

RIVM rapport 000002 001

**BMR vaccin bij 14 maanden oude kinderen,
intramusculaire versus subcutane toediening**

AB Laféber, FRM van der Klis, AHJO Marzec, J Labadie,
R van Ommen, TG Strieder, GAM Berbers

september 2001

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie voor de
Gezondheidszorg (IGZ), in het kader van project nr V/000002/01/AA, Immunogeniciteit en
bijwerkingen BMR-vaccin.

Abstract Nederlands

In deze studie is de gebruikelijke en in de bijsluiter geadviseerde subcutane toedieningsroute van het BMR vaccin vergeleken met intramusculaire toediening, zowel wat betreft veiligheid als immunogeniciteit. De studie populatie bestond uit 14 maanden oude kinderen uit Amersfoort of Utrecht die in aanmerking kwamen voor hun eerste BMR vaccinatie. De deelnemers (N=67) werden 'at random' verdeeld over twee onderzoeksgroepen gebaseerd op de toedieningswijze van het vaccin (intramusculair of subcutaan).

Pijn direct na vaccinatie was de meest gemelde lokale reactie. Heftige pijn kwam wat vaker voor na subcutane injectie. Het aantal deelnemers is echter te klein om dit statistisch te onderbouwen.

Bijwerkingen door de infectieverschijnselen, die door het vaccinvirus veroorzaakt kunnen worden, treden met name op in de tweede week na de BMR vaccinatie. Ook in dit onderzoek was een piek in de algemene gezondheidsklachten te zien in de tweede week na vaccinatie. Deze klachten waren onafhankelijk van de toedieningsroute van het vaccin. Het is echter moeilijk te bepalen welke klachten een direct gevolg van de BMR vaccinatie zijn, omdat deze vaak niet te onderscheiden zijn van symptomen van ziektes die bij 14 maanden oude kinderen veel voorkomen.

Zowel subcutaan als intramusculair toegediend BMR vaccin wekte een goede immuunrespons op. De hoogte van ELISA titers tegen bof en rubella lijkt onafhankelijk van de toedieningsroute van het vaccin. De antistoffen tegen mazelen lagen na subcutane vaccinatie op een iets hoger niveau dan na intramusculaire vaccinatie, zowel voor antistoffen gemeten met ELISA als met de virusneutralisatie assay. Dit verschil in titer was echter niet statistisch significant. De toedieningsroute was niet van invloed op de percentages kinderen met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau tegen zowel bof (92%), mazelen (100%) als rubella (100%).

Dit onderzoek toont aan dat er geen reden voor revaccinatie is, wanneer het BMR vaccin per ongeluk intramusculair toegediend is. In de toekomst kan mogelijk in de bijsluiter van het RIVM BMR vaccin opgenomen worden dat het vaccin zowel subcutaan als intramusculair toegediend mag worden.

Abstract English

Intramuscular and subcutaneous administration of the MMR vaccine compared in 14-month-old children

In this study we compared the recommended subcutaneous administration of the RIVM MMR vaccine with the intramuscular administration for both safety and immunogenicity. Study subjects were 14-month-old children living in Amersfoort or Utrecht and eligible for their first MMR vaccination. The participants (N=67) were assigned 'at random' to one of the study groups according to route of administration of the vaccine (intramuscular or subcutaneous).

Pain immediately after vaccination was the most reported adverse reaction. Serious pain was more often reported after subcutaneous vaccination. However, because of the low number of participants in this study, pain serves only as an indication since statistical backing is lacking. Adverse reactions due to infection by the vaccine virus are normally seen in the second week after administering the MMR vaccine. In this study we also found a peak in the general health complaints in the second week after vaccination. The route of the vaccine administration did not influence these complaints. It is difficult to assess which complaints are directly related to the MMR vaccine, because they often can not be distinguished from symptoms of common diseases in 14-month-old children.

Both subcutaneous and intramuscular administered MMR vaccine induced a good immune response. The levels of the ELISA antibodies against mumps and rubella after subcutaneous vaccination are the same as those after intramuscular vaccination. The titres against measles were somewhat higher after subcutaneous vaccination compared to those after intramuscular injection, both for ELISA antibodies and antibodies measured with the virus neutralisation assay. However, this difference in antibody level was not statistically significant. Besides, the route of administration of the vaccine had no effect on the percentages of children producing antibodies above the level considered as protective for mumps, measles and rubella (92%, 100% and 100%, respectively).

In conclusion, inadvertent intramuscular administration of MMR vaccine is not reason enough for revaccination. In future, adjusting the instructions for use of the RIVM MMR vaccine may be considered so that both subcutaneous and intramuscular vaccination will be allowed.

Voorwoord

De auteurs willen bij deze iedereen bedanken die een bijdrage aan dit onderzoek geleverd heeft. In het bijzonder gaat onze dank uit naar:

- Alle deelnemende kinderen en hun ouders.
- Studie verpleegkundigen en artsen voor de bloedafnames, vaccinaties en registreren van ongewenste reacties.
- Alle niet genoemde leden van de deelnemende organisaties die op de één of andere manier geholpen hebben.
- Alle collega's die deelgenomen hebben aan de discussie van deze studie.

Deelnemende organisaties en onderzoekers:

Utrecht	Stichting Thuiszorg Stad Utrecht (STSU), Ouder- en Kindzorg
Amersfoort	Stichting Thuiszorg Eemland (STE), Ouder- en Kindzorg
Bilthoven	RIVM, Laboratorium voor Veldonderzoek Vaccins (LVO)

Inhoud

Samenvatting 7

Summary 8

Lijst van afkortingen en definities 9

1. Inleiding 11

1.1 Achtergrond 11

1.1.1 Ziektebeeld 11

1.1.2 Vaccinatie 11

1.2 Reden van onderzoek 12

2. Materiaal en methoden 13

2.1 Vaccin 13

2.2 Deelnemers 13

2.3 Studieopzet en -handelingen 14

2.3.1 Vaccinatie 14

2.3.2 Bloedafname 14

2.3.3 Observatie bijwerkingen 15

2.4 Antistofbepalingen 15

2.4.1 ELISA 15

2.4.2 Virusneutralisatie assay 16

2.5 Dataverwerking en data-analyse 17

3. Resultaten 19

3.1 Studie populatie 19

3.2 Bijwerkingen 19

3.2.1 Lokale reacties 19

3.2.2 Algemene reacties 20

3.3 Immunogeniciteit 21

3.3.1 ELISA 21

3.3.2 Virusneutralisatie 23

4. Discussie 25

4.1 Bijwerkingen 25

4.1.1 Lokale reacties 25

4.1.2 Algemene verschijnselen 26

4.2 Antistofrespons 27

5. Conclusies 29

Literatuur 30

GCP verklaring 34

Appendix 1 Verzendlijst 35

Appendix 2 Tables 37

Appendix 3 Bijsluiter BMR vaccin 45

Appendix 4 Line listing 47

Samenvatting

Achtergrond

BMR vaccinatie kan gedurende enige tijd een branderig en stekend gevoel geven op de plaats van enting. De indruk bestaat dat intramusculaire toediening van het vaccin minder pijnlijk is, waardoor het ongemak van de injectie verminderd kan worden. Het doel van deze studie is enerzijds onderzoeken of intramusculaire injectie van het BMR vaccin inderdaad minder pijnlijk is dan subcutane toediening, en anderzijds nagaan of beide toedieningswijzen een gelijke antistofrespons opwekken. Daarnaast is in het kader van de postmarketing surveillance onderzocht of de immunogeniciteit van het BMR vaccin nog steeds op hetzelfde niveau zit en dus gehandhaafd blijft.

Methode

De deelnemers aan dit onderzoek zijn afkomstig uit de populatie 14 maanden oude kinderen uit Utrecht of Amersfoort die in aanmerking kwamen voor hun eerste BMR vaccinatie. Zij zijn 'at random' ingedeeld in één van de twee onderzoeksgroepen (intramusculaire [IM] of subcutane [SC] vaccinatie). Aan de ouders of verzorgers van de deelnemers werd gevraagd gedurende twee weken vóór en zes weken na vaccinatie een dagboekje over de gezondheid van hun kind bij te houden. Bloed voor antistofbepalingen werd 0-14 dagen vóór en 10-16 weken na vaccinatie afgenomen. Antistoffen tegen bof (stam Jeryl Lynn), mazelen (stam Moraten) en rubella virus (stam RA27/3) in (serum)monsters zijn bepaald met een indirecte ELISA. Daarnaast zijn neutraliserende antistoffen tegen mazelen bepaald met een virus neutralisatie assay.

Resultaten

Lokale reacties, voornamelijk pijn (50%), zijn alleen op de dag van vaccinatie gemeld.

Heftige pijn werd iets vaker gemeld na subcutane vaccinatie, maar dit verschil tussen de onderzoeksgroepen is niet statistisch significant.

Bijwerkingen door de infectieverschijnselen, die het vaccinvirus kan veroorzaken, treden over het algemeen met name op in de tweede week na de BMR vaccinatie. Ook in deze studie zijn in de tweede week de meeste algemene klachten gemeld, met name hangerigheid (45%), koorts (38,6-40,1°C; 21%) en huidverschijnselen (11%). Er was geen verschil tussen de beide onderzoeksgroepen voor wat betreft het soort en aantal gerapporteerde algemene verschijnselen. Het is echter erg moeilijk vast te stellen welke gezondheidsklachten een direct gevolg zijn van het BMR vaccin. Uit de observatie gedurende twee weken vóór vaccinatie blijkt namelijk dat een groot deel van de 14 maanden oude kinderen al één of meerdere gezondheidsklachten had.

Discussie

Subcutane toediening van het BMR vaccin leek meer pijn te veroorzaken dan intramusculaire vaccinatie, maar het aantal deelnemers in deze studie is te klein om dit statistisch te onderbouwen. Beide toedieningswijzen leidden tot een goede immuunrespons. De ELISA titers tegen bof en rubella waren na subcutane vaccinatie nagenoeg even hoog als die na intramusculaire vaccinatie. Subcutane vaccinatie leidde tot een iets hoger niveau van antistoffen tegen mazelen, zowel gemeten met ELISA als met de virusneutralisatie assay. Het verschil in titer tussen beide toedieningswijzen was echter niet statistisch significant.

Belangrijk is de constatering dat het percentage kinderen met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau voor zowel bof, mazelen als rubella onafhankelijk was van de toedieningsroute van het vaccin (resp. 92%, 100% en 100%).

Uit dit onderzoek blijkt revaccinatie niet nodig is, wanneer het BMR vaccin per ongeluk intramusculair toegediend is. Mogelijk kan in de toekomst in de bijsluiters van het RIVM BMR vaccin opgenomen worden dat het vaccin zowel subcutaan als intramusculair ingespoten mag worden.

Summary

Background

MMR vaccine may cause burning or stinging at the injection site for a short time. Since intramuscular administration of the vaccine is thought to be less painful, this could decrease the discomfort of the injection. The aim of this study was to investigate if intramuscular vaccination is indeed less painful, but also to verify if both injections would induce the same immune response. For post-marketing surveillance we verified the immune response of MMR as remaining at the same level and therefore maintained.

Methods

Study participants were 14-month-old children living in Amersfoort or Utrecht who were eligible for their first MMR vaccination. They were assigned 'at random' to one of the two study groups (intramuscular [IM] or subcutaneous [SC] vaccination). During the two weeks before and six weeks after vaccination, parents were asked to fill in a diary concerning their child's health. Blood for antibody assays was taken just before and 10-16 weeks after vaccination. Antibodies against mumps (strain Jeryl Lynn), measles (strain Moraten) and rubella viruses (strain RA27/3) were assessed by indirect ELISA. Neutralising antibodies against measles were also assessed using the neutralisation assay.

Results

Local reactions, mainly pain (50%), were only reported on the day of vaccination. Serious pain was more often reported after subcutaneous vaccination, but this is not statistically significant. In general, most adverse reactions due to infection by the vaccine virus are seen in the second week after injection. In our study general symptoms were reported in the second week after vaccination, particularly drowsiness (45%), fever (38.6-40.1°C, 21%) and cutaneous symptoms (11%). There was no difference between both study groups with respect to the kind and number of complaints.

Many of the participants appeared to have one or more health complaints during the two weeks prior to vaccination, making it difficult to assess which complaints were directly related to the MMR vaccine.

Discussion

Subcutaneous injection of the MMR vaccine seemed to be more painful when compared to intramuscular vaccination, but due to small numbers of participants statistical significance can not be proved. Both injections induced a good immune response. The levels of ELISA antibodies against mumps and rubella after subcutaneous injection are the same as those after intramuscular vaccination. Subcutaneous injection induced higher levels against measles, but this difference was not statistically significant. This was observed both for ELISA antibodies and antibodies measured with the virus neutralisation assay. However, the route of administration of the vaccine had no effect on the percentages of children with antibodies above the level considered as protective for mumps, measles and rubella (92%, 100% and 100%, respectively).

This study shows that inadvertent intramuscular administration of MMR vaccine is no reason for revaccination. Adjusting the instructions for use of the RIVM MMR vaccine may be considered so that both subcutaneous and intramuscular vaccination will be allowed.

Lijst van afkortingen en definities

BMR	gecombineerd Bof, Mazelen en Rubella vaccin
CB	ConsultatieBureau
CRF	Case Report Form
CRS	Congenitaal Rubella Syndroom
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GCP	Good Clinical Practice
GOSP	Gelatine O-medium Sorbitol Phosphate
GMT	Geometric Mean Titre
IM	IntraMusculaire toediening BMR vaccin
JGZ	JeugdGezondheidsZorg
KRZ	Bureau Kwaliteits- en Registratiezaken (RIVM)
LVO	Laboratorium voor Veldonderzoek Vaccins (RIVM)
MMR	Mumps, Measles and Rubella vaccine
OL	OnderzoeksLocatie
PEA	Provinciale EntAdministratie
RVP	RijksVaccinatieProgramma
RIVM	Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu
SC	SubCutane toediening BMR vaccin
SOP	Standard Operating Procedure
UTN	Uniek Trial Nummer
VN	VirusNeutralisatie assay

1. Inleiding

1.1 Achtergrond

1.1.1 Ziektebeeld

Bof is een acute virale ziekte waarbij is de pijnlijke vergroting van de speekselklieren (parotitis), meestal gepaard gaand met milde koorts, het opmerkelijkst. In 20-40% van de gevallen verloopt de ziekte echter sub-klinisch⁽¹⁾. Over het algemeen ontstaat de zwelling van de parotis snel en verdwijnt deze weer binnen 3 tot 7 dagen. De meest voorkomende complicatie van bofinfectie bij kinderen is aseptische meningitis (tot 10%). Een veel minder voorkomende maar ook veel ernstigere complicatie is encefalitis⁽²⁾. Complicaties die met name bij infectie op oudere leeftijd kunnen ontstaan zijn pancreatitis, epydidymo-orchitis en oöphoritis⁽¹⁻⁴⁾.

Mazelen is een zeer besmettelijke ziekte met huiduitslag en vaak hoge koorts, waarvan kinderen behoorlijk ziek kunnen zijn. Complicaties, zoals otitis media, tracheobronchitis en bronchopneumonie, komen met name voor bij jonge kinderen in het eerste levensjaar en bij volwassenen. Zij kunnen veroorzaakt worden door het virus zelf en/of door een secundaire bacteriële besmetting door bijvoorbeeld pneumokokken, streptokokken en stafylokokken⁽³⁻⁵⁾. Bij ongeveer één op de duizend patiënten kan zich na het doormaken van een mazeleninfectie een encefalitis ontwikkelen. De mortaliteit hiervan is ongeveer 10%^(3;4;5).

Rubella (rode hond) is een besmettelijke virale infectie die soms met atypische verschijnselen of zelfs sub-klinisch kan verlopen. Infectie kan bij oudere kinderen en volwassenen (voornamelijk bij vrouwen) ernstig verlopen. Tijdens de zwangerschap kan infectie leiden tot abortus, doodgeboorte of ernstige congenitale afwijkingen bij de foetus, bekend als het congenitale rubella syndroom (CRS). CRS leidt tot een complex van symptomen zoals gehoorstoornissen, hart- en vaatafwijkingen, mentale retardatie of oogafwijkingen^(3;4). Bof, mazelen en rubella waren algemeen voorkomende kinderziektes voor de invoer van vaccinaties hiertegen.

1.1.2 Vaccinatie

Tussen 1974 en 1987 werden elfjarige meisjes in het kader van het Nederlandse Rijksvaccinatieprogramma (RVP) gevaccineerd tegen rubella^(6;7). In 1976 werd vaccinatie tegen mazelen voor zowel jongens als meisjes op de leeftijd van 14 maanden aan het RVP toegevoegd⁽⁸⁾. In 1987 werden deze vaccinaties vervangen en uitgebreid door een gecombineerde vaccinatie tegen bof, mazelen en rubella (BMR). Deze enting wordt herhaald op negenjarige leeftijd⁽⁹⁾.

De invoer van rubella vaccinatie voor elfjarige meisjes was vooral bedoeld als individuele bescherming van vrouwen in de vruchtbare leeftijd. Ondanks vaccinatie werd nog elke 2 tot 4 jaar een epidemische verheffing gezien en werden nog circa 12 kinderen per jaar met CRS in het ziekenhuis opgenomen^(10;11). Met de invoer van het BMR vaccin voor zowel jongens als meisjes werd naast individuele bescherming ook getracht de circulatie van het virus binnen de Nederlandse bevolking te verhinderen. Dit heeft geleid tot een daling van het aantal aangegeven rubella gevallen, hoewel het effect op het aantal CRS-gevallen onduidelijk is. CRS is wel een aangifteplichtige ziekte, maar deze specifieke diagnose kan niet onderscheiden worden van de aangiften van rubella^(3;10).

Vaccinatie tegen mazelen, met name ingevoerd om de genoemde complicaties te voorkomen, heeft geleid tot een sterke afname van het aantal gerapporteerde mazelen gevallen^(10;12). Jaarlijks worden echter nog enkele tientallen gevallen gemeld en van tijd tot tijd zijn er epidemieën die zich vooral voordoen in gemeenschappen met een lage vaccinatiegraad. Bij

de meest recente epidemie in Nederland (1999-2000), waarbij 3.300 mazelen gevallen zijn gemeld, bleek 95% niet gevaccineerd te zijn. Tijdens deze epidemie waren er drie sterfgevallen en hadden 519 patiënten last van één of meerdere complicaties⁽¹³⁾.

Vaccinatie tegen bof is met name ingevoerd om de meest frequente complicatie (meningitis) te voorkomen en heeft geleid tot een daling van het aantal aangegeven gevallen met enkele tientallen per jaar^(3;10;14).

1.2 Reden van onderzoek

Volgens de bijsluiter (appendix 3) kan BMR vaccinatie gedurende korte tijd een branderig en stekend gevoel geven op de plaats van enting^(15;16). Deze pijn wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de hoge zuurgraad^(3;17;18). De injectie is extra pijnlijk omdat de aanbevolen toedieningswijze van het vaccin subcutane injectie is (appendix 3)⁽¹⁹⁾ en in het onderhuids weefsel pijnreceptoren aanwezig zijn die door de injectienaald of het vaccin gestimuleerd worden⁽²⁰⁾. Gebaseerd op incidentele observaties van kinderen in Nederland die per abuis het RIVM BMR vaccin intramusculair kregen toegediend, bestaat de indruk dat deze wijze van toediening minder pijnlijk is⁽¹⁶⁾. Als dit inderdaad het geval is, zal dit het ongemak van de injectie verlichten.

Het doel van deze studie is enerzijds te onderzoeken of intramusculaire injectie van het BMR vaccin minder pijnlijk is dan subcutane toediening en anderzijds na te gaan of beide toedieningswijzen een gelijke antistofrespons opwekken. Daarnaast is in het kader van de postmarketing surveillance onderzocht of de immunogeniciteit van het BMR vaccin nog steeds op hetzelfde niveau zit en dus gehandhaafd blijft.

2. Materiaal en methoden

Het studie protocol "Onderzoek met BMR vaccin bij 14 maanden oude kinderen, intramusculaire versus subcutane toediening"⁽²¹⁾ is goedgekeurd door de Medisch Ethische Commissie van TNO.

2.1 Vaccin

Het bof, mazelen, rubella vaccin (BMR) is een gevriesdroogd preparaat van levend verzwakte virussen:

1. bofvirus (stam Jeryl Lynn) gekweekt op kippenembryofibroblasten,
2. mazelenvirus (stam Moraten) gekweekt op kippenembryofibroblasten, verkregen door de reeds verzwakte Edmonston stam verder te verzwakken door herhaalde passage in celculturen,
3. rubellavirus (stam RA27/3) gekweekt op menselijke diploïde celculturen (WI-38).

De drie virussuspensies worden onafhankelijk van elkaar opgekweekt in rolflles systemen, vervolgens gemengd en gevriesdroogd. Aan het vaccin, dat geen antibiotica en conserveringsmiddel bevat, wordt GOSP (Gelatine O-medium Sorbitol Phosphate) toegevoegd als stabilisator.

Eén dosis (0,5ml) bevat na resuspensie met de bijgepakte reconstitutievloeistof:

bofvirus ≥ 5000 p.f.u.*

mazelenvirus ≥ 1000 p.f.u.

rubellavirus ≥ 1000 p.f.u.

* p.f.u. = plaque forming unit

De bijsluiters van het BMR vaccin is opgenomen in appendix 3 van dit rapport. Voor deze studie zijn vaccins gebruikt, afkomstig uit partijen die regulier voor het RVP gebruikt werden. Er is geen specifiek partijnummer gereserveerd voor het onderzoek.

2.2 Deelnemers

De deelnemers aan dit onderzoek zijn afkomstig uit de populatie kinderen uit Utrecht of Amersfoort die in aanmerking kwamen voor hun eerste BMR vaccinatie. De totale omvang van deze populatie is ± 5500 kinderen van 12-18 maanden oud. Ouders of verzorgers van deze kinderen werden door de provinciale entadministratie (PEA) schriftelijk benaderd over deelname aan het onderzoek. Na het ondertekenen van een informed consent werden onderstaande in- en uitsluitingscriteria beoordeeld door een arts. In geval van twijfel werden kinderen voor deelname uitgesloten.

- Insluitingscriteria:
 - Gezonde kinderen van 12-18 maanden (gezond betekent in dit verband dat er geen medische bezwaren tegen de vaccinatie zijn). Vaccinatie en andere onderzoekshandelingen konden bij intercurrente ziekte worden uitgesteld,
 - Schriftelijk toestemming van ouders/verzorgers voor deelname van hun kind aan het onderzoek.
- Uitsluitingscriteria:
 - Aangetoonde allergie voor componenten van het toe te dienen vaccin (allergie voor kippen- of koemelkeiwit vormde geen contra-indicatie)⁽⁵⁸⁾,
 - Contra-indicatie tegen BMR vaccin (toediening bloedproducten korter dan 3 maanden voor vaccinatie),
 - Bekende afweerstoornis,
 - Stollingsstoornis (i.v.m. intramusculaire injectie),

- Ouders of verzorgers waarvan verwacht werd dat deze niet optimaal aan het onderzoek konden meewerken, bijvoorbeeld door taalproblemen,
- Eerder (vervroegde) BMR vaccinatie gehad,
- Simultane toediening van een ander vaccin.

2.3 Studieopzet en -handelingen

Na de intake kregen de deelnemers een Uniek Trial Nummer (UTN) toegewezen. De deelnemers zijn gerandomiseerd volgens een lijst met random getallen waarbij ze op grond van hun UTN in één van de twee onderzoeksgroepen werden ingedeeld (intramusculaire [IM] of subcutane [SC] vaccinatie). Voor zowel ouders als CB-arts was uiteraard bekend op welke wijze het vaccin was toegediend, voor degenen die de antistofassays uitvoerden was dit echter onbekend. Voor elk deelnemend kind is een Case Report Form (CRF) ingevuld waarin alle onderzoeksgegevens werden vermeld. Bloed voor antistofbepalingen werd 0-14 dagen vóór en 10-16 weken na vaccinatie afgenomen. Het onderzoek naar bijwerkingen is beschreven in §2.3.3. De studiehandelingen werden, afhankelijk van de organisatie bij de uitvoerende Thuiszorginstelling, bij het kind thuis of op het consultatiebureau uitgevoerd.

Tabel 1. Studie opzet

Tijd (weken)	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	...	12
Studiehandelingen	I		B _{pré} V								B _{post}
	O _{pré}	O _{pré}		O _{post}	O _{post}	O _{post}	O _{post}	O _{post}	O _{post}	O _{post}	

Legende

- I: intake
 B_{pré}: bloedafname vóór vaccinatie
 B_{post}: bloedafname na vaccinatie
 V: vaccinatie
 O_{pré}: observatie vóór vaccinatie
 O_{post}: observatie na vaccinatie

2.3.1 Vaccinatie

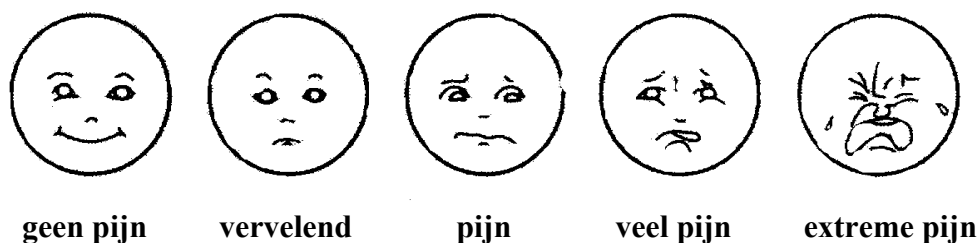
De vaccinaties zijn gegeven door de arts of door de wijkverpleegkundige onder directe verantwoordelijkheid van de arts, volgens de in de uitvoerende organisaties gangbare procedures. De injectieplaats en het lotnummer van het vaccin, evenals de datum van vaccinatie werden op het CRF genoteerd.

2.3.2 Bloedafname

Er werd circa 5 ml veneus bloed afgenomen. De plaats van de bloedafname werd lokaal verdoofd met EMLA™ crème. Op het CRF werd vermeld wanneer en hoeveel bloed afgenomen was. Bloedmonsters werden aan het einde van de dag door een onderzoeksmedewerker meegenomen of per post naar het RIVM gezonden. Na aankomst werd het bloed gecentrifugeerd en ingevroren bij -20°C. Om geblindeerde bepalingen te garanderen, werden de buisjes serum gemarkeerd met het UTN zodat de studie groep niet afgeleid kon worden. Voor de antistofbepaling werd het serum met een Multiprobe (Canberra Packard)⁽²²⁾ in porties verdeeld.

2.3.3 Observatie bijwerkingen

Aan de ouders van de deelnemers werd gevraagd gedurende de twee weken vóór tot zes weken na vaccinatie een dagboek over de gezondheid van hun kind bij te houden. De CB-arts gebruikte de gegevens uit het dagboekje voor het invullen van het CRF bij het volgende contact met de ouders. Er werd gevraagd naar het vóórkomen van koorts, hangerigheid, verminderde eetlust, misselijkheid, gewrichtsklachten, huidverschijnselen, medicijngebruik, arts- of ziekenhuisbezoek, ziekte bij gezinsleden en andere verschijnselen. Bovendien werd gevraagd wanneer de klachten begonnen en hoe lang zij duurden. De eerste twee weken geven een beeld van de gezondheid in de studiepopulatie voorafgaand aan vaccinatie. Zowel op de dag van vaccinatie als gedurende de zes weken erna werd de ouders gevraagd lokale reacties te noteren in het dagboekje. In geval van roodheid werd gevraagd of de omvang hiervan kleiner of groter was dan 2,5 cm (ter grootte van een gulden). Daarnaast werd gevraagd of er sprake was van zwellings, jeuk, verminderd gebruik van de gevaccineerde arm en het vóórkomen van andere lokale klachten. De mate van pijn direct na vaccinatie moest aangegeven worden op een vijfpuntsschaal zoals weergegeven in figuur 1.



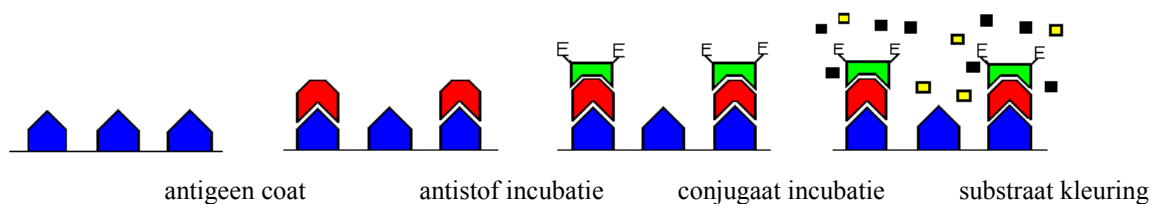
Figuur 1. Pijnscore zoals vermeld in dagboekje.

2.4 Antistofbepalingen

Zowel het bof- als het mazelenvirus behoren tot de familie der Paramyxovirussen^(5;23). Het rubella virus is door structurele eigenschappen ingedeeld bij de familie van de Togaviridae^(5;23). De nucleocapside van deze drie virussen bevat enkelstrengs RNA en wordt omgeven door een enveloppe van glycoproteïnen (o.a. hemagglutinine, neuramidase en fusie eiwit). Met behulp van een indirecte ELISA zijn antistoffen gericht tegen alle componenten van het virus bepaald voor zowel bof, mazelen als rubella. Antistoffen tegen mazelen zijn tevens bepaald in de virusneutralisatie assay, waarbij antistoffen gericht tegen de glycoproteïnen gemeten worden.

2.4.1 ELISA

Bij de indirecte ELISA wordt gezuiverd bof, mazelen of rubella virus gebruikt als "in house" antigeen. Tijdens de (serum)monster incubatie zullen de IgG antistoffen die specifiek zijn voor het virus binden, aan het aan de plaat gebonden antigeen. Aan deze gebonden antistoffen wordt een tweede antistof gekoppeld die gelabeld is met een enzym. Dit enzym zorgt voor de omzetting van substraat in een blauwe kleur (zie figuur 2). Door het stoppen van de omzettingsreactie met zwavelzuur verandert de kleur van blauw naar geel. De kleurontwikkeling is direct gerelateerd aan de hoeveelheid antistoffen aanwezig in het serum.



Figuur 2. Schematische weergave van de stappen bij de indirecte ELISA.

De absorptie wordt bij 450 nm gemeten met een spectrofotometer. De concentratie specifieke anti-BMR antistoffen in het (serum)monster wordt bepaald door deze te vergelijken met een bekend referentie serum en uitgedrukt in IU/ml (of RU/ml bij bof).

De uitvoering van de assay is nauwkeurig beschreven in de Standard Operating Procedure (SOP) 12C-ALG-17⁽²⁴⁾. Verder is de assay beknopter beschreven door Berbers et al.⁽²⁵⁾, Harmsen et al.⁽²⁶⁾ en Beaumont et al.⁽²⁷⁾ voor bof, door Van den Hof et al.⁽²⁸⁾ voor mazelen en door De Haas et al.⁽²⁹⁾ voor rubella.

Onderstaand schema toont de testeigenschappen per antigeen.

	Meeteenheid	Grenswaarde	Detectiegrens	Bepalingsgrens
Bof ELISA	RU/ml	40	1	4
Mazelen ELISA	IU/ml	0,2	0,01	0,02
Rubella ELISA	IU/ml	10	1	3

Waarbij geldt:

grenswaarde: grens van antistofniveaus die wel of niet als beschermend beschouwd worden

detectiegrens: limiet waarbij de aanwezigheid van antistoffen (met statistische gedefinieerde waarschijnlijkheid) kan worden vastgesteld, zonder hieraan een kwantiteit te hechten⁽³⁰⁾

bepalingsgrens: limiet waarbij nog met acceptabele nauwkeurigheid (= juistheid en precisie) de aanwezigheid van antistoffen kwantitatief kan worden bepaald⁽³⁰⁾

In dit onderzoek is de bepalingsgrens als ondergrens van de assay genomen. Lagere waarden zijn gesteld op de helft van de bepalingsgrens.

2.4.2 Virusneutralisatie assay

De virusneutralisatie assay is een methode om de hoeveelheid virusneutraliserende en dus virusspecifieke antistoffen in een monster te bepalen. Bij deze bepaling wordt een constante hoeveelheid virus gemengd met de verdunningsreeks van een te bepalen antistof monster. Indien er virusneutraliserende antistoffen in het monster aanwezig zijn, zullen deze de toegevoegde virusdeeltjes neutraliseren. Totaal geneutraliseerd virus wordt aangetoond middels het uitblijven van een cytopathologisch effect van het virus op een monolaag van cellen. De uitvoering van deze test is beschreven in de SOP 12C-ALG-11⁽³¹⁾.

Onderstaand schema toont de testeigenschappen voor de virusneutralisatie assay.

	Meeteenheid	Grenswaarde	Detectiegrens	Bepalingsgrens
Mazelen VN	IU/ml	0,2	0,015	0,03

2.5 Dataverwerking en data-analyse

Gedurende de hele studie is de voortgang bewaakt door een monitor, die o.a. alle informed consents en CRF's controleerde. De gegevens van de CRF's zijn ingevoerd door een gespecialiseerd data-entry bureau¹. Antistofdata vormen een integraal deel van het definitieve CRF. Deze data zijn ingevoerd in het Serologisch Informatie Systeem (SIS)^(32;33) door LVO medewerkers. Klinische en serologische data zijn geïmporteerd in een database (MsAccess 97)⁽³⁴⁾.

Voor alle deelnemers werd gecontroleerd of zijn voldeden aan de in het protocol⁽²¹⁾ gespecificeerde intervallen tussen bloedafname en vaccinatie:

- 1^e bloedafname 0-2 weken voor de vaccinatie
- 2^e bloedafname 10-16 weken na de vaccinatie.

Voor statistische analyses zijn de data geëxporteerd naar SPSS (versie 10.0 voor Windows)⁽³⁵⁾.

Frequenties van lokale en algemene klachten vóór en na vaccinatie zijn weergegeven in tabellen.

Zowel de ELISA als de virusneutralisatie GMT's zijn berekenend na natuurlijke log-transformatie van de titers. De antistofniveaus zijn vergeleken voor zowel de onderzoekslocaties (Amersfoort/Utrecht) als de onderzoeksgroepen (SC/IM) m.b.v. de Mann-Whitney *U* toets. Voor zowel bof, mazelen als rubella is het percentage deelnemers bepaald met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau (grenswaarde resp. 40 RU/ml; 0,2 IU/ml en 10 IU/ml).

¹ Wegener Direct Marketing Group Data Services, Nederland

3. Resultaten

3.1 Studie populatie

De studiepopulatie werd gerekruteerd uit kinderen woonachtig in het werkgebied van de Stichting Thuiszorg Stad Utrecht en de Stichting Thuiszorg Eemland (Amersfoort). Hiervan werden 67 kinderen geïncludeerd in de studie waarvan 34 uit Amersfoort en 33 uit Utrecht (tabel 2). Dit is slechts 2-3% van de totale populatie. De deelnemers zijn 'at random' toegewezen aan één van de twee studiegroepen die gebaseerd zijn op de toedieningswijze van het BMR vaccin (IM/SC). De gemiddelde leeftijd bij de start van het onderzoek was 14,6 maanden [13,4-15,6 mnd] voor kinderen uit Amersfoort en 13,5 maanden [12,3-15,2 mnd] voor die uit Utrecht. De groep bestond voor 93% uit kinderen met de Nederlandse nationaliteit. Ondanks dat voor deze studie geen specifiek partijnummer gereserveerd was kregen alle deelnemers kregen BMR vaccin met lotnummer 91 toegediend. Het vaccin werd aan alle kinderen toegediend met een oranje naald (0.5x19mm) in de M.deltoideus.

3.2 Bijwerkingen

Bij de ouders en onderzoekers was bekend op welke wijze het vaccin was toegediend. Observatie bias was dus niet te voorkomen, waardoor het onderzoek vooral een inventariserend en minder een hypothese toetsend karakter heeft. Tabel 4A geeft een overzicht van de algemene gezondheid van de kinderen in de twee weken voor vaccinatie. De tabellen 4B t/m F tonen de algemene en lokale gezondheidsklachten gedurende zes weken na vaccinatie. Opgemerkt dient te worden dat de tabellen verschillende periodes weergeven: tabel 4B toont slechts één dag, de tabellen 4C t/m E betreffen elk 1 week, terwijl tabel 4F een periode van 3 weken weergeeft. De lengte van de betreffende periode is uiteraard van invloed op de frequentie van de bijwerkingen. Een beknopt overzicht van de meest voorkomende reacties is te zien in tabel 2.

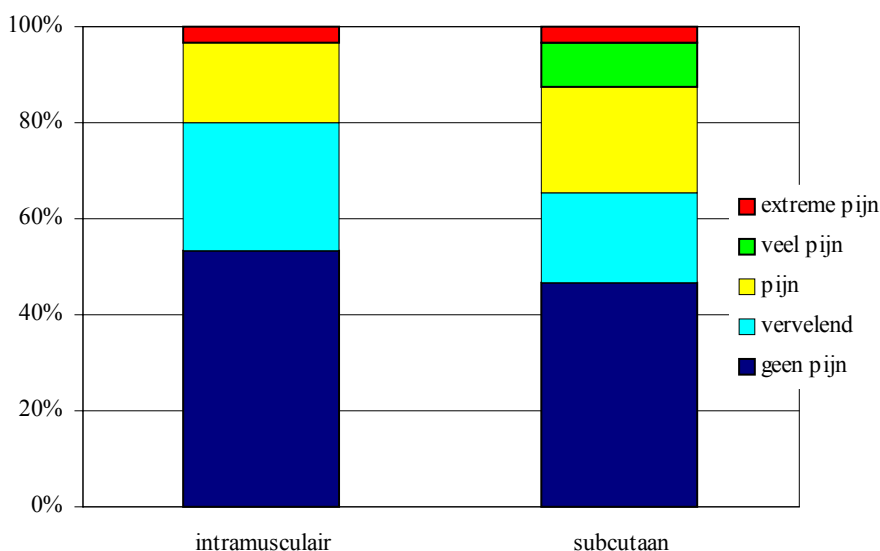
Tabel 2. Reacties na BMR vaccinatie

reactie	toedieningsroute	dag 1	week 1	week 2	week 3
		%	%	%	%
pijn	IM	47	-	-	-
	SC	53	-	-	-
koorst	IM	-	10	23	10
	SC	-	9	19	3
hangerig	IM	7	27	50	7
	SC	-	19	41	16

3.2.1 Lokale reacties

Alleen op de dag van vaccinatie werden lokale reacties gemeld. Het betrof hier voornamelijk pijn op het moment van vaccinatie (50%) en in mindere mate roodheid (5%). Pijn kwam vaker voor na subcutane dan na intramusculaire vaccinatie (resp. 34% en 20%), maar dit verschil was niet statistisch significant (figuur 3). Extreme pijn werd zowel na subcutane als na intramusculaire injectie éénmaal gerapporteerd. Roodheid op de injectieplaats werd driemaal gemeld, waarbij deze plek in één geval groter dan 2,5cm was (SC groep). Bij twee van deze drie kinderen ging de roodheid gepaard met matige pijn, terwijl voor het andere kind geen pijn gerapporteerd werd. Zwelling, jeuk en verminderd gebruik van de gevaccineerde arm werden niet gerapporteerd. Bij één deelnemer trad nabloeden op na

intramusculaire injectie en bij één deelnemer ontstond een bloeding na subcutane toediening.



Figuur 3. Mate van pijn op de dag van de BMR-vaccinatie.

3.2.2 Algemene reacties

In de twee weken voor vaccinatie werd hangerigheid voor 57% van de kinderen gerapporteerd en koorts voor 30%. De frequenties van deze en andere klachten zijn weergegeven in tabel 4A (appendix 2). Bij 51% van de kinderen was sprake van andere algemene gezondheidsklachten, zoals verkoudheid, maagdarmklachten en het krijgen van tanden en/of kiezen. Er was geen verschil tussen de twee onderzoeksgroepen wat betreft de gezondheidstoestand vóór de vaccinatie.

Tijdens het onderzoek zijn geen ernstige bijwerkingen gemeld, alhoewel bij één deelnemer mogelijk sprake was van een koortsstuip op de achtste dag na vaccinatie. Deze jongen (UTN 205) had in totaal 5 dagen koorts oplopend tot 40°C.

In de eerste week na vaccinatie (tabel 4C) hadden 6 kinderen koorts variërend van 38,5 tot 40,1°C (UTN 101, 122, 129, 212, 217, 228). Bij vijf van hen ging de koorts gepaard met andere klachten, zoals verkoudheid, oogontsteking, maagdarmklachten. Huiduitslag werd bij vier kinderen gemeld. Dit betrof eczeem voor UTN 135, rode uitslag in de nek voor UTN 223, in het gezicht voor UTN 232 en luierdermatitis voor UTN 233. Een groot deel van alle kinderen (35%) had last van niet nader gespecificeerde gezondheidsklachten, dit betrof met name verkoudheidsverschijnselen en maagdarmklachten.

In de tweede week na vaccinatie werden de meeste algemene verschijnselen gemeld (tabel 4D), met name hangerigheid (45%), koorts (38,6-40,1°C; 21%) en huidverschijnselen (11%). Koorts ging in alle 13 gevallen gepaard met hangerigheid. Negen van deze kinderen hadden daarnaast last van één of meer andere algemene klachten zoals: maagdarmklachten, verkoudheid, eczeem en onrustig slapen. Andere algemene klachten (n=12) die niet gepaard gingen met koorts waren met name verkoudheid, maagdarmklachten en veel slapen.

Huiduitslag werd in de tweede week na vaccinatie voor zeven kinderen (UTN 117, 119, 130, 135, 201, 225 & 232) gemeld, variërend van rubella- of mazelenuitslag (UTN 117) tot een rode wang en oor als gevolg van het doorkomen van kiezen (UTN 201).

Het aantal algemene verschijnselen dat in de derde week na vaccinatie (tabel 4E) gemeld werd, was minder dan in de voorgaande week. De meest gemelde klachten in deze periode betroffen koorts (38,9-40,0°C; 6%) en hangerigheid (11%), terwijl huiduitslag niet meer

gerapporteerd werd. Circa 20% van de kinderen had (nog) last van verkoudheid en/of maagdarmklachten.

In de langere observatie periode van drie weken werd in week 4, 5 en 6 na vaccinatie (tabel 4F) minder koorts (20%) en hangerigheid (29%) gerapporteerd dan in de twee weken voor vaccinatie.

Voor de hele periode gold dat er vrijwel geen verschil bestond tussen de beide onderzoeksgroepen in het soort en het aantal gerapporteerde klachten. Tien kinderen brachten in de eerste drie weken na vaccinatie een bezoek aan een arts om uiteenlopende redenen. Deze redenen waren in een aantal gevallen niet te achterhalen, wat het moeilijk maakt vast te stellen of het bezoek een direct gevolg van de BMR vaccinatie was. Medicijngebruik in de weken na vaccinatie betrof in de meeste gevallen paracetamol tegen koorts en verkoudheidsklachten, maar ook onderhoudsmedicatie voor reeds bestaande klachten.

3.3 Immunogeniciteit

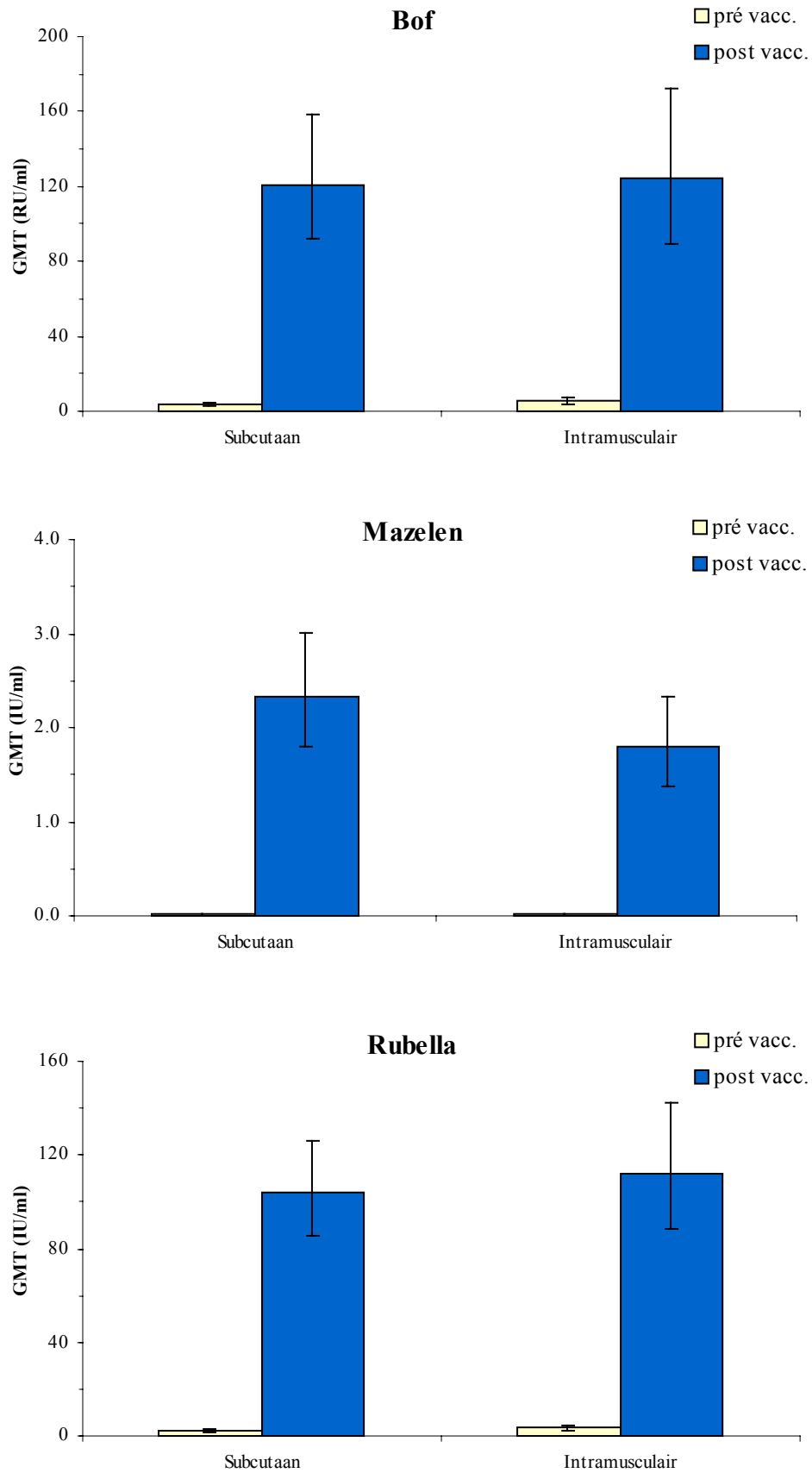
Van vijf kinderen ontbraken de pré vaccinatie waarden van de antistofbepalingen. Bij drie van deze deelnemers (UTN 126, 132 & 231) was de bloedafname mislukt, terwijl voor de twee andere (UTN 134 & 135) de bloedbuis gebroken was tijdens vervoer naar het RIVM. De post vaccinatie waarden van de antistofbepalingen ontbraken voor zes deelnemers; bij één van hen (UTN 132) was de bloedafname niet uitgevoerd, terwijl de andere vijf (UTN 107, 108, 115, 207 & 231) na de vaccinatie van verdere deelname afzagen. Voor één deelnemer (UTN 134) was te weinig serum om de virusneutralisatie assay ook nog te kunnen uitvoeren. Voor 24 deelnemers werd termijn tussen vaccinatie en bloedafname zoals vermeld in het protocol (>10weken) overschreden. De antistofniveaus van deze deelnemers zijn vergeleken met die van de deelnemers die wel voldeden aan de protocol eisen. Hierbij werd geen statistisch significant verschil gevonden ($p > 0,10$; Mann-Whitney U toets). Er bleek geen relatie te bestaan tussen de hoogte van het antistofniveau en de lengte van het interval tussen vaccinatie en bloedafname. Daarom is er voor gekozen bij de analyses geen onderscheid te maken tussen deelnemers die wel en niet voldoen aan de genoemde protocol eisen. De onderzoekslocaties Amersfoort en Utrecht zijn vergeleken wat betreft de hoogte van de antistofniveaus m.b.v. de Mann-Whitney U toets. Omdat er geen verschil werd gevonden, is bij de statistische analyses geen onderscheid meer gemaakt tussen deze locaties. De uitslagen van de antistof assays per deelnemer zijn vermeld in Appendix 4.

3.3.1 ELISA

Per onderzoeksgroep (IM / SC) zijn geometrisch gemiddelde ELISA titers (GMT) en 95% betrouwbaarheidsintervallen (95% BI) berekend voor antistoffen gericht tegen bof, mazelen en rubella zowel vóór als na vaccinatie (tabel 5 – appendix 2). Het effect van vaccinatie op de antistofniveaus is geïllustreerd in figuur 4.

De titers tegen bof en rubella na intramusculaire vaccinatie zijn nagenoeg even hoog als na subcutane vaccinatie. Hoewel het niveau van antistoffen tegen mazelen na intramusculaire vaccinatie iets lager is dan na subcutane toediening, is dit verschil niet statistisch significant ($p > 0,05$; Mann-Whitney U toets).

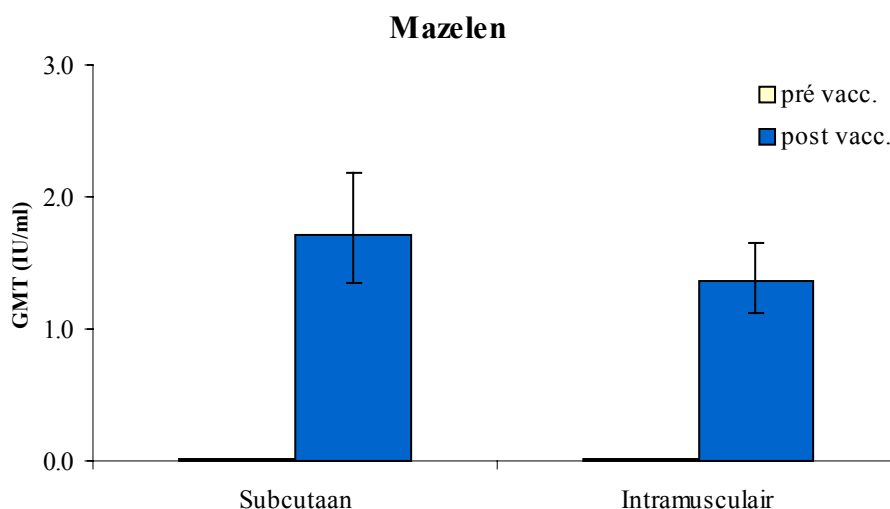
Naast de GMT's zijn in tabel 5 ook de percentages kinderen met een titer boven het als beschermend beschouwde niveau weergegeven. Bij de aanvang de studie hadden twee deelnemers al een bof antistoftiter boven dit niveau (UTN 106 & 114), terwijl dit voor rubella bij vijf van de deelnemers (UTN 106, 113, 114, 127 & 216) het geval was (tabel 6A). Na de BMR vaccinatie werden bof antistoffen boven de grenswaarde gemeten voor 92% van de deelnemers en voor mazelen en rubella voor 100%. Vijf deelnemers (UTN 101, 104, 122, 131 & 208), waarvan er twee subcutaan en drie intramusculair gevaccineerd zijn, hadden nog steeds bof antistoftiters onder de grenswaarden (titer resp. 38, 22, 29, 22 & 39 RU/ml – tabel 6B). Zij reageerden echter wel alle vijf met titerstijging tegen bof na de vaccinatie.



Figuur 4. ELISA GMT en 95%BI vóór en na BMR vaccinatie.

3.3.2 Virusneutralisatie

Ook voor neutraliserende antistoffen tegen mazelen zijn zowel voor als na vaccinatie GMTs en 95% BI's berekend per onderzoeksgroep (tabel 7 – appendix 2). Het effect van vaccinatie op de antistofniveaus is geïllustreerd in figuur 5. Net als de mazelen ELISA titers waren ook de virusneutralisatie titers na subcutane vaccinatie hoger dan die na intramusculaire vaccinatie ($p > 0,05$; MWU). De ELISA vertoonde een zeer goede correlatie met de virusneutralisatie assay met een Pearson correlatie coëfficiënt van 0.97 (data niet getoond). Vóór vaccinatie had geen van de deelnemers antistoffen tegen mazelen boven het als beschermende beschouwde niveau (tabel 7 – appendix 2). Na vaccinatie was dit het geval voor alle deelnemers.



Figuur 5. Virus neutralisatie GMT en 95%BI vóór en na vaccinatie.

4. Discussie

De wijze van toediening van vaccins wordt meestal bepaald tijdens klinisch onderzoek met het nog niet geregistreerde vaccin en is voornamelijk gebaseerd op de samenstelling en immunogeniciteit van het product. Bij voorkeur worden vaccins toegediend op die plaats waar ze de gewenste immuunrespons opwekken en waar de kans op weefsel-, neurale en vasculaire schade het kleinst is. Diep intramusculaire injectie wordt over het algemeen aanbevolen voor adjuvans bevattende vaccins, omdat subcutane toediening kan leiden tot o.a. lokale irritatie, verharding en huidverkleuring^(36;37). Subcutane injectie daarentegen kan het risico op lokaal neurovasculair letsel verminderen. Deze toedieningswijze is aanbevolen voor vaccins, zoals levende vaccins, die minder ontstekingsreactie oproepen en zeer immunogeen zijn als ze op deze wijze worden toegediend⁽³⁷⁾.

In de literatuur is zeer weinig beschreven over de invloed van de toedieningswijze op de antistof ontwikkeling en veiligheid. Het lijkt erop dat de keuze voor de wijze van toediening van levende vaccins vaker bepaald wordt door gewoonte dan door feiten⁽³⁸⁾. Het levend verzwakte varicella vaccin, waarvoor subcutane toediening geadviseerd wordt, blijkt in een vergelijkend onderzoek van Dennehy et al. zowel na subcutane als intramusculaire vaccinatie een goede immuunrespons op te wekken⁽³⁹⁾. Ook het BMR vaccin lijkt na intramusculaire injectie effectief te zijn, al zijn de gegevens hierover in de literatuur beperkt en er zijn er geen vergelijkende studies gepubliceerd⁽⁴⁰⁻⁴⁴⁾.

Deze studie is uitgevoerd om te bepalen of intramusculaire vaccinatie minder pijnlijk is dan subcutane injectie. Vereiste hierbij is uiteraard wel dat de antistofrespons voor beide toedieningswijzen gelijkwaardig is. Daarnaast is in deze studie de immunogeniciteit van het BMR vaccin gecontroleerd.

4.1 Bijwerkingen

4.1.1 Lokale reacties

BMR vaccinatie kan gedurende korte tijd een branderig en stekend gevoel veroorzaken op de plaats van enting (appendix 3)^(15;16). Uit een enquête onder een aantal consultatiebureau-artsen en verpleegkundigen bleek dat zij de BMR als meest pijnlijke vaccinatie in het RVP ervaren. Bovendien is een aantal van hen van mening dat subcutaan vaccineren moeilijker is en meer ervaring vereist dan intramusculaire immunisatie⁽¹⁶⁾. Uit een eerder onderzoek is gebleken dat tijdens of direct na subcutane toediening van het BMR vaccin ongeveer de helft van de 14 maanden oude kinderen enkele minuten hard huult⁽¹⁵⁾. In de huidige studie wordt voor ongeveer de helft van de kinderen pijn na vaccinatie gerapporteerd. Omdat het RIVM BMR vaccin direct afgeleid is van het door 'Merck, Sharp en Dome' geproduceerde MMR-II, mag aangenomen worden dat de reactogeniteit van beide vaccins vergelijkbaar is. Twee studies van Usonis et al. lieten echter zien dat na MMR-II vaccinatie (6-30%) minder pijn gemeld wordt dan na vaccinatie met het RIVM BMR vaccin in de huidige studie^(17;45). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat de leeftijd van de deelnemers in deze twee studies van Usonis et al. wat hoger (tot 24 maanden) is dan die in de huidige studie (tot 15 maanden). Ook kleine verschillen in de zuurgraad van de BMR vaccins kunnen van invloed zijn op het verschil in de mate van pijn^(17;18). Daarnaast is pijn, hoe belangrijk deze bijwerking van vaccinatie ook is, erg subjectief en daardoor vooral bij jonge kinderen moeilijk te bepalen^(46;47). In deze studie waren het de ouders van het kind die de mate van pijn rapporteerden. Mogelijk zou de pijnscore objectiever geweest zijn wanneer deze uitgevoerd werd door een onafhankelijke observator. Ook is een aantal specifieke methoden ontwikkeld waarmee een relatie gelegd kan worden tussen het gedrag van het kind en de mate van pijn^(48;49). Een relatief eenvoudige methode, die door praktische bezwaren in deze studie helaas niet gebruikt

is, is het meten van de huiltijd direct na vaccinatie^(15;18). Het blijft echter de vraag in hoeverre deze methode een objectiever beeld van de mate van pijn geeft. De reactie op pijn hangt namelijk nauw samen met het karakter en de leeftijd van het kind, maar ook met andere (omgevings)factoren zoals bijvoorbeeld de aanwezigheid van één van de ouders die het kind kan troosten^(46;50).

Roodheid en zwelling worden in deze studie aanzienlijk minder gemeld (resp. 6% en 0%) dan na vaccinatie met MMR-II in de studies van Usonis et al. (resp. 16-27% en 7-17%)^(17;45;51). De toedieningswijze van het BMR vaccin lijkt in deze studie niet van invloed op het vóórkomen van lokale reacties op de injectieplaats. Alhoewel heftige pijn iets vaker voorkomt na subcutane injectie, is het aantal deelnemers in deze studie te klein om dit verschil tussen de twee onderzoeksgroepen statistisch te onderbouwen. De duur van de lokale bijwerkingen is kort en bovendien niet afhankelijk van de manier van vaccineren. Bij het tweede observatiemoment een week na vaccinatie waren alle lokale reacties inmiddels verdwenen.

4.1.2 Algemene verschijnselen

Uit de literatuur is bekend dat bijwerkingen die na BMR vaccinatie gezien worden, gelijk zijn aan die na toediening van de afzonderlijke vaccins. De bofcomponent in het vaccin kan leiden tot parotitis en licht koorts, terwijl de mazelen- en de rubella componenten koorts en huiduitslag kunnen veroorzaken. Deze reacties treden ± 7 tot 14 dagen na de inenting op en worden overwegend bepaald door de infectieverschijnselen die het vaccivirus kan veroorzaken. In de praktijk blijken deze verschijnselen echter zelden gemeld te worden. Bovendien is de ernst van deze klachten verwaarloosbaar wanneer ze vergeleken worden met de reacties na een natuurlijke infectie^(1;3;37;52;53).

Het is erg moeilijk vast te stellen welke gezondheidsklachten een direct gevolg zijn van de BMR vaccinatie. Zoals blijkt uit de observatie gedurende twee weken vóór vaccinatie heeft een groot deel van de 14 maanden oude kinderen één of meerder gezondheidsklachten. Ondanks dat niet bij alle kinderen de lichaamstemperatuur is gemeten, blijken toch 20 kinderen (30%) een temperatuur van 38,5°C of hoger te hebben. Bij veel van deze kinderen gaat de koorts gepaard met klachten als verkoudheid (75%) en maagdarmlklachten (30%). Daarnaast wordt het krijgen van tanden en/of kiezen bij een deel van de kinderen als verklaring van de gezondheidsklachten opgegeven. Placebo gecontroleerde vaccinstudies met verschillende BMR vaccins laten zien dat het bij jonge kinderen erg moeilijk is bijwerkingen van vaccinatie te onderscheiden van symptomen van op deze leeftijd veel voorkomende ziektebeelden^(52;54).

Wel is in deze studie een piek van gezondheidsklachten te zien in de periode van 7 tot 14 dagen na de BMR vaccinatie. Er was geen verschil tussen de twee onderzoeksgroepen. Voor de gehele studie populatie was de frequentie van koorts $\geq 38,5$ °C in week 1 10%, in week 2 21% en in week 3 na vaccinatie 6%. Voor hangerigheid zijn deze percentages resp. 23%, 45% en 11% en voor huidverschijnselen resp. 6%, 11% en 0% (tabel 4 B t/m D). Hoewel het zeer zelden voorkomt, is het bekend dat het BMR vaccin febriële convulsies kan doen ontstaan bij kinderen die op BMR vaccinatie reageren met een hoge temperatuur (appendix 3). Mogelijk was dit het geval bij de jongen met UTN 205. Hij had gedurende 5 dagen koorts tot 40°C vanaf de zevende dag na vaccinatie. Op de achtste dag heeft hij mogelijk een koortsstuip gehad. De hoogst gemeten temperatuur tijdens dit onderzoek was 40,4°C (UTN 212). Deze werd echter gemeten in de periode van 4 tot 6 weken na vaccinatie en een relatie met vaccinatie is daarom zeer onwaarschijnlijk.

Huiduitslag tot de derde week na vaccinatie is gemeld voor negen kinderen. Voor één jongen (UTN 117) is dit mogelijk gerelateerd aan de BMR vaccinatie. De rode uitslag over zijn gehele lichaam duurde circa 6 dagen en ontstond ± 7 dagen na vaccinatie wat passend is voor een reactie op het BMR vaccin. Het was niet vast te stellen of deze uitslag door het mazelen

of rubella vaccin virus veroorzaakt is. De aard van de uitslag van deelnemer met UTN 225 is onduidelijk, maar mogelijk wel vaccingerelateerd. Uit het dagboekje blijkt dat hij vanaf de 10e dag na vaccinatie, gedurende 4 dagen, rode vlekjes op zijn gehele lichaam had. De jongen met UTN 232 had negen dagen na vaccinatie gedurende 4 dagen last van rode bultjes, met name in het gelaat. Dit soort huiduitslag was bij hem ook aanwezig op de dag van vaccinatie. In hoeverre dit vaccingerelateerd is, is dus moeilijk te zeggen. Voor de jongen met UTN 223 is de relatie tussen de huiduitslag en het vaccin zeer onwaarschijnlijk. Hij had last van rode vlekjes in zijn nek die na twee dagen spontaan verdwenen. Deze vlekjes ontstonden twee dagen na vaccinatie, dus te laat om het te wijten aan de vaccinatie of het inspuiten van het vaccin, maar nog te vroeg voor vaccin viremie. Ook voor vier andere kinderen is de relatie tussen vaccinatie en huiduitslag zeer onwaarschijnlijk (UTN 119+233: luieruitslag / UTN 135: eczeem / UTN 201: rode wang en oor a.g.v. het doorkomen van kiezen). Over de huiduitslag van het meisje met UTN 130 kan geen uitspraak gedaan worden over de relatie met vaccinatie, omdat haar huiduitslag niet nader gespecificeerd is.

De frequentie van de genoemde gezondheidsklachten komt redelijk overeen met die na vaccinatie met MMR-II van 'Merck, Sharp en Dome'. In de literatuur wordt na MMR-II vaccinatie met name koorts ($\geq 38,1^{\circ}\text{C}$: 27-40% / $> 39,5^{\circ}\text{C}$: 5-12%) en huiduitslag (5-10%) beschreven. Ook febrile convulsies (koortstuip) zijn bekend als bijwerking, zij het dat deze slechts zeer zelden voorkomen^(17;45;51). Verschillen in frequenties van klachten na MMR-II ten opzichte van die gemeld na RIVM BMR vaccinatie worden o.a. veroorzaakt door het kleine aantal deelnemers in de huidige studie vergeleken met die in de MMR-II studies en door verschillen in de samenstelling van de studiepopulaties^(17;45;51).

In week 4-6 na vaccinatie worden opvallend weinig gezondheidsklachten gerapporteerd, mogelijk betreft het hier informatie bias. De ouders werd gevraagd de gezondheid van hun kind bij te houden gedurende een periode van acht weken. Ouders zullen hun kind, al dan niet bewust, vlak voor en na vaccinatie beter observeren en eventuele gezondheidsklachten sneller toeschrijven aan het vaccin⁽⁵⁴⁾.

4.2 Antistofrespons

Uit de resultaten van deze studie blijkt dat zowel subcutaan als intramusculair toegediend BMR vaccin een goede immuunrespons opwekt. Het niveau van ELISA antistoffen tegen bof ligt na subcutaan vaccineren op hetzelfde niveau als na intramusculair vaccineren. Ook voor rubella blijkt de manier van vaccineren niet van invloed op de hoogte van de antistoftiter. Voor mazelen daarentegen leidt subcutane vaccinatie tot een wat hoger antistofniveau dan intramusculaire vaccinatie, voor zowel antistoffen gemeten met ELISA als met de virusneutralisatie assay. Het verschil in antistofniveau tussen beide manieren van vaccineren is echter niet statistisch significant. Belangrijk is bovendien dat het percentage kinderen met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau niet beïnvloed wordt de toedieningsroute van het BMR vaccin. Dit geldt zowel voor zowel bof (92%), mazelen (100%) als rubella (100%). Alle deelnemers reageerden op vaccinatie met een titerstijging, ook de vijf deelnemers die na vaccinatie nog bof antistoffen hadden onder de grenswaarde. Voor de vijf deelnemers die vóór vaccinatie reeds een rubella antistoftiter juist boven het als beschermend beschouwde niveau hadden, is de titer tevens bepaald met een commerciële ELISA-kit (Rubenostica). Bij deze bepaling bleek de titer van twee deelnemers onder de grenswaarde te liggen en voor de andere drie nog net positief. Aangezien er geen wezenlijk verschil is tussen de twee ELISA's, lijkt het erop dat deze vijf sera enige a-specifieke binding vertonen waardoor ze de ene keer net positief reageren en de andere keer net negatief. Het is dan ook zeer waarschijnlijk deze titers eerder als a-specifiek te bestempelen zijn dan ze als echte, specifieke rubella, pré titers te beschouwen. Het percentage kinderen dat reeds vóór vaccinatie geïnfecteerd zou zijn, zou anders ook onwaarschijnlijk hoog uitvallen (8%).

Door het beperkte aantal deelnemers aan deze studie geven de resultaten slecht een indicatie die statistisch onvoldoende onderbouwd kan worden. Helaas ontbreekt het ook aan vergelijkingsmateriaal, omdat niet eerder studies gepubliceerd zijn waarin een directe vergelijking gemaakt is tussen de twee toedieningswijzen van het BMR vaccin.

Dit onderzoek werd mede uitgevoerd om te na te gaan of de immunogeniciteit van het BMR vaccin nog steeds op hetzelfde niveau zit en dus gehandhaafd blijft. De antistofrespons op dit vaccin is in 1991 voor het laatst in Nederland onderzocht ⁽¹⁵⁾. Door aanpassingen in de kwantificering van de antistofbepalingen is de titerhoogte van de studie uit 1991 niet vergelijkbaar met de titerhoogte gemeten in de huidige studie.

Ook de manier waarop het percentages deelnemers antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau bepaald is in beide studies verschillend, maar de resultaten komen wel goed overeen. In 1991 was dit voor bof 100%, voor mazelen 98% en voor rubella 99% en huidige studie resp. 92%, 100% en 100%. Ook de studies met MMR-II zijn door verschillen in de gebruikte antistof assays niet te vergelijken met de huidige studie ^(17;45;51). Een vergelijking van de huidige studie met de resultaten van het PIENTER-project is wel mogelijk ⁽⁵⁵⁾. In het PIENTER-project is de immunstatus van de Nederlandse bevolking onderzocht. In twee jaar oude kinderen werd een GMT van 144 RU/ml tegen bof, van 2,1 IU/ml tegen mazelen en van 75 IU/ml tegen rubella gemeten. Deze waarden zijn goed vergelijkbaar met die gevonden in de huidige studie (bof 122 RU/ml, mazelen 2,0 IU/ml en rubella 108 IU/ml). De seroprevalentie kwam in beide studies goed overeen; circa 90% voor bof ⁽²⁷⁾ en vrijwel 100% voor mazelen en rubella ^(28;29). De effectiviteit van de mazelen component in het BMR vaccin is ook nog eens aangetoond tijdens de mazelen epidemie in Nederland in 1999-2000, waarbij slechts 5% van de zieke kinderen éénmaal gevaccineerd en 95% dus niet gevaccineerd was ⁽¹³⁾. Bij 2-8% van de gevaccineerden blijft de vereiste virusvermenigvuldiging achterwege, waardoor niet voldoende immuniteit opgebouwd wordt (primair vaccin falen) ^(56;57). Hetgeen wordt bevestigd in deze epidemie.

5. Conclusies

- Zowel subcutaan als intramusculair toegediend BMR vaccin geeft een goede immuunrespons.
 - Voor zowel bof als rubella geldt dat het niveau van ELISA antistoffen na subcutaan vaccineren op hetzelfde niveau ligt als na intramusculair vaccineren.
 - Het niveau van antistoffen tegen mazelen ligt na subcutane vaccinatie iets hoger dan na intramusculaire vaccinatie, zowel voor antistoffen gemeten met ELISA als met de virusneutralisatie assay. Dit verschil is echter niet statistisch significant.
 - Het percentage deelnemers met antistoffen boven het als beschermend beschouwde niveau wordt niet beïnvloed door de toedieningswijze van het vaccin. Dit geldt zowel voor zowel bof (92%), mazelen (100%) als rubella (100%).
 - Subcutane toediening van het BMR vaccin is pijnlijker dan intramusculaire vaccinatie, al mag vanwege het kleine aantal deelnemers aan deze studie slechts gesproken worden van een aanwijzing zonder statistische onderbouwing.
 - Voor de andere reacties na vaccinatie geldt dat zowel het aantal als het soort reactie (lokaal en algemeen) onafhankelijk is van de manier waarop het vaccin ingespoten is.
- Dit onderzoek toont aan dat er geen reden voor revaccinatie is, wanneer het BMR vaccin per ongeluk intramusculair toegediend is.
- Bezien kan worden of de bijsluiter van het RIVM BMR vaccin zodanig aangepast kan worden dat zowel subcutane als intramusculaire toediening van het vaccin mogelijk is.

Literatuur

- (1) van der Veen J. Algemene enting van kinderen tegen bof? Ned Tijdschr Geneesk 1979; 123(17):714-715.
- (2) Galazka AM, Robertson SE, Kraigher A. Mumps and mumps vaccine: a global review. Bull World Health Organ 1999; 77(1):3-14.
- (3) Burgmeijer RJF, Bolscher DJA. Vaccinaties bij kinderen - Uitvoering en achtergronden van het Rijksvaccinatieprogramma en andere vaccinaties bij kinderen. 3 ed. 1998.
- (4) Maldonado Y. Viral Infections (section 4). In: Nelson WE, Behrman REKRM, Arvin AM, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 1996: 868-874.
- (5) Wilterdink JB. Medische virologie. fourth ed. Utrecht/Antwerpen: Bohn, Scheltema & Holkema, 1987.
- (6) anonymous. Rubellavaccinatie voor jonge tienermeisjes. Ned Tijdschr Geneesk 1974; 118(3):112.
- (7) anonymous. Voor meisjes van elf jaar binnenkort rodehond-vaccinatie. Ned Tijdschr Geneesk 1973; 117(35):1332.
- (8) Gezondheidsraad. Advies inzake de algemene vaccinatie tegen mazelen. 1-3-1973.
- (9) van der Veen J. Vaccinatie tegen bof en rubella; het advies van de Gezondheidsraad. Ned Tijdschr Geneesk 1984; 128(24):1150-1152.
- (10) van den Hof S, Conyn-van Spaendonck MEA, de Melker H.E., Geubbels ELPE, Suijkerbuijk AWM, Talsma E et al. The effects of vaccination, the incidence of the target diseases. RIVM rapport 213676 008. RIVM Bilthoven 1998.
- (11) Vermeij-Keers C, Versteeg J, Bennebroek-Gravenhorst J. Rubella, still a problem. Ned Tijdschr Geneesk 1977; 121(31):1225-1233.
- (12) van der Zwan CW, Plantinga AD, Rumke HC, Conyn-van Spaendonck MA. Measles in The Netherlands; epidemiology and the effect of vaccination. Ned Tijdschr Geneesk 1994; 138(48):2390-2395.
- (13) van Steenberg JE, van den Hof S, Langendam MW, van de Kerkhof JHTC, Ruijs WLM. Measles Outbreak - Netherlands, April 1999 - January 2000. JAMA 2000; 283(18):2385-2386.
- (14) Hirasing RA, Schaapveld K. Vaccinatie tegen bof succesvol. Ned Tijdschr Geneesk 1993; 137(30):1498-1500.
- (15) Smeets-Driessen MDH, van der Zwan CW, Plantinga AD, Rümke HC, van Steenis G. Comparitive clinical trial using MMR vaccines produced by MSD and RIVM. RIVM rapport 438902001. RIVM Bilthoven 1991.

- (16) van der Klis F. Verslag van een telefonische enquête naar de ervaringen met pijnreacties bij inspuiten van de RVP vaccins voor de veldproef. RIVM Bilthoven 2001.
- (17) Usonis V, Bakasenas V, Kaufhold A, Chitour K, Clemens R. Reactogenicity and immunogenicity of a new live attenuated combined measles, mumps and rubella vaccine in healthy children. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18(1):42-48.
- (18) Lyons R, Howell F. Pain and measles, mumps, and rubella vaccination. *Arch Dis Child* 1991; 66(3):346-347.
- (19) Watson JC, Hadler SC, Dykewicz CA, Reef S, Phillips L. 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 Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 47(RR-8):1-57.
- (20) Greenblatt DJ, Koch WJ. Intramuscular injection of drugs. *N Engl J Med* 1976; 295(10):542-546.
- (21) Rümke HC, Labadie J. Onderzoek met BMR vaccin bij 14 maanden oude kinderen, intramusculaire versus subcutane toediening (protocol). RIVM project no. 104060, studie no. 86A. RIVM Bilthoven 1999.
- (22) LVO. Gebruik Packard MultiPROBE 104 en 204 (SOP). SOP 12N-APP-34. RIVM Bilthoven 1998.
- (23) Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. fourth ed. New York: Churchill Livingstone, 1999.
- (24) LVO. Standaard indirecte ELISA (SOP). SOP12C-ALG-17. RIVM Bilthoven 2000.
- (25) Berbers GAM, Marzec AH, Bastmeijer M, van-Gageldonk PG, Plantinga AD. Blocking ELISA for detection of mumps virus antibodies in human sera. *J Virol Methods* 1993; 42(2-3):155-168.
- (26) Harmsen T, Jongerius MC, van der Zwan CW, Plantinga AD, Kraaijeveld CA, Berbers GA. Comparison of a neutralization enzyme immunoassay and an enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of immune status of children vaccinated for mumps. *J Clin Microbiol* 1992; 30(8):2139-2144.
- (27) Beaumont M.T.A., van den Hof S, Berbers G.A.M., Conyn-van Spaendonck MEA. De immuniteit van de Nederlandse populatie tegen bof; evaluatie van het Rijksvaccinatieprogramma. RIVM rapport 213676 010. RIVM Bilthoven 1999.
- (28) van den Hof S, Berbers G.A.M., de Melker H.E., Conyn-van Spaendonck MEA. 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):931-940.
- (29) 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; 123:263-270.

- (30) LCB. Statistische analyse voor de validatie van testmethoden (SOP). SOP 18N-41. RIVM Bilthoven 2000.
- (31) LVO. Virusneutralisatietest bof en mazelen virus (SOP). SOP 12C-ALG-11. RIVM Bilthoven 2001.
- (32) LVO. Data invoer in SIS (SOP). SOP 12C-ALG-40. RIVM Bilthoven 1998.
- (33) LVO. Handleiding Serum Informatie Systeem. SOP 12C-ALG-41. RIVM Bilthoven 1998.
- (34) Microsoft Access 97. 1997.
- (35) SPSS for Windows. 1999.
- (36) Zuckerman JN. The importance of injecting vaccines into muscle. Different patients need different needle sizes. *BMJ* 2000; 321(7271):1237-1238.
- (37) Watson JC, Peter G. General immunization proces. In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. *Vaccines*. W.B.Saunders Company, 1999: 47-73.
- (38) Mark A, Carlsson RM, Granstrom M. Subcutaneous versus intramuscular injection for booster DT vaccination of adolescents. *Vaccine* 1999; 17(15-16):2067-2072.
- (39) Dennehy PH, Reisinger KS, Blatter MM, Veloudis BA. Immunogenicity of subcutaneous versus intramuscular Oka/Merck varicella vaccination in healthy children. *Pediatrics* 1991; 88(3):604-607.
- (40) McGraw TT. Reimmunization following early immunization with measles vaccine: a prospective study. *Pediatrics* 1986; 77(1):45-48.
- (41) Campbell AGM. Measles / Mumps / Rubella (MMR). In: Department of Health, Welsh Office, Scottish Office Home and Health Department DHSS (Northern Ireland), editor. *Immunisation against infectious disease*. London: HMSO, 1992: 57-67.
- (42) Dunlop JM, RaiChoudhury K, Roberts JS, Bryett KA. An evaluation of measles, mumps and rubella vaccine in a population of Yorkshire infants. *Public Health* 1989; 103(5):331-335.
- (43) Carter H, Campbell H. Rational use of measles, mumps and rubella (MMR) vaccine. *Drugs* 1993; 45(5):677-683.
- (44) Klinge J, Lugauer S, Korn K, Heininger U, Stehr K. Comparison of immunogenicity and reactogenicity of a measles, mumps and rubella (MMR) vaccine in German children vaccinated at 9-11, 12-14 or 15-17 months of age. *Vaccine* 2000; 18(27):3134-3140.
- (45) Usonis V, Bakasenas V, Chitour K, Clemens R. Comparative study of reactogenicity and immunogenicity of new and established measles, mumps and rubella vaccines in healthy children [see comments]. *Infection* 1998; 26(4):222-226.
- (46) Axia G, Bonichini S, Benini F. Pain in infancy: individual differences. *Percept Mot Skills* 1995; 81(1):142.

- (47) Reis EC, Jacobson RM, Tarbell S, Weniger BG. Taking the sting out of shots: control of vaccination-associated pain and adverse reactions. *Pediatr Ann* 1998; 27(6):375-386.
- (48) Taddio A, Nulman I, Koren BS, Stevens B, Koren G. A revised measure of acute pain in infants. *J Pain Symptom Manage* 1995; 10(6):456-463.
- (49) Taddio A, Nulman I, Goldbach M, Ipp M, Koren G. Use of lidocaine-prilocaine cream for vaccination pain in infants. *J Pediatr* 1994; 124(4):643-648.
- (50) Axia G, Bonichini S. Regulation of emotion after acute pain from 3 to 18 months: A longitudinal study. *Early development and parenting* 1998; 7(4):203-210.
- (51) Gatchalian S, Cordero YL, Lu FM, Soriano R, Ludan A, Chitour K et al. A randomized comparative trial in order to assess the reactogenicity and immunogenicity of a new measles mumps rubella (MMR) vaccine when given as a first dose at 12-24 months of age. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30(3):511-517.
- (52) Virtanen M, Peltola H, Paunio M, Heinonen OP. Day-to-day reactogenicity and the healthy vaccinee effect of measles- mumps-rubella vaccination. *Pediatrics* 2000; 106(5):E62.
- (53) Vermeer-de Bondt PE, Wesselo C, Dzaferagic A, Phaff TAJ. Adverse events following immunisations under the National Vaccination Programme of the Netherlands. Number III-1996/'97. RIVM rapport 000001/003. RIVM Bilthoven 2001.
- (54) Peltola H, Heinonen OP. Frequency of true adverse reactions to measles-mumps-rubella vaccine. A double-blind placebo-controlled trial in twins. *Lancet* 1986; 1(8487):939-942.
- (55) van den Hof S, de Melker H.E., Suijkerbuijk AWM, Conyn-van Spaendonck MEA. Pienter project: description of serumbank and information on participants from questionnaires. RIVM rapport 213675005. RIVM Bilthoven 1997.
- (56) Smeets-Driessen MDH, van der Zwan CW, Rümke HC, Plantinga AD, van den Berg J. BMR-vaccinatie volgens een alternatief schema? Voor- en nadelen overwogen. *Tijdschr Soc Gezondheidsz* 1995; 73(5):295-299.
- (57) van-Eijndhoven MJ, Rumke HC, Bosman A, van-Dijk WC, Hirsch R, van-Binnendijk RS. Een mazelenepidemie in een goed gevaccineerde middelbare-schoolpopulatie. *Ned Tijdschr Geneesk* 1994; 138(48):2396-2400.
- (58) Lavi S, Zimmerman B, Koren G, Gold R. Administration of Measles, Mumps, and Rubella Virus Vaccine (live) to egg-allergic children. *JAMA* 1990; 263 (2): 269-271.

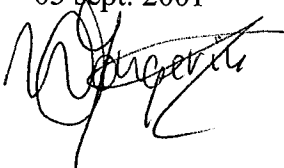
GCP verklaring

Ondergetekende verklaart hierbij dat het werk, dat hierin is beschreven, is uitgevoerd overeenkomstig de beginselen van Good Clinical Practice (GCP) en dat dit rapport een compleet, correct en betrouwbaar overzicht geeft van de verkregen resultaten.

Tevens is bij dit project een document opgesteld voor de overname van de projectleiding in november 2000. In dit document zijn de problemen bij deze overname beschreven, behandeld en voor zover mogelijk opgelost.

Het document is vastgesteld en ondertekend door de projectleider, de monitor en de kwaliteitsfunctionaris d.d. juni 2001.

Kwaliteitsfunctionaris

naam : M.C. Jongerius
laboratorium : LVO
datum : 03 sept. 2001
handtekening : 

Appendix 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 Medisch-Ethische Commissie TNO Leiden
- 9-12 Stichting Thuiszorg Stad Utrecht
- 13-16 Stichting Thuiszorg Eemland
- 17 Provinciale Entadministratie Utrecht
- 18 Mw. Dr C.M.R.Weemaes, Afdeling kindergeneeskunde Universitair Medisch
 Centrum St.Radboud Nijmegen
- 19 Dr. H.C. Rümke, Vaxinostics b.v. i.o., Vaccincentrum EUR
- 20 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
- 21 Directie RIVM
- 22 Directeur sector Volksgezondheid, Dr. G. Elzinga
- 23 Directeur sector Vaccins, Prof. dr. B.A.M. van der Zeijst
- 24-27 Sector Directeuren
- 28 Directeur SVM
- 28-30 Hoofd en afdelingshoofden LVO
- 31-32 Hoofd LCB
- 33-34 Hoofd LPO
- 35-36 Hoofd LVR
- 37-38 Hoofd KRZ
- 39-40 Hoofd CIE
- 41-42 Hoofd LIS
- 43-44 Hoofd LIO
- 45-62 Medisch Adviseurs Entadministraties
- 63 Landelijke Vereniging Entadministraties
- 64-70 Auteurs
- 71 SBD/Voorlichting en Public Relations
- 72 Bureau Rapportenregistratie
- 73 Bibliotheek RIVM
- 74-83 Bureau Rapportenbeheer
- 84-115 Reserve

Appendix 2 Tables

Tabel 3. Aantal en geslacht deelnemers per onderzoeksgroep

Studie lokatie	Toedieningswijze vaccin	jongens	meisjes	TOTAAL
Amersfoort	intramusculair (IM)	10	7	17
	subcutaan (SC)	8	9	17
	totaal	18	16	34
Utrecht	intramusculair (IM)	9	7	16
	subcutaan (SC)	10	7	17
	totaal	19	14	33
TOTAAL		37	30	67

Tabel 4A. Algemene gezondheidstoestand voor BMR vaccinatie

Algemene verschijnselen	Intramusculair N=33		Subcutaan N=34	
	n	%	n	%
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	9	27,9	11	32,4
Hoofdpijn	1	3,1	1	2,9
Hangerig	18	54,5	20	58,8
Suf	1	3,0	4	11,8
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	5	15,2	10	29,4
Crècheverzuim	5	15,2	7	20,6
Medicatie gebruik	9	27,3	15	44,1
Arts en/of ziekenhuis bezoek	2	6,1	7	20,6
Ziekte in gezin	11	33,3	11	32,4
Andere algemene verschijnselen	15	45,5	19	55,9

Tabel 4B. *Bijwerkingen op dag van vaccinatie*

	Intramusculair N=30		Subcutaan N=32	
	n	%	n	%
Algemene verschijnselen				
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	0	-	0	-
Hoofdpijn	0	-	0	-
Hangerig	2	6,7	0	-
Suf	0	-	0	-
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	1	3,3	1	3,1
Crècheverzuim	0	-	0	-
Medicatie gebruik	2	6,7	0	-
Arts en/of ziekenhuis bezoek	0	-	0	-
Ziekte in gezin	1	3,3	0	-
Andere algemene verschijnselen	6	20,0	2	6,3
Lokale verschijnselen				
Pijn <i>Geen pijn</i>	16	53,3	15	46,9
<i>Vervelend</i>	8	26,7	6	18,8
<i>Pijn</i>	5	16,7	7	21,9
<i>Veel pijn</i>	0	-	3	9,4
<i>Extreme pijn</i>	1	3,3	1	3,1
Roodheid	1	3,3	2	6,3
Roodheid > 2,5cm	0	-	1	3,1
Zwelling	0	-	0	-
Jeuk	0	-	0	-
Verminderd gebruik arm	0	-	0	-
Andere lokale verschijnselen	1	3,3	1	3,1

Tabel 4C. Bijwerkingen week 1 na vaccinatie

	Intramusculair N=30		Subcutaan N=32	
	n	%	n	%
Algemene verschijnselen				
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	3	10,0	3	9,4
Hoofdpijn	0	-	1	3,1
Hangerig	8	26,7	6	18,8
Suf	2	6,7	1	3,1
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	1	3,3	3	9,4
Crècheverzuim	1	3,3	2	6,3
Medicatie gebruik	4	13,3	5	15,6
Arts en/of ziekenhuis bezoek	3	10,0	1	3,1
Ziekte in gezin	2	6,7	3	9,4
Andere algemene verschijnselen	14	46,7	8	25,0
Lokale verschijnselen				
Pijn	30	100	32	100
<i>Geen pijn</i>				
<i>Vervelend</i>	0	-	0	-
<i>Pijn</i>	0	-	0	-
<i>Veel pijn</i>	0	-	0	-
<i>Extreme pijn</i>	0	-	0	-
Roodheid	0	-	0	-
Roodheid > 2,5cm	0	-	0	-
Zwelling	0	-	0	-
Jeuk	0	-	0	-
Verminderd gebruik arm	0	-	0	-
Andere lokale verschijnselen	0	-	1	3,1

Tabel 4D. Bijwerkingen week 2 na vaccinatie

	Intramusculair N=30		Subcutaan N=32	
	n	%	n	%
Algemene verschijnselen				
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	7	23,3	6	18,8
Hoofdpijn	2	6,9	1	3,2
Hangerig	15	50,0	13	40,6
Suf	4	13,3	2	6,3
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	3	10,3	4	12,9
Crècheverzuim	1	3,4	6	18,8
Medicatie gebruik	4	13,3	4	12,5
Arts en/of ziekenhuis bezoek	1	3,4	2	6,3
Ziekte in gezin	3	10,3	3	9,4
Andere algemene verschijnselen	12	41,4	9	28,1
Lokale verschijnselen				
Pijn	30	100	32	100
<i>Geen pijn</i>				
<i>Vervelend</i>	0	-	0	-
<i>Pijn</i>	0	-	0	-
<i>Veel pijn</i>	0	-	0	-
<i>Extreme pijn</i>	0	-	0	-
Roodheid	0	-	1	3,1
Roodheid > 2,5cm	0	-	0	-
Zwelling	0	-	0	-
Jeuk	0	-	0	-
Verminderd gebruik arm	0	-	0	-
Andere lokale verschijnselen	0	-	0	-

Tabel 4E. Bijwerkingen week 3 na vaccinatie

	Intramusculair N=30		Subcutaan N=32	
	n	%	n	%
Algemene verschijnselen				
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	3	10,0	1	3,1
Hoofdpijn	1	3,3	1	3,1
Hangerig	2	6,7	5	15,6
Suf	0	-	1	3,1
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	0	-	0	-
Crècheverzuim	1	3,3	1	3,1
Medicatie gebruik	5	16,7	1	3,2
Arts en/of ziekenhuis bezoek	2	6,7	2	6,3
Ziekte in gezin	1	3,3	3	9,4
Andere algemene verschijnselen	6	20,0	6	18,8
Lokale verschijnselen				
Pijn				
<i>Geen pijn</i>	30	100	32	100
<i>Vervelend</i>	0	-	0	-
<i>Pijn</i>	0	-	0	-
<i>Veel pijn</i>	0	-	0	-
<i>Extreme pijn</i>	0	-	0	-
Roodheid	0	-	0	-
Roodheid > 2,5cm	0	-	0	-
Zwelling	0	-	0	-
Jeuk	0	-	0	-
Verminderd gebruik arm	0	-	0	-
Andere lokale verschijnselen	0	-	0	-

Tabel 4F. Bijwerkingen week 4-6 na vaccinatie

	Intramusculair N=30		Subcutaan N=32	
	n	%	n	%
Algemene verschijnselen				
Koorts ($\geq 38,5$ °C)	9	30,0	4	12,5
Hoofdpijn	0	-	1	3,1
Hongerig	9	30,0	9	28,1
Suf	2	6,7	3	9,4
Gewrichtsklachten	0	-	0	-
Huidverschijnselen	0	-	2	6,3
Crècheverzuim	3	10,3	3	9,4
Medicatie gebruik	6	20,0	6	18,8
Arts en/of ziekenhuis bezoek	5	16,7	2	6,3
Ziekte in gezin	4	13,8	4	12,5
Andere algemene verschijnselen	11	36,7	12	37,5
Lokale verschijnselen				
Pijn	30	100	32	100
<i>Geen pijn</i>				
<i>Vervelend</i>	0	-	0	-
<i>Pijn</i>	0	-	0	-
<i>Veel pijn</i>	0	-	0	-
<i>Extreme pijn</i>	0	-	0	-
Roodheid	0	-	0	-
Roodheid > 2,5cm	0	-	0	-
Zwelling	0	-	0	-
Jeuk	0	-	0	-
Verminderd gebruik arm	0	-	0	-
Andere lokale verschijnselen	0	-	0	-

Tabel 5. Geometrisch gemiddelde ELISA titers met 95% betrouwbaarheids intervallen

Bof

Onderzoeksgroep	Moment	n	GMT (RU/ml)	[95%BI]	%beschermd
Intramusculair	pré vaccinatie	30	5,15	[3,40-7,08]	7
	post vaccinatie	30	124,20	[89,33-172,69]	90
Subcutaan	pré vaccinatie	32	3,42	[2,51-4,66]	0
	post vaccinatie	31	120,53	[91,75-158,35]	94

Mazelen

Onderzoeksgroep	Moment	n	GMT (IU/ml)	[95%BI]	%beschermd
Intramusculair	pré vaccinatie	30	0,02	[0,01-0,02]	0
	post vaccinatie	30	1,79	[1,39-2,32]	100
Subcutaan	pré vaccinatie	32	0,01	[0,01-0,02]	0
	post vaccinatie	31	2,33	[1,80-3,01]	100

Rubella

Onderzoeksgroep	Moment	n	GMT (IU/ml)	[95%BI]	%beschermd
Intramusculair	pré vaccinatie	30	3,35	[2,40-4,67]	13
	post vaccinatie	30	112,28	[88,38-142,65]	100
Subcutaan	pré vaccinatie	32	2,27	[1,82-2,85]	3
	post vaccinatie	31	103,63	[85,18-126,07]	100

Tabel 6A. *Deelnemers met pré vaccinatie beschermende ELISA antistofniveaus tegen bof en/of rubella*

UTN	Afname	Onderzoeksgroep	Bof	Mazelen	Rubella
106	pré	intramusculair	45,4	0,04	33,9
	post		357,4	0,98	219,3
113	pré	intramusculair	30,5	0,03	10,0
	post		72,8	2,02	162,7
114	pré	intramusculair	92,8	0,18	21,6
	post		573,2	3,05	328,4
127	pré	intramusculair	11,1	0,01	15,8
	post		72,9	0,97	112,5
216	pré	subcutaan	39,4	0,04	19,2
	post		219,4	2,18	162,4

Tabel 6B. *Deelnemers met post vaccinatie onbeschermende ELISA antistofniveaus tegen bof*

UTN	Afname	Onderzoeksgroep	Bof	Mazelen	Rubella
101	pré	subcutaan	12,3	0,01	1,5
	post		37,9	2,16	121,3
104	pré	intramusculair	2,0	0,01	1,5
	post		22,2	1,04	16,5
122	pré	subcutaan	2,0	0,01	3,6
	post		29,4	2,75	109,3
131	pré	intramusculair	7,4	0,02	1,5
	post		22,1	2,52	79,2
208	pré	intramusculair	8,1	0,01	5,8
	post		35,8	1,04	48,7

Tabel 7. *Geometrisch gemiddelde virusneutralisatie titers met 95% betrouwbaarheidsintervallen*

Mazelen

Onderzoeksgroep	Moment	n	GMT (IU/ml)	[95%BI]	%beschermd
Intramusculair	pré vaccinatie	30	0,02	[0,02-0,02]	0
	post vaccinatie	30	1,36	[1,12-1,66]	100
Subcutaan	pré vaccinatie	32	0,02	[0,02-0,02]	0
	post vaccinatie	30	1,71	[1,35-2,18]	100

Appendix 3 Bijsluiter BMR vaccin



RIJKSINSTITUUT
VÓOR VOLKSGEZONDHEID
EN MILIEU

040024



Bof-, Mazelen-, Rubellavaccin

levend, gevriesdroogd

Licentie van Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., U.S.A.

<p>Beschrijving en samenstelling Bof-, mazelen-, rubellavaccin (BMR vaccin) is een gevriesdroogd preparaat van levend, verzwakte bof-, mazelen- en rode hond (= rubella) virussen.</p> <p>Bofvirus, stam Jeryl Lynn, is gekweekt op kippenembryofibroblasten; mazelenvirus, stam Moraten, is gekweekt op kippenembryofibroblasten en wordt verkregen door de reeds verzwakte Edmonston stam door herhaalde passage in celculturen verder te verzwakken en rubellavirus, stam Wistar RA27/3, is gekweekt op menselijke diploïde celculturen (WI-38).</p> <p>1 dosis (0,5 ml) bevat na resuspensie met de bijgepakte reconstitutievlloeistof:</p> <p>bofvirus ≥ 5000 p.f.u.* mazelenvirus ≥ 1000 p.f.u. rubellavirus ≥ 1000 p.f.u.</p> <p>Sorbitol en gehydrolyseerde gelatine zijn als stabilisatoren aan het vaccin toegevoegd. Het vaccin bevat geen antibiotica en geen conserveermiddel.</p> <p>*) p.f.u. = plaque forming unit</p> <p>Farmaceutische vorm en presentatie BMR vaccin is een poeder voor injectievlloeistof en wordt afgevuld in: flesjes à 1 dosis, met even zoveel flesjes reconstitutievlloeistof bestelnr. 442</p>	<p>Fabrikant en registratiehouder RIVM, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven afd. verkoop SVM Postbus 457, 3720 AL Bilthoven Tel.: 030-2748010</p> <p>RVG nummer BMR vaccin is in het register ingeschreven onder RVG-nummer 17654.</p> <p>Indicatie Actieve immunisatie tegen bof, mazelen en rubella vanaf de leeftijd van 14 maanden. In het Rijksvaccinatie programma (RVP) wordt BMR vaccin tweemaal gegeven: vanaf de leeftijd van 14 maanden en in het 9de levensjaar.</p> <p>Contra-indicaties</p> <ul style="list-style-type: none"> - BMR vaccin bevat levende verzwakte virusstammen en toepassing is dan ook gecontraïndiceerd bij patiënten die met corticosteroiden of cytostatica worden behandeld en bij patiënten met stoornissen in het afweermecanisme waaronder HIV-geïnfecteerde patiënten met ernstige immunodeficiëntie (zie ook: Speciale waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik). - BMR vaccin is eveneens gecontraïndiceerd bij zwangerschap.
---	---

Speciale waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik

- Bof- en mazelenvirus worden gekweekt in cellen afkomstig van kippenembryo's. Overgevoeligheid voor kippeneiwit is geen contra-indicatie; bij patiënten die bekend zijn met anafylactische reacties op kippeneiwit kunnen BMR vaccinaties onder de gebruikelijke voorzorgen worden uitgevoerd volgens de instructie in het Rijksvaccinatie programma. Tevens wordt geadviseerd epinefrine injectie en corticosteroiden beschikbaar te hebben en zonodig, gedoseerd naar leeftijd en/of lichaamsgewicht, toe te dienen.
- Bij HIV-patiënten met ernstige immunodeficiëntie komen BMR vaccinatie gerelateerde complicaties voor. Aan hen wordt BMR vaccin dan ook niet toegediend; bij contacten van dergelijke patiënten met mazelen wordt profylaxe aanbevolen met normaal immunoglobuline. Bij HIV-geïnfecteerde patiënten met een lichte tot matige immunodeficiëntie kan BMR vaccinatie aangewezen zijn ter voorkoming van vaak fataal verlopende mazelen bij deze patiënten.
- Voor gelijktijdig toedienen van vaccins zie onder dosering en de wijze van gebruik.
- Contraceptieve maatregelen moeten worden genomen tot 3 maanden na vaccinatie van vruchtbare vrouwen.
- Aanbevolen wordt vaccinatie tegen BMR minstens 3 maanden uit te stellen na transfusie met totaal bloed of plasma en na toediening van immunoglobuline afkomstig van de mens.

Dosering en de wijze van gebruik

Gebruik voor resuspensie uitsluitend de bijgeleverde reconstitutievlloeistof, omdat deze vrij is van conservantia of andere virusinactiverende middelen. Resuspensie geschiedt door 6 ml (multidoses) of 0,6 ml (monodoses) van de reconstitutievlloeistof

met een steriele spuit bij het gedroogde vaccin te voegen. Omdat het flesje met vaccin onder vacuüm gesloten is, zal na het aanpakken de reconstitutievlloeistof met kracht in het flesje gezogen worden. Hierdoor ontstaat schuimvorming die echter na ca. 10 seconden verdwijnt. Het volledig geresuspendeerde vaccin is helder en oranje-geel van kleur. Eén dosis is 0,5 ml en dient subcutaan te worden gegeven. Het vaccin moet langzaam worden toegediend, bij voorkeur in de bovenarm. Niet intraveneus spuiten.

Het Rijksvaccinatie programma voorziet in vaccinatie op een leeftijd van 14 maanden en een tweede vaccinatie op circa 9-jarige leeftijd. Alhoewel de effectiviteit van BMR vaccinaties in het eerste levensjaar (tot en met de twaalfde levensmaand) niet in klinische studies is onderzocht, kan het in bepaalde gevallen wenselijk zijn de BMR vaccinatie eerder te geven. Kinderen die BMR vaccin kregen voor de leeftijd van 12 maanden, moeten opnieuw worden gevaccineerd na de leeftijd van 14 maanden. Vaccinatie vóór de leeftijd van 6 maanden wordt afgeraden.

De vaccinaties kunnen in dezelfde zitting gegeven worden met andere vaccins die in het Rijksvaccinatie programma worden toegepast, uiteraard op een andere injectieplaats.

Als hiervan geen gebruik wordt gemaakt, dient een tussentijd te worden aangehouden van tenminste 2 weken indien de D(K)TP en/of Hib vaccin vóór de BMR vaccinatie is gegeven, en van 4 weken indien de D(K)TP en/of Hib vaccin na de BMR vaccinatie wordt gegeven.

Ook volwassenen kunnen met BMR vaccin worden geïmmuniseerd. Dan is een éénmalige toediening van BMR vaccin voldoende.

Ongewenste bijwerkingen

Vaccinatie kan gedurende korte tijd een

branderig, stekend gevoel geven op de plaats van enting. Koorts en/of erytheem kan optreden 5 tot 12 dagen na vaccinatie. Kinderen die met hoge temperatuur op vaccinatie reageren, kunnen, indien hiertoe gepredisponeerd, een febrile convulsie krijgen.

In zeer zeldzame gevallen zijn na vaccinatie encefalitis en andere reacties van het centraal zenuwstelsel waargenomen. Een oorzakelijk verband met vaccinatie kon daarbij niet worden uitgesloten; echter een verhoging van het aantal gevallen in vergelijking met niet-gevaccineerden is niet waargenomen. De rubella-component van het vaccin geeft bij kinderen weinig reacties. Soms wordt een zwelling van de cervicale of occipitale lymfeklieren waargenomen. Echter, vooral bij volwassen vrouwen, zijn 2 à 4 weken na vaccinatie passagère arthralgieën en arthritiden gezien. Sporadisch treden allergische reacties op. Artsen wordt verzocht mogelijke bijwerkingen te melden aan de afdeling Klinisch Onderzoek van het Laboratorium voor Veldonderzoek Vaccins van het RIVM, tel. 030-2742424.

Bewaring

Het produkt dient bij 2 - 8 °C te worden bewaard; beschermen tegen licht. Geresuspendeerd vaccin wordt bij voorkeur direct gebruikt. Eventueel kan het vaccin na reconstitutie, mits nog in het flesje (en dus niet in spuit), teruggeplaatst in het donker bij 2 - 8 °C tot maximaal 4 uur worden bewaard. Resterend vaccin dient te worden vernietigd b.v. door koken in water gedurende 10 minuten.

Uiterste gebruiksdatum

De achter exp. aangegeven datum is de uiterste gebruiksdatum. Het produkt mag na deze datum niet meer worden gebruikt.

Appendix 4 Line listing

UTN	afn.	vaccinatie	lokatie	bof ELISA (RU/ml)	mazelen ELISA (IU/ml)	mazelen VN (IU/ml)	rubella ELISA (IU/ml)
101	1	SC	Amersfoort	12,3	0,01	2,16	121,3
101	2	SC	Amersfoort	37,9	2,16	0,02	1,5
102	1	IM	Amersfoort	11,7	0,01	1,08	113,3
102	2	IM	Amersfoort	103,9	2,43	0,02	4,1
103	1	SC	Amersfoort	2	0,01	4,32	77,5
103	2	SC	Amersfoort	60,9	4,15	0,02	1,5
104	1	IM	Amersfoort	2	0,01	1,08	16,5
104	2	IM	Amersfoort	22,2	1,04	0,54	71
105	1	SC	Amersfoort	7,4	0,01	1,08	46,3
105	2	SC	Amersfoort	68,7	2,09	0,02	1,5
106	1	IM	Amersfoort	45,4	0,04	0,54	219,3
106	2	IM	Amersfoort	357,4	0,98	2,16	93
107	1	IM	Amersfoort	7,2	0,01	2,16	164,9
108	1	SC	Amersfoort	9,7	0,03	2,16	328,4
109	1	SC	Amersfoort	2	0,02	1,08	216,5
109	2	SC	Amersfoort	123,2	1,21	0,02	5,7
110	1	IM	Amersfoort	2	0,06	1,08	45,3
110	2	IM	Amersfoort	456,1	2,37	0,54	139,1
111	1	SC	Amersfoort	11,8	0,04	2,16	192,2
111	2	SC	Amersfoort	150,6	1,15	0,02	1,5
112	1	IM	Amersfoort	2	0,02	1,08	101,4
112	2	IM	Amersfoort	368,6	2,21	0,02	10
113	1	IM	Amersfoort	30,5	0,03	2,16	165,5
113	2	IM	Amersfoort	72,8	2,02	2,16	162,7
114	1	IM	Amersfoort	92,8	0,18	1,08	30,1
114	2	IM	Amersfoort	573,2	3,05	0,02	21,6
115	1	SC	Amersfoort	6,3	0,01	1,08	134,3
116	1	SC	Amersfoort	2	0,01	1,08	292,8
116	2	SC	Amersfoort	190,1	0,99	0,02	1,5
117	1	SC	Amersfoort	2	0,01	1,08	61,3
117	2	SC	Amersfoort	99,7	1,36	0,03	1,5
118	1	IM	Amersfoort	6,2	0,01	1,08	112,5
118	2	IM	Amersfoort	151,8	1,64	0,02	5,1
119	1	IM	Amersfoort	2	0,01	1,08	113,2
119	2	IM	Amersfoort	50,9	0,85	0,02	1,5
120	1	SC	Amersfoort	2	0,01	1,08	79,2
120	2	SC	Amersfoort	437	6,24	0,02	1,5
121	1	SC	Amersfoort	16,7	0,01	,	164,1
121	2	SC	Amersfoort	240,5	5,22	0,03	1,5
122	1	SC	Amersfoort	2	0,01	4,32	45,8
122	2	SC	Amersfoort	29,4	2,75	4,32	148,8
123	1	IM	Amersfoort	2	0,01	0,54	96,8
123	2	IM	Amersfoort	96,4	3,15	0,07	1,5

UTN	afn.	vaccinatie	lokatie	bof ELISA (RU/ml)	mazelen ELISA (IU/ml)	mazelen VN (IU/ml)	rubella ELISA (IU/ml)
124	1	IM	Amersfoort	10,8	0,01	1,08	77
124	2	IM	Amersfoort	82,8	0,81	0,02	3,6
125	1	SC	Amersfoort	2	0,02	0,03	1,5
125	2	SC	Amersfoort	78,3	1,57	2,16	109,3
126	2	IM	Amersfoort	208,3	2,5	0,02	1,5
127	1	IM	Amersfoort	11,1	0,01	0,02	1,5
127	2	IM	Amersfoort	72,9	0,97	0,02	8,5
128	1	SC	Amersfoort	2	0,01	0,02	1,5
128	2	SC	Amersfoort	47,9	0,76	0,02	1,5
129	1	IM	Amersfoort	27,4	0,02	0,02	1,5
129	2	IM	Amersfoort	294,7	1,53	0,02	15,8
130	1	SC	Amersfoort	2	0,01	0,02	5,4
130	2	SC	Amersfoort	431,4	2,24	0,02	3,9
131	1	IM	Amersfoort	7,4	0,02	0,02	33,9
131	2	IM	Amersfoort	22,1	2,52	0,03	5,8
134	2	SC	Amersfoort	117,8	4,6	1,08	134,4
135	2	IM	Amersfoort	431,4	1,34	0,03	1,5
201	1	IM	Utrecht	2	0,01	2,16	64,5
201	2	IM	Utrecht	183,6	4,88	1,08	162,4
202	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	1,5
202	2	SC	Utrecht	124,6	3,21	0,02	3,1
203	1	IM	Utrecht	6,1	0,01	1,08	66,6
203	2	IM	Utrecht	98,9	2,06	2,16	248
204	1	SC	Utrecht	9,3	0,02	0,02	1,5
204	2	SC	Utrecht	214	7,7	0,02	1,5
205	1	IM	Utrecht	2	0,02	2,16	114,2
205	2	IM	Utrecht	52,1	3,34	0,03	3,4
206	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	1,5
206	2	SC	Utrecht	47	3,36	1,08	226,8
207	1	IM	Utrecht	10,7	0,03	4,32	116,8
208	1	IM	Utrecht	8,1	0,01	0,02	1,5
208	2	IM	Utrecht	38,5	1,04	0,02	3
209	1	SC	Utrecht	2	0,01	1,08	79,5
209	2	SC	Utrecht	58,5	3,41	2,16	241,3
210	1	SC	Utrecht	7	0,01	0,02	1,5
210	2	SC	Utrecht	64,1	1,36	0,02	3,6
211	1	IM	Utrecht	2	0,03	2,16	104,7
211	2	IM	Utrecht	61,3	0,59	2,16	101,1
212	1	SC	Utrecht	10,3	0,02	0,02	5,5
212	2	SC	Utrecht	69,9	2,3	0,02	1,5
213	1	IM	Utrecht	9,9	0,02	2,16	126
213	2	IM	Utrecht	76,6	1,49	2,16	51,3
214	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	3,6
214	2	SC	Utrecht	328,5	2,99	0,02	3
215	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	6
215	2	SC	Utrecht	122,5	1,46	2,16	174,7

UTN	afn.	vaccinatie	lokatie	bof ELISA (RU/ml)	mazelen ELISA (IU/ml)	mazelen VN (IU/ml)	rubella ELISA (IU/ml)
216	1	SC	Utrecht	39,4	0,04	0,02	5,8
216	2	SC	Utrecht	214,9	2,18	0,03	3,9
217	1	IM	Utrecht	2	0,03	1,08	48,7
217	2	IM	Utrecht	315,7	2,53	0,54	224,7
218	1	IM	Utrecht	2	0,02	0,02	1,5
218	2	IM	Utrecht	286,9	1,06	0,02	1,5
219	1	SC	Utrecht	2	0,01	2,16	84,5
219	2	SC	Utrecht	182,3	1,29	4,32	105,2
220	1	IM	Utrecht	2	0,03	0,02	3,9
220	2	IM	Utrecht	45,2	4,81	0,02	1,5
221	1	IM	Utrecht	2	0,01	1,08	31,7
221	2	IM	Utrecht	196,9	5,36	4,32	248,4
222	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	3,4
222	2	SC	Utrecht	40,6	2,12	0,02	1,5
223	1	SC	Utrecht	2	0,01	1,08	69,4
223	2	SC	Utrecht	296,1	4,54	4,32	174,7
224	1	IM	Utrecht	2	0,07	0,03	3,2
224	2	IM	Utrecht	92,3	0,23	0,02	3,3
225	1	SC	Utrecht	2	0,02	2,16	147,6
225	2	SC	Utrecht	147,5	9,02	2,16	130,4
226	1	IM	Utrecht	2	0,01	0,02	3,4
226	2	IM	Utrecht	134,6	3,49	0,02	5,2
227	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,54	125,5
227	2	SC	Utrecht	287,6	6,23	2,16	120,6
228	1	IM	Utrecht	2	0,01	0,02	1,5
228	2	IM	Utrecht	158,4	2,76	0,03	1,5
229	1	IM	Utrecht	7,9	0,01	2,16	106,3
229	2	IM	Utrecht	161,5	2,43	0,54	127
230	1	SC	Utrecht	2	0,03	0,02	1,5
230	2	SC	Utrecht	245,8	0,6	0,02	1,5
232	1	SC	Utrecht	2	0,01	2,16	70
232	2	SC	Utrecht	162,5	2,16	1,08	77,9
233	1	SC	Utrecht	2	0,01	0,02	19,2
233	2	SC	Utrecht	94,4	0,79	0,02	1,5