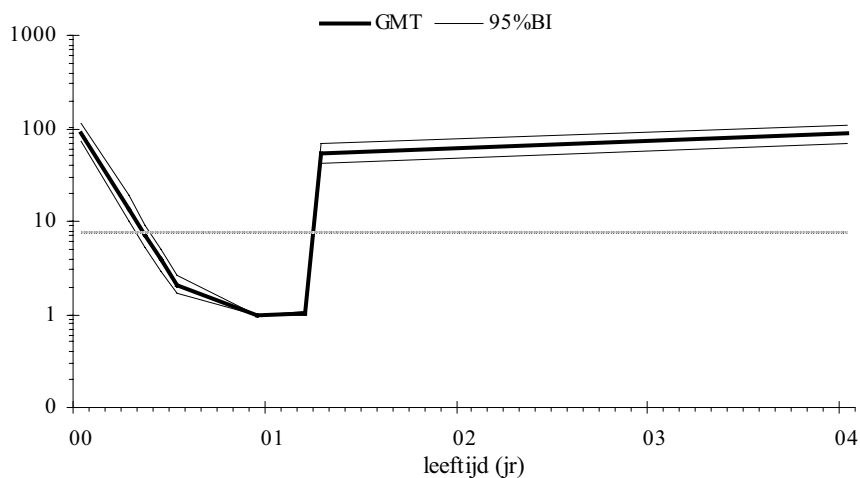
Tabel 8 toont de geometrisch gemiddelde mazelen antistoftiters per bloedafname bepaald m.b.v. de haemagglutinatie remmingstest (HAR). Bovendien zijn de percentages deelnemers weergegeven waarvan aangenomen wordt dat zij een beschermende titer ($\geq 1/8$) hebben.

Tabel 8. *Mazelen HAR antistoffen*

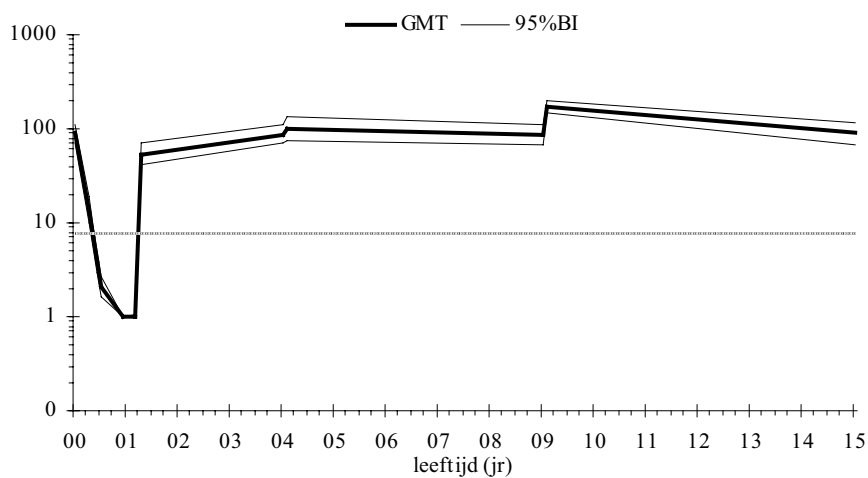
Afname	Leeftijd	N	GMT (titer)	[95%BI]	%Beschermd
1	0 mnd	124	89	[71 - 113]	99
2	3 mnd	96	14	[10 - 19]	78
3	4 mnd	100	7,0	[5,3 - 9,3]	68
4	5 mnd	98	3,9	[3,0 - 5,1]	51
5	6 mnd	96	2,1	[1,7 - 2,7]	28
6	11 mnd	86	1,0	- -	0
7	14 mnd	109	1,0	[1,0 - 1,1]	1
8	15 mnd	118	54	[42 - 70]	92
9	4 jr	108	87	[70 - 109]	98
10	4jr + 1 mnd	102	100	[76 - 132]	98
11	9 jr	106	87	[68 - 109]	96
12	9jr + 1 mnd	110	172	[150 - 198]	100
13	15 jr	117	89	[69 - 114]	93

Het titerverloop is weergegeven in figuur 5A en 5B en het percentage deelnemers met een als beschermend beschouwde titer in figuur 5C.

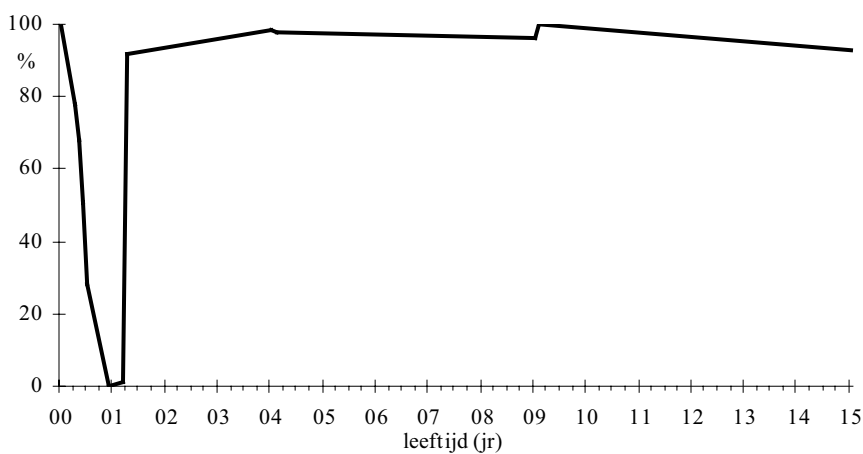
De maternale antistoffen dalen vrij snel na de geboorte, waardoor het aantal kinderen met een beschermende titer afneemt. Vanaf 11 maanden hebben alle kinderen een titer onder het beschermende niveau. Na de mazelenvaccinatie op 14 maanden stijgt de titer en na een maand wordt voor ruim 90% van de kinderen een titer boven het beschermende niveau gemeten. Bij tien kinderen wordt één maand na vaccinatie nog een onbeschermende titer gemeten. Hun is enkele maanden later een tweede mazelenvaccinatie aangeboden. Op 4-jarige leeftijd is bij zes van deze tien een antistoftiter boven het beschermende niveau gemeten, terwijl voor twee kinderen geen titer bepaald kon worden omdat afname 9 en 10 ontbraken. De andere twee kinderen houden een te lage titer tot het moment waarop ze weer gevaccineerd worden op 9-jarige leeftijd. Na deze BMR-vaccinatie stijgt de titer, waardoor een maand na vaccinatie alle kinderen een als beschermend beschouwde titer hebben. Bij de laatste meting in 1997 is de titer voor acht kinderen weer onder het niveau van 1/8 gedaald. Eén van de kinderen, die tot 9-jarige leeftijd een titer onder het als beschermend beschouwde niveau hadden, heeft ook in het laatste monster weer een titer onder dit niveau.



Figuur 5A. Titerverloop mazelen HAR tot 4-jarige leeftijd



Figuur 5B. Titerverloop mazelen HAR tot 15-jarige leeftijd

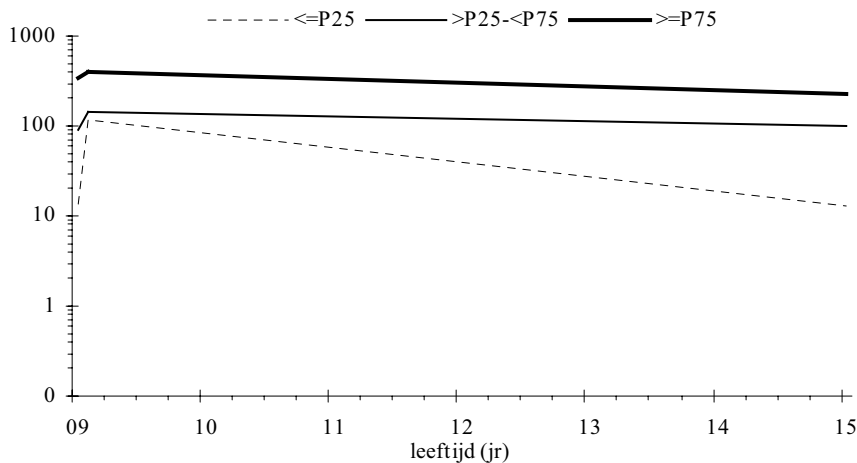


Figuur 5C. Percentage met een beschermende mazelen HAR titers

Om de invloed van een pré titer op vaccinatie met BMR te bepalen, zijn de deelnemers op grond van hun titer in afname 11 (9-jarige leeftijd) ingedeeld in drie groepen:

- laag: $\leq P25$: $\leq 1/32$
- midden: $> P25 - < 75$: $> 1/32 - < 1/256$
- hoog: $\geq P75$: $\geq 1/256$.

Het verloop van de titers is weergegeven in figuur 5D. Kinderen met een lage pré titer reageren met een sterke titerstijging op vaccinatie, terwijl kinderen met een hoge pré titer vrijwel niet reageren. Opvallend is dat de meeste kinderen circa 6 jaar na vaccinatie op vrijwel hetzelfde niveau zitten als voor de BMR-vaccinatie. Een snelle titerstijging lijkt dus gepaard te gaan met een sterkere titerdaling.



Figuur 5D. Titerverloop mazelen HAR o.g.v. antistofniveau voor vaccinatie

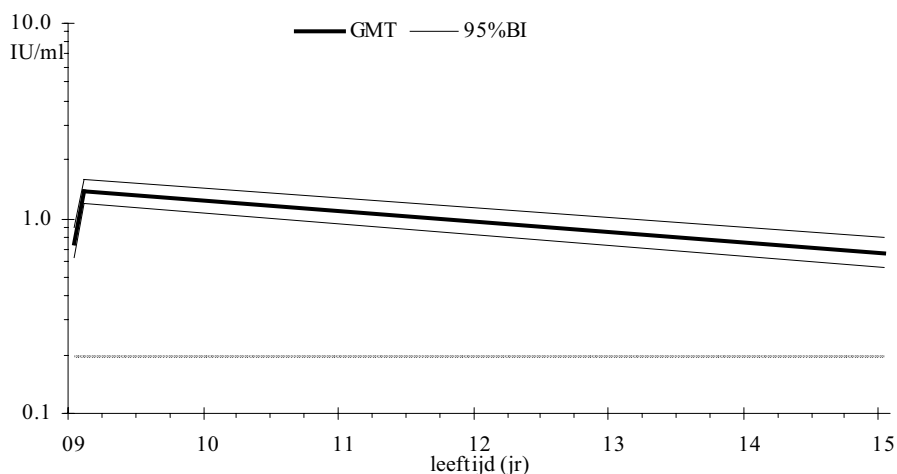
3.2.6 Mazelen – ELISA

Naast de haemagglutinatie remmingstest is ook een indirecte ELISA gebruikt voor het bepalen van mazelen antistoffen voor afname 11, 12 en 13.

In tabel 9 zijn de geometrisch gemiddelde mazelen antistoftiters en het percentage deelnemers met een beschermende titer ($> 0,20$ IU/ml) weergegeven. Het antistofverloop is weergegeven in figuur 6.

Tabel 9. Mazelen ELISA antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (IU/ml)	[95%BI]	%Beschermd
11	9 jr	103	0,75	[0,63 - 0,90]	97
12	9jr + 1 mnd	109	1,38	[1,19 - 1,60]	100
13	15 jr	117	0,67	[0,56 - 0,79]	91



Figuur 6. Antistofverloop mazelen ELISA

De GMT op 9-jarige leeftijd is ruim boven het beschermende niveau. Als gevolg van de vaccinatie op 14 maanden of natuurlijke infecties hebben op drie na alle kinderen antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau. Eén maand na de BMR-vaccinatie (afn. 12) is het niveau gestegen zodat alle kinderen boven dit niveau zitten. Ook de drie nog onbeschermden reageren goed op vaccinatie. Twee van hen hebben in 1997 (ca. 15-jarige leeftijd) nog steeds antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau. Over het algemeen is het niveau in afname 13 iets lager dan in afname 11, maar nog steeds ruim boven de als beschermend beschouwde grens. De acht kinderen die in 1997 (afn. 13) een zogenaamde onbeschermden HAR-titer hadden, hebben ook ELISA-antistoffen onder het beschermende niveau. Zij hadden echter wel allen gereageerd met een antistofstijging op de BMR-vaccinatie. De invloed van de pré titer op het ELISA-antistofniveau gemeten na vaccinatie was vergelijkbaar met die op de HAR-titer; hoge respons bij laag pré niveau en een aanzienlijk lagere respons bij hoog pré niveau. Bovendien is de daling van de ELISA-antistoffen sterker in de groep met een hoge respons.

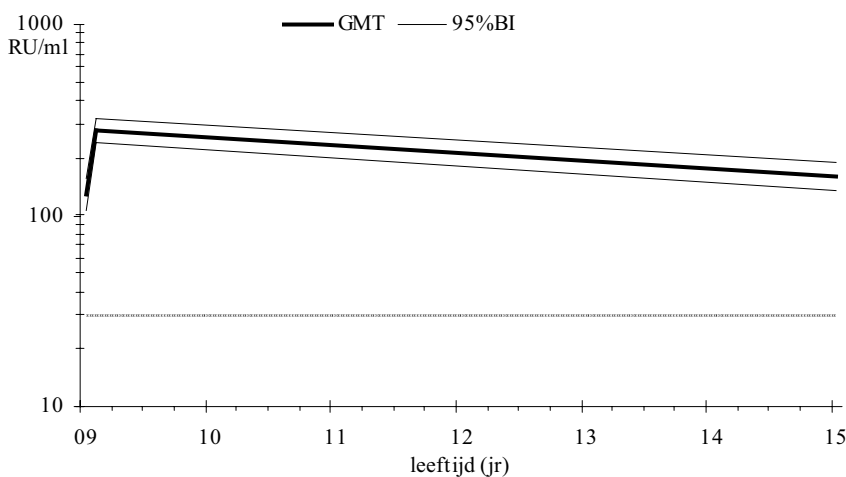
3.2.7 Bof - ELISA

Bof antistoffen zijn bepaald vlak voor en na de BMR-vaccinatie (afnames 11, 12 en 13). Tabel 10 toont de geometrisch gemiddelde bof antistoftiters en het percentage deelnemers met antistoffen boven het positieve niveau (≥ 40 RU/ml). Het antistofverloop is weergegeven in figuur 7.

Tabel 10. Bof ELISA antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (RU/ml)	[95%BI]	%Beschermd
11	9 jr	105	129	[106 - 157]	85
12	9jr + 1 mnd	109	280	[242 - 325]	98
13	15 jr	117	160	[136 - 188]	94

N.B. Bij afname 11 en 13 was de GMT voor meisjes significant hoger dan die voor jongens
 GMT $_{\text{♂}}$ =105 en GMT $_{\text{♀}}$ =162; p=0,03 (independent sample t-test)
 GMT $_{\text{♂}}$ =132 en GMT $_{\text{♀}}$ =191; p=0,04 (independent sample t-test)



Figuur 7. Antistofverloop bof ELISA

De GMT op 9-jarige leeftijd is ruim boven het als beschermende beschouwde niveau, dit kan alleen het gevolg zijn van natuurlijke immuniteit omdat de kinderen nog niet eerder tegen bof ingeënt waren. 89% van de kinderen heeft op dat moment antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau. Een maand na vaccinatie stijgt de GMT, nog één meisje zit dan op het zogenaamde onbeschermende niveau (21 RU/ml). Op 15-jarige leeftijd zit zij echter wel boven de beschermende grens. Bij de laatste bloedafname in 1997 is de GMT hoger dan bij de elfde afname. Drie jongens en één meisje zitten op dat moment onder de beschouwde grens van bescherming. Zij hadden op 9-jarige leeftijd ook antistoffen onder het beschermende niveau, maar reageerden op de BMR-vaccinatie wel met een sterke antistofstijging.

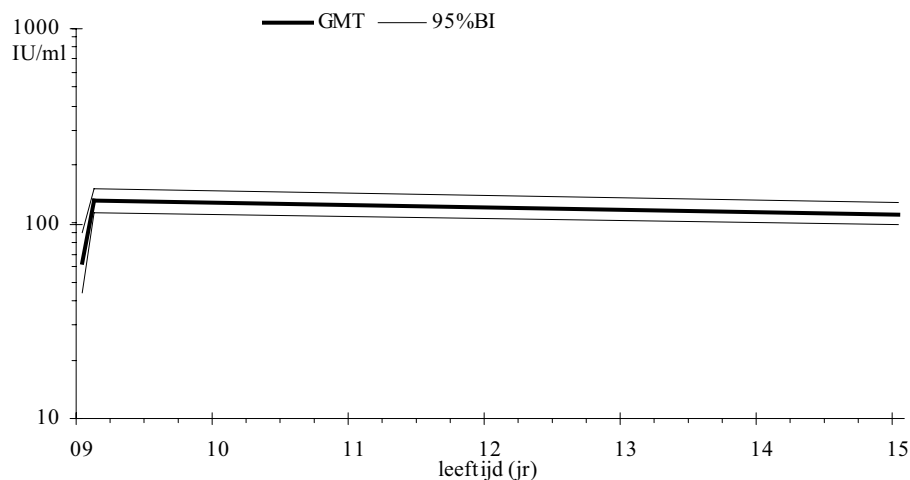
De respons op vaccinatie is gerelateerd aan de hoogte van de pré titer: hogere respons bij lager pré titer niveau. Daarnaast gaat de snelle antistofstijging na vaccinatie gepaard met een sterkere daling in de loop van de tijd.

3.2.8 Rubella ELISA

Net als antistoffen tegen bof zijn die tegen rubella ook vlak voor en na de BMR-vaccinatie bepaald. Tabel 11 toont de geometrisch gemiddelde rubella antistoftiters en percentages deelnemers met antistoffen boven het beschermend niveau (≥ 10 IU/ml), en figuur 8 toont antistofverloop.

Tabel 11. Rubella ELISA antistoffen

Afname	Leeftijd	N	GMT (IU/ml)	[95%BI]	%Beschermd
11	9 jr	105	64	[45 - 90]	75
12	9jr + 1 mnd	109	130	[113 - 150]	100
13	15 jr	117	112	[98 - 127]	99



Figuur 8. Antistofverloop rubella ELISA

Voor de BMR-vaccinatie heeft 75% van de kinderen reeds antistoffen boven de als beschermend beschouwde grens. Een maand na vaccinatie is dit het geval voor alle kinderen. Bij de laatste bloedafname heeft één kind antistoffen onder < 10 IU/ml (nl. 6 IU/ml). Van deze jongen ontbreken echter bloedafname 11 en 12, waardoor het niet mogelijk is zijn reactie op vaccinatie vast te stellen. De GMT in afname 13 is bijna twee keer zo hoog als die voor vaccinatie. Deze stijging wordt met name veroorzaakt door kinderen met een laag pré niveau. Zij reageren zeer goed op vaccinatie en hun antistoffen blijven tot het moment van de laatste bloedafname op een hoog niveau. Kinderen met een hoger pré niveau daarentegen reageren vrijwel niet op vaccinatie en bij de meeste zijn de antistoffen in 1997 gedaald tot onder het niveau van voor vaccinatie.

4. Discussie

Voor zover bekend is dit het enige onderzoek naar de antistofrespons op vaccinaties waarin een populatie kinderen gedurende 15 jaar gevolgd is. Het is mogelijk gebleken een langdurige longitudinale studie met een hoog deelnemersaantal uit te voeren. Hierdoor hebben we een goed beeld gekregen van de ontwikkeling en handhaving van de humorale immuniteit bij kinderen die volgens het RVP zijn gevaccineerd.

4.1 Difterie, tetanus en poliomyelitis

4.1.1 Maternale antistoffen

Tijdens de zwangerschap worden maternale antistoffen actief en specifiek over de placenta getransporteerd, wat resulteert in antistoftiters in navelstrengbloed die variëren van 20% tot 200% van die in het bloed van de moeder. De mate van transport is afhankelijk van een aantal factoren zoals het soort antigeen en de leeftijd van de moeder^(12,14,15). In dit onderzoek is in een onbekend aantal gevallen veneus stolbloed bij de moeder afgenomen in plaats van navelstrengbloed, zodat het antistofniveau gemeten in het eerste bloedmonster niet altijd een goede afspiegeling was van het maternale antistofniveau. Maternale antistoffen spelen gedurende enkele maanden een belangrijke rol bij de bescherming van het pasgeboren kind tegen virale en bacteriële pathogenen. Om die reden worden bijvoorbeeld tijdens epidemieën vaccinaties aangeboden aan zwangere vrouwen^(16,17). Een nadeel van maternale antistoffen is dat zij de respons van het kind op vaccinatie verminderen, waardoor het kind uiteindelijk een lagere antistoftiter heeft en mogelijk eerder vatbaar wordt voor infecties. Dit fenomeen, wat in de literatuur beschreven is voor zowel levende (mazelen)^(18,19,20) als niet levende vaccins (difterie, tetanus, kinkhoest)^(15,16,21,22,23), zou consequenties kunnen hebben voor de vervroeging van het RVP die op 1 april 1999 ingevoerd is. Vanaf dat moment worden DKTP-vaccinaties gegeven op de leeftijd 2, 3, 4 en 11 maanden in plaats van 3, 4, 5 en 11 maanden. Op de leeftijd van 2 maanden zullen de kinderen nog meer maternale antistoffen hebben dan op 3 maanden, waardoor de respons op vaccinatie mogelijk minder is. Booy et al.⁽²²⁾ onderzochten het effect van een vervroegd en versneld vaccinatieschema in Engeland. Zij vonden tijdens de primaire vaccinatieserie een remmend effect van maternale antistoffen tegen het tetanus toxoid en de kinkhoest antigenen PT en fimbriae⁽²²⁾. Vergelijkbare bevindingen zijn in eerdere studies beschreven voor onder andere kinkhoest⁽²⁴⁾, polio⁽²⁵⁾ en difterie⁽²⁶⁾. Het remmende effect is het grootst bij een hoog maternaal antistofniveau, terwijl zuigelingen met een laag maternaal niveau met een sterke antistofstijging op vaccinatie reageren. In een aantal onderzoeken werd aangetoond dat maternale antistoffen alleen interfereren met de respons op de eerste vaccinatie, terwijl de uiteindelijke respons na twee of drie vaccinaties niet wordt beïnvloed^(20,21,23,27,28). De resultaten van difterie en tetanus in deze studie komen hiermee overeen; significant lagere antistofniveaus als gevolg van een hoog maternaal niveau werden alleen waargenomen tijdens de primaire serie. Voor difterie werd vanaf 15 maanden geen significante verschil meer gevonden tussen de groepen, en voor tetanus was dit zelfs al op iets jongere leeftijd het geval. Het remmend effect van maternale antistoffen op de ontwikkeling van antistoffen tegen polio was vrijwel verwaarloosbaar. Het maternale antistofniveau lijkt dus niet van invloed op de uiteindelijke hoogte van het antistofniveau na de primaire vaccinatie serie. Daarnaast is het belangrijk dat dit niveau bovendien vrijwel niet van invloed is op de percentages kinderen met antistoffen boven het beschermende niveau tegen tetanus en polio, terwijl voor difterie alleen een verschil in de mate van bescherming werd gevonden na de eerste vaccinaties. Uit deze resultaten kan geconcludeerd worden dat de invloed van moederlijke antistoffen op de uiteindelijke opbouw van immuniteit verwaarloosbaar is.

4.1.2 Effect van vaccinatie

Na vaccinatie wordt een goede antistofrespons gevonden tegen zowel difterie, tetanus als polio antigenen. De GMT's zijn moeilijk te vergelijken met andere studies door verschillen in gebruikte antistofbepalingen en vaccinsamenstellingen. Ook de percentages beschermden zijn slecht vergelijkbaar omdat in veel studies 0,01 IU/ml als grens van bescherming tegen difterie en tetanus wordt aangehouden.

4.1.2.1 Difterie

De hoogte van de GMT tegen difterie op 0- en 1-jarige leeftijd komt goed overeen met de resultaten gevonden in het Pienterproject⁽²⁹⁾. Hetzelfde geldt voor de percentages deelnemers met antistoffen boven het beschermende niveau. De resultaten op 4- en 9-jarige leeftijd zijn echter moeilijk te vergelijken door verschil in studie opzet. Het Pienterproject is namelijk gericht op seroprevalentie in de Nederlandse bevolking, terwijl onze studie gericht was op vaccinatie effecten. In het Pienterproject zijn de antistoffen verspreid over het gehele jaar bepaald, terwijl in ons onderzoek de antistoffen vlak voor en één maand na iedere vaccinatie gemeten zijn. Zowel de GMT als het percentage beschermden gemeten in de laatste bloedafname (ca. 15-jarige leeftijd) komen wel goed overeen met die gemeten op vergelijkbare leeftijd in het Pienterproject⁽²⁹⁾. De persistentie van difterie antistoffen bij volledig gevaccineerde kinderen lijkt niet erg lang te zijn. Na de zesde vaccinatie wordt een afname van de GMT en een toename van het percentage onbeschermden gevonden; bij de laatste bloedafname in 1997 heeft 26% van de kinderen een onvolledig beschermende titer, waarvan 1% echt onbeschermd is. Ook in andere studies werd na de volledige vaccinatie serie een afname van het difterie antistofniveau gevonden^(29,30,31,32,33,34,35).

In onze studie werd een deel van de kinderen met een onvolledig beschermend antistofniveau op ± 15-jarige leeftijd gerevaccineerd met DTP. Voor iedereen werd een goede secundaire respons ("boosterrespons") gemeten, waarbij 28 dagen na vaccinatie voor allen antistoffen boven het beschermende niveau werden gemeten. Bovendien was voor iedereen sprake van een viervoudige titerstijging. Ondanks de afwezigheid van aantoonbare antistoffen wijst deze boosterrespons en de revaccinaties op 4- en 9-jarige leeftijd op de aanwezigheid van een immunologisch geheugen, ontstaan door de primaire vaccinatie serie.

4.1.2.2 Tetanus

Voor tetanus zijn de GMT's en de percentages beschermenden hoger dan voor difterie, zoals ook beschreven in andere onderzoeken waarbij kinderen met het RIVM D(K)TP-vaccin zijn ingeënt^(5,29,36,37). Voor zover de studies vergelijkbaar zijn, komen de percentages beschermden in onze studie redelijk overeen met die in het Pienterproject⁽⁵⁾. De twee studies verschillen echter wel enigszins met betrekking tot de hoogte van de GMT's. Mogelijk is dit het gevolg van het hierboven reeds genoemde verschil in studie opzet.

Vanaf de leeftijd 11 maanden worden antistofstijgingen na vaccinatie gevolgd door langzame dalingen. Het niveau blijft echter wel hoger dan voor die tijd zodat de GMT na iedere vaccinatie een stijgende lijn vertoont. Deze stijgende lijn werd ook gevonden in het Pienterproject⁽⁵⁾, terwijl voor difterie de antistoffen juist steeds weer dalen tot hetzelfde niveau als vóór vaccinatie. De persistentie voor tetanus antistoffen is goed. Circa zes jaar na DTP6 hebben slechts twee kinderen een marginaal beschermende titer, terwijl de rest van de kinderen boven het beschermende niveau zit. Volgens de literatuur is er sterk epidemiologisch bewijs dat vaccinatie tegen tetanus langdurige bescherming oplevert, ook al dalen de antistofniveaus in de loop van de tijd enigszins^(34,38).

4.1.2.3 Polio

Voor alle drie de typen polio worden zowel hoge GMT's als hoge percentages beschermenden gemeten. De respons tegen polio type 1 is iets beter dan die tegen de typen 2 en 3, wat overeenkomt met andere onderzoeken^(36,39). Voor type 1 wordt al een goede respons gemeten na de eerste vaccinatie, voor de andere typen is dit het geval na de tweede vaccinatie. Nog duidelijker dan voor tetanus wordt in de loop van het RVP-schema een

stijgende lijn van GMT's gevonden. Ondanks een daling na vaccinatie blijft de titer boven het niveau van voor die vaccinatie. In het laatst afgenomen bloedmonster (± 15 jr) is de titer echter gedaald tot onder die op 9-jarige leeftijd. In andere studies werd ook een geleidelijk afname van antistoffen gevonden^(36,39,40). Ondanks deze titerdaling zijn nog steeds alle kinderen in ons onderzoek beschermd, wat wijst op langdurige persistentie van antistoffen. Een onderzoek van Böttiger et al.⁽⁴⁰⁾ in Zweden toonde aan dat de persistentie van antistoffen minstens 18 jaar aanhoudt. In de eerste jaren na vaccinatie werd een snelle afname van antistoffen gevonden, maar daarna trad een zeer langzaam verval op⁽⁴⁰⁾. Ook het uitblijven van "outbreaks" in de algemene bevolking is een belangrijke aanwijzing voor goede persistentie. Wanneer polio epidemieën optreden, is dit over het algemeen alleen in populaties die vaccinaties weigeren vanwege geloofsovertuiging e.d.^(41,42,43). De circulatie van de poliovirussen is sinds 1960-'70 sterk verminderd⁽⁴⁴⁾ zodat natuurlijke boosting van antistoffen waarschijnlijk steeds minder voorkomt en de goede antistofpersistentie dus direct gevolg van vaccinatie moet zijn.

4.2 Kinkhoest

Zoals al opgemerkt voor de andere antigenen, is ook voor kinkhoest de vergelijking van deze studie met andere moeilijk vanwege verschillen in gebruikte antistofbepalingen en vaccinsamenstelling. Bovendien zijn de resultaten moeilijk te interpreteren. Bekend is dat verhoogde agglutinatie titers correleren met bescherming tegen de ziekte maar over de exacte hoogte van de beschermende titers is geen duidelijkheid⁽¹¹⁹⁾.

Snel na de geboorte neemt de maternale antistoftiter af, waarna vanaf de leeftijd van 4 maanden het effect van vaccinatie zichtbaar wordt. Op het moment van de boostervaccinatie op 11 maanden zijn de antistoffen gedaald tot het niveau van de maternale antistoffen. Opmerkelijk is de antistofstijging vanaf de schoolgaande leeftijd (4 jaar) zonder dat gevaccineerd wordt. Mogelijk gaat het intensief contact met leeftijdsgenoten gepaard met een toename van het aantal natuurlijke kinkhoestinfecties. De GMT op 4-jarige leeftijd in de huidige studie is vergelijkbaar met die in een recent onderzoek naar het effect van kinkhoestvaccinatie bij 4-jarige kinderen⁽⁹⁾.

In de periode 1996-'97 was het aantal aangegeven gevallen kinkhoest in Nederland opmerkelijk hoger dan dat in de voorgaande periode⁽⁴⁷⁾. Dit is niet terug te vinden in de onderzoekspopulatie, omdat tussen 1992 en '97 (vrijwel) geen bloedafnames plaatsvonden.

4.3 Mazelen

4.3.1 Maternale antistoffen

Zoals al beschreven voor difterie, tetanus en polio, worden ook antistoffen tegen mazelen actief over de placenta naar de foetus getransporteerd. Dit gebeurt in het laatste trimester van de zwangerschap en resulteert in titers in het navelstrengbloed die gemiddeld 1,7x hoger zijn dan titers in matернаal bloed^(19,45,46,47,48). In het huidige onderzoek had 99% van de kinderen bij de geboorte een beschermende titer.

Uit de literatuur is bekend dat na vaccinatie tegen mazelen bij kinderen met maternale pré titers wel seroconversie optreedt, maar dat dit leidt tot significant lagere antistofniveaus dan bij kinderen zonder maternale titers^(6, 14, 18, 45, 48). In ons onderzoek kon het effect van maternale titers op de ontwikkeling van antistoffen na vaccinatie niet worden vastgesteld. De maternale titers daalden namelijk al vrij snel na de geboorte: op de leeftijd van 6 maanden waren ze voor het merendeel van de kinderen al gedaald tot onder het als beschermend beschouwde niveau en op de leeftijd van 11 maanden had géén van de kinderen nog aantoonbare maternale antistoffen. Ook een dwarsdoorsnede onderzoek onder de Nederlandse bevolking (Pienterproject) liet zien dat geen maternale antistoffen meer aantoonbaar worden op de leeftijd van 11 maanden⁽⁹⁾.

De invloed van maternale antistoffen op de ontwikkeling van cellulaire immuniteit is nog onduidelijk. Siegrist et al. ⁽¹⁵⁾ toonde aan dat de T-cel respons mogelijk niet geremd wordt door maternale antistoffen, maar verder onderzoek naar cellulaire immuniteit is nodig om dit te bevestigen ⁽⁴⁶⁾.

Vaccinatie tegen mazelen is in 1976 in het RVP opgenomen ⁽¹⁾ en heeft geleid tot een verminderde viruscirculatie, wat blijkt uit de grote afname van het aantal gerapporteerde gevallen van mazelen ⁽⁵⁶⁾. Door deze verminderde circulatie zullen personen, die nooit gevaccineerd zijn, vrijwel geen natuurlijke immuniteit kunnen opbouwen ^(18,45,52,56,57,58,59,60,61). Bovendien ontbreekt het aan natuurlijke boosting van vaccingeïnduceerde immuniteit, waardoor antistofniveaus in gevaccineerden, die toch al lager zijn dan die in personen met natuurlijke immuniteit, op een laag niveau blijven ^(14,19,51,52,53,54,55). Uiteindelijk zal dit er toe leiden dat maternale antistoffen in gebieden met verminderde viruscirculatie sneller onder het als beschermend beschouwde niveau dalen ^(18,53), waardoor kinderen dus eerder na de geboorte vatbaar voor infectie zullen zijn. In verscheidene onderzoeken wordt dit verschijnsel beschreven en wordt geadviseerd de BMR-vaccinatie in de toekomst te vervroegen ^(56,62,63,64,65,66). Volgens een onderzoek van Kumar et al. ⁽⁵⁹⁾ is vaccinatie op te jonge leeftijd, ondanks afwezigheid van maternale antistoffen, niet effectief genoeg. In het betreffende onderzoek was de respons op levende vaccins voor 6 maanden oude seronegatieve kinderen lager dan die voor 15 maanden oude kinderen, mogelijk als gevolg van leeftijdsafhankelijke verschillen in het humorale immuunsysteem. Een recenter onderzoek van Pabst et al. ⁽⁶⁹⁾ liet echter zien dat vaccinatie van zes maanden oude kinderen, geboren uit gevaccineerde moeders, bij de meerderheid leidt tot de opbouw van zowel een sterke humorale als een cellulaire immuniteit.

In Nederland is de gemiddelde leeftijd van de moeder bij de geboorte van haar eerste kind 30 jaar ⁽¹²¹⁾. Dit betekent dat momenteel het grootste gedeelte van de kinderen geboren wordt uit natuurlijk immune moeders en het dus nog niet nodig is de leeftijd van de eerste vaccinatie tegen mazelen (14 maanden ^{6,49,50}) te vervroegen. In de toekomst zal echter het merendeel van de Nederlandse moeders een vaccingeïnduceerde immuniteit hebben. Het is dan waarschijnlijk wel verstandig de betreffende vaccinatie te geven vóór de eerste verjaardag van kind. Door middel van serologisch onderzoek moet uitgesloten worden dat deze vervroeging nadelige invloed heeft op de efficacy van het vaccin ⁽¹²⁰⁾.

Het BMR vaccin kan simultaan met andere vaccins toegediend worden. Een onderzoek in Italië naar de mogelijkheid BMR-vaccinatie te combineren met de DTP-boostervaccinatie op de leeftijd van 10-12 maanden toonde aan dat dit goed mogelijk is, al zijn de antistofniveaus wel iets lager dan die na vaccinatie op 15-24 maanden ⁽⁶⁷⁾. Een onderzoek in Nederland naar het effect van simultaan toedienen van het mazelenvaccin en DKTP4, liet zien dat seroconversie noch antistofopbouw voor mazelen ongunstig wordt beïnvloed. DKTP lijkt zelfs een gunstig effect op de antistofvorming te hebben ⁽⁶⁸⁾.

4.3.2 Effect van vaccinatie(s)

Na de eerste mazelen vaccinatie stijgt de GMT tot ver boven het beschermende niveau, waardoor één maand na vaccinatie ruim 90% van de kinderen antistoffen boven dit niveau heeft. Het niveau van antistoffen gemeten met HAR-test is vergelijkbaar met of iets lager dan dat bepaald in andere onderzoeken naar mazelen vaccinatie in Nederland ^(70,71,72,73). Aan een aantal kinderen dat niet reageerde op de eerste vaccinatie, is enkele maanden later een tweede mazelenvaccinatie aangeboden. Dit heeft tot gevolg gehad dat op 4-jarige leeftijd hogere GMT's en grotere percentages beschermden worden gemeten dan vlak na de eerste vaccinatie. Andere oorzaken hiervoor zijn mogelijke natuurlijke infecties of laat op gang komende immuunresponsen. Over het algemeen ontstaan de eerste antistoffen ca. 12 dagen

na vaccinatie met een piek tussen de 21 en 28 dagen, maar individuele variatie is mogelijk (74).

Bij een aantal van deze kinderen waarbij het antistofniveau na de eerste vaccinatie niet of nauwelijks steeg is mogelijk sprake van "primaire vaccinfalen" (8% in het totaal). Dit treedt op bij ongeveer 5-10% van de gevaccineerde personen en betekent dat er na vaccinatie niet wordt gereageerd met een adequate antistofstijging. Het primaire vaccinfalen verklaart het beperkte aantal ziektegevallen onder gevaccineerden waarbij bovendien een sterke stijging van de IgM-titer wordt gevonden (75,58,47,76,66,77,78,79). Technische problemen m.b.t. vaccinopslag of -transport kunnen een rol spelen bij vaccinfalen, maar waarschijnlijk zijn er nog andere onbekende oorzaken (80,81).

In de periode tussen 4 en 9 jaar daalt het gemiddelde antistofniveau enigszins, terwijl het percentage beschermden gelijk blijft. Ook in andere studies werd in de periode na de eerste BMR-vaccinatie (9,82,83,84,85) zo'n afname van het antistofniveau gevonden. Op 9-jarige leeftijd werden de kinderen nogmaals gevaccineerd tegen mazelen met het BMR-vaccin. Ook in andere Europese landen en Amerika bestaat het vaccinatie programma sinds de jaren '80 uit twee BMR-vaccinaties (51,86,87).

De ELISA titer die in deze studie voor vaccinatie werd gemeten komt goed overeen met die gemeten in het Pienterproject op 8 jarige leeftijd (resp. 0,75 IU/ml en 0,81 IU/ml). Ook de ELISA GMT gemeten op 15-jarige leeftijd komt goed overeen met die gemeten in 10- tot 18-jarige in het Pienterproject (resp 0,67 IU/ml en 0,71 IU/ml) (9).

Uit een case-controle onderzoek in Canada bleek dat twee mazelenvaccinaties significant beter zijn dan één, waarbij de duur van het interval in jaren tussen de twee vaccinaties niet van belang is (88). Domínguez (89) daarentegen adviseert de tweede dosis BMR-vaccin toe te dienen op de leeftijd 4-6 jaar in plaats van pas op 11-12 jaar. De tweede vaccinatie is bedoeld als eerste kans voor kinderen die de eerste vaccinatie niet ontvangen hebben, maar ook als tweede kans voor degenen met een primair vaccinfalen (54,66,79,90,91). Uit serologische studies is namelijk bekend dat de meeste kinderen die niet reageren op de eerste vaccinatie, wel een goede antistofrespons ontwikkelen op de tweede vaccinatie, wat het aantal vatbaren op oudere leeftijd verlaagt (54,78,87,88,90,92,93,94,95). Ook in onze studie reageerden alle kinderen met primair vaccinfalen na de mazelenvaccinatie met een sterke titerstijging na de BMR-vaccinatie, hetgeen de noodzaak van een tweede vaccinatie bevestigt. Een ander effect van de tweede vaccinatie is het boostereren van antistofniveaus die in de periode na de eerste vaccinatie zijn gedaald (79,95,96). Een aantal onderzoeken wijst uit dat het effect van vaccinatie groter is, wanneer de pré titer lager is (82,83,92,97,98), hetgeen ons onderzoek bevestigt.

Daarnaast is de tweede dosis van groot belang voor eliminatie van het mazelenvirus. Om dit te bereiken moet 93-97% van de Nederlandse populatie immuun zijn. De resterende niet-immune personen worden dan beschermd door de "groepsimmunitet" (76,99,100). Hierbij wordt echter aangenomen dat zowel infectie met het wilde virus als vaccinatie met het verzwakte vaccinvirus levenslange bescherming geeft, waarbij slechts de vorming van antistoffen een garantie is voor bescherming, ongeacht de hoogte van de titer (54,101,102,103). Het vergelijken van studies waarin de persistentie van antistoffen bepaald is, is moeilijk omdat de studies onderling verschillen wat betreft onderzochte vaccins, gebruikte antistoftesten en mate van blootstelling aan wild mazelenvirus (81). Toch komen er steeds meer aanwijzingen dat de immuniteit na vaccinatie afneemt in de tijd (54,81,76,102,104,105,106). Het antistofniveau bij de laatste bloedafname in 1997 was in onze studie voor de meeste deelnemers gedaald tot het niveau voor de tweede vaccinatie tegen mazelen (BMR-vaccin); acht kinderen hadden circa zes jaar na vaccinatie geen aantoonbare antistoffen meer. Ook in het Pienterproject is een afname van het antistofniveau in de tijd te zien (9) Davidkin et al. (104) toonde in Finland aan dat de vaccineïnduceerde immuniteit minder lang aanhoudt in de afwezigheid van natuurlijke boosting door wild mazelenvirus. De klinische consequenties voor het afnemen van de immuniteit zijn niet zo groot, omdat een laag antistofniveau meestal betekent dat het

individueel bij hernieuwde blootstelling aan het virus niet beschermd is tegen infectie, maar wel tegen ziekte⁽⁷⁹⁾. Bij een recente mazelen epidemie in Nederland bleek 95% van de cases niet gevaccineerd te zijn⁽¹⁰⁷⁾. In enkele gevallen kan ondanks vaccinatie wel een milde vorm van de ziekte ontstaan^(50,54,81,98,101,105,108). Wanneer deze personen met een asymptomatische infectie de ziekte kunnen overdragen op onbeschermden seronegatieven heeft dit wel consequenties voor de populatie, omdat dan eliminatie van het mazelen virus verhinderd wordt. Het is echter onduidelijk of overdracht op deze wijze plaatsvindt^(79, 81,101,105).

4.4 Bof en rubella

Het percentage kinderen met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau op 9-jarige leeftijd tegen bof is 89% en tegen rubella 75%. Deze bescherming is grotendeels een gevolg van natuurlijke infecties aangezien de meeste kinderen in deze studie nog niet tegen bof en rubella waren gevaccineerd. Sinds de invoering van het BMR-vaccin in het RVP in 1987, is gedurende drie jaar een inhaalcampagne gevoerd, waarbij 4-jarigen een BMR-vaccin aangeboden kregen. Drie kinderen uit deze studie, geboren in 1983 en 1985, hebben mogelijk deze extra BMR-vaccinatie ontvangen. Eén van hen heeft voor bof en rubella antistoffen ruim boven het als beschermend beschouwde niveau. Voor de andere twee deelnemers is die niet bekend omdat bij hen de bloedafnames vanaf 9-jarige leeftijd ontbreken. Als gevolg van de tweede BMR-vaccinatie zal de circulatie van de wilde virussen afgenomen zijn. Door de verminderde infectiedruk zal het percentage beschermden onder niet-gevaccineerde kinderen tegenwoordig lager zijn dan de percentages gemeten in deze studie.

Over het algemeen is de respons op BMR-vaccinatie goed, hoewel kinderen die reeds voor de vaccinatie een hoog antistofniveau hadden een lagere respons vertoonden dan kinderen met een laag niveau. Eén maand na de vaccinatie zijn zowel bof als rubella antistoftiters voor alle kinderen boven het als beschermend beschouwde niveau, met uitzondering van één meisje voor bof. Echter, zij heeft een titer bij de laatste afname (15jaar) die wel boven dit niveau zit. Mogelijk is dit het gevolg van natuurlijke infectie of kwam de immuniteitsopbouw bij haar traag op gang. Een onderzoek van Brunell et al.⁽¹⁰⁹⁾ toonde namelijk aan dat de immuunrespons na 4 weken nog niet bij iedereen voltooid is; na 4 weken was seroconversie opgetreden bij 87% van de deelnemers, terwijl dit na 5 weken bij 93% het geval was⁽³¹⁾. Zowel de GMT's als de percentages beschermden komen goed overeen met die gemeten in het Pienterproject bij 15-jarige kinderen die één vaccinatie ontvangen hadden^(10,12).

Het percentage kinderen met antistoffen boven het beschermende niveau voor rubella was hoger dan dat voor bof. Ook in andere onderzoeken was de respons op de rubella component van het BMR-vaccin groter dan die op de bof component^(92,93,90,91,110). Voor zowel bof als rubella is de seroprevalentie voor jongens en meisjes vergelijkbaar, hetgeen overeenkomt met de studie van Matter et al.⁽¹¹¹⁾ en het Pienterproject^(10,12). Opmerkelijk is echter dat het bof antistofniveau voor meisjes zowel op 9- als 15-jarige leeftijd significant hoger is dan dat voor jongens. Ook in het Pienterproject werd vanaf 10-jarige leeftijd een significant hogere GMT voor meisjes gevonden, bij een vergelijkbare seroprevalentie. Mogelijk is deze lagere titer een verklaring voor het feit dat complicaties van bof aanzienlijk vaker bij jongens voorkomen^(112,113,114,115). Ook van andere virussen is bekend dat ze bij jongens vaker complicaties veroorzaken dan bij meisjes⁽³²⁾.

Zes jaar na vaccinatie is een daling van de GMT en het aantal beschermden zichtbaar. In andere onderzoeken ziet men kort na vaccinatie een snelle daling, gevolgd door een periode waarin de antistoffen op vrijwel constant niveau blijven^(116,117,12,84). Dit werd geconstateerd voor zowel kinderen die één als twee vaccinaties hebben ontvangen, hoewel het Pienterproject aantoonde dat zowel de seroprevalentie als GMT hoger zijn in kinderen die voor twee in plaats van één vaccinatie in aanmerking kwamen^(10,12).

5. Conclusies en aanbeveling

5.1 Conclusies

- Het uitvoeren van een langdurig, longitudinaal onderzoek, naar de antistofrespons op vaccinaties verricht in het kader van het RVP, is mogelijk gebleken. Bovendien bleef het deelnemersaantal tijdens deze studie op een hoog niveau.
- Over het algemeen leidt vaccinatie tot een goede immuunrespons tegen alle antigenen die, vooral bij tetanus en poliomyelitis, ook lang aantoonbaar blijft. Zelfs als er geen antistoffen tegen difterie, tetanus of polio meer aantoonbaar zijn, wijst de boosterrespons na revaccinatie op het bestaan van een immunologisch geheugen.
- De invloed van moederlijke antistoffen op de uiteindelijke opbouw van immuniteit tegen difterie, tetanus en poliomyelitis is verwaarloosbaar.
- Voor kinkhoest zijn de studie resultaten moeilijk te interpreteren omdat de exacte "correlates of protection" ontbreken. Bovendien is op historische gronden alleen de agglutinatie test uitgevoerd.
- De tweede BMR-vaccinatie, zoals die sinds 1987 in het RVP wordt aangeboden, is zeker zinvol; alle kinderen met "primair vaccinfalen" na de eerste mazelen vaccinatie in deze studie reageren met een stijging van antistoffen na de tweede vaccinatie. De kinderen die reeds voor de tweede vaccinatie een hoog antistofniveau hadden, vertoonden echter een lagere respons dan de kinderen met een lager antistofniveau.

5.2 Aanbeveling

In de huidige studie waren de maternale antistoffen tegen mazelen op de leeftijd van 6 maanden al voor het merendeel van de kinderen gedaald tot onder het als beschermend beschouwde niveau, terwijl op de leeftijd van 11 maanden zelfs bij géén van de kinderen antistoffen aantoonbaar waren.

Alle moeders van de deelnemers aan dit onderzoek hebben hun immuniteit opgebouwd na natuurlijke infecties. Op dit moment wordt het grootste gedeelte van de kinderen in Nederland nog steeds geboren uit natuurlijk immune moeders. In de toekomst zullen echter vrijwel alle moeders een vaccineïnduceerde immuniteit hebben. Dit zal leiden tot lagere maternale antistofniveaus, met als direct gevolg dat pasgeborenen eerder vatbaar zijn voor infectie met het wilde mazelen virus. Op dat moment moet overwogen worden of het in Nederland nodig is de eerste vaccinatie tegen mazelen te vervroegen.

Literatuur

1. Gezondheidsraad. Advies inzake de algemene vaccinatie tegen mazelen. 1-3-1973.
2. Verbrugge HP, Siemons GHA. Vaccinatie tegen *Haemophilus influenzae* type b. *Ned.Tijdschr.Geneeskd.* 1993;137(4):218.
3. RIV / TNO-PG. Onderzoeksplan Prospectief Vaccinatie Onderzoek. 1979.
4. 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.
5. de-Melker H.E., van-den-Hof S., Berbers G.A.M., Nagelkerke NJD, Rumke HC, Conyn-van SM. A population-based study on tetanus antitoxin levels in the Netherlands. *Vaccine* 1999;18(2000):100-8.
6. Albrecht P, Ennis FA, Saltzman EJ, Krugman S. Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months: mechanism of measles vaccine failure. *J Pediatr* 1977;91(5):715-8.
7. Manclark CR, Meade BD, Burstyn DG. Serological response to *Bordetella pertussis*. *Manual Clinical Immunology* 1986;third:388-94.
8. Stewart GL, Parkman PD, Hopps HE, Douglas RD, Hamilton JP, Meyer-HM J. Rubella-virus hemagglutination-inhibition test. *N Engl.J Med* 1967;276(10):554-7.
9. van-den-Hof S., Berbers G.A.M., de-Melker H.E., Conyn-van SM. Sero-epidemiology of measles antibodies in the Netherlands, a cross-sectional study in a national sample and in communities with low vaccine coverage. *Vaccine* 1999;18(2000):931-40.
10. Beaumont M.T.A., van-den-Hof S., Berbers G.A.M., and Conyn-van, Spaendonck M. A. De immuniteit van de Nederlandse populatie tegen bof; evaluatie van het Rijksvaccinatieprogramma. RIVM rapport 213676 010. RIVM, Bilthoven, 1999.
11. Berbers G.A.M., Lafeber A.B., Labadie J, Vermeer-de Bondt PE, Bolscher DJA, and Plantinga, A. D. 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. RIVM rapport 105000 001. RIVM, Bilthoven 1999.
12. de-Haas R., van-den-Hof S., Berbers G.A.M., de-Melker H.E., Conyn-van SM. Prevalence of antibodies against rubella virus in the Netherlands nine years after changing from selective to mass vaccination. *Epidemiol.Infect* 1999;123:263-70.
13. SPSS Inc. SPSS 9.0 for Windows. 1999.
14. Kacica MA, Venezia RA, Miller J, Hughes PA, Lepow ML. Measles antibodies in women and infants in the vaccine era. *J Med Virol* 1995;45(2):227-9.
15. Siegrist CA, Barrios C, Martinez X, Brandt C, Berney M, Cordova M et al. Influence of maternal antibodies on vaccine responses: inhibition of antibody but not T cell responses allows successful early prime-boost strategies in mice. *Eur J Immunol* 1998;28(12):4138-48.
16. Englund J, Glezen WP, Piedra PA. Maternal immunization against viral disease. *Vaccine* 1998;16(14-15):1456-63.
17. Englund JA, Mbawuikie IN, Hammill H, Holleman MC, Baxter BD, Glezen WP. Maternal immunization with influenza or tetanus toxoid vaccine for passive antibody protection in young infants. *J Infect Dis* 1993;168(3):647-56.
18. Brughha R, Ramsay M, Forsey T, Brown D. A study of maternally derived measles antibody in infants born to naturally infected and vaccinated women. *Epidemiol.Infect* 1996;117(3):519-24.

19. Lennon JL, Black FL. Maternally derived measles immunity in era of vaccine-protected mothers. *J Pediatr* 1986;108(5 Pt 1):671-6.
20. Ramsay ME, Rao M, Begg NT, Redhead K, Attwell AM. Antibody response to accelerated immunisation with diphtheria, tetanus, pertussis vaccine [see comments]. *Lancet* 1993;342(8865):203-5.
21. Bjorkholm B, Granstrom M, Taranger J, Wahl M, Hagberg L. Influence of high titers of maternal antibody on the serologic response of infants to diphtheria vaccination at three, five and twelve months of age. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14(10):846-50.
22. Booy R, Aitken SJ, Taylor S, Tudor WG, Macfarlane JA, Moxon ER et al. Immunogenicity of combined diphtheria, tetanus, and pertussis vaccine given at 2, 3, and 4 months versus 3, 5, and 9 months of age [see comments]. *Lancet* 1992;339(8792):507-10.
23. Sarvas H, Kurikka S, Seppala IJ, Makela PH, Makela O. Maternal antibodies partly inhibit an active antibody response to routine tetanus toxoid immunization in infants [letter]. *J Infect Dis* 1992;165(5):977-9.
24. Baraff LJ, Leake RD, Burstyn DG, Payne T, Cody CL, Manclark CR et al. Immunologic response to early and routine DTP immunization in infants. *Pediatrics* 1984;73(1):37-42.
25. Brown G.C., Volk V.K., Gottshall R.Y., Kendrick P.L., Anderson H.D. Responses of infants to DTP-P vaccine used in nine injection schedules. *Pub Health Rep* 1964;79:585-602.
26. Vahlquist B. Response of infants to diphtheria immunisation. *Lancet* 1949;i:16-8.
27. Ramsay ME, Corbel MJ, Redhead K, Ashworth LA, Begg NT. Persistence of antibody after accelerated immunisation with diphtheria/tetanus/pertussis vaccine [see comments]. *BMJ*. 1991;302(6791):1489-91.
28. Sangpetchsong V, Impat A, Dhiensiri K, Podhipak A. Effect of passive immunity to tetanus in DTP vaccinated infants. *Southeast.Asian.J Trop.Med Public Health* 1985;16(1):117-23.
29. de-Melker H.E., Berbers G.A.M., Nagelkerke NJD, Conyn-van SM. Diphtheria antitoxin levels in the Netherlands: a population-based study. *Emerg Infect Dis* 1999;5(5):694-700.
30. Cohen D, Katzenelson E, Green M, Slepon R, Bercovier H, Danon Y. Prevalence and correlates of diphtheria toxin antibodies among young adults in Israel. *J Infect* 1991;23(2):117-21.
31. Cohen D, Green MS, Katzenelson E, Slepon R, Bercovier H, Wiener M. Long-term persistence of anti-diphtheria toxin antibodies among adults in Israel. Implications for vaccine policy. *Eur J Epidemiol*. 1994;10(3):267-70.
32. Klouche M, Luhmann D, Kirchner H. Low prevalence of diphtheria antitoxin in children and adults in northern Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14(8):682-5.
33. Masterton RG, Tettmar RE, Pile RL, Jones J, Croft KF. Immunity to diphtheria in young British adults. *J Infect* 1987;15(1):27-32.
34. Simonsen O. Vaccination against tetanus and diphtheria. Evaluations of immunity in the Danish population, guidelines for revaccination, and methods for control of vaccination programs. *Dan.Med Bull* 1989;36(1):24-47.
35. Jones AE, Johns A, Magrath DI, Melville SM, Sheffield F. Durability of immunity to diphtheria, tetanus and poliomyelitis after a three dose immunization schedule completed in the first eight months of life. *Vaccine* 1989;7(4):300-2.
36. Labadie J., Sundermann L., and Rumke, H. C. Multi-center study on the simultaneous administration of DTP-IPV and Hib PRP-T vaccines. Part 1: Immunogenicity. RIVM rapport 124001 003. RIVM, Bilthoven, 1996.

37. Rümke HC, Schlumberger M, Flourey B, Nagel J, van-Steenis B. Serological evaluation of a simplified immunization schedule using quadruple DPT-polio vaccine in Burkina Faso. *Vaccine* 1993;11(11):1113-8.
38. Gardner P, LaForce FM. Protection against tetanus [letter; comment]. *N Engl J Med* 1995;333(9):599-600.
39. Conyn-van, Spaendonck M. A., de-Melker H.E., Abbink F., Elzinga-Gholizadea N., and Kimman T.G., van-Loon A. M. Immunity against poliomyelitis in the Netherlands. *American Journal of Epidemiology* 2001; 153(3):207-14.
40. Bottiger M. Polio immunity to killed vaccine: an 18-year follow-up [see comments]. *Vaccine* 1990;8(5):443-5.
41. Bijkerk H. Surveillance and control of poliomyelitis in The Netherlands. *Rev Infect Dis* 1984;6 Suppl 2:S451-S456.
42. Oostvogel PM, van-Wijngaarden JK, van-der-Avoort HG, Mulders MN, Conyn-van SM, Rumke HC et al. Poliomyelitis outbreak in an unvaccinated community in The Netherlands, 1992-93 [see comments]. *Lancet* 1994;344(8923):665-70.
43. Schaap GJ, Bijkerk H, Coutinho RA, Kapsenberg JG, van-Wezel AL. The spread of wild poliovirus in the well-vaccinated Netherlands in connection with the 1978 epidemic. *Prog Med Virol* 1984;29:124-40.
44. Rumke HC, Oostvogel PM, Van-Steenis G, Van-Loon AM. Poliomyelitis in The Netherlands: a review of population immunity and exposure between the epidemics in 1978 and 1992. *Epidemiol Infect* 1995;115(2):289-98.
45. Goncalves G, Cutts FT, Hills M, Rebelo AH, Trigo FA, Barros H. Transplacental transfer of measles and total IgG. *Epidemiol Infect* 1999;122(2):273-9.
46. Katz SL. Transplacental measles immunity [letter]. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17(8):763.
47. Markowitz LE, Orenstein WA. Measles vaccines. *Pediatr Clin North Am* 1990;37(3):603-25.
48. Siegrist CA, Cordova M, Brandt C, Barrios C, Berney M, Tougne C et al. Determinants of infant responses to vaccines in presence of maternal antibodies. *Vaccine* 1998;16(14-15):1409-14.
49. Brouwer R. Samenvatting en conclusies van de rapporten over mazelenvaccinatie (nrs. 120/72, 69/74, 98/75 en 103/76). RIVM rapport 108/76. Bilthoven, 1976.
50. Yeager AS, Harvey B, Crosson-FJ J, Davis JH, Ross LA, Halonen PE. Need for measles revaccination in adolescents: correlation with birth date prior to 1972. *J Pediatr* 1983;102(2):191-5.
51. de-Francisco A, Hall AJ, Unicomb L, Chakraborty J, Yunus M, Sack RB. Maternal measles antibody decay in rural Bangladeshi infants--implications for vaccination schedules. *Vaccine* 1998;16(6):564-8.
52. De-Serres G, Joly JR, Fauvel M, Meyer F, Masse B, Boulianne N. Passive immunity against measles during the first 8 months of life of infants born to vaccinated mothers or to mothers who sustained measles. *Vaccine* 1997;15(6-7):620-3.
53. Maldonado YA, Lawrence EC, DeHovitz R, Hartzell H, Albrecht P. Early loss of passive measles antibody in infants of mothers with vaccine-induced immunity. *Pediatrics* 1995; 96:447-50.
54. Markowitz LE, Albrecht P, Orenstein WA, Lett SM, Pugliese TJ, Farrell D. Persistence of measles antibody after revaccination. *J Infect Dis* 1992;166(1):205-8.
55. Ohsaki M, Tsutsumi H, Takeuchi R, Kuniya Y, Chiba S. Reduced passive measles immunity in infants of mothers who have not seen exposed to measles outbreaks. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 1999;31(1):17-9.

56. van-der-Zwan CW, Plantinga AD, Rumke HC, Conyn-van SM. [Measles in The Netherlands; epidemiology and the effect of vaccination] Mazelen in Nederland; epidemiologie en de invloed van vaccinatie. *Ned.Tijdschr.Geneeskd.* 1994;138(48):2390-5.
57. Chui LW, Marusyk RG, Pabst HF. Measles virus specific antibody in infants in a highly vaccinated society. *J Med Virol* 1991;33(3):199-204.
58. Edmonson MB, Addiss DG, McPherson JT, Berg JL, Circo SR, Davis JP. Mild measles and secondary vaccine failure during a sustained outbreak in a highly vaccinated population. *JAMA* 1990;263(18):2467-71.
59. Kumar ML, Johnson CE, Chui LW, Whitwell JK, Staehle B, Nalin D. Immune response to measles vaccine in 6-month-old infants of measles seronegative mothers. *Vaccine* 1998;16(20):2047-51.
60. Pabst HF, Spady DW, Marusyk RG, Carson MM, Chui LW, Joffres MR et al. Reduced measles immunity in infants in a well-vaccinated population. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11(7):525-9.
61. Kebede S, Nokes DJ, Cutts FT, Nigatu W, Sanderson F, Beyene H. Maternal rubella-specific antibody prevalence in Ethiopian infants. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2000;94(3):333-40.
62. Markowitz LE, Albrecht P, Rhodes P, Demonteverde R, Swint E, Maes EF et al. Changing levels of measles antibody titers in women and children in the United States: impact on response to vaccination. Kaiser Permanente Measles Vaccine Trial Team. *Pediatrics* 1996;97(1):53-8.
63. al-Mazrou YY, al-Jeffri M, Ahmed OM, Aziz KM, Mishkas AH. Measles immunization: early two-doses policy experience. *J Trop.Pediatr* 1999;45(2):98-104.
64. George K, Joseph A, Muliyl J, Abraham S, Bhattacharji S, John KR. Measles vaccination before nine months. *Trop.Med Int Health* 1998;3(9):751-6.
65. Pabst HF, Boothe PM, Carson MM. A comparison of alternate immunization regimes for measles in vaccinated populations. *Vaccine* 1999;17(2):182-92.
66. Smeets-Driessen M.D.H., Zwan C.W.van der, Rumke HC, Spijker C van 't. [BMR-vaccinatie volgens een alternatief schema? Voor- en nadelen overwogen. *Tijdschr Soc Gezondheidsz* 1995;73:295-9.
67. Giammanco G, Li VS, Salemi I, Giammanco BG, Mauro L. Immune response to simultaneous administration of a combined measles, mumps and rubella vaccine with booster doses of diphtheria-tetanus and poliovirus vaccine. *Eur J Epidemiol.* 1993;9(2):199-202.
68. Brouwer R. De invloed van DKTP-vaccinatie op mazelen immunisatie. RIVM rapport 98/75. Bilthoven, 1975.
69. Pabst HF, Spady DW, Carson MM, Krezolek MP, Barreto L, Wittes RC. Cell-mediated and antibody immune responses to AIK-C and Connaught monovalent measles vaccine given to 6 month old infants. *Vaccine* 1999;17(15-16):1910-8.
70. Brouwer R. Mazelenvaccinatie; Veldonderzoek De Bilt, Didam, Zelhem, Zevenaar. RIVM rapport 67/74 Ma. Bilthoven, 1974.
71. Brouwer R and de-Groot IGM. Immunisatie van kinderen met levend verzwakt mazelenvaccin op de leeftijd 10, 12 en 14 maanden. RIVM rapport 103-76. 1976.
72. Brouwer R. Mazelenvaccinatie; Veldonderzoek De Bilt, Didam, Zelhem, Zevenaar. RIVM rapport 120/72. Bilthoven, 1972.
73. Conyn-van, Spaendonck M. A., Catoen-Meijer A.E., de-Groot I.G.M., Hannik Ch.A., and van-Steenis G. Vergelijkend onderzoek naar het effect van vaccinatie met Merck Sharp and Dome mazelenvaccin en in licentie van MSD door het R.I.V. bereid mazelen vaccin, wat betreft serologie en optreden van reacties. RIVM rapport 437102006. RIVM, Bilthoven, 1983.

74. Plotkin S.A., Orenstein WA, . Vaccines. thirded. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 1999.
75. Duclos P, Redd SC, Varughese P, Hersh BS. Measles in adults in Canada and the United States: implications for measles elimination and eradication. *Int J Epidemiol.* 1999;28(1):141-6.
76. Mathias RG, Meekison WG, Arcand TA, Schechter MT. The role of secondary vaccine failures in measles outbreaks. *Am J Public Health* 1989;79(4):475-8.
77. van-Eijndhoven MJ, Rumke HC, Bosman A, van-Dijk WC, Hirsch R, van-Binnendijk RS. [A measles epidemic in an adequately vaccinated middle school population (see comments)] Een mazelenepidemie in een goed gevaccineerde middelbare-schoolpopulatie. *Ned.Tijdschr.Geneeskd.* 1994;138(48):2396-400.
78. Watson JC, Pearson JA, Markowitz LE, Baughman AL, Erdman DD, Bellini WJ et al. An evaluation of measles revaccination among school-entry-aged children. *Pediatrics* 1996;97(5):613-8.
79. Wittler RR, Veit BC, McIntyre S, Schydlower M. Measles revaccination response in a school-age population. *Pediatrics* 1991;88(5):1024-30.
80. Hirose M, Hidaka Y, Miyazaki C, Ueda K, Yoshikawa H. Five cases of measles secondary vaccine failure with confirmed seroconversion after live measles vaccination. *Scand J Infect Dis* 1997;29(2):187-90.
81. Markowitz LE, Preblud SR, Fine PE, Orenstein WA. Duration of live measles vaccine-induced immunity. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9(2):101-10.
82. Christenson B, Bottiger M. Measles antibody: comparison of long-term vaccination titres, early vaccination titres and naturally acquired immunity to and booster effects on the measles virus. *Vaccine* 1994;12(2):129-33.
83. Johnson CE, Kumar ML, Whitwell JK, Staehle BO, Rome LP, Dinakar C et al. Antibody persistence after primary measles-mumps-rubella vaccine and response to a second dose given at four to six vs. eleven to thirteen years. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15(8):687-92.
84. King-J.C. J, Lichenstein R, Feigelman S, Luna C, Permutt TJ, Patel J. Measles, mumps, and rubella antibodies in vaccinated Baltimore children. *Am J Dis Child* 1993;147(5):558-60.
85. Peltola H, Heinonen OP, Valle M, Paunio M, Virtanen M, Karanko V et al. The elimination of indigenous measles, mumps, and rubella from Finland by a 12-year, two-dose vaccination program [see comments]. *N Engl.J Med* 1994;331(21):1397-402.
86. ACIP. Measles, mumps, and rubella - Vaccine use and strategies for elimination of measles, rubella, and congenital rubella syndrome and control of mumps: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1998;47(RR-8):1-57.
87. Christenson B, Bottiger M. Vaccination against measles, mumps and rubella (MMR): a comparison between the antibody responses at the ages of 18 months and 12 years and between different methods of antibody titration. *J Biol Stand* 1985;13(2):167-72.
88. De-Serres G, Sciberras J, Naus M, Boulianne N, Duval B, Roivainen M. Protection after two doses of measles vaccin is independent of interval between doses. *J Infect Dis* 1999;180:187-90.
89. Dominguez A, Vidal J, Plans P, Carmona G, Godoy P, Batalla J et al. Measles immunity and vaccination policy in Catalonia. *Vaccine* 1999;17(6):530-4.
90. Boulianne N, De-Serres G, Ratnam S, Ward BJ, Joly JR, Duval B. Measles, mumps, and rubella antibodies in children 5-6 years after immunization: effect of vaccine type and age at vaccination. *Vaccine* 1995;13(16):1611-6.

91. Christenson B, Bottiger M. Changes of the immunological patterns against measles, mumps and rubella. A vaccination programme studied 3 to 7 years after the introduction of a two-dose schedule. *Vaccine* 1991;9(5):326-9.
92. Bottiger M, Christenson B, Taranger J, Bergman M. Mass vaccination programme aimed at eradicating measles, mumps and rubella in Sweden: vaccination of schoolchildren. *Vaccine* 1985;3(2):113-6.
93. Bottiger M, Christenson B, Romanus V, Taranger J, Strandell A. Swedish experience of two dose vaccination programme aiming at eliminating measles, mumps, and rubella. *Br Med J Clin Res Ed* 1987;295(6608):1264-7.
94. Bottiger M. Boosting effect of a second dose of measles vaccine given to 12-year-old children. *Scand J Infect Dis* 1993;25(2):239-43.
95. Poland GA, Jacobson RM, Thampy AM, Colbourne SA, Wollan PC, Lipsky JJ et al. Measles reimmunization in children seronegative after initial immunization. *JAMA* 1997;277(14):1156-8.
96. Thomas A, Xu D, Wooten K, Morrow B, Redd S. Timing and effectiveness of requirements for a second dose of measles vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18(3):266-70.
97. Bottiger M. Immunity to rubella before and after vaccination against measles, mumps and rubella (MMR) at 12 years of age of the first generation offered MMR vaccination in Sweden at 18 months. *Vaccine* 1995;13(18):1759-62.
98. Broliden K, Leven B, Arneborn M, Bottiger M. Immunity to measles before and after MMR booster or primary vaccination at 12 years of age in the first generation offered the 2-dose immunization programme. *Scand J Infect Dis* 1998;30(1):23-7.
99. Anderson R.M., May R.M. *Infectious disease of humans. Dynamics and Control.* Oxford: Oxford Scientific Publications; 1991.
100. van-Druten JA, de-Boo T, Plantinga AD. Measles, mumps and rubella: control by vaccination. *Dev Biol Stand* 1986;65:53-63.
101. Chen RT, Markowitz LE, Albrecht P, Stewart JA, Mofenson LM, Preblud SR et al. Measles antibody: reevaluation of protective titers. *J Infect Dis* 1990;162(5):1036-42.
102. Dai B, Chen ZH, Liu QC, Wu T, Guo CY, Wang XZ et al. Duration of immunity following immunization with live measles vaccine: 15 years of observation in Zhejiang Province, China. *Bull World Health Organ.* 1991;69(4):415-23.
103. Krugman S. Further-attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Rev Infect Dis* 1983;5(3):477-81.
104. Davidkin I, Valle M. Vaccine-induced measles virus antibodies after two doses of combined measles, mumps and rubella vaccine: a 12-year follow-up in two cohorts. *Vaccine* 1998;16(20):2052-7.
105. Huiss S, Damien B, Schneider F, Muller CP. Characteristics of asymptomatic secondary immune responses to measles virus in late convalescent donors. *Clin Exp Immunol* 1997;109(3):416-20.
106. Whittle H, Aaby P, Samb B, Cisse B, Kanteh F, Soumare M et al. Poor serologic responses five to seven years after immunization with high and standard titer measles vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18(1):53-7.
107. van Steenberg JE, van den Hof S, Langendam MW, van de Kerkhof JHTC, Ruijs WLM. Measles outbreak - Netherlands, April 1999-January 2000 (Reprinted from *MMWR*, vol 49, pg 299-303, 2000). *JAMA* 2000;283(18):2385-6.
108. Whittle HC, Aaby P, Samb B, Jensen H, Bennett J, Simondon F. Effect of subclinical infection on maintaining immunity against measles in vaccinated children in West Africa. *Lancet* 1999;353(9147):98-102.

109. Brunell P.A., Brickman A., Steinberg S. Evaluation of a live attenuated mumps vaccine (Jeryl Lynn): With observations on the optimal time for testing serological response. *Am J Dis Child* 1969;118(435):440.
110. Miller E, Hill A, Morgan CP, Forsey T, Rush M. Antibodies to measles, mumps and rubella in UK children 4 years after vaccination with different MMR vaccines. *Vaccine* 1995;13(9):799-802.
111. Matter L., Germann D., Bally F., Schopfer K. Age-stratified seroprevalence of measles, mumps and rubella (MMR) virus infections in Switzerland after the introduction of MMR mass vaccination. *Eur J Epidemiol.* 1997;13:61-5.
112. Anderson R.M., Crombie J.A., Grenfell B.T. The epidemiology of mumps in the UK: a preliminary study of virus transmission, herd immunity and the potential impact of immunization. *Epidemiol.Infect* 1987;99(1):65-84.
113. Chuden H.G., Michtl W., Stehr K. [Hearing loss due to mumps (author's transl)]. *Laryngol Rhinol Otol Stuttg* 1978;57(8):745-50.
114. Harasek G. [Mumps meningitis and mumps vaccination (author's transl)]. *Wien Klin Wochenschr* 1978;90(1):7-10.
115. Zarycka-Chrol E, Smukalska E, Sawilska-Tanska M. [Complications of mumps in children in light of personal observations. *Pediatr Pol* 1997;70(10):841-5.
116. Briss PA, Fehrs LJ, Parker RA, Wright PF, Sannella EC, Hutcheson RH et al. Sustained transmission of mumps in a highly vaccinated population: assessment of primary vaccine failure and waning vaccine-induced immunity. *J Infect Dis* 1994;169(1):77-82.
117. Davidkin I, Valle M, Julkunen I. Persistence of anti-mumps virus antibodies after a two-dose MMR vaccination. A nine-year follow-up. *Vaccine* 1995;13(16):1617-22.
118. Broliden K, Abreu ER, Arneborn M, Bottiger M. Immunity to mumps before and after MMR vaccination at 12 years of age in the first generation offered the two-dose immunization programme. *Vaccine* 1998;16(2-3):323-7.
119. Mink CM, O'Brien CH, Wassilak S, Deforest A, Meade BD. Isotype and antigen specificity of pertussis agglutinins following whole-cell pertussis vaccination and infection with *Bordetella pertussis*. *Infect Immun* 1994; 62: 1118-1120.
120. Hof S van den, Wallinga J, Widdowson M-A, Conyn-van Spaendonck MAE. Protecting the vaccinating population in the face of a measles epidemic: assessing the impact of adjusted vaccination schedules. *Epidemiol Infect* 2001/2, in press.
121. Centraal Bureau van Statistiek. *Statistisch Jaarboek 2001*. Voorburg/Heerlen, Nederland. 2001.

Bijlage 1 Verzendlijst

- 1 Directeur-Generaal Volksgezondheid
- 2 Hoofdinspecteur voor de Gezondheidszorg
- 3 Inspecteur Infectieziekten van de Inspectie voor de Gezondheidszorg
- 4 Inspecteur Public Health van de Inspectie voor de Gezondheidszorg
- 5 Hoofdinspecteur Preventieve en Curatieve Gezondheidszorg
- 6 Voorzitter van de Gezondheidsraad Den Haag
- 7 Commissie Vaccinatieprogramma 21e eeuw Den Haag
- 8-9 TNO Preventie en Gezondheid, divisie Jeugdgezondheidszorg
- 10-11 TNO Preventie en Gezondheid, divisie Immunologische en Infectieziekten
- 12 Dr. H.C. Rümke, Vaxinostics b.v. i.o., Vaccincentrum EUR
- 13 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
- 14 Directie RIVM
- 15 Directeur sector Volksgezondheid, Dr. G. Elzinga
- 16 Directeur sector Vaccins, Prof. dr. B.A.M. van der Zeijst
- 17 Directeur sector Public Health, Dr. D. Ruwaard
- 18-21 Sector Directeuren
- 22 Directeur SVM
- 23-25 Hoofd en afdelingshoofden LVO
- 26-27 Hoofd LCB
- 28-29 Hoofd LPO
- 30-31 Hoofd LVR
- 32-33 Hoofd KRZ
- 34-35 Hoofd CIE
- 36-37 Hoofd LIS
- 38-39 Hoofd LIO
- 40-57 Medisch Adviseurs Entadministraties
- 58 Landelijke Vereniging Entadministraties
- 59-63 Auteurs
- 64 SBD/Voorlichting en Public Relations
- 65 Bureau Rapportenregistratie
- 66 Bibliotheek RIVM
- 67-76 Bureau Rapportenbeheer
- 78-110 Reserve