

ESTUDO DE SEROCONVERSÃO PELO COMPONENTE SARAMPO DA VASPR* em adolescentes do concelho de sabrosa

GUILHERME GONÇALVES, FERNANDO TAVARES, HELENA REBELO DE ANDRADE

Serviço de Higiene e Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Porto.

Centro de Saúde das Taipas. Guimarães.

Serviço de Virologia. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Lisboa.

RESUMO

O Programa Nacional de Vacinação (PNV) português prevê, desde os fins de 1990, a administração de uma 2ª dose de VASPR entre os 11 e os 13 anos. O presente estudo pretendeu avaliar a duração de protecção conferida pela vacina anti-sarampo monovalente (VAS) e a eficácia da 2ª dose de VASPR. A VASPR (Triviraten Berna® com a estirpe Edmonston-Zagreb) foi administrada aos 38 participantes. Foram colhidas amostras pré e pós vacinais de sangue venoso. Foi usada uma técnica imuno-enzimática para doseamento de IgG anti-sarampo nos soros pré e pós vacinais. Participantes com valores de IgG anti-sarampo maiores ou iguais a 200 mUI/ml foram classificados como Imunes e os restantes como Não Imunes (ou susceptíveis). A média geométrica da concentração (MGC) de IgG anti-sarampo nos 38 soros pré-vacinais foi de 1401 mUI/ml. Antes da vacinação pela VASPR, estavam imunes 35 (92%) adolescentes. Apenas os dois não vacinados tinham história positiva de sarampo. Os 36 adolescentes vacinados apresentavam uma MGC de 1301 mUI/ml. Os níveis de IgG anti-sarampo não estavam correlacionados com a idade de vacinação pela VAS, nem com o tempo decorrido entre as duas doses de vacina anti-sarampo. A MGC de IgG anti-sarampo nos 38 soros pós-vacinais foi de 2879 mUI/ml. Todos os adolescentes ficaram imunes. Em 28 (74%) participantes, os níveis pós vacinais medidos eram superiores aos pré-vacinais. O aumento médio da concentração de IgG anti-sarampo após vacinação foi de 1082 mUI/ml. A eficácia da VASPR, para provocar seroconversão em susceptíveis e grandes aumentos de anticorpos em imunes é a favor do uso de uma segunda dose de VASPR no PNV.

SUMMARY

Study of Seroconversion by the Measles Component of MMR in Adolescents in the Sabrosa Area

The Portuguese national programme of vaccination has instituted a two-dose MMR vaccine schedule. The second dose of MMR (measles-mumps-rubella combined vaccine) is given at 11-13 years of age, for both sexes. This study was conducted to evaluate the duration of immunity of the monovalent measles vaccine, and the efficacy of a second dose given as MMR. MMR (Triviraten Berna® with the strain Edmonston-Zagreb) was given to the 38 participants. Blood samples were collected before and after vaccination. Thirty six participants had been vaccinated with measles monovalent vaccine during childhood. To measure anti-measles IgG (mIgG), an enzyme immunoassay was used. Participants were classified as "susceptible" or "immune", using 200 mIU/ml (milli international units per millilitre) as the threshold for "immune". Geometric mean concentration (GMC) of mIgG was 1401 mIU/ml in prevaccination sera (n=38). Thirty five (92%) of the adolescents were "immune". Only the two unvaccinated had a positive measles history. GMC in the sera of the 36 vaccinated participants was 1301 mIU/ml.

*Este estudo foi financiado pelo Projecto PBIC/T/SAU/1522/92 do Programa Específico para as Ciências da Saúde, JNICT e Ministério da Saúde.

Neither the time since measles vaccination nor age at vaccination were correlated with the levels of mIgG. After receiving MMR, all adolescents became "immune". GMC of mIgG was 2879 mIU/ml in postvaccination sera (n=38). In 28 (74%) participants, mIgG levels increased after receiving MMR. Mean concentration increase was 1082 mIU/ml. For measles, results support the use of a two-dose MMR vaccine schedule in Portugal.

INTRODUÇÃO

A questão do uso de duas doses de VASPR

Diversos países têm introduzido duas doses de vacina combinada contra o sarampo, a parotidite epidémica e a rubéola (VASPR) nos seus programas de vacinação, com o objectivo de eliminar as três doenças alvo¹⁻³. O primeiro país a fazê-lo foi a Suécia^{4,5}. No entanto, tem surgido alguma controvérsia quanto à necessidade do uso de duas doses de VASPR para eliminar o sarampo^{6,7}. Para além disso, é necessário fazer a avaliação da relação custo-benefício deste tipo de estratégia^{8,9}. Entretanto, considerações epidemiológicas e simulações com modelos matemáticos, têm mostrado que, mesmo que seja adoptada uma cronologia com duas doses de VASPR, é vital atingir níveis muito elevados de cobertura com a primeira dose¹⁰.

A questão do uso de duas doses de VASPR foi levantada por ser indesejável a acumulação de susceptíveis adultos quando apenas se usa uma dose na primeira infância⁵. Embora também pudesse desempenhar algum papel na eventual eliminação da papeira e da rubéola^{11,12} este aspecto seria particularmente relevante no caso do sarampo. A acumulação de susceptíveis ao sarampo com o uso de uma estratégia de dose única de VASPR poderia suceder por três razões: é extremamente difícil vacinar todos os indivíduos das coortes com idade recomendada; alguns vacinados não ficam imunes (falência vacinal primária); alguns indivíduos vacinados com sucesso tornam-se susceptíveis ao fim de alguns anos (falência vacinal secundária).

Têm sido referidos os seguintes argumentos favor do uso de estratégias com duas doses de VASPR:

1) A 2ª dose protegeria aqueles que não tinham recebido a 1ª dose dos componentes sarampo⁵ ou rubéola¹². De facto, não se trataria de uma 2ª dose mas sim de uma 2ª oportunidade para vacinar. Está implícito neste argumento que aqueles que não tomam a 1ª dose aderem a uma 2ª oportunidade, o que pode não se verificar⁷.

2) A 2ª dose protegeria os casos de falência vacinal (do componente anti-sarampo)¹³⁻¹⁵, quer primários quer secundários. No entanto, enquanto alguns estudos mostraram uma adequada seroconversão após a 2ª dose de vacina administrada a crianças que não seroconverte-

ram após a 1ª dose¹⁴ (falências vacinais primárias), o efeito de subida de níveis de anticorpos observada após vacinação foi transitório em indivíduos que tinham respondido a uma 1ª dose mas perderam subsequentemente anticorpos (falências vacinais secundárias)^{14,16}.

3) Finalmente, uma 2ª dose seria desejável para estimular (reforçar ou *boost*) a imunidade imediatamente antes de períodos de risco acrescido de contágio¹³ como sejam a frequência de escolas pelos grupos etários de 11 e 12 anos, o que parece ser apoiado por alguns achados de estudos epidemiológicos¹⁷ pois mesmo efeitos transitórios de aumento de anticorpos específicos parecem ser benéficos durante períodos de elevado risco de contágio.

As estratégias de controlo de sarampo, parotidite epidémica (papeira) e rubéola, em Portugal

Desde há muitos anos que os serviços de saúde portugueses ofereciam à população vacinação contra diversas doenças. No entanto, só em 1966, com o início do Programa Nacional de Vacinação (PNV)^{18,19}, começou uma estratégia global e sistemática, destinada a cobrir toda a população.

Em 1973, foi levada a cabo uma campanha nacional de vacinação contra o sarampo, na qual foram vacinadas, pela vacina monovalente (VAS), crianças entre 12 e 59 meses de idade que ainda não tinham tido sarampo. No ano seguinte a vacina anti-sarampo (VAS) foi introduzida na cronologia de rotina do PNV, aconselhada a crianças de ambos os sexos, entre os 12 e os 24 meses de idade²⁰. Em 1976, uma vacina monovalente contra a rubéola foi incluída no PNV, mas só para raparigas dos 11 aos 13 anos de idade. Mais tarde, foi sentido que o controlo do sarampo, da parotidite epidémica e da rubéola era um importante problema de Saúde Pública²¹ e, em 1987, a VASPR foi introduzida na cronologia recomendada do PNV aos 15 meses de idade²². Em Novembro de 1990, foi introduzida no PNV uma 2ª dose de VASPR para ambos os sexos do grupo etário dos 11 aos 13 anos com a intenção expressa de eliminar as doenças alvo²³. Desde Outubro de 1992²⁴ a VASPR administrada nos Centros de Saúde é a Triviraten Berna®, vacina viva para imunização activa contra o sarampo (estirpe Ed-

monston-Zagreb) a parotidite epidémica (estirpe *Rubini*) e a rubéola (estirpe *Wistar RA 27/3*).

Este estudo foi efectuado com a finalidade de conhecer a eficácia vacinal dos três componentes da VASPR, administrada a adolescentes, mas neste artigo são apenas relatados os resultados referentes ao componente anti-sarampo da VASPR.

Objectivos específicos do estudo:

- 1) Conhecer a prevalência actual de anticorpos anti-sarampo em adolescentes de Sabrosa;
- 2) Avaliar a duração de protecção conferida pela vacina monovalente contra o sarampo, administrada durante a infância;
- 3) Avaliar a eficácia da 2ª dose de vacina anti-sarampo, administrada na forma combinada da VASPR a adolescentes.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Centro de Saúde de Sabrosa, da Sub-Região de Saúde de Vila Real. Eram elegíveis para o estudo os adolescentes nascidos em 1981, 1982 e 1983, constantes do ficheiro de vacinação e que ainda não tivessem recebido nenhuma dose de VASPR.

Após convocatória postal, obteve-se o consentimento informado dos encarregados de educação. Nenhum recusou participar no estudo.

A VASPR (Triviraten Berna®) foi administrada aos 38 participantes, entre 16/03/94 e 21/04/94, após colheita por punção venosa de cerca de 10 ml de sangue. Foi colhida uma segunda amostra de sangue a todos os indivíduos entre 28 e 57 dias após a administração da vacina (Quadro I). O sangue foi deixado coagular à temperatura ambiente. Os soros foram separados e congelados a -20°C até à data da realização das provas laboratoriais que foram efectuadas no INSA (Lisboa).

Foi usada uma técnica imuno-enzimática (14458 Measles Virus IgG ELISA, Diagnostica, Merck) para doseamento de IgG anti-sarampo nos soros pré e pós vacinais dos 38 participantes. Foi utilizado um soro padrão²⁵ que permitiu a obtenção dos resultados em mili unidades internacionais por mililitro (mUI/ml).

Quadro I - Intervalo de tempo entre a administração da VASPR e acolheita da segunda amostra de sangue

Nº Semanas Completas	Nº Participantes	%
4	6	15,9
5	15	39,4
6	15	39,4
8	2	5,3
Total	38	100

Participantes com valores de IgG anti-sarampo maiores ou iguais a 200 mUI/ml foram classificados como *Imunes* e com valores inferiores a 200 mUI/ml foram classificados como *Não Imunes*²⁶ (ou susceptíveis).

Foi feito um questionário em que os encarregados de educação respondiam se os adolescentes tinham tido sarampo. Foi consultada a ficha de vacinação de todos os participantes para determinar o estado vacinal e a data de vacinação pela vacina monovalente contra o sarampo (VAS).

No processamento e análise dos dados foi usado o programa Epi Info, Versão 6²⁷. Para efeitos de análise estatística, foi feita transformação logarítmica dos valores de mUI/ml de IgG anti-sarampo para ser satisfeito o critério de normalidade das distribuições. Portanto, os valores de concentração de IgG anti-sarampo usados correspondem à concentração geométrica. Foram usados modelos de regressão linear simples para avaliar se, idade de vacinação pela VAS e tempo decorrido entre essa vacinação e a administração da VASPR durante este estudo (medidos em dias), estavam correlacionados com a concentração geométrica de IgG anti-sarampo.

RESULTADOS

Características gerais da amostra

Preenchiam os critérios de inclusão 37 jovens nascidos em 1983 e 1 nascido em 1982. Os restantes adolescentes nascidos em 1982 e todos os nascidos em 1981 tinham já recebido uma dose de VASPR na idade recomendada pelo PNV. Havia 8 raparigas e 30 rapazes nos 38 jovens seleccionados.

Apenas dois dos adolescentes não tinham sido previamente vacinados pela vacina anti-sarampo monovalente (VAS). Os vacinados tinham recebido a vacina entre os 12 e 75 meses completos de idade (Quadro II). A maioria dos encarregados de educação referiu que os participantes não tinham tido sarampo (Quadro III).

Níveis pré-vacinais de IgG anti-sarampo

A média geométrica da concentração (MGC) de IgG anti-sarampo nos 38 soros pré-vacinais foi de 1401

Quadro II - Idade de administração da vacina monovalente contra o sarampo

Idade de vacinação em anos completos	Nº de participantes	%
1	28	77,8
2	4	11,1
5	3	8,3
6	1	2,8
Total	36	100

Quadro III - Respostas do Pais dos adolescentes à perguntas sobre história prévia de sarampo

Respostas	Teve sarampo?	
	Nº	%
Sim	2	5,3
Não	34	89,4
Não se lembra ou não sabe	2	5,3
Total	38	100

mUI/ml (Quadro IV), com valores entre 12 e 8668 mUI/ml. Estavam imunes 35 (92%) adolescentes (200 mUI/ml ou mais) (Quadro V). Apenas os dois adolescentes não vacinados tinham história positiva de sarampo (Quadro III) e apresentavam níveis de IgG anti-sarampo de 4386 e 6319 mUI/ml. Os 36 adolescentes vacinados apresentavam uma MGC de 1301 mUI/ml. A

Quadro IV - Médias geométricas de concentração (MGC) de IgG anti-sarampo nos 38 soros pré-vacinais e respectivos 38 soros pós vacinais, e concentrações correspondentes ao intervalo interquartil (percentis 25% a 75%)

Soros	Concentrações de IgG anti-sarampo em mUI/ml		
	MGC	Percentil 25%	Percentil 75%
Pré-vacinais	1401	680	4000
Pós-vacinais	2879	1634	5136

Quadro V - Estado imunitário contra o sarampo antes e depois da vacinação pela VASPR no presente estudo

Pré vacinal	Pós vacinal		Total
	Não Imune	Imune	
Não imune	0	3	3
Imune	0	35	35
Total	0	38	38

MGC era de 613 mUI/ml nas raparigas e de 1744 mUI/ml nos rapazes; esta diferença entre sexos encontrava-se no limiar da significância estatística tradicional ($P=0,0507$). Os níveis de IgG anti-sarampo não estavam correlacionados com a idade de vacinação pela VAS, nem com o tempo decorrido entre essa vacinação e a administração da VASPR durante este estudo.

Níveis pós-vacinais de IgG anti-sarampo

A média geométrica da concentração de IgG anti-sarampo nos 38 soros pós-vacinais foi de 2879 mUI/ml (Quadro IV), com valores entre 920 e 10308 mUI/ml. Todos os adolescentes ficaram imunes (200 mUI/ml ou mais), incluindo os três *não imunes* antes da vacinação (Quadro V). Em 28 (74%) participantes, os níveis pós vacinais medidos eram superiores aos pré-vacinais,

enquanto nos restantes 10 adolescentes, os teores de anticorpos eram ligeiramente menores no soro pós-vacinal do que no soro pré-vacinal. Estes dez adolescentes tinham elevados níveis de IgG anti-sarampo pré-vacinal (MGC=3285 mUI/ml). O aumento médio da concentração de IgG anti-sarampo dos soros pré-vacinais para os soros pós-vacinais respectivos foi de 1082 mUI/ml ($P=0,0002$ com IC 95%: 620; 1544). Os três adolescentes não imunes antes da vacinação pela VASPR apresentavam níveis pós vacinais de 920, 1590 e 2310 mUI/ml de IgG anti-sarampo.

DISCUSSÃO

A técnica usada para medição do nível de IgG anti-sarampo em cada soro é válida e precisa. O uso de um soro padrão devidamente calibrado²⁵ contribui para essa validade e precisão assim como para a comparabilidade com outros estudos⁸. Por outro lado, um estudo comparativo²⁸ tinha mostrado uma boa concordância entre a técnica usada e a técnica de referência (neutralização em placa) para doseamento de IgG anti-sarampo. Não foi possível efectuar doseamentos de IgM anti-sarampo para distinguir as respostas imunitárias primárias das secundárias. Mas o tempo decorrido entre a vacinação e a colheita da segunda amostra de sangue (Quadro I) corresponde a uma fase de *planalto*^{8,35} nos níveis de IgG pós vacinal (antes de ocorrer um declínio significativo) independentemente de ter ocorrido uma resposta imunitária de tipo primário ou secundário.

Os dados sobre estado vacinal e data de vacinação são bastante fiáveis pois resultaram da consulta de registos escritos. Apesar do potencial viés de memória, entendemos que a circunstância de o questionário ser dirigido aos pais e não ao próprio favorece a validade da informação sobre história prévia de sarampo. Aachamos portanto que a validade das variáveis dependentes e independentes deste estudo suporta a validade interna do mesmo.

A principal limitação deste estudo é o seu reduzido tamanho amostral, que o torna mais susceptível à influência do acaso. Por isso, qualquer estimativa extrapolada a partir deste estudo será de reduzida precisão (intervalos de confiança muito amplos). Faziam parte da amostra estudada, todos os nascidos em 1983, inscritos no ficheiro de vacinação (FV). O conhecimento da realidade local e do funcionamento do FV leva-nos a concluir que é improvável a existência de jovens residentes em Sabrosa, não inscritos no FV. Portanto, o estudo é válido para os residentes deste grupo etário. Por outro lado, a população estudada não é considerada representativa da

população portuguesa do mesmo grupo etário. Assim, as extrapolações para a população portuguesa deverão ser feitas com alguma cautela.

Não sabemos se os níveis de IgG anti-sarampo dos três não imunes resultaram de falências vacinais primárias ou secundárias, mas esta proporção de vacinados susceptíveis é compatível com os achados de outros estudos estrangeiros²⁹⁻³¹ e portugueses²⁸.

Os níveis pré-vacinais encontrados foram superiores aos de um grupo de puérperas vacinadas, nascidas depois de 1967, e semelhantes aos de um grupo de puérperas não vacinadas, nascidas depois de 1967 (Quadro VI)²⁸ que muito provavelmente tiveram sarampo. Talvez estas discrepâncias com outros resultados nacionais²⁸, se devam à idade mais jovem dos participantes neste estudo e/ou à estimulação antigénica pelo vírus selvagem³². Quer neste estudo, quer no outro realizado anteriormente²⁸, os níveis de IgG anti-sarampo não dependiam

Quadro VI - Comparação das concentrações de IgG anti-sarampo, consoante o estado vacinal, em dois estados diferentes

Ano de nascimento	Estado vacinal	Nº	MGC (IC 95%) em mUI/ml
1982 e 1983 (a)	Vacinados	36	1301 (821; 2065)
Depois de 1967 (b)	Vacinados	79	730 (602; 884)
Depois de 1967 (b)	Não	401	1379 (1241; 1531)

Legenda: MGC = Média geométrica da concentração; (a) Presente estudo; soros colhidos antes da vacinação pela VASPR; (b) Estudo com mulheres puérperas²⁸

do tempo decorrido desde a vacinação (VAS na infância), mas os grupos etários eram relativamente homogêneos em cada estudo o que pode ter impossibilitado a detecção de diferenças significativas dentro de cada estudo. As mulheres puérperas vacinadas, mais velhas que os adolescentes aqui estudados, teriam valores de IgG anti-sarampo mais baixos por declínio de anticorpos no decorrer dos anos, hipótese que tem sido referido por outros autores⁸ especialmente nas situações de alta cobertura vacinal com diminuição da circulação do vírus selvagem⁸.

Os níveis mais elevados de IgG anti-sarampo nos soros dos não-vacinados, com história positiva de sarampo, relativamente aos vacinados (Quadro VI), são biologicamente plausíveis e coerentes com os achados da literatura^{28,32}.

A não associação entre os níveis de IgG anti-sarampo e a idade de vacinação deve-se provavelmente à inexistência de vacinados antes do ano de idade, quando é

mais provável que a persistência de anticorpos maternos interfira com a seroconversão induzida pela vacina anti-sarampo³³.

Os três adolescentes não imunes na fase pré-VASPR, tornaram-se imunes após vacinação, um número pequeno para permitir extrapolações precisas. Mas a maior parte dos já imunes apresentaram aumentos nos níveis de anticorpos, o que é sugestivo de uma resposta anamnésica ou secundária³⁴. De qualquer forma, as consequências do uso de uma 2ª dose de vacina anti-sarampo foram, ou a imunização de susceptíveis, ou grandes aumentos de nível de anticorpos nos já imunes. Muito provavelmente isto resulta numa melhoria da imunidade contra o sarampo neste grupo etário. Este estudo parece portanto confirmar a eficácia do componente anti-sarampo (estirpe Edmonston-Zagreb) da VASPR usada.

Os resultados deste estudo apoiam o ponto de vista dos que defendem uma estratégia de duas doses de vacina anti-sarampo para a sua eliminação (e eventual erradicação mundial). Em Portugal, são necessários mais estudos de seroconversão pela 2ª dose de VASPR, usada em condições de rotina, com amostras representativas da população portuguesa e tamanhos amostrais superiores ao usado neste estudo e o doseamento concomitante de IgM anti-sarampo. Além disso, se surgirem novos surtos de sarampo em escolas preparatórias e secundárias (e até na Universidade) seria importante avaliar a eficácia clínica de duas doses de vacina anti-sarampo em comparação com a dose única.

AGRADECIMENTOS

Aos adolescentes de Sabrosa e seus encarregados de educação pela colaboração neste estudo.

Ao Director e às enfermeiras do Centro de Saúde de Sabrosa pela sua colaboração.

À Srª D. Maria Luísa Abreu pelo trabalho inicial de separação e congelação dos soros.

BIBLIOGRAFIA

1. PELTOLA H, HEINONEN O P: Frequency of true adverse reactions to measles-mumps-rubella vaccine: A double-blind placebo controlled trial in twins. *Lancet* 1986; 1: 939-942.
2. BÖTTIGER M, CHRISTENSON B, ROMANUS V, TARANGER J, STARNDILL A: Swedish experience of two dose vaccination programme aiming at eliminating measles, mumps, and rubella. *Br Med J* 1987; 295: 1264-1267.
3. CDC. Measles prevention: recommendations of the immunization practices advisory committee (ACIP). *MMWR* 1989; 38/No.S-9: 1-18.
4. CHRISTENSON B, BÖTTIGER 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: 326-329.
5. RABO E, TARANGER J: Scandinavian model for eliminating

- measles, mumps, and rubella. *Br Med J* 1984; 289: 1402-1404.
6. CARTER H, GORMAN D: Measles, mumps, and rubella vaccine: time for a two stage policy? *BMJ* 1992; 304: 637.
 7. MILLER E, NOKES D J, ANDERSON R M: Measles, mumps, and rubella vaccination. *BMJ* 1992; 304: 1440-1441.
 8. CUTTS F.: The immunological basis for immunization. Module 7: Measles. Document WHP/EPI/GEN/93.17 Geneva: World Health Organization, 1993.
 9. EPI (Expanded Programme on Immunization). Measles control in the 1990s: plan of action for global measles control. WHO/EPI/GEN/92.3. World Health Organization, Geneva 1992.
 10. WILLIAMS BG, CUTTS FT, DYE C: Measles vaccination policy. *Epidemiol Inf* 1995;115:603-621.
 11. ANDERSON R M, MAY R M: Two-stage vaccination programme against rubella. *Lancet* 1983; 2: 1416-1417.
 12. KNOX E G: Strategy for rubella vaccination. *Int J Epidemiol* 1980; 9: 13-23.
 13. AAP (American Academy of Pediatrics). Committee on Infectious Diseases. Measles: reassessment of the current immunization policy. *Pediatrics* 1989; 84: 1110-1113.
 14. BASS J W, HALSTEAD S B, FISCHER G W et al: Booster vaccination with further live attenuated measles vaccine. *JAMA* 1976; 235: 31-34.
 15. MARKOWITZ L E, ALBRECHT P, ORENSTEIN W A et al: Persistence of measles antibody after revaccination. *J Infect Dis* 1992; 166: 205-208.
 16. DESEDA-TOUS J, CHERRY J D, SPENCER M J et al: Measles revaccination. Persistence and degree of antibody titer by type of immune response. *Am J Dis Child* 1978; 132: 287-290.
 17. HUTCHINS S S, MARKOWITZ L E, MEAD P ET al: A school-based measles outbreak: the effect of a selective revaccination policy and risk factors for vaccine failure. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 157-168.
 18. COELHO AM: Vacinas e fundamentos epidemiológicos da sua aplicação. *O Médico* 1970;LIV:101.
 19. ZELLER ML, SOARES AB, SAMPÃO A, CAEIRO FM, MOTTA LC: Programa Nacional de Vacinação (P.N.V.). *Saúde Pública* 1968;XV(2):7-133.
 20. (MS) Ministério da Saúde, Portugal. Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários. Programa de vacinação contra o sarampo. Circular Normativa N? 12/85, 28/03/1985.
 21. ABRANTES AV: Programa nacional de vacinação - a adopção de uma vacina combinada contra o sarampo, a rubéola e a parotidite epidémica. *Revista Portuguesa de Saúde Pública* 1985;3:7-18.
 22. (MS) Ministério da Saúde, Portugal. Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários. Programa de vacinação contra a parotidite epidémica. Norma de Serviço N? 5/DTP, 12/02/1987.
 23. (MS) Ministério da Saúde, Portugal. Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários. Normas de vacinação do programa nacional de vacinação. Circular Normativa N? 10/DTF, 04/09/1990.
 24. (MS) Ministério da Saúde, Portugal. Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários. Nota Informativa, 28/10/92.
 25. GUILHERME G, ANDRADE H, MAIA J: Calibração de um soro de referência com IgG anti-sarampo. Soro Alexandre Herculano (AH). *Arquivos de Medicina* 1995;9:418-420.
 26. CHEN RT, MARKOWITZ LE, ALBRECHT P et al: Measles antibody: reevaluation of protective titers. *J Infect Dis* 1990;162:1036-1042.
 27. DEAN AG, DEAN JA, COULOMBIER D et al: Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, 1994.
 28. GONÇALVES G: Passive immunity against measles. PhD Thesis, London University, 1996.
 29. DHAI B, ZHIHUI C, QICHANG L et al: Duration of immunity following immunization with live measles vaccine: 15 years of observation in Zhejiang Province, China. *Bull WHO* 1991; 69: 415-423.
 30. WITTLER RR, VEIT BC, MCINTYRE S, SCHYDLOWER M: Measles revaccination response in a school-age population. *Pediatrics* 1991; 88(5): 1024-1030.
 31. WATSON JC, PEARSON JA, MARKOWITZ LE et al: An evaluation of measles revaccination among school-entry-aged children. *Pediatrics* 1996; 97(5): 613-8.
 32. KRUGMAN S: Further attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 477-481.
 33. ALBRECHT P, ENNIS FA, SALTZMAN EJ, KRUGMAN S: Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months: mechanism of measles vaccine failure. *Pediatrics* 1977; 91: 715-718.
 34. VEIT BC, SCHYDLOWER M, MCINTYRE S et al: Response to measles revaccination in a highly immunized military dependent adolescent population. *Journal of Adolescent Health* 1991; 12: 273-278.
 35. GALAZKA AM: The immunological basis for immunization. Module 1: General Immunology. Document WHP/EPI/GEN/93.11 Geneva: World Health Organiz., 1993.