



L'impact de l'âge à la vaccination, du type de vaccin et de la présence des manifestations cliniques indésirables sur la réponse immunitaire au vaccin contre la rougeole

Thèse

Sara Carazo Perez

Doctorat en épidémiologie

Philosophiæ doctor (Ph.D.)

Québec, Canada

© Sara Carazo Perez, 2018

L'impact de l'âge à la vaccination, du type de vaccin et de la présence des manifestations cliniques indésirables sur la réponse immunitaire au vaccin contre la rougeole

Thèse

Sara Carazo Perez

Sous la direction de :

Gaston De Serres, directeur de recherche

Alexandre Bureau, codirecteur de recherche

Résumé

La vaccination universelle contre la rougeole a permis de contrôler cette maladie et de l'éliminer dans la région des Amériques depuis 2002. Pour atteindre et maintenir l'élimination, une immunité de plus de 90% de la population est nécessaire. Outre la couverture vaccinale, une efficacité vaccinale élevée est primordiale pour assurer une telle immunité. L'âge à la première dose détermine la réponse immunitaire, mais cela semble être surtout important chez les enfants vaccinés avec une dose unique et nés de mères qui ont eu la rougeole. La deuxième dose a été ajoutée pour assurer la séroconversion de ceux qui n'auraient pas répondu à la première dose (échec primaire). Cependant, l'épidémie de 2011 au Québec a montré que le risque chez ceux ayant reçu deux doses augmentait avec un âge plus précoce à la première vaccination. D'autres études épidémiologiques ont documenté des échecs vaccinaux secondaires parmi les cas vaccinés avec deux doses; ils auraient développé une réponse immunitaire faible et transitoire.

Par ailleurs, le vaccin contre la rougeole est généralement administré comme vaccin combiné trivalent, contre la rougeole, la rubéole et les oreillons (RRO), ou tétravalent, en incluant le vaccin contre la varicelle (RROV). Ce dernier induit plus d'anticorps contre la rougeole, mais aussi plus de fièvre que le RRO.

Dans un contexte épidémiologique caractérisé par un calendrier à deux doses et des mères vaccinées, notre projet visait à évaluer l'impact de l'âge à la première dose, du type de vaccin combiné et des manifestations cliniques indésirables sur la réponse à une et deux doses du RRO ou RROV. Trois études ont été menées:

1. La première étude est une revue systématique avec méta-analyse qui a synthétisé les connaissances sur l'effet de l'âge à la première dose sur la protection et l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole chez des enfants ayant reçu une ou deux doses.
2. La seconde étude avait pour objectif d'estimer l'effet de l'âge à la première dose du vaccin RRO ou RROV sur la réponse immunitaire, d'évaluer la corrélation entre le titre d'anticorps après la première et la deuxième dose et de décrire l'évolution des titres d'anticorps pendant un suivi de trois ans.

3. La troisième étude a évalué le rôle de la fièvre suivant la vaccination comme médiateur dans les associations entre l'âge, le type de vaccin et le titre d'anticorps.

Les études 2 et 3 étaient des analyses secondaires des données immunologiques et de réactogénicité recueillies lors de cinq essais cliniques menés en Europe et aux États-Unis entre 2004 et 2010 avec 5542 enfants âgés de 11 à 22 mois. Pour évaluer les différentes associations, des modèles de régression linéaires et log-binomiaux ont été bâtis pour modéliser respectivement, la concentration d'anticorps et le risque de séronégativité. Une analyse de médiation a permis d'estimer la proportion de l'effet de l'âge et de l'effet du type de vaccin sur l'immunogénicité qui était expliquée par la fièvre.

Nous avons montré que la séroconversion, la concentration d'anticorps et la protection augmentaient avec l'âge à la première vaccination et avec le vaccin RROV. Les titres après la première et la deuxième dose étaient fortement corrélés. Après la deuxième dose, la proportion séropositive était très élevée pour n'importe quel âge à la première vaccination. Cependant, les titres diminuaient progressivement pendant les trois années de suivi.

La survenue de la fièvre était le meilleur prédicteur des titres d'anticorps. Cependant, la fièvre n'était pas un médiateur de l'effet de l'âge, mais expliquait 18% de l'effet total du type de vaccin sur la réponse immunitaire.

En conclusion, une première dose du vaccin contre la rougeole à 15 mois et l'utilisation du RROV augmenteraient l'immunité de la population, même chez des enfants nés de mères vaccinées et avec un calendrier à deux doses. Dans les pays ayant éliminé ou avec une faible transmission de la rougeole, le calendrier vaccinal devrait considérer : l'immunogénicité accrue en fonction de l'âge et le type du vaccin, le risque des enfants de 12 à 15 mois et l'augmentation des manifestations cliniques indésirables lorsque le RROV est administré comme première dose.

Abstract

Universal measles immunization has resulted in the control of the disease and its elimination in the Americas since 2002. To achieve and maintain elimination, population immunity needs to be higher than 90%. In addition to vaccination coverage, high vaccine efficacy is essential to ensure such immunity. The age at first dose determines the immune response, but this appeared to be especially important in children vaccinated with a single dose and born to mothers who had had measles. The second dose was added to seroconvert those who did not respond to the first dose (primary failures). However, the measles epidemic in Quebec in 2011 showed that the risk among two-dose recipients increased with an earlier age at first vaccination. Other epidemiological studies have documented secondary vaccine failures among those vaccinated with two doses; they had developed a weak and transient immune response.

Moreover, the measles vaccine is usually given as a trivalent combined vaccine against measles, mumps and rubella (MMR), or tetravalent, including also varicella vaccine (MMRV). The latter induces more antibodies against measles, but also more fever than MMR.

In an epidemiological context characterized by a two-dose schedule and children born to vaccinated mothers, our project aimed to evaluate the effect of the age at first dose, the type of combined vaccine and the adverse events on the response to one and two doses of MMR or MMRV. Three studies were conducted:

1. A systematic review with meta-analysis synthesized the current knowledge about the effect of the age at first dose on the protection and immunogenicity of the measles vaccine in children who received one or two doses.
2. An immunological study aimed to estimate the effect of age at the first dose of MMR or MMRV on the immune response, to assess the correlation between antibody titers after the first and the second dose and to describe the evolution of antibody titers during a three-year follow-up.
3. A third study evaluated the role of post-vaccination fever as a mediator in the associations between age, type of vaccine and antibody titer.

Studies 2 and 3 performed a post-hoc analysis of data on immunogenicity and reactogenicity of MMR and MMRV vaccines from five clinical trials conducted in Europe and the United States between 2004 and 2010 with 5542 children aged 11 to 22 months. To evaluate the different associations, we constructed linear and log-binomial regression models to estimate, respectively, the antibody concentrations and the risk of seronegativity. The proportion of the effect of the age or the effect of the type of vaccine on the immunogenicity that was explained by the fever was estimated using a mediation analysis.

We showed that seroconversion, antibody concentration, and protection increased with age at first vaccination and with MMRV vaccination. Titers after the first and the second doses were strongly correlated. After the second dose, the seropositive proportion was very high for any age at first vaccination. However, the titers gradually decreased during the three-year follow-up.

Fever was not a mediator of the effect of age, but accounted for 18% of the total effect of the type of vaccine on the immune response. Finally, fever onset was the best predictor of antibody titers.

In conclusion, a first dose of measles vaccine at 15 months and the use of MMRV appear to increase the immunity of the population, even in children born to vaccinated mothers and with a two-dose schedule. Countries that have eliminated or with low transmission of the disease may revisit their recommendations considering the increased immunogenicity by age and type of vaccine, the risk of disease among children aged 12 to 15 months, and the increased adverse clinical manifestations when MMRV is administered as a first dose.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures	xi
Liste des abréviations.....	xiii
Remerciements	xv
Avant-propos	xvi
Introduction.....	1
Chapitre 1: État des connaissances	3
1.1 Manifestations cliniques et épidémiologie actuelle de la rougeole.....	3
1.1.1 Cours clinique	3
1.1.2 Épidémiologie de la rougeole dans la région des Amériques et dans le monde.....	4
1.2 Vaccination contre la rougeole.....	6
1.2.1 Souches et types de vaccins	6
1.2.2 Efficacité vaccinale	6
1.2.3 Réponse immunitaire à la vaccination	7
1.2.4 Corrélation entre la réponse immunitaire à la première et la deuxième dose du vaccin	9
1.2.5 Durée de la protection.....	9
1.3 L'âge à la vaccination et autres déterminants de la réponse au vaccin contre la rougeole	12
1.3.1 Effet de l'âge après une et deux doses.....	12
1.3.2 Mécanismes physiologiques de l'effet de l'âge à la vaccination	13
1.3.3 Âge recommandé pour la vaccination contre la rougeole.....	14
1.3.4 D'autres facteurs qui déterminent l'efficacité vaccinale	15
1.4 Manifestations cliniques indésirables suite à la vaccination contre la rougeole... 16	
1.4.1 Identification et surveillance des manifestations cliniques indésirables liées à la vaccination.....	16
1.4.2 Fréquence des manifestations cliniques suite à la vaccination contre la rougeole.....	17

1.5	Association entre l'âge à la vaccination, les manifestations cliniques indésirables et l'immunogénicité	19
1.5.1	Âge à la vaccination et apparition de fièvre, de rash et de convulsions fébriles.....	19
1.5.2	Manifestations cliniques indésirables et immunogénicité	22
1.6	Pertinence du projet.....	24
Chapitre 2: Objectifs et méthodologie		25
2.1	Hypothèses	25
2.2	Objectifs	25
2.3	Méthodologie.....	26
2.3.1	Cadre conceptuel.....	26
2.3.2	Plan d'analyse de la première étude.....	27
2.3.3	Devis, population et source des données des études 2 et 3	27
2.3.4	Plan d'analyse de la deuxième étude	29
2.3.5	Plan d'analyse de la troisième étude	32
2.3.6	Puissance statistique	39
2.3.7	Considérations éthiques	40
Chapitre 3: Effect of age at vaccination on the measles vaccine effectiveness and immunogenicity: Systematic review and meta-analysis		42
3.1	Résumé.....	43
3.2	Abstract	44
3.3	Introduction	45
3.4	Methods	45
3.5	Results	49
3.6	Discussion.....	63
Appendix - Supplementary material.....		67
Chapitre 4: Reduced antibody response to infant measles vaccination: effects based on type and timing of the first vaccine dose persist after the second dose		84
4.1	Résumé.....	85
4.2	Abstract	86
4.3	Introduction	87
4.4	Methods	87
4.5	Results	90
4.6	Discussion.....	96

Appendix – Supplementary material	100
Chapitre 5: The role of post-immunization fever on the antibody response to measles-containing vaccines	101
5.1 Résumé	102
5.2 Abstract	103
5.3 Introduction	104
5.4 Methods	105
5.5 Results	108
5.6 Discussion	116
Appendix – Supplementary material	119
Chapitre 6: Discussion.....	120
6.1 Résumé des principaux résultats	120
6.2 Forces et limites des études	121
6.2.1 Étude 1 : Effet de l'âge sur la protection et l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole : revue systématique de la littérature et méta-analyse	121
6.2.2 Études 2 et 3 : Effet de l'âge et du type de vaccin sur l'immunogénicité et rôle des manifestations cliniques indésirables	123
6.3 Interprétation des résultats et retombées.....	127
6.4 Orientations futures.....	131
Bibliographie.....	133
Annexes.....	151
Annexe 1. Protocole de la Revue Systématique.....	151

Liste des tableaux

Tableau 2-1 : Caractéristiques et population des essais cliniques.....	28
Tableau 2-2 : Expressions et formules pour le calcul des effets direct contrôlé, direct naturel et indirect naturel sur l'issue pour un changement de l'exposition	39
Tableau 2-3 : Estimations de la puissance (%) pour l'estimation du rapport de risque de séronégativité après la première vaccination contre la rougeole, selon le rapport de risque (RR) et la proportion de séronégativité (p) attendus	40
Table 3-1 : Vaccine effectiveness and measles risk ratio, by age at first vaccination	55
Table 3-2 : Seropositivity risk after two doses of measles vaccine by age at first vaccination.....	60
Supplementary Table 3-1 : Characteristics of the included studies.....	67
Supplementary Table 3-2 : Sensitivity analysis of all outcomes including only studies at low risk of bias	72
Supplementary Table 3-3 : Seroconversion after one dose of measles vaccine by age at first vaccination.....	73
Table 4-1 : Inclusion and characteristics of the study population	89
Table 4-2 : Antibody titer following the first and second dose of measles-containing vaccines by age at first dose and type of vaccine	92
Table 4-3 : GMC ratios and sero-negativity risk ratios (SRR) after one and two doses of measles containing vaccine by age at first vaccination	94
Table 4-4 : Antibody titer post-second dose among children with 1, 2 or 3 years of follow-up by age at first vaccination	96
Table 5-1: Association between post-immunization fever and measles/rubella-like rash after the first dose of a measles-containing vaccine and antibody response	112
Table 5-2 : Mediation analysis of fever in the association between age at first vaccination or type of vaccine and antibody concentration	114
Table 5-3 : Relative contribution of fever, age, type of vaccine, study and country on the antibody concentration 6 weeks after the administration of a MCV to children aged ≥ 12 months.....	116
Supplementary Table 5-1 : Modifying effect of fever on the associations between age at first vaccination or type of vaccine and antibody response.....	120

Liste des figures

Figure 1-1 : Diagramme schématique de la clairance du virus de la rougeole et des réponses immunitaires chez les macaques rhésus.....	7
Figure 1-2 : Fréquence de la fièvre selon l'âge à la vaccination et la définition de la fièvre.....	21
Figure 2-1 : Graphique acyclique et orienté sur les associations entre l'âge, le type de vaccin, les manifestations cliniques indésirables et les titres d'anticorps après la vaccination contre la rougeole.....	27
Figure 2-2 : Intervention et collecte de données pour chaque essai clinique.....	29
Figure 2-3 : Vérification du postulat de linéarité pour les catégories de température maximale.....	34
Figure 2-4 : Diagramme causal de l'effet direct et indirect de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps.....	36
Figure 2-5 : Effets directs et indirect de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps pour des valeurs de référence de 12 mois et de <38°C pour l'âge et la température.....	37
Figure 3-1 : Study selection flow diagram.....	50
Figure 3-2 : Age at first dose of measles-containing vaccine and risk of measles (cohort studies).....	53
Figure 3-3 : Age at first dose of measles-containing vaccine and risk of measles (case-control studies).....	54
Figure 3-4 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (<9 months versus 12 months).....	61
Figure 3-5 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (9-11 months versus 12 months).....	62
Figure 3-6 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (≥15 months versus 12 months).....	63
Supplementary Figure 3-1 : Risk of bias of the observational studies included in the effectiveness analysis (n=41).....	79
Supplementary Figure 3-2 : Risk of bias of the experimental studies included in the immunogenicity analysis.....	80
Supplementary Figure 3-3 : Association between age at administration of one dose of measles-containing vaccine (6 months versus 9 months) and seroconversion, by seroconversion definition.....	81
Supplementary Figure 3-4 : Sensitivity analysis including immunological studies with participants mostly born to vaccinated mothers: seroconversion prevalence ratios after one dose of MCV1, all comparisons.....	82
Supplementary Figure 3-5 : Funnel plots for each outcome.....	83
Figure 4-1 : Age distribution of children with low and negative response after vaccination with one or two doses of measles containing vaccine.....	91

Figure 4-2 : GMC and proportion sero-negative after one and two doses of measles containing vaccine by age at first vaccination93

Figure 4-3 : Three-year follow-up of GMC by age at first vaccination95

Supplementary Figure 4-1 : GMC post-second dose, by antibody response to first dose (10 categories)..... 100

Figure 5-1 : Conceptual frame of the determinants of the antibody response to measles vaccination..... 106

Figure 5-2 : Daily incidence of fever post dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization and type of vaccine 109

Figure 5-3 : Cumulative incidence of fever during days 4 to 11 post dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization and type of vaccine^a 110

Figure 5-4 : GMC of antibodies 6 weeks after dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization, type of vaccine and onset of fever on days 4-11 after each dose 111

Liste des abréviations

AR	<i>Attack rate</i>
CDE	<i>Controlled direct effect</i>
CF	<i>Complement fixation test</i>
CI	<i>Confidence interval</i>
CMG	Concentrations moyennes géométriques
EDC	Effet direct contrôlé
EDN	Effet direct naturel
EIN	Effet indirect naturel
EIQ	Écart interquartile
ELISA	Méthode immuno-enzymatique / <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EV	Efficacité vaccinale
GEE	Équations d'estimation généralisées / <i>Generalized estimating equations</i>
GMC	<i>Geometric mean concentrations</i>
GSK	GlaxoSmithKline
HAI	Test d'inhibition de l'hémagglutination / <i>Hemagglutination inhibition test</i>
IC	Intervalle de confiance
IU	<i>International units</i>
MAR	<i>Missing at random</i>
MCV	<i>Measles-containing vaccine</i>
MCV1	<i>First dose of a measles-containing vaccine</i>
MCV2	<i>Second dose of a measles-containing vaccine</i>
MMR	<i>Measles-Mumps-Rubella vaccine</i>
MMRV	<i>Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine</i>
NDE	<i>Natural direct effect</i>
NIE	<i>Natural indirect effect</i>
OR	<i>Odds ratio</i>
PRN	Test de neutralisation par réduction des plaques / <i>Plaque reduction neutralization test</i>
RC	Rapport de cote
RCT	<i>Randomized controlled trial</i>
RR	Rapport de risque / <i>Risk ratio</i>
RRO	Vaccin contre la Rougeole, la Rubéole et les Oreillons
RROV	Vaccin contre la Rougeole, la Rubéole, les Oreillons et la Varicelle
SRR	<i>Seronegativity Risk Ratio</i>
TANV	Taux d'attaque chez les non vaccinés
TAV	Taux d'attaque chez les vaccinés
UI	Unités internationales
US	<i>United States</i>
V	Vaccin contre la Varicelle

VE *Vaccine effectiveness*
VHA *Vaccin contre l'Hépatite A*
WHO *World Health Organization*

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée et accompagnée durant le long cheminement du doctorat. Notamment les étudiants qui ont partagé avec moi les cours de doctorat : Julie Ducrocq, Gentiane Perrault, Codjo Djignéfa Djade, Aboubacar Sidibe et David Auguste pour leur amitié et pour les discussions intéressantes lors de notre découverte de l'épidémiologie.

J'ai eu la chance de travailler dans le centre de recherche en vaccination de l'INSPQ, dont l'équipe dynamique m'a beaucoup appris sur le sujet de la vaccination au sens large. Je souhaite spécialement remercier Marie-Noëlle Billard pour le travail partagé au cours de la revue de littérature, Manale Ouakki pour son aide avec les analyses statistiques et pour avoir été toujours disponible pour répondre à toute question sur SAS, et Joseline Zafack pour les questions et discussions stimulantes sur nos projets de recherche respectifs.

J'aimerais aussi remercier mon voisin, Christian Bolduc, qui m'a écouté et conseillé pour la préparation de ma soutenance.

Je tiens à souligner la contribution à ce projet d'Alexandre Bureau, mon codirecteur de recherche, qui m'a aidé avec patience et rigueur tout au long des analyses statistiques.

Mon doctorat n'aurait enfin pas été possible sans l'apport de Gaston De Serres, sa curiosité et ses questionnements permanents. Il a lancé ce projet et il a continué à le discuter et le développer avec moi pendant les quatre années de sa durée. Je voudrais le remercier pour tout ce qu'il m'a appris en épidémiologie, mais aussi pour sa préoccupation sincère pour le bien-être de ses étudiants. Sa grande flexibilité m'a permis de combiner ce doctorat avec quelques mois de travail comme clinicienne, ainsi que de participer à une mission pour répondre à l'épidémie d'Ébola en Afrique de l'Ouest.

Finalement, je souhaite remercier mon conjoint Abel pour son soutien continu, sa positivité sans limites, ses corrections du français et surtout, de m'accompagner dans toutes les aventures que j'entreprends depuis plus de 5 ans maintenant.

Avant-propos

La présente thèse s'inscrit dans les lignes de recherche sur l'âge à la vaccination contre la rougeole suite aux observations faites lors de l'épidémie de rougeole survenue au Québec en 2011. Elle est constituée de six chapitres; le Chapitre 1 présente l'état des connaissances sur le sujet, le Chapitre 2 expose les hypothèses, objectifs et méthodes, les Chapitre 3, 4 et 5 sont des articles publiés ou soumis dans le cadre de mon projet de recherche et enfin, dans le Chapitre 6, je développe la discussion. Pour chacun des articles intégrés, je détaille ci-dessous ma contribution, les coauteurs, ainsi que leur état de publication.

Le premier article intitulé « *Effect of Age at Vaccination on the Measles Vaccine Effectiveness and Immunogenicity: Systematic Review and Meta-analysis* » a été soumis à la revue *BMC Infectious Diseases* le 12 avril 2018. Je suis la première auteure avec Marie Noëlle Billard, Amélie Boutin et Gaston De Serres comme coauteurs. J'ai participé à la conception et j'ai effectué le protocole avec le plan d'analyse, la sélection d'articles, l'extraction de données et la méta-analyse. J'ai rédigé la première version du manuscrit.

Le deuxième article intitulé « *Reduced Antibody Response to Infant Measles Vaccination: Effects Based on Type and Timing of the First Vaccine Dose Persist After the Second Dose* » a été publié dans *Clinical Infectious Diseases* le 8 juin 2017. Je suis la première auteure avec Gaston De Serres, Alexandre Bureau et Danuta Skowronski comme coauteurs. J'ai fait le plan d'analyse avec Gaston De Serres, la revue de la littérature, les analyses statistiques et la rédaction de la première version du manuscrit.

Le troisième article intitulé « *Post-immunization fever and the antibody response to measles-containing vaccines* » a été accepté par la revue *Epidemiology and Infection* le 6 mai 2018. Je suis la première auteure avec Alexandre Bureau et Gaston De Serres comme coauteurs. J'ai participé à la conception et j'ai fait le plan d'analyse avec Gaston De Serres et Alexandre Bureau. J'ai effectué la revue de la littérature, les analyses statistiques et la rédaction de la première version du manuscrit.

Des modifications dans la numérotation des tableaux, figures et références des articles ont été effectuées pour les intégrer dans cette thèse.

Introduction

L'introduction de la vaccination contre la rougeole dans les années soixante a conduit au contrôle de la maladie dans la plupart des pays et à son élimination dans la région des Amériques, où les dernières transmissions endémiques furent rapportées en 2002.^{1,2} Aujourd'hui, toutes les régions du monde ont pour objectif d'éliminer la rougeole.³ Cependant, l'interruption de la transmission de cette maladie demande des niveaux d'immunité supérieurs à 90%, ce qui peut être atteint seulement avec une couverture et une efficacité vaccinale très élevées.^{4,5}

L'efficacité vaccinale dépend de l'âge d'administration, de la souche du vaccin, du type de vaccin, de l'immunosuppression et des facteurs génétiques.^{2,6,7} La réponse immunitaire s'améliore avec l'âge à la vaccination. Cet effet de l'âge à la vaccination est expliqué par l'interférence des anticorps maternels transmis au fœtus durant la grossesse et par le manque de maturation du système immunitaire des nourrissons.^{8,9} Les échecs vaccinaux chez les enfants vaccinés plus jeunes étaient considérés comme dus à une absence de réponse initiale à la vaccination. Ainsi, la vaccination contre la rougeole a été introduite au Canada et aux États-Unis en 1963 avec un calendrier à une dose à l'âge de 9 mois, pour être retardée à 12 mois puis à 15 mois quelques années plus tard.¹⁰ Une deuxième dose a été ajoutée dans les années 90s avec le but d'immuniser les enfants qui n'ont pas répondu à la première dose (échecs primaires). Le calendrier à deux doses a été considéré suffisant pour éviter les échecs vaccinaux lorsque la première dose était donnée à 9 ou 12 mois.⁸

Cependant, dans l'épidémie survenue au Québec en 2011, où 725 cas ont été confirmés, le risque de faire la rougeole chez les cas vaccinés avec deux doses était 5 fois plus élevé si la première dose avait été donnée à 12-14 mois versus 15 mois d'âge.¹¹ Dans la même ligne, une vaste enquête sérologique auprès de 7000 enfants et adolescents en Allemagne, a montré que le risque de séronégativité six ans après deux doses de vaccin contre la rougeole diminuait progressivement de 8 à 2% avec une augmentation de l'âge à la première dose de <12 mois à 18 mois.¹² Ces données questionnent la capacité de la deuxième dose de corriger l'effet de l'âge à la première vaccination. Cependant, lors de l'épidémie au Québec, la majorité des jeunes malades étaient surtout nés de mères ayant fait la rougeole,¹¹ tandis que les nouveaux-nés actuels naissent de plus en plus de mères vaccinées, qui vont transférer moins d'anticorps.¹³ Dans un contexte épidémiologique

caractérisé par un calendrier à deux doses et des mères vaccinées, dont les enfants ont moins d'anticorps maternels, il est possible que l'effet de l'âge à la première dose soit beaucoup moins prononcé, mais ceci n'a pas encore été évalué.

Actuellement le vaccin contre la rougeole le plus utilisé combine les vaccins contre la rougeole, la rubéole et les oreillons (RRO). En 2005 aux États-Unis et en 2008 au Canada, un vaccin combiné incluant aussi la composante contre la varicelle (RROV) a été autorisé.¹⁰ Même si le vaccin tétravalent RROV contient la même souche et le même titre du virus vaccinal antirougeoleux que le vaccin trivalent RRO, des études cliniques ont montré que RROV était plus réactogène mais aussi plus immunogène pour la composante rougeole que le vaccin trivalent.⁶ Le mécanisme sous-jacent est inconnu, mais le RROV induit 1,4 fois plus de fièvre et deux fois plus de convulsions fébriles^{14,15} et les titres d'anticorps sont 1,6 fois plus élevés qu'après la vaccination avec RRO.⁶

La présente thèse doctorale vise à répondre à différentes questions posées après l'épidémie de Québec.

1. Est-ce que l'effet de l'âge à la première dose du vaccin contre la rougeole est présent chez des enfants nés de mères vaccinées malgré deux doses de vaccin?
2. L'effet de l'âge à la première dose est-il expliqué par des échecs vaccinaux primaires ou secondaires?
3. Est-ce que l'effet de l'âge à la première dose varie avec le type de vaccin (RRO versus RROV) ?
4. Quel est le rôle des manifestations cliniques indésirables (fièvre et rash) sur l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole en considérant aussi leur association avec l'âge à la vaccination et le type de vaccin?

La prochaine section présente l'état de connaissances sur l'effet de l'âge à la vaccination et du type de vaccin sur l'efficacité et l'immunogénicité vaccinale et les manifestations cliniques indésirables suite à la vaccination. Les objectifs et la méthodologie sont ensuite décrits. Les résultats sont présentés sous la forme de trois articles scientifiques insérés dans le présent document. Enfin, la discussion intègre les différents résultats pour réfléchir sur leurs implications dans l'objectif global d'élimination de la rougeole.

Chapitre 1: État des connaissances

Dans ce chapitre, je vais brièvement présenter l'épidémiologie et le fardeau actuel de la rougeole. Ensuite, je vais sommairement réviser les bases de la vaccination contre la rougeole et les méthodes pour mesurer la protection après l'immunisation. Les facteurs qui influencent l'efficacité vaccinale seront examinés par après, avec un accent particulier sur l'effet de l'âge. Cette question sera plus développée dans la revue systématique de la littérature qui fait l'objet du premier article. Finalement, je vais décrire les manifestations secondaires suite à la vaccination contre la rougeole et leur association avec l'âge à la vaccination, le type de vaccin et l'immunogénicité.

1.1 Manifestations cliniques et épidémiologie actuelle de la rougeole

1.1.1 Cours clinique

La rougeole est une maladie infectieuse très contagieuse qui, avant l'introduction de la vaccination, affectait presque tous les nourrissons et enfants. Le cours de la maladie se caractérise par une période d'incubation moyenne de 12,5 jours,¹⁶ suivie par des symptômes grippaux (fièvre, malaise, toux, coryza et conjonctivite). L'éruption cutanée érythémateuse et maculopapulaire typique de la rougeole apparaît généralement 14 jours après l'exposition et se propage du visage au tronc et aux extrémités. Une forme de maladie atténuée, moins symptomatique et plus bénigne, a été confirmée par laboratoire chez des cas ayant une immunité partielle contre la rougeole.^{17,18} La rougeole peut se résoudre sans complications en quelques jours après le début du rash, mais jusqu'à 40% des cas peuvent subir des complications, comme une otite, une pneumonie, de la diarrhée et, plus rarement, une encéphalite ou, plus tardivement, une panencéphalite sclérosante subaiguë.¹⁰ La mortalité varie entre 0,1% dans les pays industrialisés et 3% à 6% dans les pays en voie de développement, mais elle peut atteindre jusqu'à 30% dans les populations en situation de vulnérabilité extrême comme les réfugiés ou les personnes déplacées.^{10,19} Les enfants de moins de 5 ans et les adultes de plus de 20 ans ont un risque plus élevé de complications et de décès. Les causes les plus fréquentes de décès sont la pneumonie chez les enfants et l'encéphalite aiguë chez les adultes.²⁰

1.1.2 Épidémiologie de la rougeole dans la région des Amériques et dans le monde

D'énormes réalisations dans le contrôle de la rougeole ont été accomplies depuis l'introduction de la vaccination dans les années 60. Ainsi, pendant la période de 2000 à 2016, l'incidence globale de la rougeole a diminué de 87% et le nombre de décès de 84%, avec 20,4 millions de décès évités grâce à la vaccination.²¹ Actuellement toutes les régions de l'OMS se sont engagées à éliminer la rougeole d'ici 2020. Les stratégies comprennent : atteindre et maintenir une couverture vaccinale élevée (>95%) avec deux doses du vaccin contre la rougeole, une surveillance intensive, la préparation pour une réponse rapide aux épidémies, la communication et l'engagement communautaire et la recherche et le développement.⁵

En 2002, la région des Amériques a réussi à éliminer la rougeole, c'est-à-dire, à interrompre la transmission endémique du virus de la rougeole pendant plus de 12 mois.² Cependant, des importations continuent à entraîner des épidémies même avec couvertures vaccinales supérieures à 95%.²²⁻²⁴

En 2016, aucune des autres régions n'avait atteint l'élimination. La région européenne signalait une incidence globale de 5 cas par million d'habitants et 37 des 57 pays de la région n'avait pas de transmission endémique.²⁵ Par contre, les régions de l'Afrique et de l'Asie du Sud-Est rapportaient respectivement des incidences de 36 et de 14 cas par million d'habitants et représentaient 42% et 43% de tous les décès attribués à la rougeole en 2016.²¹ De plus, même si l'incidence et la mortalité ont diminué à l'échelle mondiale, les jalons prévus pour 2015 n'ont pas encore été atteints et il y a des variations régionales et nationales importantes dans les progrès vers l'élimination de la rougeole.⁵

1.2 Théorie de l'élimination de la rougeole

L'élimination d'une maladie infectieuse est définie comme l'absence de transmission endémique dans une zone géographique définie. On parle d'éradication lorsque la maladie est éliminée à l'échelle mondiale. Actuellement, les critères qui sont considérés comme nécessaires pour l'élimination d'une maladie sont les suivants: une intervention efficace est disponible pour interrompre la transmission de l'agent infectieux; des outils de diagnostic sont disponibles pour détecter des niveaux d'infection pouvant conduire à la

transmission; et les humains sont essentiels pour le cycle de vie de l'agent, qui ne peut pas se reproduire dans l'environnement.²⁶

Le proportion critique (ou pourcentage nécessaire) de la population qui doit être immune pour interrompre la transmission dépend de la contagiosité de l'agent infectieux qui est mesuré par le taux de reproduction de base. Ce taux de reproduction de base ou R_0 est défini comme le nombre moyen de cas secondaires provoqués par un sujet malade typique quand toute la population est susceptible. Il dépend du taux de contacts par unité de temps, de la probabilité de transmission par contact et de la durée de la période infectieuse. Lorsqu'une partie de la population est immune on parle du taux de reproduction net ou R , qui se calcule comme le R_0 multiplié par la proportion de la population qui est susceptible. Pour éliminer une maladie infectieuse, le R doit être maintenu en bas de 1, c'est-à-dire, chaque cas doit infecter en moyenne moins d'une personne, ce qui va amener à l'extinction de la chaîne de transmission sans autre intervention. En conséquence, une maladie avec un potentiel épidémique ou R_0 plus élevé nécessite qu'un pourcentage plus élevé de la population soit immune pour arriver à maintenir $R < 1$. Enfin, le concept d'immunité de groupe est défini comme la protection indirecte conférée aux individus susceptibles qui se trouvent au sein d'une communauté majoritairement immune (généralement grâce à la vaccination) qui va empêcher la transmission de l'infection.²⁷

Dans le cas de la rougeole, l'immunité individuelle sera acquise suite à la maladie ou grâce à la vaccination. L'immunité d'une population dépendra donc principalement du produit de la couverture vaccinale et de l'efficacité vaccinale. Le R_0 pour la rougeole est de l'ordre de 15 avec une étendue souvent citée de 12 à 18. Gay a estimé que, en considérant un R_0 de 18 et en supposant un mélange aléatoire de la population, 94% de la population devraient être immunes pour atteindre un $R < 1$. En supposant un mélange hétérogène avec des taux de contact en fonction de l'âge, la proportion critique pour interrompre la transmission sera plus faible que 94% mais toujours supérieure à 90%.⁴ Pour obtenir une immunité aussi élevée, il serait nécessaire d'obtenir une couverture vaccinale avec deux doses supérieure à 95%.⁵ Cependant, il faut tenir compte du fait que le R_0 varie selon le contexte. Une revue systématique récente a montré qu'il peut varier entre 5 et 50. Les déterminants de cette variation étaient les schémas de contact, la nutrition, les mesures de contrôle des infections, le taux de natalité et la densité de population.²⁸ Même si ces résultats mettent en évidence l'importance d'estimer localement

le taux de reproduction de base, une forte immunité de la population sera toujours nécessaire pour interrompre la transmission d'une maladie aussi contagieuse que la rougeole.

1.3 Vaccination contre la rougeole

1.3.1 Souches et types de vaccins

Les vaccins contre la rougeole contiennent des souches vivantes et sur-atténuées. Les souches Schwarz et Moraten, autorisées pour la première fois aux États Unis en 1965 et 1968 respectivement, sont les plus souvent utilisées et dérivent de la souche Edmonston d'Enders, développée après l'isolement du virus en 1954. D'autres vaccins contre la rougeole contiennent les souches AIK-C et Edmonston-Zagreb, aussi dérivées de la souche Edmonston, et les souches Leningrad-16, Shanghai-191, CAM-70 et TD 97, non-dérivées d'Edmonston.²⁹

Le vaccin contre la rougeole peut être monovalent ou combiné. Les plus utilisés actuellement sont le vaccin trivalent, qui contient des virus vivants atténués contre la rougeole, la rubéole et les oreillons (RRO) et le vaccin tétravalent, qui ajoute aussi le virus vaccinal contre la varicelle (RROV). Les formulations de RRO et RROV contiennent des titres identiques du virus vaccinal de la rougeole; les souches utilisées sont Schwarz, Moraten, et Edmonston-Zagreb.

1.3.2 Efficacité vaccinale

L'efficacité d'un vaccin est définie comme la réduction de la fréquence de la maladie chez les vaccinés en comparaison avec les non-vaccinés et reflète le pourcentage d'enfants vaccinés qui seront protégés contre la maladie.³⁰ Le calcul est fait en utilisant la formule (a), où EV est l'efficacité vaccinale, $TANV$ le taux d'attaque chez les non vaccinés et TAV le taux d'attaque chez les vaccinés. Le taux d'attaque correspond à l'incidence cumulative ou risque de maladie parmi les exposés durant une période définie.

$$(a) EV = \frac{TANV - TAV}{TANV} \times 100,$$

Quand l'état vaccinal de toutes les personnes à risque n'est pas disponible lors d'une épidémie, l'efficacité vaccinale peut être calculée avec des études cas-témoins en utilisant le rapport de cote (RC), qui compare la cote d'être vacciné chez les cas et les témoins (b).

$$(b) EV = (1 - RC) \times 100$$

L'efficacité vaccinale du vaccin contre la rougeole a été examinée par Uzicanin et al dans une revue systématique de la littérature.³¹ La médiane des estimations d'EV était de 77,0% (écart interquartile (EIQ) : 62% à 91%) et de 92,0% (EIQ : 86% à 96%) pour les enfants vaccinés avec une dose à l'âge de 9 à 11 mois et de 12 mois ou plus respectivement. La médiane d'EV après deux doses était de 94,1% (EIQ : 88% à 98%).

1.3.3 Réponse immunitaire à la vaccination

Après infection par le virus de la rougeole, la réponse innée initiale est limitée, ce qui permet la réplication et la propagation du virus pendant la période d'incubation. Il y a toutefois une production de cytokines et chimiokines nécessaires pour l'initiation de la réponse immunitaire adaptative, qui commence avec le système immunitaire à médiation cellulaire. Par la suite, les lymphocytes T auxiliaires vont stimuler la production d'anticorps spécifiques par les lymphocytes B (**Figure 1-1**).³²

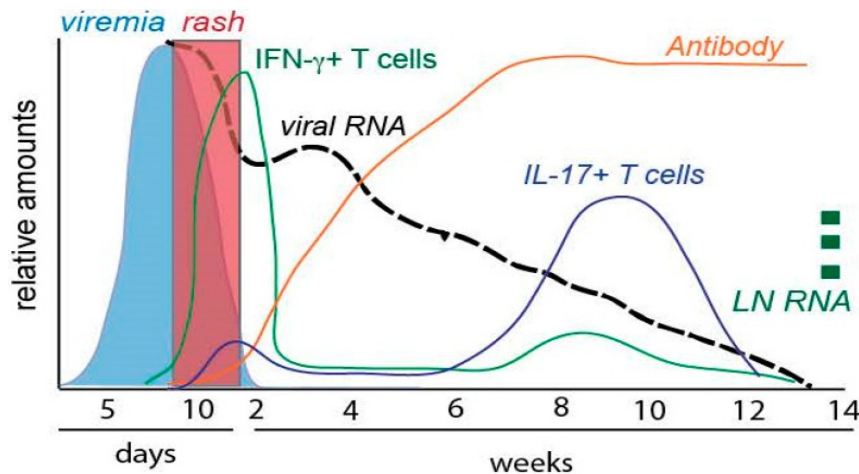


Figure 1-1 : Diagramme schématisant de la clairance du virus de la rougeole et des réponses immunitaires chez les macaques rhésus.

À partir de : « Griffin DE. The immune response in measles: virus control, clearance and protective immunity. *Viruses* 2016;8(10) » (avec la permission de l'auteur).

Similaire à l'infection naturelle avec le virus de la rougeole, l'immunisation avec le virus vaccinal induit une réponse immunitaire cellulaire et humorale. La réponse à médiation cellulaire semble être la plus importante pour l'élimination du virus dans les infections de rougeole, tandis que les anticorps neutralisants seraient utiles pour la protection contre la réinfection.³² Les contributions relatives de l'immunité cellulaire et humorale dans la

protection contre la rougeole en réponse à la vaccination sont cependant inconnues.³³ Il n'y a pas de test standardisé pour mesurer l'immunité cellulaire ni de corrélation définie avec la protection. Par contre, la quantification des anticorps neutralisants IgG contre la rougeole serait l'étalon-or pour mesurer la réponse humorale après la vaccination. Ils sont considérés comme le meilleur corrélât de protection.³⁴ Le seuil de protection contre la rougeole classique a été établi sur la base d'une étude d'efficacité au cours d'une épidémie (n=80) et correspond à un titre d'anticorps neutralisants pré-exposition de >1:120 (>255 mUI/ml). Ceux exposés avec un titre 1:120-1052 (255 à 2236 mUI/ml) pourraient avoir une rougeole atténuée plus bénigne, tandis qu'un titre pré-exposition >1:1052 (>2234 mUI/ml) donnait une protection complète.³⁵ Une deuxième étude a analysé des échantillons appariés de 119 sujets avant et après une épidémie de rougeole, mais l'échantillonnage pré-exposition a été prélevé au cours de l'année précédente et pas immédiatement avant l'épidémie. Les auteurs ont défini un titre d'anticorps neutralisants >1000 mUI/ml comme protecteur contre l'infection (augmentation de quatre fois des titres) et un titre >500 mUI/ml comme probable titre protecteur contre la maladie symptomatique. Cependant, 14 des 15 sujets avec titres pré-exposition <100 mUI/ml ont présenté une infection asymptomatique.³⁶ En outre, il a été démontré que certains des sujets avec une réponse d'anticorps faible ou transitoire à la vaccination ont une réponse d'immunité cellulaire et leur vulnérabilité reste inconnue.³⁷ La quantification des titres d'anticorps après la vaccination permet donc d'estimer indirectement la protection contre la maladie.

Les méthodes de laboratoire les plus utilisées pour mesurer les titres d'anticorps sont les suivantes :

- Le test de neutralisation par réduction des plaques (PRN) quantifie les anticorps neutralisants contre le virus de la rougeole.^{34,38} C'est le test de référence mais difficile à utiliser pour des grands échantillons car il est laborieux et coûteux.
- La méthode immuno-enzymatique (ELISA) a montré une sensibilité de 85% à 100% et une spécificité de 56% à 96% (qui varient selon le kit commercial) pour détecter des titres protecteurs d'anticorps neutralisants (PRN \geq 1:120 ou >225 mUI/ml). Sa sensibilité diminue à 70% - 91% et au contraire la spécificité augmente à 94% - 100% pour des faibles titres (PRN >1:8 ou >17 mUI/ml).³⁸⁻⁴⁰ La trousse commerciale Enzygnost (Behring), avec laquelle les titres de notre étude ont été mesurés, aurait une sensibilité de 88.2% et 100 % et une spécificité de 100% et 91% pour un seuil d'anticorps neutralisants de 1:8 ou 1:120 respectivement.³⁸

- Le test d'inhibition de l'hémagglutination (HAI), moins utilisé actuellement, aurait une faible sensibilité (66%-83%) pour détecter la présence des anticorps neutralisants.^{34,39,41}

1.3.4 Corrélation entre la réponse immunitaire à la première et la deuxième dose du vaccin

Actuellement deux doses de vaccin contre la rougeole sont recommandées à l'échelle mondiale.⁴² La deuxième dose est destinée à s'assurer de la séroconversion des enfants qui n'ont pas répondu à la première dose. Elle ne constitue pas une dose de rappel visant à augmenter le niveau d'anticorps de tous les enfants, car seulement ceux qui ont eu une faible réponse initiale vont augmenter de quatre fois leur titre d'anticorps.^{8,43}

Même si la plupart des vaccinés séronégatifs après la première dose ont des anticorps détectables après la deuxième, des études d'immunogénicité ont montré que la réponse à la revaccination serait altérée chez ceux avec une réponse humorale absente ou faible après la première dose.⁸ Plusieurs études ont démontré que la réponse à la revaccination était fréquemment transitoire chez des enfants séronégatifs (par HAI ou avec PRN <1:8) ou avec faible réponse (PRN <1:120) à la première dose.^{37,44-46} Par exemple, 92,5% de 40 enfants HAI négatifs post-première dose avaient des titres PRN protecteurs 3 semaines après la deuxième, mais seulement 70% ont maintenu des anticorps >1:120 6 ans plus tard.⁴⁴ Deux autres études ont montré des résultats similaires chez des enfants négatifs après la première vaccination, dont 30% et 43% avaient une réponse transitoire démontrée 1 an et 6 mois après la deuxième dose.^{37,45} Dans le même sens, Dine et al ont montré que les titres d'anticorps après la première dose, mesurés en 1971, prédisaient fortement les titres quantifiés 26 à 33 ans plus tard chez 56 individus dont 77% avait reçu deux doses.⁴⁷

Il y a donc des évidences d'une corrélation entre la réponse à la première et à la deuxième dose, notamment d'une réponse faible et transitoire à la revaccination chez ceux qui n'ont pas bien répondu à la primo-vaccination. Ce phénomène est aussi démontré par des cas d'échec vaccinal secondaire rapportés après immunisation avec 3 et 5 doses.⁴⁸

Notre deuxième étude vise aussi à évaluer cette corrélation dans une population plus vaste que les études publiées jusqu'à maintenant.

1.3.5 Durée de la protection

La rougeole naturellement acquise confère une immunité à vie. Ceci a été montré pendant une épidémie en 1846 aux Iles Féroé où les individus ayant subi la maladie pendant une flambée 65 ans auparavant étaient encore protégés contre la rougeole.⁴⁹ La vaccination est aussi considérée comme donnant une protection de longue durée contre la rougeole.^{50,51} Initialement, les cas de rougeole chez les vaccinés étaient considérés comme des échecs vaccinaux primaires chez des enfants qui n'avaient pas eu une réponse immunitaire initiale appropriée à la vaccination. Des enquêtes d'épidémies de rougeole qui ont analysé le risque de maladie en fonction du temps depuis une dose de vaccin (0 à 19 années) ont montré une absence d'association⁵²⁻⁵⁴ ou une tendance au risque accru avec la vaccination plus de 10 ou 15 ans avant.⁵⁵⁻⁵⁹ Cependant ces données étaient difficiles à interpréter dû au faible nombre des cas dans plusieurs épidémies et aux changements des vaccins, des stabilisateurs de vaccins et des calendriers vaccinaux pendant les premières années suites à l'introduction du vaccin contre la rougeole.⁶⁰

Les rapports des cas ont permis de documenter l'existence d'échecs vaccinaux secondaires, c'est-à-dire, la survenue de la rougeole chez des vaccinés avec une preuve de réponse immunitaire protectrice après la vaccination.⁶¹⁻⁶⁵ Néanmoins, ces données ne permettent pas de quantifier l'importance du problème : quel pourcentage de personnes vaccinées serait vulnérables 5, 10 ou 20 ans après leur vaccination? Est-ce que cela changerait avec deux doses du vaccin ou en absence de circulation du virus sauvage de la rougeole?

Des études de cohorte ont suivi des populations vaccinées pour estimer la persistance des anticorps protecteurs et le taux de déclin d'anticorps. Dai et al ont suivi une population chinoise pendant 15 ans : parmi les participants vaccinés avec une dose (n=449), 0-2% après 8 ans et 8-20% après 15 ans n'avait pas d'anticorps détectables avec le test HAI, mais il y avait des variations importantes en fonction de l'âge à la vaccination et de la souche.⁶⁶ Le déclin de l'immunité pendant 6-8 ans de suivi a été aussi documenté au Luxembourg; le pourcentage d'individus avec un titre négatif ou équivoque d'anticorps ELISA a augmenté de 6 à 11% chez les vaccinés avec une dose (n=47) et de 5 à 13% chez les vaccinés avec deux doses (n=38).⁶⁷ Une cohorte finlandaise recrutée en 1985 (n=325) et suivie jusqu'en 2007 (n=119) a montré une augmentation progressive de la séronégativité mesurée par ELISA: de 0-3% à 5% et à 10-15%, 6, 13-15 et 20 ans après la deuxième dose de vaccin contre la rougeole. Les auteurs ont estimé un taux annuel de déclin d'anticorps de 7,1% pour les premiers 8 ans et de 3,5% pour les années 9 à 13.⁶⁸⁻⁷⁰

Une autre étude a rapporté des anticorps protecteurs (PRN >120 mUI/ml) chez 91% des 56 participants 26 à 36 ans après leur vaccination; tous avaient une séroconversion post-vaccinale documentée.⁴⁷ Enfin, LeBaron et al ont suivi pendant 5 à 10 ans 364 individus vaccinés avec deux doses de MMR dans une région sans circulation du virus de la rougeole aux États-Unis; tous les participants avaient des anticorps PRN détectables un mois et 5-10 ans après la deuxième dose, mais la proportion avec un titre faible (8 à 120 mUI/ml) avait augmenté de 0,2% à 4,9%.⁷¹

Les enquêtes sérologiques mesurent d'une façon plus indirecte la vulnérabilité d'une population en fonction du temps écoulé depuis la vaccination. La plus vaste enquête publiée a été menée en Allemagne et comprenait plus de 12 000 participants âgés de 1 à 17 ans, dont 2449 avaient été vaccinés avec une et 9719 avec deux doses du vaccin contre la rougeole.¹² Ils ont rapporté la proportion de séronégativité en fonction du nombre de doses et du temps depuis la vaccination (0-2, 3-6 et >6 ans) : similaire après une dose du vaccin (6,7%, 6,0% et 6,9%) et en augmentant pour ceux ayant reçu deux doses (2,7%, 4,5%, 8,4%). Une autre enquête au Portugal avec 167 participants de trois cohortes de naissance différentes a montré une augmentation très importante de la séronégativité en fonction des années depuis la deuxième vaccination : 2,4%, 37,9% et 58,3% pour les cohortes vaccinées 6, 10 et 13 ans avant.⁷² Deux enquêtes en Chine et à Taiwan ont documenté un déclin progressif de la séropositivité avec l'âge, avec la prévalence la plus faible parmi les jeunes adultes : de 97% à 5-9 ans à 82% à 30-39 ans (n=1961)⁷³ ou de 94,5% à 2 ans à 50,6% à 21-25 ans (n=3552).⁷⁴ Les deux pays ont une couverture vaccinale très élevée (>95%) et la diminution progressive de la séropositivité et des titres d'anticorps avec l'âge suggérait le déclin de l'immunité avec le temps, mais ces études ne permettent pas une évaluation précise car ils ne présentent pas des données en fonction du nombre de doses et du temps depuis la vaccination.

La détermination d'anticorps à haute avidité a permis dernièrement de distinguer les échecs primaires et secondaires.⁷⁵⁻⁷⁷ Des personnes immunisées ayant eu une réponse initiale à la vaccination vont développer une réponse immunitaire secondaire après le contact avec le virus de la rougeole. Ainsi, la réponse des échecs secondaires se caractérise par une montée précoce d'anticorps spécifiques à haute avidité. Par contre, l'avidité des anticorps sera en général plus faible chez des cas vaccinés qui n'ont pas eu de réponse immunitaire initiale à la vaccination (échecs primaires). Paunio et al ont testé l'avidité des IgG contre la rougeole chez 116 cas vaccinés et ont trouvé que 19% (20/107)

et 89% (8/9) des cas ayant reçu une ou deux doses respectivement avaient des anticorps à haute avidité.⁷⁸ La proportion d'échecs secondaires augmentait avec un âge plus précoce à la vaccination : 50%, 36% et 25% si vaccinés à l'âge de <12, 12-15 et >15 mois, mais les différences n'étaient pas significatives. En plus, les cas avec anticorps à haute avidité avaient une maladie plus bénigne que ceux avec anticorps à faible avidité ou les cas non vaccinés. Pendant une épidémie à Sao Paulo, une analyse similaire de 52 cas vaccinés a montré que 56.5% (13/23) et 87.5% (14/16) des vaccinés avec une et deux doses étaient des échecs secondaires. Dans cette étude, 100% (13/13) des cas ayant reçu une dose avant l'âge de 12 mois avaient des anticorps à faible avidité (échecs primaires).⁷⁹ De même, une dernière étude rapportait 29% et 62% d'échecs secondaires parmi 7 et 13 patients vaccinés avec une et deux doses.⁸⁰

En résumé, des échecs secondaires sont maintenant bien documentés, et ils seraient plus fréquents parmi les cas ayant reçu deux doses, tandis que les échecs vaccinaux chez les cas vaccinés avec une dose seraient surtout primaires.^{61-63,78-80} Le déclin d'anticorps semble être plus important les premières années après la vaccination⁶⁹ et quand la réponse initiale était plus élevée.⁶⁷ Environ 5-10% des vaccinés pourraient être susceptibles 15 à 20 ans après leur vaccination, mais les résultats sont très variables entre les pays et les études.^{66,70} Le cours de la maladie chez les patients avec échecs secondaires est souvent plus léger,^{17,48,78,81} mais l'importance épidémiologique vient de leur capacité à transmettre la maladie puis à contribuer à la propagation des épidémies. Des rapports de cas suggéraient une capacité diminuée de transmettre la maladie chez les cas vaccinés, mais seulement 2 à 6 cas ont été étudiés dans chaque étude.^{48,64,81,82} La contribution à la transmission des échecs vaccinaux reste donc incertaine.

1.4 L'âge à la vaccination et autres déterminants de la réponse au vaccin contre la rougeole

1.4.1 Effet de l'âge après une et deux doses

La revue systématique de la littérature qui fait l'objet du premier article analyse en profondeur cette question. En bref, la plupart des études d'immunogénicité ont montré un taux de séroconversion significativement meilleur en comparant l'administration d'une dose de vaccin après ou avant l'âge d'un an.^{9,83-89} La même tendance persiste lors de la comparaison entre des enfants vaccinés à l'âge de 12 mois et ceux vaccinés à l'âge de 15

mois, mais n'est pas toujours significative.^{87,89,90} La littérature ne montre pas de résultats concluants sur la réponse humorale après deux doses. Un taux de séropositivité plus faible pour ceux ayant reçu la première dose à 9 mois versus 12 mois a été documenté,⁸⁸ mais d'autres études ont rapporté des taux de séropositivité après la deuxième dose au-dessus de 95% et indépendants de l'âge à la première dose.^{91,92}

La plupart des études d'efficacité vaccinale menées chez des populations vaccinées avec une dose ont montré une meilleure protection si le vaccin était administré après plutôt qu'avant 12 mois.^{18,53,55,58,93-96} Plusieurs enquêtes ont rapporté que le risque de rougeole était plus faible chez ceux vaccinés à 15 mois ou plus par rapport à la vaccination à 12 mois,^{53,58,93-97} mais un risque similaire a aussi été documenté dans d'autres épidémies.^{55,57,98,99} Même avec les limites des études observationnelles, ces données confirment les conclusions des études immunologiques sur l'effet de l'âge à la vaccination après une dose de vaccin.

Par contre, peu d'études ont examiné le risque de rougeole chez ceux vaccinés avec deux doses en fonction de l'âge à la première vaccination. Deux enquêtes épidémiologiques au Canada ont démontré un risque augmenté si la première dose avait été administrée avant plutôt qu'après 12 mois (RC=3,2, IC à 95% : 1,5 à 6,9),¹⁰⁰ ou si la première dose était donnée à 12-13 mois (RC=5,3, IC à 95% : 2,1 à 13,4) ou 14 mois (RC=2,4, IC à 95% : 0,7 à 8,8) par rapport à ceux vaccinés pour la première fois à 15 mois ou plus.¹¹ Enfin, une étude en Finlande a rapporté une augmentation non significative du risque pour les jeunes vaccinés pour la première fois avant 14 mois versus à 14 mois ou plus (RC=3,5, IC à 95% : 0,5 à 25,2).¹⁰¹

Si la présence d'anticorps maternels et le manque de maturité du système immunitaire induisent une réponse humorale plus faible avec un plus jeune âge à la vaccination, et qu'il y a une corrélation entre la réponse à la première et la deuxième dose, nous nous attendons à ce que l'effet de l'âge persiste après la deuxième dose. L'augmentation transitoire d'anticorps et le risque plus élevé d'échecs vaccinaux secondaires parmi ceux ayant reçu deux doses pourraient expliquer la contradiction apparente entre les taux élevés de séropositivité post-deuxième dose observés dans les études d'immunogénicité et les résultats des enquêtes épidémiologiques décrits au-dessus.

1.4.2 Mécanismes physiologiques de l'effet de l'âge à la vaccination

Les premières études sur la vaccination contre la rougeole ont montré que l'âge à la vaccination était l'un des facteurs les plus importants qui détermine la réponse au vaccin contre la rougeole.¹⁰²⁻¹⁰⁴ La réponse diminuée à la vaccination chez les nourrissons serait causée par l'interférence des anticorps maternels acquis durant la grossesse. Même des faibles concentrations d'anticorps influenceraient la réponse humorale. Albrecht et al ont montré une corrélation entre le titre d'anticorps PRN pré-immunisation à l'âge de 12 mois (entre <1:4 et 1:45, titres non détectables par HAI) et la réponse immunitaire induite par le vaccin.¹⁰⁵ Le mécanisme immunitaire médiateur de cette inhibition de la réponse humorale semble être le masquage spécifique de l'épitope de l'antigène vaccinal par des anticorps maternels, ce qui empêcherait la liaison de l'antigène par les lymphocytes B du nourrisson et qui dépend principalement du rapport entre les titres d'anticorps maternels au moment de l'immunisation et la dose d'antigène vaccinal.¹⁰⁶ Ceci expliquerait les observations qui montrent que les anticorps maternels affectent spécifiquement la réponse humorale sans empêcher la stimulation des lymphocytes T.^{107,108} Comme le titre d'anticorps du nouveau-né est proportionnel à celui de sa mère et que les mères vaccinées ont des titres moins élevés que celles qui ont fait la maladie, la durée de l'immunité passive due aux anticorps maternels sera plus courte chez les enfants nés de mères vaccinées que ceux nés de mères naturellement immunes.¹⁰⁹ Donc, l'effet de l'âge à la vaccination devrait être moins important si la plupart des mères ont été vaccinées, ce que nous avons évalué dans ce projet de recherche.

Cependant, l'interférence des anticorps maternels n'explique pas complètement l'effet de l'âge à la vaccination. Parmi des enfants sans anticorps PRN détectables au moment de la vaccination, ceux vaccinés à 6 mois avaient une concentration moyenne géométrique d'anticorps (CMG=146) et un taux de séroconversion (77%) plus faible que ceux vaccinés à 9 (CMG=744, séroconversion=97%) ou 12 mois (CMG=1210, séroconversion=96%).⁹ Cette étude a démontré que la capacité du système immunitaire des nourrissons à générer des réponses humorales au vaccin contre la rougeole est diminuée au-delà de l'interférence des anticorps maternels. La petite taille de l'échantillon et les catégories d'âge n'ont pas permis d'évaluer avec précision jusqu'à quel âge cet effet persiste.

1.4.3 Âge recommandé pour la vaccination contre la rougeole

L'âge à l'administration de la première dose du vaccin contre la rougeole doit tenir compte d'une part du risque d'acquérir la maladie par les nourrissons et d'autre part de la

protection diminuée lorsque le vaccin est donné à un âge précoce.¹⁰ Dans les pays ayant une transmission continue et un risque élevé de mortalité, l'OMS recommande l'administration systématique de deux doses, dont la première donnée à l'âge de 9 mois et la deuxième entre 15 et 18 mois d'âge. Dans les pays en élimination ou ayant une faible transmission la première dose serait recommandée à 12 mois et la deuxième au moins 4 semaines plus tard et avant l'entrée scolaire.⁴² Aux États-Unis et au Canada la première dose est administrée entre 12 et 15 mois, et la deuxième à 18 mois ou à 4-6 ans.^{110,111} La recommandation au Québec est de donner une première dose de RRO à 12 mois et une deuxième dose de RROV à 18 mois.¹¹² Dans la région européenne, la plupart des pays donne le vaccin contre la rougeole pour la première fois à l'âge de 12 ou 15 mois, mais l'Islande et la Suède la recommandent à 18 mois. Exceptionnellement, les nourrissons de 6 mois qui sont en garderie reçoivent une première dose à 6 mois en France.¹¹³

En résumé, dans les pays avec faible transmission ou en élimination, la première dose est plus souvent administrée à l'âge de 12 mois, tandis que dans les pays ayant une transmission continue, l'âge de 9 mois serait recommandé.

1.4.4 D'autres facteurs qui déterminent l'efficacité vaccinale

En plus de l'âge à la vaccination, d'autres facteurs, comme la souche du virus vaccinal, le type de vaccin combiné, la race et des facteurs immunitaires et génétiques, peuvent affecter la réponse au vaccin contre la rougeole.

Dans certaines études, la souche Edmonston-Zagreb semblait induire un niveau plus élevé d'anticorps que la souche Schwarz,^{86,114-116} mais cet effet n'a pas été confirmé par d'autres études.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Les deux souches les plus utilisées actuellement, Schwarz et Moraten, ont un génome identique, et induisent une réponse immunitaire similaire.²⁹

Une méta-analyse incluant 19 essais randomisés contrôlés a montré que le vaccin tétravalent RROV induit des titres plus élevés que le vaccin trivalent RRO administré seul (ratio des CMG=1,66, IC à 95% : 1,48 à 1,86) ou avec le vaccin contre la varicelle (ratio des CMG=1,62, IC à 95% : 1,50 à 1,70); et ce avec les souches Moraten ou Schwarz.⁶ Le mécanisme sous-jacent est inconnu, car les vaccins contiennent des titres identiques du virus vaccinal. Kuter et al ont suggéré que cet immunogénicité accrue pourrait être due à une augmentation de la réplication locale du virus de la rougeole à la suite de

l'administration simultanée des quatre virus par rapport à l'administration de RRO seul ou de RRO et varicelle séparément.¹⁴

Des régulateurs génétiques individuels associés à l'échec vaccinal primaire, comme quelques génotypes pour les molécules d'antigène leucocytaire humain de classe I et de classe II, ont été identifiés.^{7,120} Ces découvertes ont le potentiel d'améliorer l'efficacité du vaccin, mais à ce jour, elles n'ont pas été appliquées.¹²¹ La race semble aussi affecter la réponse au vaccin. Une enquête qui a défini la race génétiquement parmi des Américains avec une preuve de vaccination avec deux doses, a rapporté que les afro-américains avaient un meilleur taux d'anticorps et d'immunité cellulaire que les caucasiens.¹²² Dans le même sens, une enquête américaine représentative a trouvé un taux de séropositivité des anticorps antirougeoleux plus élevé pour les individus auto-identifiés comme noirs non-hispaniques comparés aux blancs non-hispaniques ou aux mexicains-américains.¹²³

Les situations d'immunosuppression peuvent affecter la réponse immunitaire. Ainsi, il est bien documenté que les enfants séropositifs au VIH ont un taux de séroconversion plus faible que ceux qui sont séronégatifs au VIH, avec un déclin plus rapide des anticorps.¹²⁴⁻
¹²⁶ L'influence de l'état nutritionnel sur la réponse d'anticorps a été aussi examinée. La plupart des études publiées ont montré que les enfants souffrant de malnutrition avaient un taux de séroconversion équivalent à celui des enfants bien nourris.¹²⁷⁻¹³⁰

1.5 Manifestations cliniques indésirables suite à la vaccination contre la rougeole

1.5.1 Identification et surveillance des manifestations cliniques indésirables liées à la vaccination

Compte tenu du caractère préventif des vaccins et de leur utilisation à grande échelle, il est impératif de veiller à leur sécurité. Dans le processus de développement d'un vaccin, un des objectifs des essais cliniques est de documenter d'une façon systématique les manifestations cliniques indésirables qui suivent l'immunisation. Cependant, le devis des essais cliniques ne permet pas d'identifier les événements indésirables rares ou à long terme, qui sont détectés par des systèmes de surveillance post-commercialisation après l'exposition au vaccin d'une grande population.¹³¹

En plus d'une association épidémiologique et temporelle entre la manifestation clinique et l'immunisation, il est important de déterminer quels symptômes ont une association causale et, parmi les événements indésirables communs comme la fièvre, quelle proportion du risque est attribuable au vaccin.^{132,133} Pour évaluer la sécurité vaccinale, il faut donc se baser sur la plausibilité biologique, la cohérence, la force et la spécificité de l'association pour bien définir une période à risque pour chaque vaccin et chaque symptôme en particulier.^{134,135}

Le vaccin vivant atténué contre la rougeole est associé à une augmentation de la fièvre et des convulsions fébriles pendant les jours 5 à 12 après la vaccination, avec un pic d'incidence le jour 10, ce qui a été observé dans de nombreuses études¹³⁶⁻¹³⁸ et démontré lors d'un essai clinique qui randomisait des jumeaux à recevoir le vaccin RRO ou un placebo.¹³⁹ Cette période à risque correspond bien avec l'histoire naturelle de la maladie.² Plusieurs études observationnelles ont évalué le risque de fièvre attribuable à la vaccination en comparant des périodes à risque avec des périodes témoins.^{135,140} Cependant, la plupart des essais cliniques présentent, selon le protocole, l'incidence de fièvre pendant les jours 0 à 14 ou 0 à 42 après la vaccination contre la rougeole, ce qui permet la comparabilité mais surestime le risque de fièvre causée par le vaccin.^{6,136,141}

En plus de la période à risque, le type de vaccin et la définition des manifestations cliniques influencent l'évaluation de la sécurité vaccinale.¹³⁴ Par exemple, la fréquence de la fièvre et des convulsions fébriles associées au vaccin contre la rougeole varie s'il est administré sous forme de RRO ou RROV.⁶ Par ailleurs, la définition de la fièvre varie selon le seuil de température établi et le site anatomique où elle est mesurée.¹⁴² Ainsi, la fièvre était mesurée ou rapportée de 16 façons différentes dans les études incluses dans une revue systématique sur l'efficacité et la sécurité du vaccin RRO.¹⁴³

1.5.2 Fréquence des manifestations cliniques suite à la vaccination contre la rougeole

De nombreux essais cliniques ont été menés afin de montrer l'immunogénicité et la réactogénicité des vaccins RRO et RROV. Dans ces études, les manifestations cliniques survenues pendant les 15 ou les 42 jours suivant la vaccination ont été documentées en détail dans des journaux quotidiens.

Les symptômes les plus souvent observés au lieu de l'injection sont la douleur, une rougeur ou un gonflement. Les revues des essais cliniques ont montré qu'après la première dose de RRO ou RROV, 8,7 à 26,7% enfants ont de la douleur, 12,3 à 27,4% ont une rougeur et 4,6 à 9,1% ont un gonflement.^{6,14,136} Après la deuxième dose les proportions qui rapportaient chaque symptôme étaient de 4,6 à 11,0%, 8,8 à 31,0% et 4,5 à 12,3% respectivement.^{14,136}

Les manifestations cliniques systémiques associées à la vaccination contre la rougeole qui ont été décrites dans la littérature sont la fièvre, les convulsions fébriles et le rash.

Après une première dose de RROV, des essais cliniques randomisés ont rapporté une incidence cumulative de fièvre, définie comme une température rectale à $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$ survenue dans les jours 0 à 14 post-immunisation, de 7,3% à 11,2%.^{6,136,141} L'incidence était de 21,5% pour une période de 0 à 42 jours après vaccination¹⁴ et de 41,0% à 61,2% lorsque le seuil établi était une température rectale de $38,0^{\circ}\text{C}$ (jours 0-14).^{6,136,141} Après la première dose de RRO le risque de fièvre était de 6,2% à 7,5% pour une température rectale à $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$ et 34,7% à 45,8% pour une température $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ (jours 0-14).^{6,136,141} Les études ont montré une incidence entre 1,28 et 1,54 fois plus élevée de fièvre après la première dose de RROV qu'après RRO.^{6,14,136,141}

Une température rectale supérieure à $39,4^{\circ}\text{C}$ a été documentée chez 2,0% à 13,0% des enfants après la deuxième dose d'un vaccin contre la rougeole.^{14,136,144,145} La variabilité observée serait expliquée par la période considérée (jours 0 à 14 ou jours 0 à 42) et par l'âge à la vaccination, la fièvre étant moins fréquente pour les enfants plus âgés (13 à 25 mois versus 4 à 5 ans). L'incidence de fièvre après la deuxième dose était similaire pour la vaccination avec RRO ou RROV.¹³⁶

Deux études ont évalué les épisodes de fièvre attribuables à la vaccination avec RRO. Dans un essai randomisé, Peltola et al ont administré à chaque enfant des 581 paires de jumeaux le vaccin RRO ou le placebo à l'âge de 14 à 18 mois. Ils ont trouvé que 76% et 93% de la fièvre modérée (température rectale de $38,6$ à $39,5^{\circ}\text{C}$) ou forte ($>39,5^{\circ}\text{C}$) étaient causés par le vaccin, tandis que seulement 12% de la fièvre légère ($37,5$ à $38,5^{\circ}\text{C}$) étaient associés à la vaccination. Pendant les jours 6 à 14 après la première dose de RRO, l'incidence cumulative de fièvre $>38,5^{\circ}\text{C}$ attribuable au vaccin était de 19% (25% chez les enfants vaccinés versus 6% chez les enfants ayant reçu le placebo).^{139,146} LeBaron et al ont trouvé une incidence similaire dans une étude de cohorte qui comparait

l'incidence cumulative de fièvre deux semaines avant et après la vaccination. Après la première dose de RRO, 32% des enfants avaient une température rectale >38°C, mais seulement 17% étaient causés par la vaccination.¹³⁷ Aucune de ces études n'a trouvé d'augmentation de la fièvre après la deuxième dose de RRO, ce qui indiquerait que la fièvre décrite après la deuxième dose dans les essais cliniques n'est pas causée par le vaccin.^{137,139}

La vaccination avec RRO a été aussi associée à une augmentation de l'incidence de convulsions fébriles pendant les jours 5 à 12 post-vaccination. L'incidence estimée attribuable au vaccin était de 25 à 34 épisodes pour 100 000 enfants, un risque 2,8 fois plus élevé que chez les enfants non vaccinés (IC à 95% : 1,4 à 5,6).¹⁴⁷ De même que la fièvre, le risque de convulsions fébriles était augmenté pour la première dose de RROV par rapport à RRO, 2,0 à 2,2 fois plus selon deux vastes études de cohorte.^{138,148}

Les éruptions cutanées étaient le deuxième événement indésirable le plus fréquent après une première vaccination avec RRO ou RROV. Les essais cliniques ont décrit un risque de rash d'allure rougeole/rubéole entre 2,1% et 3,0% après la première dose de RRO et entre 3,0% et 4,2% après RROV (RR de RROV versus RRO=1,4, IC à 95% : 1,2 à 1,8).^{6,14,141,145} Dans une étude observationnelle, LeBaron et al ont documenté une fréquence de rash (tous les types) de 16,8%, mais seulement 9,0% (IC à 95% : 4,6 à 13,4) attribuable au vaccin RRO quand l'incidence était comparée avec une période pré-vaccination.¹³⁷ Les études de réactogénicité n'ont pas observé l'apparition du rash associé à la deuxième dose de vaccin contre la rougeole (RRO ou RROV).^{6,137}

Les mécanismes expliquant l'augmentation de la fréquence de fièvre, des convulsions fébriles et des éruptions cutanées après la vaccination avec RROV qu'après le vaccin RRO ne sont pas entièrement compris. Il a été suggéré que l'incidence accrue de manifestations cliniques systémiques serait la conséquence d'une réponse immunitaire améliorée au RROV en raison d'une augmentation de la réplication du virus du vaccin antirougeoleux.^{14,149}

1.6 Association entre l'âge à la vaccination, les manifestations cliniques indésirables et l'immunogénicité

1.6.1 Âge à la vaccination et apparition de fièvre, de rash et de convulsions fébriles

Les résultats des études qui ont rapporté l'incidence de fièvre selon l'âge à la vaccination avec la première dose de RRO ou RROV sont présentés dans la **Figure 1-2**. La fréquence varie considérablement entre les études : de 0,5% à 0,74% pour les consultations médicales dues à la fièvre les jours 7-10 post-vaccination avec RRO ou RROV dans l'étude de Rowhani-Rahbar et al¹⁵ à 17,6% à 28,5% pour une température $\geq 38^{\circ}\text{C}$ rétrospectivement enregistré du jour 0-15 après vaccination avec RRO dans l'article de van der Maas et al¹⁵⁰. La définition de fièvre ($\geq 38,0^{\circ}\text{C}$, $\geq 39,4^{\circ}\text{C}$ ou consultation médicale), la méthode pour la collecte de données (enregistrement quotidien dans un agenda, questionnaire rétrospectif ou registres médicaux) et la période post-vaccinale (jours 7-10, 0-14 ou 0-28) expliquent les différences observées.^{15,87,88,150,151}

Les nourrissons vaccinés à l'âge de 6-8, 9 ou 11 mois ont rapporté une incidence de fièvre plus faible que les enfants vaccinés à 12 mois ou plus,^{87,88,150,151} sauf dans l'enquête rétrospective qui montrait une fréquence de fièvre $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ plus élevée chez les enfants de 9-11 mois que chez les enfants de 12-14 mois (28,5% versus 20,8%).¹⁵⁰

Pour ceux âgés de plus d'un an au moment de leur première vaccination, l'augmentation de la fréquence de la fièvre avec l'âge est moins évidente. Klinge et al ont rapporté une incidence de température $\geq 39,0^{\circ}\text{C}$ (jours 0-14) de 20,6% et 18,7% après vaccination à l'âge de 12-14 et 15-17 mois respectivement, et de 17,2% et 14,0% en considérant seulement les cas sans signes d'infection.⁸⁷ Dans leur vaste analyse rétrospective de dossiers médicaux (n=840 348), Rowhani-Rahbar et al ont trouvé une fréquence similaire de consultations dues à la fièvre 7 à 10 jours après vaccination pour les enfants vaccinés à l'âge de 12-13, 14-15 ou 16-18 mois (0,72%, 0,68% et 0,74% respectivement) qui diminuait chez ceux vaccinés à l'âge de 19-23 mois (0,54%). Cependant, dans leur analyse basée sur les intervalles à risque, ils ont comparé l'incidence pendant la période de risque de fièvre causée par le vaccin (jours 7-10) avec la période témoin (jours 0-6 et 11-42) et ils ont trouvé que le rapport de risque de fièvre était plus élevé chez les enfants de 16-23 mois (RR=5,9; IC à 95% : 5,4 à 6,5) que chez ceux de 12-15 mois (RR=4,4; IC à 95% : 4,3 à 4,6). Ce résultat est expliqué par la baisse constante de l'incidence de la fièvre avec l'âge dans la période témoin et donc non causée par le vaccin.¹⁵ Finalement, Kuter et al ont analysé les données de quatre essais cliniques (n=5833) et ils ont montré que l'âge à la vaccination était un facteur prédictif de l'apparition de fièvre $\geq 38,9^{\circ}\text{C}$ pendant les jours 5 à 12 post-vaccination, avec des taux plus élevés chez les enfants plus âgés (de 12 à 23 mois).¹⁴

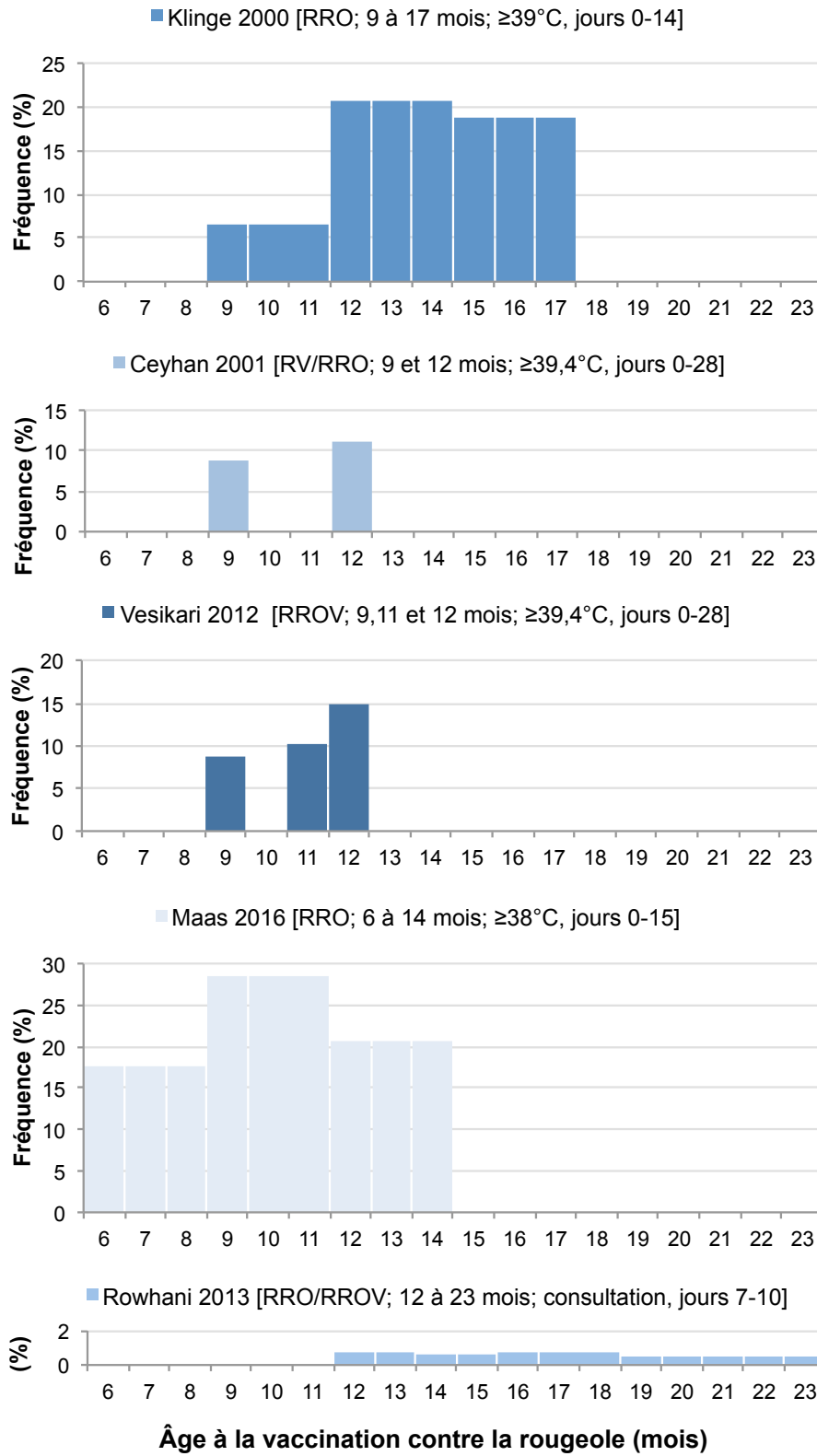


Figure 1-2 : Fréquence de la fièvre selon l'âge à la vaccination et la définition de la fièvre

Les études qui ont aussi documenté l'incidence de rash selon l'âge à la vaccination, ont rapporté une fréquence plus faible chez les enfants vaccinés à l'âge de 6-8 ou 9 mois (0,4% à 7,6%) que chez ceux vaccinés à 12 ou 12-14 mois (3,8% à 18,3%).^{88,150,151}

Finalement, nous avons examiné l'effet de l'âge à la vaccination sur l'incidence de convulsions fébriles associés à la vaccination contre la rougeole. Le risque des convulsions fébriles pour les enfants de moins de 3 ans en Europe et aux États-Unis se situe entre 2% et 4%, avec un pic à l'âge de 18 mois.¹⁵²⁻¹⁵⁴ Deux études de cohorte (n=840 348 et n=323 247) qui ont utilisé un devis basé sur des intervalles à risque ont trouvé un risque accru de convulsions fébriles les jours 7 à 10 après vaccination contre la rougeole chez les enfants vaccinés à 16-23 mois par rapport à ceux vaccinés à 12-15 mois.^{15,155} Après vaccination avec la première dose du RRO, le rapport de risque était de 2,65 (IC à 95% : 1,99 à 3,55) si administré à 12-15 mois et de 6,53 (IC à 95% : 3,15 à 13,53) si donné à 16-23 mois, avec un pic à l'âge de 19-21 mois (RR=8,75; IC à 95% : 2,35 à 32,58). Les rapports de risques augmentaient pour le vaccin RROV : 4,95 (IC à 95% : 3,68 à 6,66) et 9,80 (IC à 95% : 4,35 à 22,06) pour l'administration à 12-15 mois et 16-23 mois respectivement, avec un pic à l'âge de 16-18 mois (RR=11,00; IC à 95% : 4,26 à 28,38).¹⁵⁵

En résumé, les manifestations cliniques indésirables systémiques semblent augmenter avec l'âge à la vaccination, mais cette tendance est moins évidente pour la fièvre chez des enfants vaccinés dans leur deuxième année de vie.

1.6.2 Manifestations cliniques indésirables et immunogénicité

Une association épidémiologique entre les manifestations cliniques indésirables et l'immunogénicité de la vaccination contre la rougeole a été décrite. Des anciennes études avec les premiers vaccins (moins atténués que ceux utilisés actuellement) ont suggéré un titre d'anticorps plus élevé chez les enfants ayant de la fièvre et une atteinte de l'état général après la vaccination. Cependant, la taille des études était petite (n=145 et 54) et la fréquence d'événements indésirables très élevée.^{156,157} Plus récemment, Kuter et al ont exploré cette association dans une analyse secondaire des quatre essais randomisés qui comparaient RROV avec RRO et Varicelle administrés séparément. Pour les deux groupes de vaccination, les CMG contre la rougeole étaient plus élevés chez les sujets qui avaient rapporté de la fièvre pendant les jours 5 à 12 après la vaccination. Chez les

enfants vaccinés avec RROV, l'âge à la vaccination, le CMG et la race (blanche) étaient positivement associés à la fois à la fièvre et à l'éruption cutanée similaire à la rougeole.¹⁴

La relation entre la réactogénicité et l'immunogénicité des vaccins contre la rougeole a été suggérée suite à l'observation des associations suivantes :

- 1) une augmentation de la fréquence de manifestations cliniques indésirables systémiques (fièvre, rash et convulsions fébriles) ET un titre d'anticorps contre la rougeole plus élevé après la vaccination avec RROV par rapport à l'administration de RRO ou de RRO et le vaccin contre la varicelle.^{14,155}
- 2) une augmentation de la fièvre et des convulsions fébriles chez les vaccinés à ≥ 16 mois versus 12-15 mois^{15,155} ET une meilleure protection contre la rougeole chez les enfants vaccinés avec la première dose de RRO à ≥ 15 mois par rapport à la vaccination à 12 mois.¹¹

Le mécanisme sous-jacent n'est pas complètement élucidé, mais il pourrait être conséquence d'une réplication augmentée du virus vaccinale contre la rougeole après la vaccination avec RROV et/ou une maturation accrue du système immunitaire des enfants.

Lors d'une infection virale, la fièvre est induite par plusieurs cytokines pyrogènes, produites initialement par le système immunitaire inné. L'apparition de la fièvre au cours des jours 5 à 12 après l'infection rougeoleuse ou la vaccination contre la rougeole suggère que la réponse immunitaire à médiation cellulaire serait également impliquée dans les mécanismes déclenchant la fièvre. Par ailleurs, l'éruption de la rougeole semble être une conséquence de l'interaction entre les cellules endothéliales infectées par le virus et les lymphocytes T.^{32,158} En plus, plusieurs études ont montré que la fièvre améliore les réponses immunologiques spécifiques aux agents infectieux.^{159,160} Cependant, son rôle dans la réponse immunitaire à l'infection rougeoleuse ou à la vaccination n'est pas encore bien défini.³²

Sur la base de la physiopathologie de la fièvre et des éruptions cutanées au cours de l'infection rougeoleuse et des associations épidémiologiques décrites avec le type de vaccin combiné, l'âge à la vaccination et les titres d'anticorps, nous avons analysé la survenue de la fièvre et de l'éruption cutanée post-vaccinales comme des marqueurs de la réponse immunitaire (innée et/ou cellulaire) qui précède et stimule la production d'anticorps spécifiques.

1.7 Pertinence du projet

Dans le but d'éliminer la rougeole, les stratégies qui permettent d'augmenter l'immunité de la population doivent être examinées en profondeur afin d'orienter les programmes d'immunisation et de contrôle de la maladie. Si les échecs secondaires à la vaccination sont expliqués par un âge plus précoce à l'administration de la première dose et par le type de vaccin combiné, les évidences sur l'âge optimal à la vaccination sont primordiales pour informer les décideurs politiques et les acteurs de la santé publique dans l'élaboration des recommandations.

Ce projet permettra de synthétiser les évidences existantes sur l'effet de l'âge à la vaccination sur la protection contre la rougeole et l'immunogénicité du vaccin. En plus, nous allons analyser un échantillon de plus de 5000 enfants pour examiner en détail l'impact de l'âge sur le titre d'anticorps dans le contexte actuel des enfants nés de mères vaccinées et recevant deux doses de vaccin contre la rougeole. Il s'agit de la plus grande étude immunologique qui a examiné cette question.

Par ailleurs, il existe une méfiance du public envers la vaccination en raison des effets secondaires potentiels des vaccins, notamment du vaccin RRO.¹⁶¹ Il est donc important de mieux comprendre le rôle des manifestations cliniques indésirables fréquentes comme la fièvre. Ce symptôme, bénin par ailleurs, sera mieux toléré par le personnel de santé et les parents si son association avec une meilleure réponse immunitaire est démontrée. En plus, l'analyse des associations de la fièvre avec l'âge à la vaccination et le type de vaccin dans notre vaste échantillon d'enfants vaccinés avec RRO ou RROV entre 11 et 22 mois contribuera à évaluer les pour et les contres de chaque calendrier vaccinal.

Chapitre 2: Objectifs et méthodologie

Ce chapitre expose d'abord les hypothèses et objectifs du projet de recherche. La section méthodologique servira pour approfondir les aspects analytiques qui n'ont pas pu être suffisamment développés dans le cadre des articles, notamment les plans d'analyse des deuxième et troisième études.

2.1 Hypothèses

Nos hypothèses de recherche étaient les suivantes :

- 1) L'augmentation de l'âge d'administration de la première dose de vaccin contre la rougeole (de 12 à 15 mois et plus) induit une meilleure réponse immunitaire et une protection augmentée contre la rougeole, même chez des enfants nés de mères vaccinées et recevant deux doses de vaccin.
- 2) Le vaccin RROV induit une meilleure réponse immunitaire que le vaccin RRO pour la composante contre la rougeole.
- 3) La fièvre post-vaccinale est associée à une meilleure réponse immunitaire contre la rougeole. Elle est aussi un facteur intermédiaire ou médiateur de l'association entre l'âge à la vaccination, le type de vaccin (RROV versus RRO) et le titre d'anticorps contre la rougeole.

2.2 Objectifs

L'objectif général du projet était d'évaluer l'effet de l'âge d'administration de la première dose, du type de vaccin combiné et des manifestations cliniques indésirables sur la réponse au vaccin contre la rougeole après une et deux doses de RRO ou RROV.

Les objectifs spécifiques étaient les suivants :

- 1) Synthétiser les études sur l'effet de l'âge à la première dose sur la protection et l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole chez des enfants ayant reçu une ou deux doses.
- 2) Estimer l'effet de l'âge à la première dose du vaccin contre la rougeole sur la réponse immunitaire humorale d'une et deux doses de RRO ou RROV.
- 3) Évaluer la corrélation entre le titre d'anticorps après la première dose et celui mesuré après la deuxième dose.

- 4) Décrire l'évolution temporelle des titres d'anticorps contre la rougeole selon l'âge à la vaccination et le type de vaccin pendant un suivi de trois ans chez des enfants vaccinés avec deux doses de RRO ou RROV.
- 5) Décrire la fréquence des manifestations cliniques systémiques indésirables (fièvre et éruption cutanée) après la vaccination contre la rougeole et leur association avec l'âge à la vaccination, le type de vaccin et la réponse immunitaire.
- 6) Explorer quelle proportion de l'effet de l'âge à la vaccination et du type du vaccin sur la réponse immunitaire humorale est médiée par la présence des manifestations cliniques indésirables systémiques.

Pour atteindre le premier objectif, nous avons réalisé une revue systématique de la littérature (étude 1). Ensuite, et pour répondre aux objectifs 2 à 4, nous avons analysé les données immunologiques de cinq essais cliniques menées par GSK dans les années 2004 à 2010 qui comparaient la réponse aux vaccins RRO et RROV (étude 2). Finalement, nous avons examiné les manifestations cliniques indésirables post-vaccinales (objectifs 5 et 6) en analysant les données de réactogénicité des mêmes essais cliniques (étude 3).

2.3 Méthodologie

2.3.1 Cadre conceptuel

En se basant sur la littérature, nous avons élaboré un modèle graphique pour conceptualiser les relations causales entre l'âge à la vaccination, le type de vaccin, les manifestations cliniques indésirables et la réponse immunitaire mesurée par le titre d'anticorps (**Figure 2-1**).

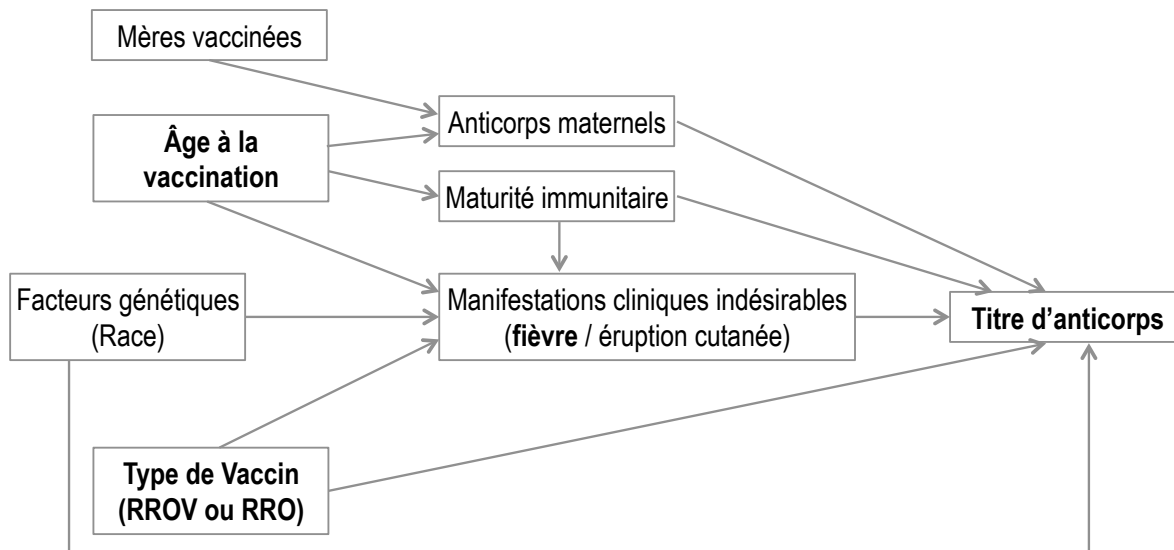


Figure 2-1 : Graphique acyclique et orienté sur les associations entre l'âge, le type de vaccin, les manifestations cliniques indésirables et les titres d'anticorps après la vaccination contre la rougeole

2.3.2 Plan d'analyse de la première étude

La méthodologie de la revue systématique de la littérature est détaillée dans le protocole présenté dans l'Annexe 1. Elle a été effectuée selon les recommandations méthodologiques du manuel Cochrane pour les revues systématiques des interventions.¹⁶²

Toutes les méta-analyses ont été réalisées en utilisant des modèles à effets aléatoires. Compte tenu des différences dans la souche du vaccin, la population, la circulation de virus et la technique de dosage d'anticorps entre autres, nous nous attendions à une variabilité élevée de la taille d'effet entre les études. Dans cette situation, les modèles à effets aléatoires permettent de prendre en compte les deux sources d'imprécision: la variance intra-étude et la variance inter-étude.¹⁶³

2.3.3 Devis, population et source des données des études 2 et 3

Les études 2 et 3 font une analyse secondaire des données de cinq essais contrôlés, randomisés et multicentriques (MMRV-038, MMRV-043, MMRV-044, MMR-157 et OKAH-179), menés par GSK. Ces données ont été accessibles grâce à la politique de la compagnie pharmaceutique, qui a mis à disposition de la communauté scientifique les données individuelles anonymisées des participants aux essais cliniques.¹⁶⁴ Les

caractéristiques principales des essais sont décrites dans le **Tableau 2-1**. Les résultats de ces études ont été publiés.¹⁶⁵⁻¹⁶⁹

Tableau 2-1 : Caractéristiques et population des essais cliniques

Essai	Année	Pays	Suivi	Âge (mois)	Intervention (dose 1/ dose 2)	N
MMRV-038	2004	Allemagne, Autriche	3 ans	11-18	RROV / RROV RRO+V / RRO	494
MMRV-043	2005	Finlande, Allemagne, Grèce, Pologne	12 sem.	11-21	RROV / RROV RRO+V / RRO	1438
MMRV-044	2005	Allemagne	12 sem.	11-21	RROV / RROV RRO+V / RRO	970
MMR-157	2010	États-Unis	2 ans	12-15	RRO+V+VHA+VCP	1259
OKAH-179	2006	Fédération Russe, Grèce, Italie, Lituanie, Norvège, Pologne, République Tchèque, Roumanie, Slovaquie, Suède	2 ans	11-22	RROV / RROV RRO / V RRO / RRO	1880

Abréviations : RROV = rougeole, rubéole, oreillons, varicelle ; RRO = rougeole, rubéole, oreillons ; V = varicelle ; VHA = vaccin contre l'hépatite A ; VCP = vaccin conjugué contre le pneumocoque

Même si les études étaient randomisées pour comparer les types de vaccins, elles ne l'étaient pas pour évaluer l'effet de l'âge à la vaccination. Les données décrites ci-dessus ont donc été groupées et analysées comme s'il s'agissait d'une étude observationnelle prospective, avec un suivi de 2 et 3 ans pour un sous-ensemble d'enfants.

La **Figure 2-2** montre l'intervention (type de vaccin et numéro de la dose), le temps de suivi et la collecte de données de chacun des essais. Un échantillon de sang a été prélevé avant vaccination et six semaines après la première et la deuxième dose, tandis que les manifestations cliniques indésirables ont été enregistrées pendant 15 jours après chaque vaccin administré.

Les observations individuelles des cinq bases de données ont été combinées dans un ensemble de données unique. En raison des protocoles similaires des essais cliniques,¹⁷⁰⁻¹⁷⁴ une faible variabilité inter-étude était attendue, ce qui nous a permis d'agrèger les données individuelles et d'utiliser un effet fixe pour l'étude dans les modèles statistiques.¹⁶³ Pour valider cette approche, nous avons refait les analyses pour modéliser la corrélation des erreurs entre les individus qui appartiennent à la même étude. Le modèle a été estimé par équations d'estimation généralisées. Les résultats n'ont pas

changé par rapport au modèle qui incluait la variable étude dans la partie fixe (données non publiées).

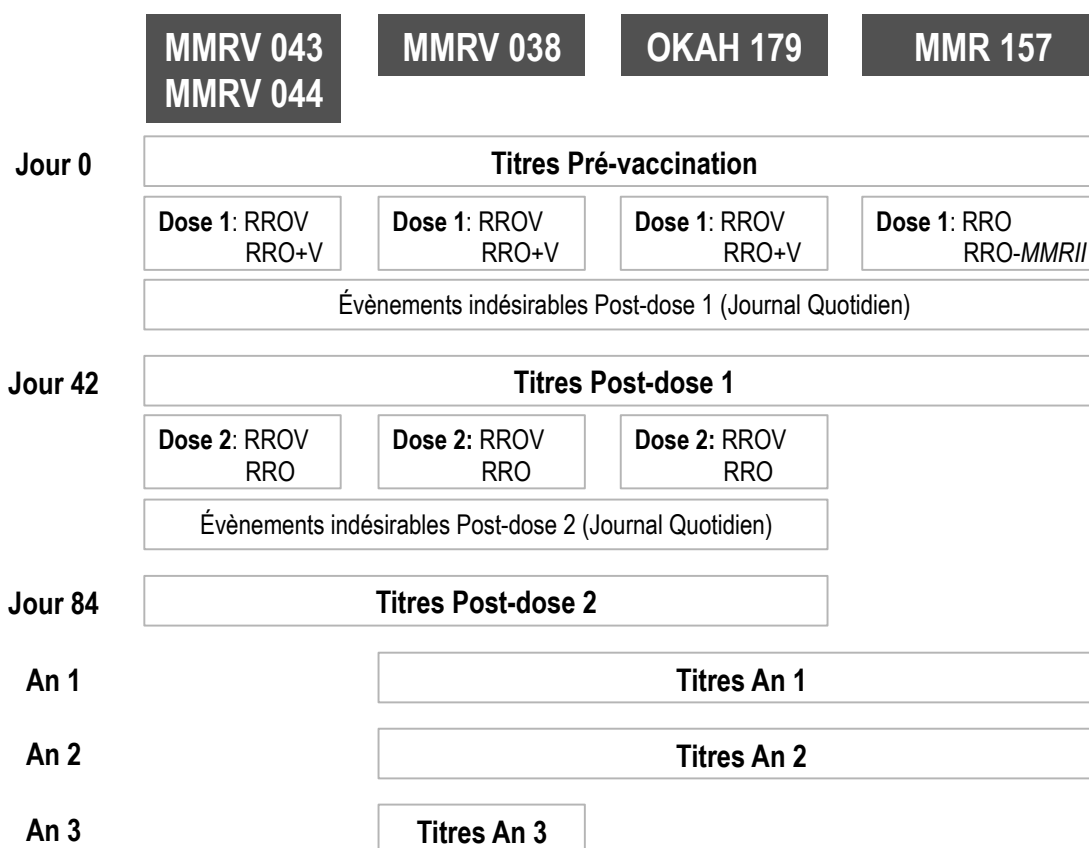


Figure 2-2 : Intervention et collecte de données pour chaque essai clinique

Abréviations : RROV = rougeole, rubéole, oreillons, varicelle ; RRO = rougeole, rubéole, oreillons ; V = varicelle

Les caractéristiques des participants ainsi que les critères d'exclusion sont décrits dans les sections méthodologiques de chaque article (Chapitres 4 et 5).

2.3.4 Plan d'analyse de la deuxième étude

Variables indépendantes et dépendantes

Les deux variables dépendantes ou issues d'intérêt pour mesurer l'immunogénicité ont été: la concentration moyenne géométrique d'anticorps (CMG) –variable continue- et le risque de séronégativité –variable dichotomique. Dans le but d'avoir une mesure globale de la CMG, et similairement à d'autres études sérologiques, nous avons aussi inclus les

enfants séronégatifs dans ce calcul.^{14,136} Nous leur avons attribué une concentration de 75 mUI/ml, la moitié du seuil de positivité.

L'âge en mois à l'administration de la première dose du vaccin a été la variable indépendante d'exposition. L'âge a été initialement catégorisé en 7 groupes (11, 12, 13, 14, 15, 16-17 et 18-22 mois), et ensuite regroupés en 4 catégories (11, 12, 13-14 et 15-22 mois) pour obtenir une taille d'échantillon comparable et un nombre suffisant d'enfants séronégatifs dans chaque groupe. Le choix final des catégories d'âge s'est basé sur l'homogénéité d'effet à l'intérieur de chaque groupe et sur les âges généralement recommandés pour la vaccination contre la rougeole dans les pays à faible transmission (12 et 15 mois), les enfants de 12 mois étant la catégorie de référence pour toutes les analyses. L'âge a été modélisé à l'aide de variables indicatrices pour éviter d'imposer une relation linéaire avec l'issue, et pour faciliter l'interprétation des résultats.

Les variables d'ajustement pour les modèles étaient : le type de vaccin (RROV ou RRO), le pays (13 variables indicatrices pour tenir compte des 14 pays participants) et l'étude (4 variables indicatrices).

Analyse statistique

L'analyse statistique est décrite dans la section méthodologique du deuxième article (Chapitre 4). Nous avons bâti des modèles linéaires (a) et log-binomiaux (b) pour la réponse immunitaire après chaque dose du vaccin.

$$(a) \mathbb{E}[\log_{10_titre}|\mathbf{X}] = \beta_0 + \beta_1 age_{11} + \beta_2 age_{13-14} + \beta_3 age_{15-22} + \beta_4 vacc + \beta_{5-17} pays_i + \beta_{18-21} \acute{e}tude_j$$

$$(b) \log(\mathbb{E}[seroneg|\mathbf{X}]) = \beta_0 + \beta_1 age_{11} + \beta_2 age_{13-14} + \beta_3 age_{15-22} + \beta_4 vacc + \beta_{5-17} pays_i + \beta_{18-21} \acute{e}tude_j$$

Les hypothèses du modèle (a) ont été testées. Nous avons utilisé une estimation empirique de la variance robuste à l'hétéroscédasticité pour tenir compte du problème d'hétéroscédasticité pour l'âge, mais cela n'a pas modifié nos résultats. La normalité n'était pas complètement respectée, mais la grande taille d'échantillon assurait la validité de nos estimations. Initialement, la multi-colinéarité entre l'étude et le pays a fait échouer la convergence du modèle. Tous les sujets de l'étude MMR-157 ont été recrutés aux États-Unis (et vice versa), et dès lors, les deux catégories ont été codées par la même variable indicatrice. Même si de la colinéarité importante persistait, aucun autre

ajustement n'a été fait car elle n'affectait pas la variable d'exposition. Finalement, nous avons identifié deux observations extrêmes dans le modèle qui estimait la concentration d'anticorps après deux doses à l'aide de DFBETAs. La mesure d'association n'a pas changé en excluant ces observations et nous avons, donc, présenté les résultats avec tous les individus.

La méthode du maximum de vraisemblance a échoué pour le modèle log-binomial (b), et par conséquent une distribution de Poisson avec un estimateur robuste des erreurs types a été utilisée. En raison du faible nombre d'événements (séronégativité) après la deuxième dose, le rapport de risque de séronégativité après la deuxième dose n'a pas été ajusté pour le pays.

Pour l'analyse de suivi de 3 ans, l'exposition a été l'âge à la première vaccination chez des enfants qui ont reçu deux doses de vaccin contre la rougeole. L'issue a été la concentration d'anticorps, mesurée 6 semaines, 1 année, 2 ans et/ou 3 ans après la deuxième vaccination (c). Dans les données longitudinales, la modélisation doit tenir compte de la corrélation entre les mesures répétées des titres de chaque individu.¹⁷⁵ Nous avons utilisé des équations d'estimation généralisées (GEE) avec une matrice de covariance de travail avec une forme autorégressive d'ordre 1. Cette matrice est appropriée si les périodes entre les mesures sont égales (dans notre cas les échantillonnages sont séparés d'un an) et il était raisonnable d'assumer que la corrélation dépendait du nombre de périodes qui séparaient les observations. Nous avons spécifié une distribution normale aux données.

$$(c) \quad \mathbb{E}[(\log_{10}\text{titre})_t | \mathbf{X}_t] = \beta_0 + \beta_1 \text{age}_{13-14} + \beta_2 \text{age}_{15-22} + \beta_3 \text{temps} + \beta_4 \text{vaccin} + \beta_{5-16} \text{pays}_i, \quad t = 0, 1, 2, 3$$

Le temps de suivi peut être modélisé à l'aide de variables indicatrices ou comme une variable continue, en fonction de la linéarité de sa relation avec l'issue. Dans le modèle (c), une seule variable reflète le temps car nous avons considéré que le log-titre d'anticorps diminue linéairement dans le temps.⁷¹

Une approche séquentielle a été favorisée. D'abord nous avons testé l'interaction entre l'âge et le temps pour évaluer si l'effet de l'âge à la première dose sur les titres variait avec le temps. Ensuite, et après avoir vérifié l'absence d'effet modifiant du temps (p=0,43), nous avons calculé une mesure d'association globale pour la variation des concentrations

d'anticorps au cours des 3 années suivant la vaccination. Cependant, nous avons présenté graphiquement les titres de chaque groupe d'âge pour chaque année, calculés aussi avec ce modèle.

De même, le rapport de risque de séronégativité a été estimé en utilisant des équations d'estimation généralisées avec un lien log. La spécification des paramètres du modèle, les covariables incluses et le traitement du temps ont été réalisés comme décrit ci-dessus.

Dans une analyse longitudinale les pertes au suivi provoquent des diminutions du nombre de sujets au cours de l'étude. Par ailleurs, le suivi était de deux années (OKAH-179) ou de trois années (MMRV-038) selon l'essai clinique. La probabilité qu'un sujet soit perdu au suivi était associée au pays et à l'âge. Quand la probabilité que les données soient manquantes dépend exclusivement des valeurs observées, nous allons les considérer comme données manquantes de façon aléatoire (MAR pour ses initiales en anglais: *missing at random*).¹⁷⁶ Parce que les modèles GEE ne sont pas robustes à ce type de données manquantes, nous avons pondéré les observations par la probabilité inverse de censure. Cette méthode calcule un poids de censure pour chaque temps de suivi, basé sur la probabilité d'un sujet d'être perdu au suivi sachant qu'il était présent dans le temps précédent.¹⁷⁵ L'objectif est que l'échantillon dans chaque temps de suivi soit représentatif de la population qui a débuté l'étude. Pour faire cela, nous avons dû supprimer les observations de 41 sujets (2,9%) qui sont revenus à une visite après avoir manqué une ou deux visites avant. Le calcul du poids a été basé sur l'âge, le type de vaccin, le pays, le sexe et les concentrations d'anticorps dans les mesures précédentes. Les pondérations ont été faites séparément pour chaque étude avant de les combiner.

Finalement, nous avons vérifié si les résultats de l'analyse longitudinale étaient robustes au modèle choisi en utilisant un modèle linéaire mixte avec différentes stratégies de modélisation de la partie aléatoire (données non publiées).

2.3.5 Plan d'analyse de la troisième étude

Variables indépendantes et dépendantes

Pour évaluer l'association entre les manifestations cliniques indésirables et la réponse immunitaire au vaccin contre la rougeole, les mêmes variables dépendantes que dans la

deuxième étude ont été utilisées, soit le titre d'anticorps (CMG) et la proportion de séronégativité.

Les variables indépendantes ont été les manifestations cliniques indésirables. Les événements indésirables locaux, soit la douleur, le gonflement et la rougeur au site de l'injection ont été enregistrés les jours 0 à 3 après l'administration de chaque dose de vaccin. Il n'y a pas de littérature qui démontre une relation entre les symptômes au site de l'injection et la réponse au vaccin contre la rougeole. Notre analyse initiale n'a montré aucune association et nous n'avons pas plus exploré leur rôle dans l'immunogénicité (données non publiées).

Les manifestations cliniques systémiques qui ont été documentées par les parents sont la fièvre et l'éruption cutanée. Le protocole pour collecter ces variables est décrit dans la section méthodologique de l'article 3 (Chapitre 5).

Nous avons défini l'incidence de fièvre comme la survenue d'une température axillaire de 38°C ou plus, mesurée au moins une fois pendant la période à risque de fièvre liée au vaccin contre la rougeole. La plupart des études qui ont analysé la fièvre attribuable au vaccin, ont défini une période à risque qui s'étend des jours 5 à 12 ou des jours 7 à 10,^{14,15,139,177} car la fièvre liée à la vaccination débute plus souvent durant les jours 9 et 10.^{137,146} Nous avons utilisé la première période, plus sensible, pour nous assurer de capturer tous les épisodes liés à la vaccination. Les jours 5 à 12 sont équivalents aux jours 4 à 11 si le jour 0 est considéré comme le jour de la vaccination; cette dernière nomenclature est celle utilisée dans l'article publié et celle que nous allons utiliser par la suite dans cette section. Dans le même sens, le seuil de température ($\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ axillaire) a été choisi pour obtenir un équilibre entre la sensibilité et la spécificité. L'essai randomisé chez des jumeaux montrait que 76% de la fièvre modérée (température rectale $>38,6-39,5^{\circ}\text{C}$, équivalente à $\approx 37,7-38,6^{\circ}\text{C}$ axillaire) et 93% de la fièvre forte (température rectale $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$, équivalente à $\approx \geq 38,6^{\circ}\text{C}$ axillaire) étaient attribuables au vaccin RRO, tandis que seulement 12% de la fièvre légère (température rectale $\leq 38,5^{\circ}\text{C}$, équivalente à $\approx \leq 37,6^{\circ}\text{C}$ axillaire) étaient causés par le vaccin.^{146,178}

Si un participant n'avait pas d'enregistrement de température pour tous les jours de la période à risque, nous utilisons les observations des jours où la température avait été mesurée et notée pour définir l'incidence de fièvre. Les enfants sans aucune valeur pendant la période à risque ont été exclus de l'analyse. Nous n'avons pas considéré

l'utilisation d'une méthode d'imputation car seulement 1,2% des sujets a été éliminé en raison des données manquantes. Compte tenu du protocole des essais, qui demandait un appel et une consultation urgente en cas d'éruption, nous avons imputé la valeur nulle aux enfants sans données sur la présence d'éruption.

En plus des variables d'ajustement définies dans la deuxième étude, la saison a été incluse comme variable dichotomique : hiver, si la vaccination a eu lieu entre novembre et avril, et été pour la période de mai à octobre. Ceci est basé sur la fréquence d'infections respiratoires et de fièvre chez les enfants en Europe et aux États-Unis.

Pour les analyses d'effet modifiant et de médiation, seules les données après la première dose ont été utilisées, car la fièvre et l'éruption cutanée après la deuxième dose étaient moins fréquentes, non associées au titre d'anticorps et, selon la littérature, non attribuables à la vaccination.^{137,139} Les expositions évaluées étaient l'âge à la vaccination et le type de vaccin. Dans ces analyses, la fièvre a été codée comme variable catégorielle ordinale avec chaque catégorie définie par la température maximale enregistrée pendant les jours 4 à 11 après la vaccination (de <38,0°C à ≥39,5°C, avec un demi-degré d'augmentation par catégorie). Ceci a facilité les analyses et augmenté la puissance statistique. Le postulat de linéarité entre la température maximale et la valeur attendue du logarithme du titre d'anticorps a été vérifié de façon graphique avec les coefficients du modèle (d) des variables indicatrices pour chaque catégorie (β_1 à β_4) (**Figure 2-3**).

$$(d) \mathbb{E}[\log_{10}\text{titre}|\mathbf{X}] = \beta_0 + \beta_1\text{temp}_{38-<38,5} + \beta_2\text{temp}_{38,5-<39} + \beta_3\text{temp}_{39-<39,5} + \beta_4\text{temp}_{\geq 39,5} + \beta_5\text{age}_{11} + \beta_6\text{age}_{13-14} + \beta_7\text{age}_{15-22} + \beta_8\text{vacc} + \beta_{9-21}\text{pays}_i + \beta_{22-25}\text{étude}_j$$

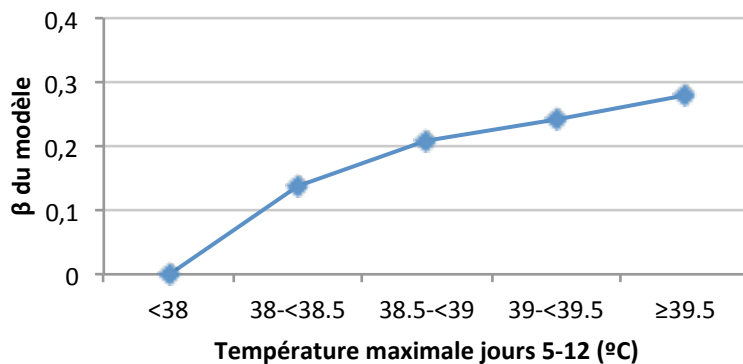


Figure 2-3 : Vérification du postulat de linéarité pour les catégories de température maximale

Analyse statistique

L'analyse descriptive des manifestations cliniques indésirables systémiques et leur association avec la réponse immunitaire est décrite dans la section méthodologique de la troisième étude (Chapitre 5). Nous présentons ici les formules du modèle linéaire (e) et du modèle log-binomial (f) :

$$(e) \quad \mathbb{E}[\log_{10_titre|\mathbf{X}}] = \beta_0 + \beta_1 fievre + \beta_2 age_{11} + \beta_3 age_{13-14} + \beta_4 age_{15-22} + \beta_5 vacc + \beta_{6-18} pays_i + \beta_{19-22} \acute{e}tude_j + \beta_{23} season$$

$$(f) \quad \log(\mathbb{E}[seroneg|\mathbf{X}]) = \beta_0 + \beta_1 fievre + \beta_2 age_{11} + \beta_3 age_{13-14} + \beta_4 age_{15-22} + \beta_5 vacc + \beta_{6-18} pays_i + \beta_{19-22} \acute{e}tude_j + \beta_{23} season$$

Préalablement à l'analyse de médiation, nous avons évalué l'effet modifiant de la température maximale dans les associations entre l'âge et la CMG et entre le type de vaccin et la CMG en introduisant un terme d'interaction dans chacun des modèles (g et h). Pour l'âge à la vaccination, nous avons regardé l'effet modifiant de la température pour chaque catégorie comparée avec le groupe d'âge de référence (12 mois).

$$(g) \quad \mathbb{E}[\log_{10_titre|\mathbf{X}}] = \beta_0 + \beta_1 temp + \beta_2 age_{11} + \beta_3 age_{13-14} + \beta_4 age_{15-22} + \beta_5 temp \times age_{11} + \beta_6 temp \times age_{13-14} + \beta_7 temp \times age_{15-22} + \beta_8 vacc + \beta_{9-21} country_i + \beta_{22-25} study_j + \beta_{26} season$$

$$(h) \quad \mathbb{E}[\log_{10_titre|\mathbf{X}}] = \beta_0 + \beta_1 temp + \beta_2 vacc + \beta_3 temp \times vacc + \beta_4 age_{11} + \beta_5 age_{13-14} + \beta_6 age_{15-22} + \beta_{7-19} country_i + \beta_{20-23} study_j + \beta_{24} season$$

Pour estimer la proportion de l'effet de l'âge ou du type de vaccin sur la réponse immunitaire qui serait attribuable à la présence de fièvre, nous avons appliqué des analyses de médiation. La voie qui lie une exposition et une issue peut être médiée par une variable intermédiaire (totalement ou partiellement). Dans ce cas, l'analyse de médiation permet de décortiquer l'effet total d'une exposition sur une issue en quantifiant les contributions relatives de la voie directe et de la voie indirecte. L'effet indirect serait celui qui passe au travers de la variable intermédiaire (**Figure 2-4**).¹⁷⁹

Dans le cas d'interaction entre l'exposition et la variable intermédiaire, les effets directs et indirects ne peuvent pas être calculés directement. Valeri et VanderWeele ont proposé une approche basée sur le cadre contrefactuel pour réaliser des analyses de médiation en présence d'interaction.¹⁸⁰ Ils ont défini les composantes de l'effet d'une exposition sur une

issue comme l'effet direct contrôlé (EDC), l'effet direct naturel (EDN) et l'effet indirect naturel (EIN). Pour clarifier les différents concepts, nous avons pris le cas d'une exposition binaire qui prend la valeur 1 ou 0, et ensuite nous avons appliqué les mêmes équations à notre étude en prenant comme exemple la comparaison entre les enfants vaccinés à ≥ 15 mois versus l'âge de référence (12 mois).

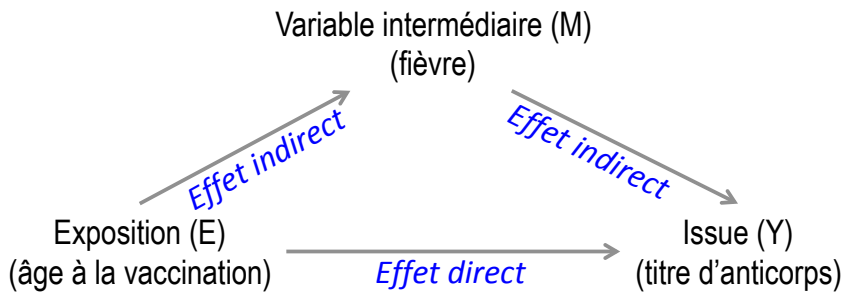


Figure 2-4 : Diagramme causal de l'effet direct et indirect de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps

L'EDC est l'effet direct moyen de l'exposition E sur l'issue Y quand le médiateur M est fixé à une valeur m pour toute la population: $EDC = \mathbb{E}[Y_{1,m}] - \mathbb{E}[Y_{0,m}]$. Pour l'estimer, l'effet de l'exposition et l'effet des influences naturelles sur le médiateur doivent être bloqués, ce qui demande normalement une intervention. L'EDC va dépendre du choix du niveau de médiateur.¹⁷⁹ Dans notre étude, la fièvre est liée à l'âge à la vaccination, mais aussi à d'autres facteurs, comme le type de vaccin et des facteurs génétiques. L'EDC serait, donc, l'effet de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps quand nous fixons, hypothétiquement, la température des enfants à $< 38^\circ\text{C}$ (**Figure 2-5, A**):

$$EDC = \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{\geq 15\text{mois}, < 38^\circ\text{C}}] - \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{12\text{mois}, < 38^\circ\text{C}}].$$

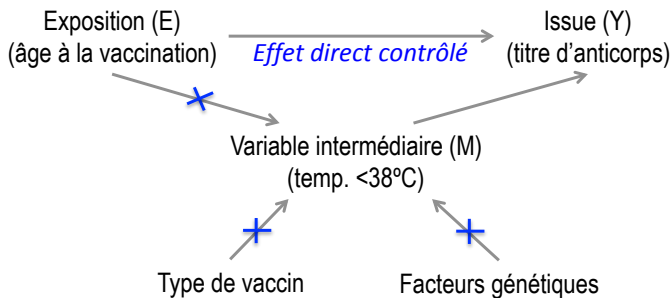
L'effet direct naturel, par contre, est l'effet direct moyen de l'exposition sur l'issue quand la voie entre l'exposition et le médiateur est bloquée, mais le médiateur est encore affecté par des influences naturelles. Il aura la même distribution que dans la population non-exposée (M_0): $EDN = \mathbb{E}[Y_{1,M_0}] - \mathbb{E}[Y_{0,M_0}]$. Dans notre étude, l'EDN serait l'effet direct de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps si la température avait une distribution telle qu'elle aurait été si toute la population avait été vaccinée à 12 mois (**Figure 2-5, B**):

$$EDN = \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{\geq 15\text{mois}, \text{temp}_{12\text{mois}}}] - \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{12\text{mois}, \text{temp}_{12\text{mois}}}.]$$

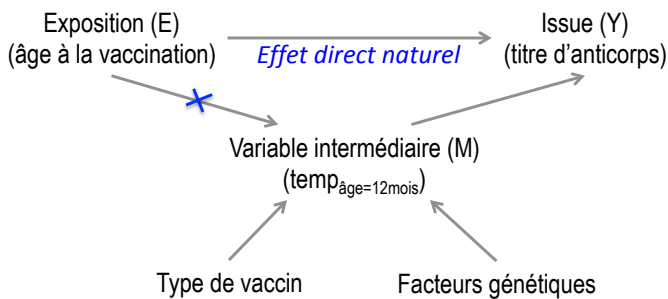
Enfin, l'EIN exprime l'effet de l'exposition sur l'issue qui opère au travers du médiateur. Autrement dit, il est le changement moyen de l'issue si tout le monde était exposé ($x=1$), mais le médiateur changeait du niveau tel qu'il aurait été si toute la population était non-

exposée (M_0) au niveau tel qu'il aurait été si toute la population était exposée (M_1): $EIN = \mathbb{E}[Y_{1,M_1}] - \mathbb{E}[Y_{1,M_0}]$. Dans notre analyse l'EIN serait l'effet du changement de température si tout le monde recevait le vaccin à 12 mois versus la température si tout le monde recevait le vaccin à ≥ 15 mois, quand toute la population est vaccinée à l'âge de ≥ 15 mois: $EIN = \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{\geq 15\text{mois,temp}_{15\text{mois}}}] - \mathbb{E}[\log_{10}\text{-titre}_{\geq 15\text{mois,temp}_{12\text{mois}}}]$ (Figure 2-5, C).

A. Effet direct contrôlé, en fixant la température à $<38^\circ\text{C}$ (en bloquant tous les effets sur la température)



B. Effet direct naturel, en bloquant uniquement l'effet de l'âge sur la température



C. Effet indirect naturel, en bloquant l'effet direct de l'âge sur le titre d'anticorps

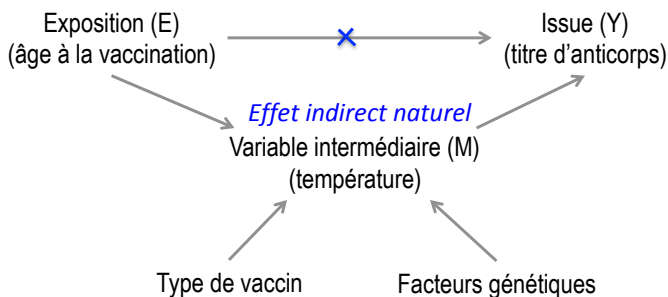


Figure 2-5 : Effets directs et indirect de l'âge à la vaccination sur le titre d'anticorps pour des valeurs de référence de 12 mois et de $<38^\circ\text{C}$ pour l'âge et la température.

Adaptée à partir de : « Petersen ML. et al. Estimation of Direct Causal Effects. *Epidemiology* 2006; 17(3):276-284 »

L'effet total est défini par le changement global de l'issue pour les exposés par rapport aux non-exposés. Il se calcule comme la somme de l'EDN et EIN.

Une décomposition supplémentaire de l'effet a été suggérée pour évaluer quelle part de l'EDN et de l'EIN est attribuable à l'interaction entre l'exposition et le médiateur.¹⁸¹ L'effet direct naturel serait pure, quand nous considérons la distribution du médiateur dans la population non-exposée (M_0): $EDN \text{ pure} = \mathbb{E}[Y_{1,M_0}] - \mathbb{E}[Y_{0,M_0}]$, ou total si nous prenons la distribution du médiateur dans la population exposée (M_1): $EDN \text{ total} = \mathbb{E}[Y_{1,M_1}] - \mathbb{E}[Y_{0,M_1}]$. Similairement, l'effet indirect naturel serait pur lorsque tout le monde est non-exposé ($X=0$): $EIN \text{ pure} = \mathbb{E}[Y_{0,M_1}] - \mathbb{E}[Y_{0,M_0}]$, et total si toute la population est exposée ($X=1$): $EIN \text{ total} = \mathbb{E}[Y_{1,M_1}] - \mathbb{E}[Y_{1,M_0}]$. L'effet total d'une exposition sera la somme de l'EDN pur et de l'EIN total ou, alternativement, de l'EDN total et de l'EIN pur.

Donc, l'EDN et l'EIN que nous avons défini initialement correspondent à l'EDN pur et l'EIN total. Etant donné que notre analyse de médiation est une analyse exploratoire et que l'interaction entre l'exposition et le médiateur n'a pas été évaluée auparavant, nous nous sommes limités à décomposer l'effet total en l'EDC, l'EDN (ou l'EDN pur) et l'EIN (ou l'EIN total).

Pour répondre à la question de recherche, c'est-à-dire, quelle proportion de l'effet de l'âge à la vaccination et le type du vaccin sur le titre d'anticorps est médiée par la présence de fièvre, nous avons calculé la proportion de l'effet total qui est médiée par la variable intermédiaire : $EIN / \text{effet total}$.

L'interprétation causale de ces effets exige le contrôle de la confusion entre l'exposition et l'issue, mais aussi entre le médiateur et l'issue.¹⁸⁰ Dans notre étude, le facteur de confusion le plus important entre le médiateur et l'issue est le type de vaccin. Donc, les mêmes variables d'ajustement que dans l'étude 2 seront incluses dans les modèles.

Les formules pour calculer les différents effets décrits sont basées sur les coefficients des modèles suivants (en supposant une issue et une variable intermédiaire continues et un nombre de covariables potentiellement confondants F):

$$(i) \quad \mathbb{E}[M|X] = \beta_0 + \beta_1 e + \beta_2' f$$

$$(j) \quad \mathbb{E}[Y|X] = \theta_0 + \theta_1 e + \theta_2 m + \theta_3 exm + \theta_4' f$$

Les définitions et les formules pour calculer chaque effet sont présentées dans le **Tableau 2-2**. Il faut remarquer que, en l'absence d'interaction entre l'exposition et le médiateur ($\theta_3 = 0$), les formules se simplifient et EDC=EDN.

Les modèles et les formules adaptés pour notre étude sont présentés dans la section méthodologique de la troisième étude (Chapitre 5).

Tableau 2-2 : Expressions et formules pour le calcul des effets direct contrôlé, direct naturel et indirect naturel sur l'issue pour un changement de l'exposition

Effets	Expression	Formule (coefficients de i et j)	Conditions
EDC	$\mathbb{E}[Y_{e,m}] - \mathbb{E}[Y_{e^*,m}]$	$(\theta_1 + \theta_3 m)(e - e^*)$	Dépend du niveau m
EDN	$\mathbb{E}[Y_{e,M_0}] - \mathbb{E}[Y_{e^*,M_0}]$	$\{\theta_1 + \theta_3(\beta_0 + \beta_1 e^* + \beta_2' f)\}(e - e^*)$	Dépend des niveaux f
EIN	$\mathbb{E}[Y_{e,M_1}] - \mathbb{E}[Y_{e,M_0}]$	$(\theta_2 \beta_1 + \theta_3 \beta_1 e)(e - e^*)$	
ET	$\mathbb{E}[Y_e] - \mathbb{E}[Y_{e^*}]$	$EDN + EIN$	

Abréviations : EDC=effet direct contrôlé ; EDN=effet direct naturel ; EIN=effet indirect naturel ; ET=effet total ; E=variable aléatoire d'exposition ; e=valeur de la variable exposition E ; e*=valeur de référence de la variable exposition E ; F=variables potentiellement confondants ; f=valeurs des variables confondantes F ; M=variable aléatoire pour le médiateur ; m=valeur de la variable médiateur M ; Y=variable aléatoire pour l'issue

Enfin, pour le calcul des intervalles de confiance de chaque effet, nous avons utilisé la macro SAS pour l'analyse de médiation, qui a été développée et rendue disponible par Valeri et VanderWeele (<https://www.hsph.harvard.edu/tyler-vanderweele/tools-and-tutorials/>).¹⁸⁰

2.3.6 Puissance statistique

Le calcul de puissance était complexe compte tenu des analyses multiples et des comparaisons multiples effectuées. Nous avons calculé la puissance statistique pour notre échantillon pour les deux comparaisons principales des catégories d'âge (11 vs 12 mois et 15-22 vs 12 mois) et pour l'estimation du RR de séronégativité après la première dose comme mesure d'association. La puissance sera supérieure pour l'issue continue (titres d'anticorps).

Le calcul de la taille d'échantillon pour les issues binaires est basé sur la formule (k), adaptée pour les cas où la mesure d'association est un RR.¹⁸²

$$(k) \quad n \geq (z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2 \times \frac{1-p}{p} \times \frac{1}{\text{var}(x)} \times \frac{1}{\beta_1^2}, \text{ où}$$

- n est le sous-échantillon pour chaque comparaison ($n=2245$ pour 11 vs 12 mois et $n=3471$ pour 15-22 vs 12 mois)
- $z_{1-\alpha/2}$ est la valeur Z pour un test bilatéral avec une erreur α de 0.05 ($Z=1,96$)
- $z_{1-\beta}$ est la valeur Z pour une puissance $(1-\beta)$ que nous voulons estimer
- p est la proportion de séronégativité, que nous avons estimée selon les résultats de séroconversion d'un des essais de notre population, avec ses intervalles de confiance pour faire des analyses de sensibilité : 0,93 (IC à 95% : 0,89 à 0,96).¹⁶⁷
- $\text{var}(x)$ se calcule comme le produit de la proportion exposée à chaque catégorie; pour 11 vs 12 mois : $\text{var}(x) = 0,18 \times 0,82 = 0,15$ et pour 15-22 vs 12 mois : $\text{var}(x) = 0,53 \times 0,47 = 0,25$
- β_1 est le coefficient de notre modèle log-binomial, qui correspond au log (RR). Nous voudrions détecter une augmentation ou une diminution du risque de 20% ($\text{RR}=0,80$ et $1,20$ respectivement), mais nous avons aussi fait les calculs pour des associations plus fortes.

Le **Tableau 2-3** résume la puissance attendue pour les différents scénarios quand nous varions la proportion de séronégativité et le RR attendu pour les deux comparaisons principales. Nous observons que seulement dans le cas d'une proportion de séronégativité d'au moins 7% et un risque de séronégativité qui augmente ou diminue de plus de 40%, nous aurons la puissance suffisante pour détecter des différences statistiquement significatives.

Tableau 2-3 : Estimations de la puissance (%) pour l'estimation du rapport de risque de séronégativité après la première vaccination contre la rougeole, selon le rapport de risque (RR) et la proportion de séronégativité (p) attendus

p	11 vs 12 mois (n=2245) RR de séronégativité			15-22 vs 12 mois (n=3471) RR de séronégativité		
	0,8	0,6	0,5	1,2	1,4	1,5
0,04	13,1	48,4	73,9	19,5	52,4	68,4
0,07	20,3	72,9	93,7	31,6	77,6	90,7
0,11	30,2	91,0	99,4	47,2	93,6	98,8

2.3.7 Considérations éthiques

Les essais originaux ont été approuvés par les comités éthiques correspondants et un consentement écrit a été fourni aux parents de chaque enfant avant son inclusion. Pour notre étude, les renseignements sont anonymes. Notre protocole de recherche a été approuvé par le comité d'éthique de la recherche du CHU de Québec.

Chapitre 3: Effect of age at vaccination on the measles vaccine effectiveness and immunogenicity: Systematic review and meta-analysis

Sara Carazo Perez, MD PhD(c)¹, Marie-Noëlle Billard², Amélie Boutin, PhD³, Gaston De Serres, MD PhD^{1,2}

¹Department of Social and Preventive Medicine, Laval University, Quebec, Canada

²Institut National de Santé Publique du Québec, Quebec, Canada

³CHU de Québec, Laval University Research Center, Quebec, Canada

Article soumis pour publication à la revue « BMC Infectious Diseases »

L'effet de l'âge à la vaccination sur l'efficacité et l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole: Revue systématique et méta-analyse

3.1 Résumé

Nous avons mené une revue systématique pour évaluer l'effet de l'âge à la première dose du vaccin antirougeoleux sur la protection contre la rougeole et sur la réponse immunitaire après une ou deux doses. Des modèles à effets aléatoires ont été utilisés pour estimer les rapports de risque (RR) de rougeole et les RR de séroconversion après la première vaccination administrée à <9, 9-11 ou ≥ 15 mois comparativement à 12 mois.

La réponse immunitaire et la protection contre la rougeole d'une dose du vaccin augmentaient avec l'âge d'administration, de 6 à ≥ 15 mois. Après la deuxième dose, la séropositivité était élevée, indépendamment de l'âge à la première dose, tandis que les enquêtes épidémiologiques suggéraient une protection plus faible si la première vaccination était donnée plus précocement. L'âge à la première dose pourrait avoir un impact sur les échecs secondaires après deux doses.

3.2 Abstract

Objective. The objectives of this review were to evaluate the effect of age at administration of the first dose of a measles-containing vaccine (MCV1) on protection against measles and on antibody response after one- and two-dose measles vaccinations.

Methods. We conducted a systematic review of the PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science and Cochrane databases (1964–2017) to identify observational studies estimating vaccine effectiveness and/or measles attack rates by age at first vaccination as well as experimental studies comparing seroconversion by age at first vaccination. Random effect models were used to pool measles risk ratios (RR) and seroconversion RR of MCV1 administered at <9, 9-11 or ≥15 months compared with 12 months of age.

Results. We included 41 and 67 studies in the measles protection and immunogenicity analyses. Older age at MCV1, from 6 to ≥15 months, improved antibody response and measles protection among one-dose recipients. Pooled measles RR ranged from 1.86 (95%CI: 1.01, 3.43) for MCV1 at <9 months versus 12 months to 0.47 (95%CI: 0.36, 0.62) for MCV1 at ≥15 months versus 12 months. Pooled seroconversion RR ranged from 0.95 (95%CI: 0.92, 0.97) for MCV1 at 9-11 months versus 12 months to 1.03 (95%CI: 1.01, 1.05) for MCV1 at ≥15 months versus 12 months. After a second dose, serological studies reported high seropositivity regardless of age at administration of MCV1 while epidemiological data of few studies suggested lower protection with earlier age at MCV1.

Conclusion. Earlier age at MCV1 decreases measles protection and immunogenicity after one dose and might still have an impact on secondary vaccine failures after two doses of measles vaccine. While two-dose vaccination coverage is most critical to interrupt measles transmission, older age at first vaccination may be necessary to keep the high level of population immunity needed to maintain it.

3.3 Introduction

The introduction of measles vaccination in the 1960s helped to control this highly contagious disease.² Elimination was achieved in the Americas in 2002 and the World Health Organization (WHO) has set the goal of measles elimination.⁵

In one-dose programs, vaccine effectiveness (VE) was influenced by age at vaccination.⁹⁴⁻⁹⁶ The interference of maternal antibodies and the immaturity of the child's immune system were the alleged mechanisms that resulted in a weaker antibody response and poorer protection in younger infants.^{9,87,89,109} The recommended age at first dose is a compromise, balancing the advantage of older immunization with the risk of measles in infants.¹⁰ Depending upon the country, MCV1 is currently administered from 9 to 18 months of age, with vaccination recommended as early as 6 months in specific situations.^{42,110,113} A second dose of MCV (MCV2) was added to compensate for the primary failures observed after the first vaccination, and two-dose schedules have been a key strategy for measles control.⁵ However, epidemic investigations^{101,183} and serological studies¹² have suggested that the effect of age at MCV1 could persist after two doses, with increased vulnerability among children first vaccinated before 15 months.

Uzicanin and Zimmerman did a systematic review of vaccine effectiveness after one (84 to 93%) or two (94%) doses of vaccine, and also presented summary point estimates for one dose administered at 9-11 or ≥ 12 months.³¹ A Cochrane review studied the effectiveness and safety of the measles-mumps-rubella vaccine but without accounting for age at vaccination.¹⁴³ Finally, a recent review examined immunogenicity and effectiveness of vaccination at < 9 months.¹⁸⁴

We aimed to evaluate the effect of age at administration of MCV1 on protection against measles and antibody response after one- and two-dose measles vaccinations through a systematic review of observational studies estimating vaccine effectiveness and/or measles attack rates (AR) by age at first vaccination as well as experimental studies comparing seroconversion risk by age at first vaccination.

3.4 Methods

We conducted a systematic review of the literature following the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions methodological recommendations, and we reported

our results according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement.^{162,185}

The study protocol is available in **Appendix A**.

Eligibility criteria

Eligibility required evaluation of vaccination with one or two doses of further attenuated live MCV, with the first dose administered before the age of two years.

Cohort and case-control studies that reported VE and measles AR by age at MCV1 were eligible for the review of measles protection. The vaccine needed to be administered at least two weeks before outbreak onset.

Randomized controlled trials (RCT) and quasi-experimental studies were included in the review of immunogenicity if seroconversion after MCV1 and/or seropositivity after MCV2 were reported by age at first vaccination. Studies of killed and high titer vaccines were excluded, as well as those examining aerosol or intradermal administration or targeting populations with special characteristics such as immunosuppressed or malnourished children.¹⁸⁶ When different vaccine strains were administered in one study, results were extracted according to the strains to compare children receiving the same strain at different ages.

Search strategy

Studies were identified by a systematic search of the PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science and Cochrane databases from 1964, when the first measles vaccine was licensed, to May 2017. Reference lists of selected articles and key published reviews were also hand-searched.^{8,31,143,184}

The following search terms were included: Measles Vaccine, Measles-Mumps-Rubella Vaccine, Measles/prevention and control, Vaccination, Measles Mumps Rubella Varicella vaccine, MMR, MMRV, Vaccine effectiveness, Efficacy, Epidemic, Outbreak, Treatment failure, Vaccine failure, Antibody, Serologic Tests, Seroconversion, Immunogenicity, Age, Age at vaccination, Age at immunization and Age factor. The search strategy, validated by a professional librarian, was adapted to each database. Search results were limited to

human studies. Studies published in English, French, Spanish or Portuguese were included (**Appendix A**).

Study selection

After eliminating duplicates using EndNote version X7.1 (New York City: Thomson Reuters, 2011) and manual completion, two reviewers (SCP and MNB) independently selected the studies based on the criteria described here. Any disagreements were resolved by consensus or consulting a third party (GDS). The main reason for exclusion was recorded during the full-text examination.

Data collection process

Data extraction forms were developed and tested for each sub-analysis (measles protection or immunogenicity).

A single author (SCP or MNB) abstracted data from the studies, which were checked by a second reviewer (SCP or MNB). Authors of original articles were contacted in the event of missing or inaccurate information. When VE or seroconversion risk was not reported but there were enough data to estimate it by age at vaccination, the calculation was done by the reviewers. Age categories with less than 10 participants were grouped.

Data items

We extracted information on the study's characteristics, population, intervention (vaccine strain, age at vaccination, number of doses, interval between doses and vaccine status ascertainment) and outcome (case definition, seroconversion definition, antibody assay methods, attack rates and seroconversion risk). VE was calculated by comparing measles AR among vaccinated and non-vaccinated or comparing the vaccination status of cases and non-cases during measles epidemics.^{30,187} Measles cases were defined by clinical, epidemiological and/or serological criteria. Attenuated or non-classical measles cases were included only if confirmed by laboratory.¹⁰ Seroconversion was defined, according to the study, as the presence of measles antibodies in individuals with previously undetectable titers, a fourfold increase in their concentration or both. Seropositivity was defined as an antibody concentration higher than the protective threshold.³⁵ Antibody assay methods included enzyme immunoassays (ELISA), hemagglutination assays (HAI), plaque reduction neutralization tests (PRN) and complement fixation tests (CF).^{38,39}

Risk of bias of individual studies

Two reviewers (SCP and MNB) independently evaluated the risk of bias for each outcome. For the assessment of observational studies, a scale was adapted from the NICE public health guidance to evaluate the study's representativeness, selection process, comparability of the groups, vaccination status ascertainment, and outcome definition and completeness.^{187,188} The Cochrane collaboration tool was adapted to evaluate the risk of bias in experimental studies (**Appendix A**).¹⁶²

Summary measures and synthesis of results

In all analyses, one- and two-dose recipients were analyzed separately.

Estimates of VE conferred by MCV1 and MCV2 were reported for each age group.

All meta-analyses were performed using random effect models in Review Manager version 5.3 (Copenhagen: The Cochrane Collaboration, 2014). Heterogeneity between studies was evaluated using I^2 and considered significant if greater than 50%.¹⁸⁹ Heterogeneity was explored according to the following a priori identified factors: measles case definitions, WHO regions and year of epidemic for the measles protection analysis; and vaccine strain, antibody assay method and year of the study for the immunogenicity analysis.

Based on study design, risk ratios (RR) or odds ratios (OR) of measles by age at first vaccination (at <9 months, 9 to 11 months and ≥ 15 months, compared to MCV1 at 12 months) were calculated and were pooled separately. These age categories were chosen based on current vaccination policies.^{42,110,113}

RR of seroconversion by age at first vaccination were pooled separately according to the post-MCV1 seroconversion definition (fourfold, seropositivity among previously seronegative or both). Overall measures of association were reported only if subgroup differences were not significant.

Risk of bias across studies

Publication bias was evaluated for each outcome by visual examination of funnel plots.

Additional analyses

Pre-specified sensitivity analyses of studies with a low risk of bias and of RCT were conducted when appropriate. We also planned a sensitivity analysis including only studies with participants probably born to vaccinated mothers, reflecting the current epidemiological context; this was based on year of implementation of the country's measles vaccination program, year of the study, and age of participants. Finally, a pooled analysis comparing seroconversion after MCV1 administered at 6 versus 9 months was performed a posteriori, considering that 12 studies reported this outcome and there is a recommendation for vaccination at 6 months in the context of epidemics in countries with high measles mortality.⁴²

3.5 Results

Study selection

After removing duplicates, we screened 2723 references and 108 studies were included in the review (**Figure 3-1**). Selection agreement was >90%.

Study characteristics

Of the 41 studies included in the measles protection analysis, there were 29 retrospective cohort and 12 case-control studies (**Supplementary Table 3-1A**). Most were conducted in the Americas (n=21; 51%), Africa (n=5; 12%) and Western Pacific (n=5; 12%) regions. Vaccination status was verified by written record in 36 studies (88%) but only 12 studies (29%) included solely laboratory confirmed cases or epidemiologically linked cases.

Of the 67 trials included in the immunogenicity analysis, 8 were RCT, 25 non-RCT and 34 before-after studies (**Supplementary Table 3-1B**). They were conducted in Africa (n=22; 33%), the Americas (n=21; 31%), Western Pacific (n=10; 15%) and other regions (n=14; 21%). Participants were mainly vaccinated with Schwarz (n=34; 42%) and Moraten strains (n=21; 30%) while antibodies were measured using HAI (n=40; 60%), ELISA (n=12; 18%), PRN (n=9; 13%) or other assays (n=6; 9%). Authors defined seroconversion as a fourfold increase in titers (n=10; 15%), seropositivity among seronegative pre-vaccination (n=36; 54%), both (n=11; 16%) or other (n=10; 15%).

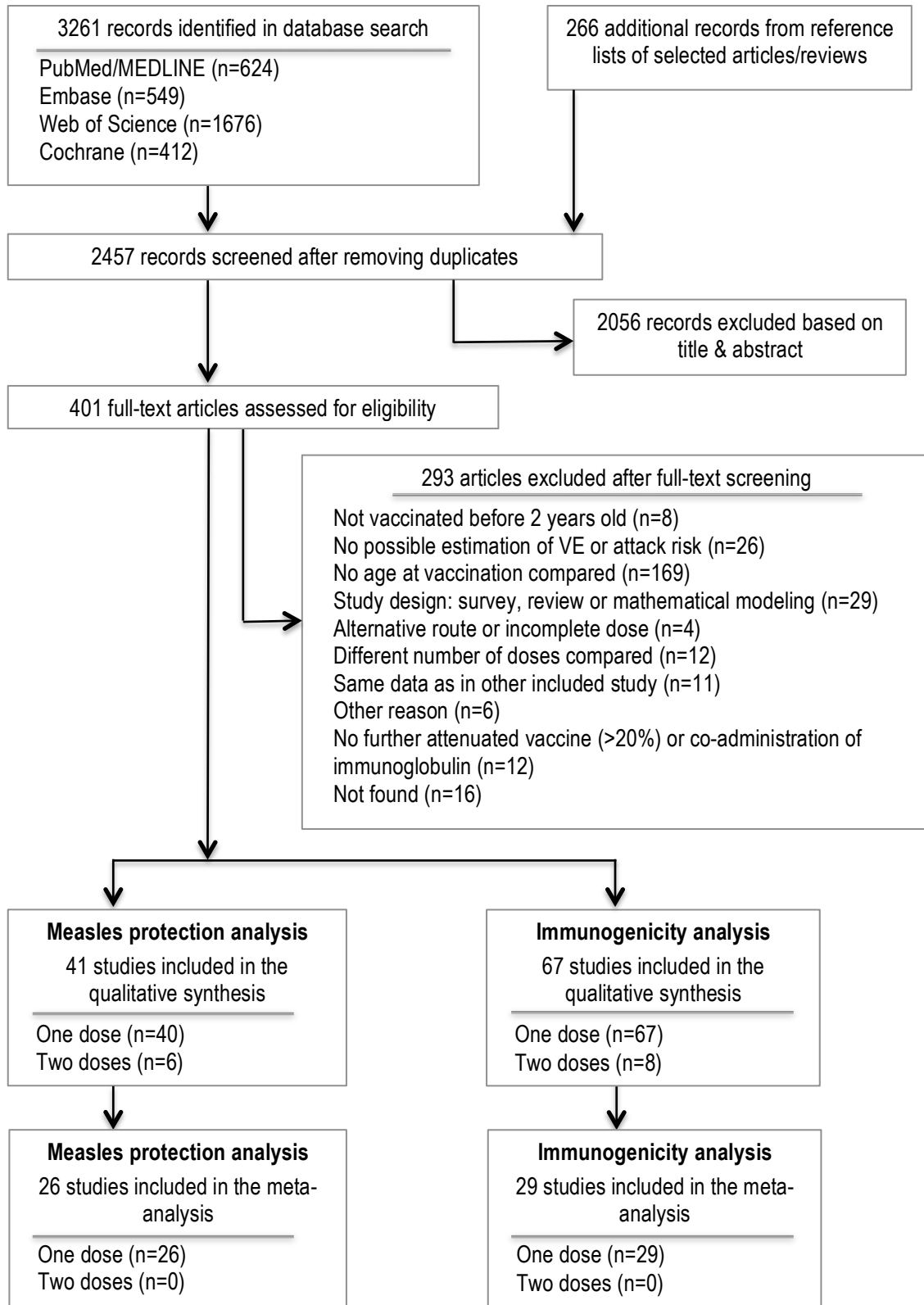


Figure 3-1 : Study selection flow diagram

Risk of bias within studies

All observational studies were considered to have good representativeness. Only 10 (24%) had an overall low risk of bias while 14 (34%) and 17 (41%) presented a moderate or high risk, respectively (**Supplementary Figure 3-1**). The main biases identified were: selection bias due to potential measles history among non-cases;¹⁹⁰⁻¹⁹² misclassification due to parents' definition of measles case^{18,93,94,96,193-196} and differential verification of vaccination status for cases and non-cases;¹⁹¹ and confounding bias due to lack of adjustment for time since vaccination.^{58,100,197-199} Among studies included in the meta-analysis, 8 (31%) were at low, 10 (38%) at moderate, and 8 (31%) at high risk of bias.

Half of the 8 RCT reporting immunogenicity had a low risk of bias overall^{88,89,92,200} while 4 presented a moderate risk of bias.^{86,201-203} In quasi-experimental studies, 19 (32%) were considered at low, 26 (44%) at moderate, and 14 (24%) at high risk of bias overall (**Supplementary Figure 3-2**). Substantial risk of bias was mainly due to potential differential exposure to measles during the study^{201,204-207} and to information bias caused by the use of dried blood spots to measure antibodies.^{116,127,206,208-218} Risk of bias of studies included in the meta-analysis was assessed as low in 3 RCT and 11 Non-RCT, moderate in 1 RCT and 13 Non-RCT, and high in 1 Non-RCT.

Measles protection by age at first vaccination

Of the 41 observational studies included, 24 allowed estimates of one-dose VE by age at vaccination. Another study was excluded from the one-dose and two-dose VE summary as VE estimates yielded extremely and probably biased low values.²¹⁹

Among one-dose recipients, VE was lower when the vaccine was administered at 12-14 months (VE range: 58.5-91.5%) compared to ≥ 15 months (VE range: 70.5-100%) in 8 of 12 studies (651 cases); it was similar in 2 studies and lower at ≥ 15 months in 2 studies. All 7 studies comparing vaccination at 9-11 months (VE range: 25.9-87.9%) versus ≥ 12 months (VE range: 69.8-94.4%) found better protection for the latter category (682 cases). Finally, 11 of 13 studies showed lower VE for those vaccinated before (VE range: 33.3-88.2%) rather than after 12 months (VE range: 69.8-96.1%) (869 cases); VE was similar for both age categories in 2 studies (65 cases) (**Table 3-1A**).

Measles RR/OR by age at vaccination could be estimated in 38 studies, 26 of which reported the defined age categories and were included in the meta-analysis. In the pooled

analyses of cohort studies, vaccination before 9 months (RR=1.86, 95%CI: 1.01, 3.43; $I^2=3\%$; 5 studies), at 9 to 11 months (RR=1.19, 95%CI: 0.76, 1.86; $I^2=25\%$; 6 studies) or <12 months (RR=1.50, 95%CI: 1.13, 1.99; $I^2=28\%$; 16 studies; data not shown) were associated with a higher risk of measles compared to vaccination at 12 months. Conversely, vaccination at ≥ 15 months was associated with a lower risk than vaccination at 12 months (RR=0.47, 95%CI: 0.36, 0.62; $I^2=30\%$; 15 studies) (**Figure 3-2**). Similarly, meta-analysis of case-control studies showed a higher risk of measles with early MCV1: <12 months versus 12 months (OR=1.34, 95%CI: 1.19, 1.51; $I^2=0\%$; 8 studies); and a lower risk for late MCV1: ≥ 15 months versus 12 months (OR=0.25, 95%CI: 0.17, 0.37; $I^2=74\%$; 9 studies) (**Figure 3-3**). This last pooled analysis showed significant heterogeneity that was not explained by the predefined factors. The level of evidence of this analysis was considered low to moderate since it was based on observational studies in which a moderate risk of bias persisted but a “dose-response” trend was observed as older age at vaccination (from <9 months to ≥ 15 months) was associated with lower measles risk.²²⁰

Sensitivity analyses with studies at low risk of bias included only 5 of the 18 cohort studies and pooled estimates were difficult to interpret. Case-control studies at low risk of bias found a non-significant association comparing vaccination at <12 versus 12 months (OR=1.02, 95%CI: 0.74, 1.41; $I^2=0\%$; 4 studies) but a lower measles risk for vaccination at ≥ 15 versus 12 months (OR=0.31, 95%CI: 0.19, 0.50; $I^2=48\%$; 5 studies), similar to that of the main analysis (**Supplementary Table 3-2**).

Among studies of two-dose recipients, two found VE of 72% and 89% if MCV1 was received at <12 months, and 100% if MCV1 was at ≥ 12 months but based on only one twice-vaccinated case in each study.^{53,58} Results of 3 case-control studies showed a lower risk of measles if MCV1 was administered at ≥ 15 months versus 12 months (OR=0.12, 95%CI: 0.03, 0.51);¹¹ a non-significant lower risk comparing ≥ 14 months versus <14 months (OR=0.29, 95%CI: 0.04, 2.00);¹⁰¹ and a higher risk for those first vaccinated at 10-11 months (OR=3.48, 95%CI: 1.4, 8.4) and at ≥ 15 months (OR=1.27, 95%CI: 0.41, 3.98) compared to 12-14 months (**Table 3-1B**).¹⁰⁰

None of the studies was considered to have cases born to vaccinated mothers, with the most recent epidemic investigation reporting 70% of mothers born before 1970.¹¹

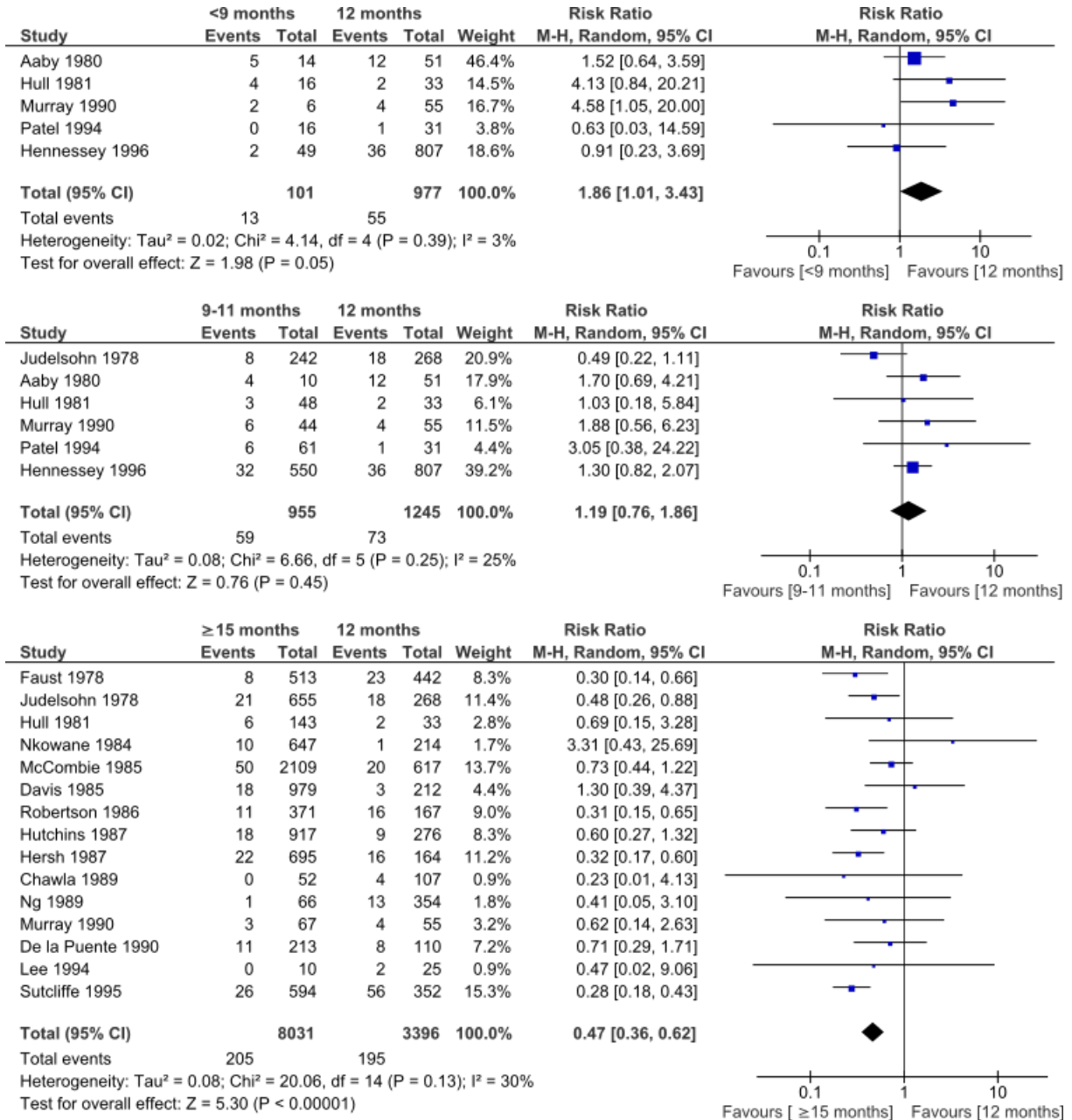


Figure 3-2 : Age at first dose of measles-containing vaccine and risk of measles (cohort studies)

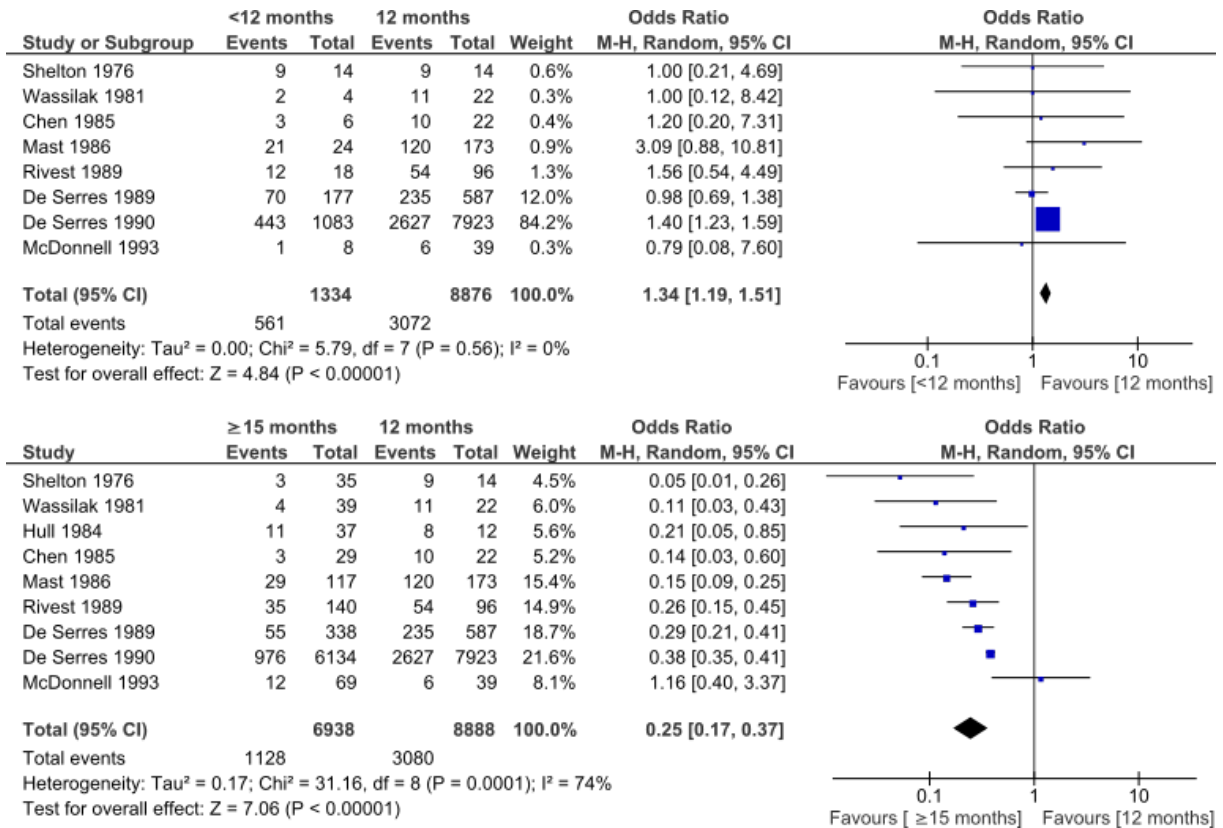


Figure 3-3 : Age at first dose of measles-containing vaccine and risk of measles (case-control studies)

Table 3-1 : Vaccine effectiveness and measles risk ratio, by age at first vaccination

A. ONE-DOSE ANALYSIS							
A-1. VACCINE EFFECTIVENESS [95% Confidence Intervals]							
Author, year of epidemic (ref)	Cases ^a	Age at first vaccination					
		<9	9	10-11	12	13-14	15
McIntyre, 1977 ⁹⁸	65				100% [-]	75.2% [47, 96]	93.3% [87, 97]
Aaby, 1980 ¹⁸	49	54.1% [5, 78]	48.6% [0, 76]		69.8% [49, 82]		
Hull, 1981 ⁹³	61	41.9% [0, 76]	85.5% [56, 95]		85.9% [45, 96]		90.2% [78, 96]
Anonymus, 1983 ¹⁹⁷	264	43.0% [NC]	83.0% [NC]				
Nkowane, 1984 ⁵⁵	18	33.3% [0, 83]			98.0% [82, 100]		93.2% [78, 98]
McCombie, 1985 ^{219 b}	83	-87.9% [-438, 34]			33.0% [0, 73]		51.0% [0, 79]
Davis, 1985 ⁵⁷	25	100% [-]			97.5% [91, 99]		96.8% [83, 99]
Roberston, 1986 ⁵⁸	40	70.2% [22, 80]			84.0% [63, 93]		95.1% [88, 98]
George, 1986 ¹⁹⁰	67	50.3% [22, 68]	59.0% [36, 74]				
Sharma 1987 ¹⁹⁴	132		49.7% [22, 68]	52.7% [23, 71]	71.0% [0-96]		73.4% [0, 96]
Hersh, 1987 ⁵³	46	80.8% [39, 94]			80.5% [51, 92]		93.7% [84, 97]
Lee, 1988 ²²¹	52	79.5% [0-97]			75.4% [3, 94]		78.9 [61, 88]
Chawla, 1989 ⁹⁴	176		77.3% [53, 89]		87.7% [67, 95]		100% [-]
Rivest, 1989 ⁹⁵	138		87.2% [0, 99]	91.5% [0, 100]	96.5% [37, 100]		97.8% [60, 100]
De la Puente, 1990 ⁹⁷	50				58.5% [13, 80]		70.5% [59, 79]
Malfait, 1990 ²²²	94		25.9% [8, 41]		94.4% [93, 96]		
Murray, 1990 ⁹⁶	74	40.1% [0, 81]	75.5% [47, 89]		86.9% [66, 95]		92.0% [75, 97]
Coetzee, 1992 ¹⁹²	17	74.7% [13, 93]			81.4% [51-93]		
McDonnell, 1993 ⁹⁹	40	96.6% [66, 100]			95.7% [84, 99]		95.0% [84, 98]
Lee, 1994 ¹⁹⁸	6	30.0% [0, 87]			72.0% [0, 95]		100% [-]
Kaninda, 1995 ¹⁹⁶	1295	86.9% [81, 91]	94.2% [93, 95]				
Kotb, 1995 ¹⁹⁵	230		25.6% [0, 53]	72.3% [55, 83]			

Hennessey, 1996 ⁵⁴	167	91.5% [67, 98]	87.9% [83-92]	91.0% [87, 94]	90.0 [84, 94]
John, 1999 ¹⁹⁹	67	24.0% [0, 55]	62.2% [0, 87]		

A-2. MEASLES RISK RATIO / ODDS RATIO [95% Confidence Intervals]

Author, year of epidemic (ref)	Cases ^a	RR/OR ^c	Age at first vaccination					
			<9	9	10-11	12	13-14	15
Shelton, 1976 ²²³	21	OR	1.00 [0.2, 4.7]			1.00 (ref)		0.05 [0.01, 0.3]
Judelson, 1978 ²²⁴	58	RR	1.92 [0.7, 5.3]		0.49 [0.2, 1.1]	1.00 (ref)	0.34 [0.1, 0.8]	0.48 [0.3, 0.9]
Faust, 1978 ¹⁹¹	63	RR	0.92 [0.5, 1.6]			1.00 (ref)	0.26 [0.1, 0.6]	0.44 [0.1, 1.4] 0.25 [0.1, 0.7]
Lopes, ≈1979 ¹⁹³	14	RR	1.62 [0.7, 3.6]			1.00 (ref)		
Aaby, 1980 ¹⁸	49	RR	1.52 [0.6, 3.6]	1.70 [0.7, 4.2]		1.00 (ref)		
Hull, 1981 ⁹³	61	RR	4.13 [0.8, 20.2]	1.03 [0.2, 5.8]		1.00 (ref)		0.69 [0.2, 3.3]
Wassilak, 1981 ²²⁵	18	OR	1.00 [0.1, 8.4]			1.00 (ref)	0.20 [0.02, 2.0]	0.11 [0.03, 0.4]
Hull, 1984 ⁵²	21	OR	NC			1.00 (ref)		0.21 [0.1, 0.9]
Nkowane, 1984 ⁵⁵	18	RR	32.92 [3.8, 283.5]			1.00 (ref)		3.31 [0.4, 25.7]
McCombie, 1985 ^{219 b}	83	RR	2.80 [1.2, 6.4]			1.00 (ref)		0.73 [0.4, 1.2]
Davis, 1985 ⁵⁷	25	RR	0			1.00 (ref)		1.30 [0.4, 4.4]
Chen, 1985 ²²⁶	16	OR	1.20 [0.2, 7.3]			1.00 (ref)		0.14 [0.03, 0.6]
Mast, 1986 ²²⁷	170	OR	3.09 [0.9, 1.08]			1.00 (ref)		0.15 [0.1, 0.3]
Roberston, 1986 ⁵⁸	40	RR	1.86 [0.9, 3.9]			1.00 (ref)		0.31 [0.2, 0.7]
Sharma 1987 ¹⁹⁴	132	RR		1.06 [0.6, 2.0]	1.00 (ref)		0.61 [0.1, 4.2]	0.56 [0.1, 3.9]
Hutchins, 1987 ⁵⁶	30	RR			1.00 (ref)		0.49 [0.1, 1.8]	0.60 [0.3, 1.3]
Hersh, 1987 ⁵³	46	RR	0.99 [0.4, 2.6]			1.00 (ref)		0.32 [0.2, 0.6]
Agocs, 1988 ²²⁸	79	RR	1.00 (ref)				0.92 [0.6, 1.4]	
Lee, 1988 ²²¹	52	RR	1.00 (ref)			1.20 [0.1, 12.4]		1.03 [0.1, 7.5]
Paunio, 1988 ¹⁰¹	153 ^d	OR	1.00 (ref)				0.37 [0.1, 1.0]	
Chawla, 1989 ⁹⁴	176	RR		1.84 [0.6, 6.1]		1.00 (ref)		0.00
Ng, 1989 ²²⁹	16	RR	1.70 [0.4, 7.2]			1.00 (ref)		0.41 [0.1, 3.1]

De Serres, 1989 ¹⁸³	525	OR	0.98 [0.7, 1.4]			1.00 (ref)	0.50 [0.4, 0.7]	0.29 [0.2, 0.4]	
Rivest, 1989 ⁹⁵	138	OR		1.56 [0.5, 4.5]	1.00 (ref)	0.40 [0.2, 0.8]	0.26 [0.2, 0.5]		
De la Puente, 1990 ⁹⁷	50	RR			1.00 (ref)		0.71 [0.3, 1.7]		
Malfait, 1990 ²²²	94	RR	13.23 [6.4, 26.5]			1.00 (ref)			
De Serres, 1990 ¹⁰⁰	5514	OR		1.40 [1.2, 1.6]	1.00 (ref)	0.59 [0.5, 0.6]	0.38 [0.3, 0.4]	0.38 [0.3, 0.4]	
Murray, 1990 ⁹⁶	74	RR	4.58 [1.1, 20.0]	1.88 [0.6, 6.2]		1.00 (ref)		0.62 [0.1, 2.6]	
Coetsee, 1992 ¹⁹²	17	RR	1.00 (ref)				0.73 [0.2, 2.8]		
McDonnell, 1993 ⁹⁹	40	OR	0.79 [0.1, 7.6]			1.00 (ref)		1.16 [0.4, 3.4]	
Patel, 1994 ²³⁰	7	RR	0.00	3.6[0.4,29.3]	1.72[0.1, 25.9]	1.00 (ref)			
Lee, 1994 ¹⁹⁸	6	RR	2.50 [0.4, 15.4]			1.00 (ref)		0.00	
Sutcliffe, 1995 ⁵⁹	82	RR				1.00 (ref)		0.28 [0.2, 0.4]	
Kaninda, 1995 ¹⁹⁶	1295	RR	2.27 [1.5, 3.3]	1.00 (ref)					
Kotb, 1995 ¹⁹⁵	230	OR		2.69[1.9,3.9]	1.00 (ref)				
Hennessey, 1996 ⁵⁴	167	RR	0.91 [0.2, 3.7]	1.30 [0.8, 2.1]		1.00 (ref)		1.08 [0.6, 1.9]	
John, 1999 ¹⁹⁹	67	RR	2.01 [0.8, 5.4]	1.00 (ref)					

B. TWO-DOSE ANALYSIS

B-1. VACCINE EFFECTIVENESS [95% Confidence Intervals]

Author, year of epidemic (ref)	Cases ^a	Age at first vaccination						
		<9	9	10-11	12	13-14	15	>15
McCombie, 1985 ^{219 b}	22	63.3% [0, 88]			55.1% [0, 89]		37.6% [0, 79]	
Roberston, 1986 ⁵⁸	4	72.2% [0, 96]			100% [-]			
Hersh, 1987 ⁵³	4	88.9% [12, 99]			100% [-]			
De Serres, 2011 (ref) ^e	52				93.0% [90, 95]	94.7% [90, 97]	97.5% [94, 99]	

B-2. MEASLES RISK RATIO / ODDS RATIO [95% Confidence Intervals]

Author, year of epidemic (ref)	Cases ^a	RR/OR ^c	Age at first vaccination					
			<9	9	10-11	12	13-14	15

McCombie, 1985 ^{219 b}	22	RR	0.82 [0.2, 3.2]		1.00 (ref)		1.39 [0.4, 5.3]	
Paunio 1988 ¹⁰¹	153 ^d	OR	1.00 (ref)			0.29 [0.04, 2.0]		
De Serres, 1990 ¹⁰⁰	28	OR		3.48 [1.4, 8.4]	1.00 (ref)		1.27 [0.4, 4.0]	
Defay, 2011 ¹¹	99	OR			1.00 (ref)	1.04 [0.7, 1.7]	0.00	0.17[0.04,0.7]

Abbreviations: NC=not calculable; RR=relative risk; OR=odds ratio

^a Number of cases included in the calculation of the age effect

^b Study excluded from summary measures due to high risk of bias (the misclassification of infants with no-records as unvaccinated and selection bias due to school exclusion policy that reduced exposure of unvaccinated) and extremely low two-dose VE of 53%.

^c Risk ratios comparing attack rates by age in months of administration of the first dose of measles vaccine (reference age category is the one containing 12 months, specified according to the paper). Odds ratios have been calculated for case-control studies.

^d Number of cases in the study, not specified the number in the one and two dose analysis

^e Vaccine effectiveness assessed in a school outbreak during the epidemic reported in Defay, 2011

Immunogenicity by age at first vaccination

Of the 67 trials reporting on one-dose immunogenicity, 29 fulfilled the criteria to be included in the meta-analysis (**Supplementary Table 3-3**).

Seroconversion was lower in infants with MCV1 <9 months than in children vaccinated at 12 months in studies defining seroconversion as a fourfold increase in antibody titers (RR=0.69, 95%CI: 0.57, 0.84; $I^2=79%$; 6 studies) or as seropositivity among seronegative pre-vaccination (RR=0.78, 95%CI: 0.70, 0.86; $I^2=75%$; 12 studies), and similar in the two studies allowing both definitions (RR=0.99, 95%CI: 0.97, 1.02; $I^2=0%$; 2 studies) (**Figure 3-4**). The only RCT for this outcome defined seroconversion as a fourfold titer increase or seropositivity among seronegative and reported 99% seroconversion for children vaccinated at 8 or 12 months (n=280).⁹² The high heterogeneity found in these comparisons was not explained by the predefined factors. Vaccination at 9-11 months versus 12 months yielded similar pooled RR of seroconversion for the 3 subgroup analyses, with an overall RR of 0.95 (95%CI: 0.92, 0.97; $I^2=46%$; 27 studies) (**Figure 3-5**). The two RCT included in this analysis (n=1401 and 643) reported similar results: RR=0.89 (95%CI=0.85, 0.93) and RR=0.92 (95%CI=0.87, 0.96), respectively.^{88,89} Finally, MCV1 at ≥ 15 months induced a 3% higher seroconversion risk compared to 12 months (RR=1.03, 95%CI: 1.01, 1.05; $I^2=13%$; 12 studies) (**Figure 3-6**). The only RCT (n=705) reported the same RR as the overall measure.⁸⁹ Evidence from the experimental studies included in the one-dose serological analysis was rated as moderate, based on study design, consistency, low to moderate risk of bias, and dose response.²²⁰

Sensitivity analyses including only studies at low risk of bias found a weaker association when comparing seroconversion after MCV1 at <9 months versus 12 months but no change in other comparisons (**Supplementary Table 3-2**).

All 11 studies comparing infants vaccinated at 6 months and 9 months reported lower seroconversion risk for the youngest group (RR=0.75, 95%CI: 0.69 to 0.82; $I^2=65%$; 14 studies). However, there was significant heterogeneity for all sub-analyses, not explained by the predefined effect modifiers (**Supplementary Figure 3-3**).

Seropositivity after MCV2 was reported in 3 RCT and 4 Non-RCT (**Supplementary Table 3-1B**). The 3 RCT found high seropositivity in all two-dose recipients: 95%, 98% and 99% for MCV1 at 9, 11 and 12 months (n=1364), with a significant difference between 9 and 12

months;⁸⁸ 100% for MCV1 at 8 or 12 months (n=206);⁹² and 97% and 99% for MCV1 at 4-5 or 9 months (n=655).²⁰³ A large non-RCT found increasing seropositivity with older age at MCV1, from 80% for MCV1 at 7-8 months to 96% for MCV1 at 10-11 months (n=1111).²³¹ Three non-RCT showed a similar seropositivity risk for MCV1 at 6 versus 9 months^{9,85} or inconsistent results²¹³ but the number of participants was small (**Table 3-2**).

Sensitivity analyses including only studies whose participants were most probably born to vaccinated mothers (7/29 studies) showed the same trend of increasing seroconversion with age at MCV1 but a weaker and non-significant association for vaccination at <9 or 9-11 months versus 12 months (**Supplementary Figure 3-4**). Seropositivity RR after MCV2 remained unchanged in the sensitivity analyses (4/8 studies) (**Table 3-2**).

Table 3-2 : Seropositivity risk after two doses of measles vaccine by age at first vaccination

Author, year (strain) (ref)	N ^a	Seropositivity dfn ^b	Seropositivity risk by age at MVC1 [95%CI]					
			<6	6	7-8	9	10-11	12
Soerensen, 1985 (Schwarz) ²³¹	1111	+			0.80 [0.77-0.82]	0.90 [0.83-0.98]	0.96 [0.90-1]	
McGraw, 1986 (Moraten) ²¹³	52	+			0.95 [0.85-1]	0.89 [0.76-1]		1.00 [-]
Gans, 2001 ^c (Moraten) ⁹	31	+		1.00 [-]		1.00 [-]		
Gans, 2004 ^c (Moraten) ⁸⁵	50	+		0.86 [0.74-0.99]		0.90 [0.78-1]		
Vesikari, 2012 ^c (Moraten) ⁸⁸	1364	+				0.95 [0.93-0.97]	0.98 ^d [0.96-0.99]	0.99 [0.97-1]
Martins, 2014 (EZ) ²⁰³	655	+	0.97 [0.95-0.99]			0.99 [0.98-1]		
He, 2014 ^c (Hu191) ⁹²	206	+			1.00 ^e [-]			1.00 [-]
Youwang, 2001 ^f (Hu191) ⁸⁴	76	4-fold		0.40 [0.15-0.65]			0.52 ^g [0.40-0.65]	

Abbreviations: CI=Confidence interval; E-Z=Edmonston-Zagreb; NR=Not reported; MCV1= dose one of measles-containing vaccine

^a Number of cases for the calculation of the age effect

^b + = seropositivity among all participants; 4-fold = fourfold increase in antibody titers;

^c Studies with participants mostly born to vaccinated mothers

^d 11 months

^e 8 months

^f Study excluded from summary results because antibody response post-second dose is defined as a fourfold increase in antibody titer

^g 8 to 15 months

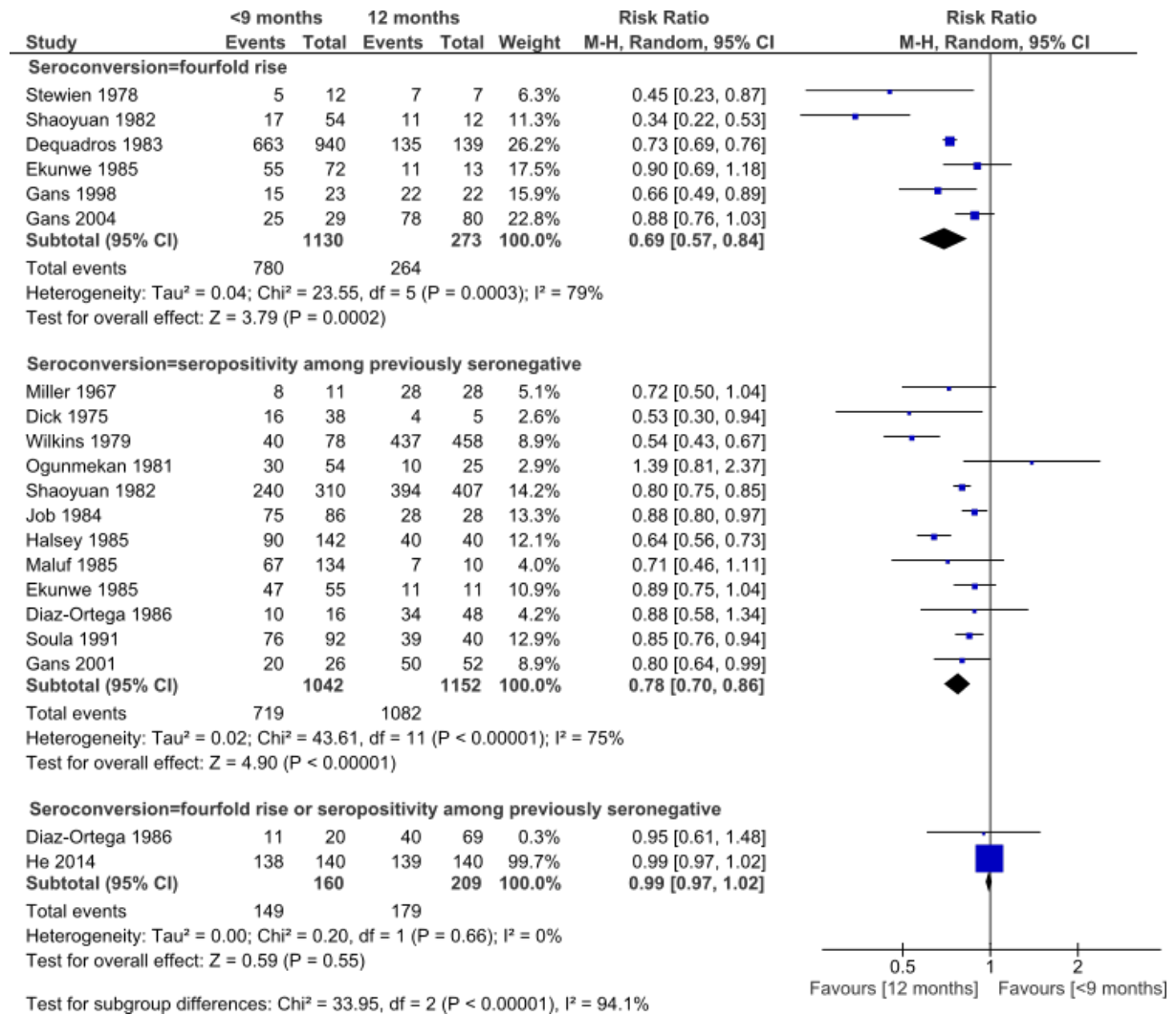


Figure 3-4 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (<9 months versus 12 months)

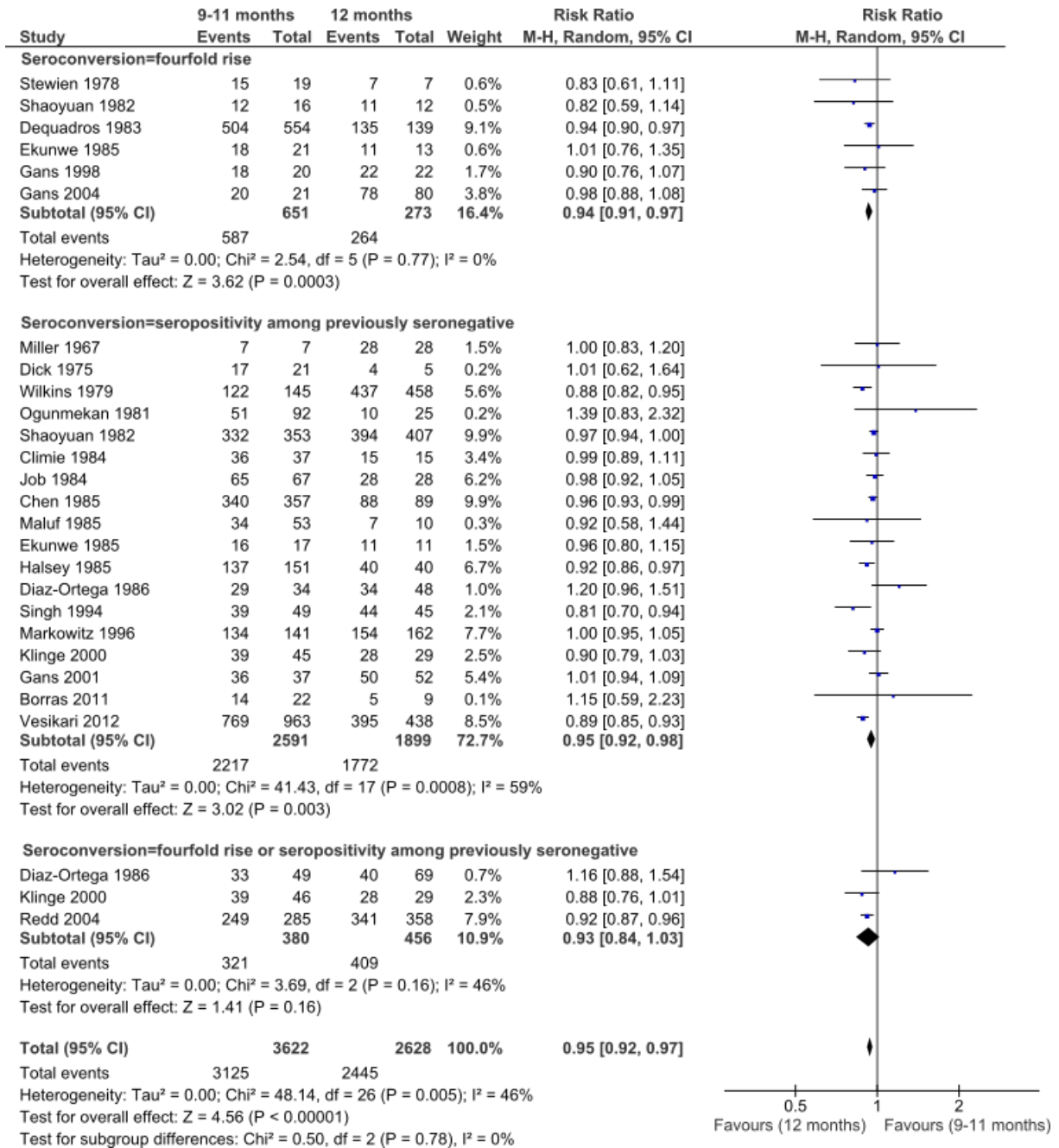


Figure 3-5 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (9-11 months versus 12 months)

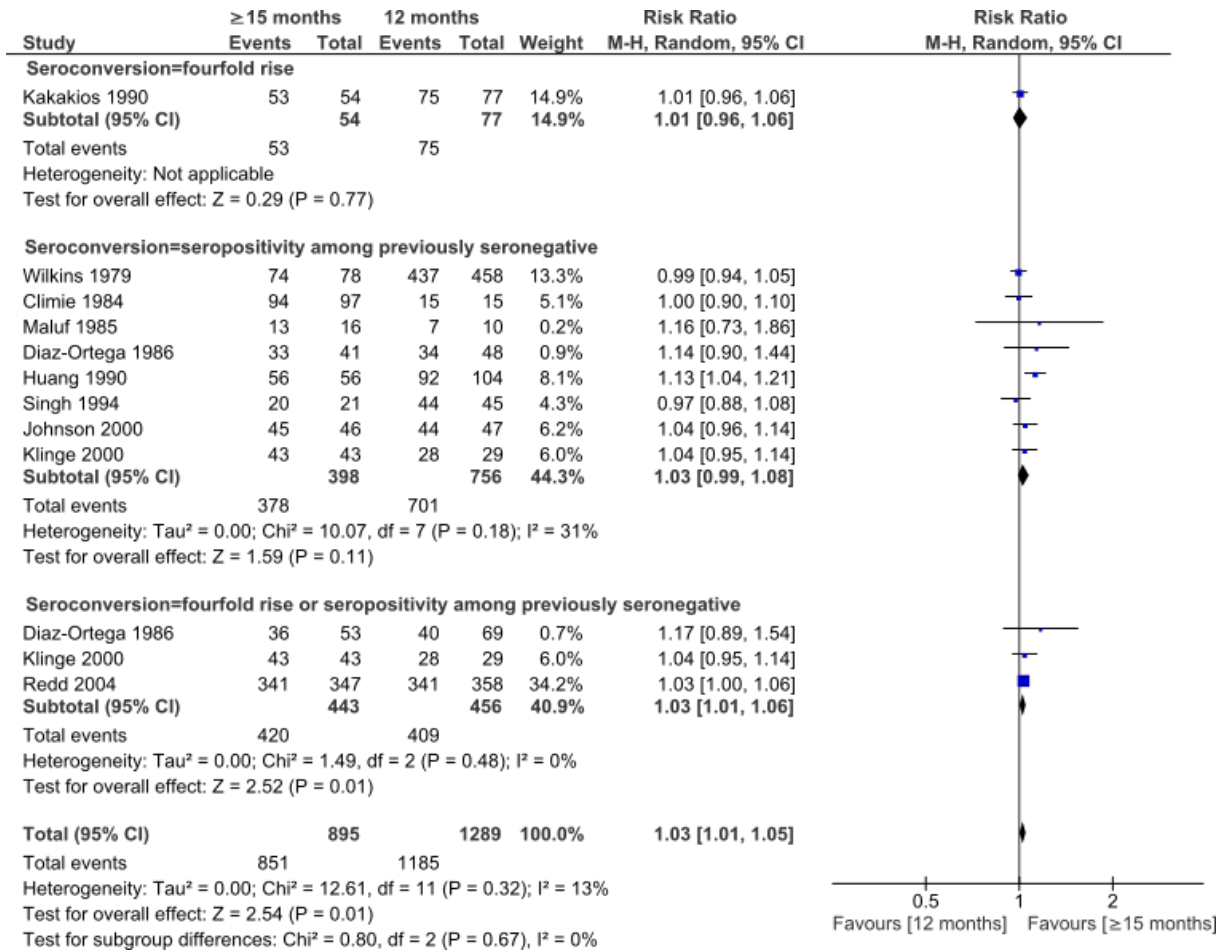


Figure 3-6 : Age at first dose of measles-containing vaccine and seroconversion (≥15 months versus 12 months)

Risk of bias across studies

Funnel plots did not show much asymmetry but most of the effect estimates were plotted close to the pooled measure, suggesting that publication bias might exist but did not have a major impact on our results (**Supplementary Figure 3-5**).

3.6 Discussion

Overall, we found robust evidence that increased age at MCV1, from 6 to ≥15 months, improved antibody response and measles protection among one-dose recipients. Shortly after a second dose, serological studies showed high seropositivity regardless of age at administration of MCV1, with only two trials reporting lower seropositivity for MCV1 given at ≤9 months.^{88,231} Data from epidemic investigations suggested that less protection with earlier age at MCV1 could persist among two-dose recipients but this is based on only 5

reports, some of which included few cases,^{53,58,101} and the evidence is therefore inconclusive. In all analyses and for similar age categories, age at MCV1 was more strongly associated with measles risk than with seronegativity risk. This could be partly explained by the more controlled context of the experimental studies but it might also reflect secondary vaccine failures that would not be detected shortly after vaccination.⁴⁴ Serological studies have demonstrated that, in infants first vaccinated at 11-12 months, MCV1 induced high seroconversion rates but lower antibody titers than vaccination at 15 months;²³² post-first dose titers correlated highly with post-MCV2 titers, which may lead to a greater risk of waning immunity over time among poor responders.^{44,46,68,232}

In their systematic review, Uzicanin and Zimmerman reported a median VE of 77.0% (range: 26-99%) and 92.0% (range: 39-100%) after MCV1 administered at 9-11 months and ≥ 12 months, respectively.³¹ By examining smaller age categories based on the most common schedule recommendations,⁴² our review refined the assessment of the role of age at MCV1 with respect to VE, serological results and two-dose protection. When there were almost no unvaccinated cases, VE by age at vaccination could not be estimated or was difficult to interpret. We circumvented this problem by analyzing only vaccinated individuals and calculating their relative risks of measles for different ages at vaccination, thus minimizing the risk of bias associated with VE calculation from epidemics among highly vaccinated populations.

This review was limited by the quality of the epidemiological studies as only 31% (8/26) were at low risk of bias and a sensitivity analysis was not possible for this outcome. However, it is reassuring that the results of serological studies at low risk of bias were very much in line with those of epidemic investigations. Only 13% of the serological studies measured neutralizing antibodies, meaning that seroconversion might be underestimated when the protection threshold was quantified by less sensitive assays like HAI and ELISA.^{35,38,39,233} This would not change our conclusions if low levels of neutralizing antibodies were not protective in the medium term, as suggested by epidemiological results. We found high heterogeneity in some of the serological sub-analyses, which was not explained by region, year, vaccine strain or antibody assay. However, protection and immunogenicity pooled estimates showed the same direction of effect and were coherent, indicating that our results are robust despite the heterogeneity.¹⁸⁹ Finally, data on measles risk and seropositivity among two-dose recipients were limited and summary measures

could not be calculated for these outcomes, highlighting the need for further evaluations of the effect of age at first dose after MCV2.

Over the last 20 years, two phenomena have influenced a progressive epidemiological transition with implications for policy concerning age at measles vaccination: first, infants have increasingly been born to vaccinated mothers and received less placental transferred maternal antibodies;¹³ second, two-dose schedules became recommended worldwide.⁴² Most of the studies included in this review had participants born to mothers with naturally acquired immunity. Our sensitivity analysis for children born to vaccinated mothers showed that post one-dose seroconversion still increased with older age at MCV1 from 6 to ≥ 15 months but the effect was weaker. Additionally, seroconversion in infants without detectable maternal antibodies before vaccination supported this result.⁹

All five WHO regions have set a target for measles elimination.⁵ Although huge progress has been made in decreasing measles morbidity and mortality worldwide, only the Americas region has attained elimination.²¹ Elimination requires achieving and maintaining the highest one-dose and two-dose vaccination coverage (95%)⁵ while minimizing primary and secondary failures. Seropositivity data showed that primary vaccine failures are uncommon shortly after two doses even when MCV1 was administered at an age as early as 9 months.^{9,85,88,92,203} However, these serological studies did not provide information about the risk of secondary vaccine failures. Epidemiological data concerning vaccine failures and sero-surveys indicate greater vulnerability than expected from seroconversion rates.^{12,234-237} The high correlation found between first- and second-dose antibody titers²³² and our post-first dose results suggest that age at MCV1 might still play a role in the current measles epidemiological context. In elimination settings like the Americas region, where the lack of measles circulation would favor waning immunity and the risk of measles for infants is very low,²³ MCV1 at 15 months might improve overall population immunity. Even a small difference in vulnerability in each cohort may be valuable if 94% immunity is necessary to maintain elimination and minimize secondary spread following importation⁴. In regions that do not have endemic transmission but are still affected by large epidemics, first vaccination at 12 or 15 months might be considered after evaluating infants' measles risk. The African and South-East Asian regions accounted for 85% of measles deaths in 2016.²¹ In these contexts, early vaccination at 9 months, when followed by a second dose, could help to protect infants from severe disease and also children during their first years of life¹⁸ but may increase the risk of secondary vaccine failures. While two-dose

vaccination coverage is the most critical factor in interrupting measles transmission,²³⁸ older age at first vaccination may be necessary to keep population immunity level high enough to maintain elimination.

Appendix - Supplementary material

Supplementary Table 3-1 : Characteristics of the included studies

A. MEASLES PROTECTION ANALYSIS– Observational studies									
First author, epidemic year (ref)	Country	Cases in epidemic	Study design	Vaccine strain	Vaccination document ^a	Case definition: lab or epidemiol. Link ^b	VE ^c (%)	Doses	
								1	2
Shelton, 1976 ²²³	USA	294	Case-control	NR	✓	NR	NA	✓	x
McIntyre, 1977 ⁹⁸	Marshall Islands	340	Cohort	LFA	✓	Partially	83.5	✓	x
Judelson, 1978 ²²⁴	USA	203	Cohort	NR	✓	x	NA	✓	x
Faust, 1978 ¹⁹¹	USA	350	Cohort	NR	✓	x	NA	✓	x
Lopes, 1979 ¹⁹³	Brazil	19	Cohort	LFA	✓	x	NA	✓	x
Aaby, 1980 ¹⁸	Guinea-Bissau	NR	Cohort	Schwarz	Partially	x	71.4	✓	x
Hull, 1981 ⁹³	Gambia	146	Cohort	Moraten	✓	x	77.7	✓	x
Wassilak, 1981 ²²⁵	USA	156	Case-control	NR	✓	Partially	NA	✓	x
Anonymous, 1983 ¹⁹⁷	Brazil	NR	Cohort	NR	x	NR	NA	✓	x
Hull, 1984 ⁵²	USA	76	Case-control	Moraten	✓	✓	NA	✓	x
Nkowane, 1984 ⁵⁵	USA	27	Cohort	NR	✓	x	94.4	✓	x
McCombie, 1985 ²¹⁹	USA	225	Cohort	NR	✓	Partially	41.4 / 58.3	✓	✓
Davis, 1985 ⁵⁷	USA	137	Cohort	NR	✓	✓	96.9	✓	x
Chen, 1985 ²²⁶	USA	115	Case-control	NR	✓	Partially	NA	✓	x
Mast, 1986 ²²⁷	USA	219	Case-control	NR	✓	✓	93.2	✓	x
Robertson, 1986 ⁵⁸	USA	284	Cohort	NR	✓	✓	81.9 / 94.1	✓	✓
George, 1986 ¹⁹⁰	India	NR	Cohort	Schwarz, Moraten	✓	x	52.9	✓	x
Sharma 1987 ¹⁹⁴	India	132	Cohort	NR	Partially	x	53.0	✓	x
Hutchins, 1987 ⁵⁶	USA	323	Cohort	NR	✓	✓	NA	✓	x
Hersh, 1987 ⁵³	USA	84	Cohort	NR	✓	Partially	91.9 / 96.9	✓	✓
Agocs, 1988 ²²⁸	Hungary	17938	Cohort	Leningrad 16	✓	x	73.2	✓	x
Lee, 1988 ²²¹	Taiwan	2459	Cohort	NR	✓	✓	79.7	✓	x
Paunio, 1988 ¹⁰¹	Finland	1748	Case-control	Schwarz, Moraten	✓	✓	NA	✓	✓

Chawla, 1989 ⁹⁴	India	176	Cohort	NR	✓	x	86.1	✓	x
Ng, 1989 ²²⁹	Canada	38	Cohort	Moraten	✓	✓	NA	✓	x
De Serres, 1989 ¹⁸³	Canada	1363	Case-control	Moraten	✓	Partially	NA	✓	x
Rivest, 1989 ⁹⁵	Canada	10184	Case-control	LFA	✓	Partially	95.9	✓	x
De la Puente, 1990 ⁹⁷	Spain	95	Cohort	NR	✓	x	66.4	✓	x
Malfait, 1990 ²²²	Niger	13578	Cohort	Schwarz	✓	x	89.3	✓	x
De Serres, 1990 ¹⁰⁰	Canada	11427	Case-control	NR	✓	x	NA	✓	✓
Murray, 1990 ⁹⁶	Pakistan	NR	Cohort	Schwarz	✓	x	84.3	✓	x
Coetzee, 1992 ¹⁹²	South Africa	757	Cohort	Schwarz	x	Partially	78.6	✓	x
McDonnell, 1993 ⁹⁹	Australia	900	Case-control	NR	✓	x	95.3	✓	x
Patel, 1994 ²³⁰	Australia	258	Cohort	NR	✓	✓	NA	✓	x
Lee, 1994 ¹⁹⁸	Taiwan	49	Cohort	NR	✓	✓	85.8	✓	x
Sutcliffe, 1995 ⁵⁹	Canada	800	Cohort	NR	✓	Partially	-238.1	✓	x
Kaninda, 1995 ¹⁹⁶	Niger	13892	Cohort	Schwarz	✓	x	93.5	✓	x
Kotb 1995 ¹⁹⁵	Egypt	230	Case-control	NR	✓	x	53.4	✓	x
Hennessey, 1996 ⁵⁴	Romania	32915	Cohort	Schwarz	✓	x	88.6	✓	x
John, 1999 ¹⁹⁹	India	NR	Cohort	LFA	NR	x	29.6	✓	x
Defay, 2011 ¹¹	Canada	725	Case-control	Moraten	✓	✓	NA	x	✓

B. IMMUNOGENICITY ANALYSIS – Experimental or quasi-experimental studies

First author, year of publication (ref)	Country	N ^d	Study design	Vaccine strain	Lab assay (+) ^e	Doses	
						1	2
Miller, 1967 ²³⁹	Honduras	278	Before-after	Schwarz	HAI (1:5)	✓	x
Ruben, 1973 ²⁴⁰	Nigeria	344	Before-after	LFA	HAI (1:5)	✓	x
Dick, 1975 ²⁰⁸	South Africa	67	Before-after	Moraten	CF (>1:8)	✓	x
Wallace, 1976 ²⁴¹	Nigeria	1021	Before-after	Schwarz	HAI (NR)	✓	x
WHO, 1977 ²⁰¹	Kenya	1087	RCT	Schwarz	HAI (1:3)	✓	x
Guyer, 1977 ²⁰⁹	Cameroon	45	Before-after	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Stewien, 1978 ²⁴²	Brazil	43	Before-after	Schwarz	HAI (1:2)	✓	x
Wilkins, 1979 ²⁴³	USA	851	Before-after	Moraten	HAI (1:8)	✓	x

Mittal, 1979 ²⁴⁴	India	34	Before-after	Schwarz	CF (1:8)	✓	x
Ogunmekan, 1981 ²⁴⁵	Nigeria	224	Before-after	Schwarz	HAI (NR)	✓	x
Ogunmekan, 1981b ²⁴⁶	Nigeria	98	Before-after	Moraten	HAI (NR)	✓	x
Shaoyuan, 1982 ²⁴⁷	China	1152	Before-after	Jing55	HAI (1:2)	✓	x
De Haas, 1983 ²⁴⁸	Tanzania	681	Before-after	Schwarz, Moraten	HAI (1:3)	✓	x
Dequadros, 1983 ⁸³	Ecuador, Chile, Brazil	2553	Before-after	Moraten	HAI (1:10)	✓	x
Lee, 1983 ²⁴⁹	Taiwan	124	Before-after	Moraten	HAI (1:10)	✓	x
Sehgal, 1983 ²⁵⁰	India	251	Before-after	Schwarz	HAI (NR)	✓	x
Climie, 1984 ²⁵¹	Papua New Guinea	313	Before-after	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Job, 1984 ²⁵²	India	278	Before-after	Moraten	HAI (1:4)	✓	x
Chen, 1985 ²⁵³	Malaysia	1495	Before-after	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Ekunwe, 1985 ²⁰⁴	Nigeria	168	Before-after	Moraten	HAI (1:10)	✓	x
Halsey, 1985 ¹²⁷	Haiti	595	Before-after	Moraten	HAI (1:10)	✓	x
Maluf, 1985 ²¹²	Brazil	223	Before-after	NR	HAI (1:10)	✓	x
Saha, 1985 ²¹¹	India	769	Before-after	Schwarz	HAI (1:16)	✓	x
Soerensen, 1985 ²³¹	Brazil	1268	NRCT	Schwarz	HAI (1:8)	✓	✓
Diaz-Ortega, 1986 ²⁵⁴	Mexico	237	Before-after	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
McGraw, 1986 ²¹³	USA	181	NRCT	Moraten	HAI (1:10)	✓	✓
Swami, 1987 ²¹⁴	India	69	Before-after	Schwarz	HAI (1:16)	✓	x
Gendrel, 1988 ²¹⁵	Gabon	117	Before-after	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Lhuillier, 1989 ²⁵⁵	Ivory Coast	410	NRCT	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Tidjani, 1989 ¹¹⁴	Togo	1162	NRCT	AIK-C	HAI (1:10)	✓	x
Deivanayagam, 1990 ²⁰⁵	India	205	Before-after	Schwarz	HAI (1:4)	✓	x
Huang, 1990 ²⁵⁶	Taiwan	160	NRCT	Schwarz	ELISA (10mIU/ml)	✓	x
Kakakios, 1990 ²⁵⁷	Australia	425	Before-after	Schwarz, Moraten	HAI (1:10)	✓	x
Makino, 1990 ²⁵⁸	Japan	1369	Before-after	AIK-C	HAI (NR)	✓	x
Markowitz, 1990 ¹¹⁵	Mexico	1969	NRCT	Schwarz, E-Z	PRN (40mIU/ml)	✓	x
Jain, 1990 ²¹⁶	India	179	Before-after	NR	HAI (1:8)	✓	x
Job, 1991 ¹¹⁶	Haiti	2097	NRCT	Schwarz, E-Z	PRN (200mIU/ml)	✓	x
Kiepiela, 1991 ²⁵⁹	South Africa	124	NRCT	Schwarz, E-Z	ELISA (200mIU/ml)	✓	x
Rogers, 1991 ²⁶⁰	Papua New Guinea	70	NRCT	E-Z	ELISA (1:100)	✓	x

Soula, 1991 ²⁶¹	Mali	453	NRCT	Schwarz	HAI (1:10)	✓	x
Abanamy, 1992 ²⁶²	Saudi Arabia	105	NRCT	Schwarz	IF (1:8)	✓	x
Berry, 1992 ²⁰⁷	Peru	1033	NRCT	E-Z	PRN (200mIU/ml)	✓	x
Kaan, 1992 ²⁰⁶	Kenya	303	Before-after	Schwarz	HAI (NR)	✓	x
Giammanco, 1993 ²⁶³	Italy	99	NRCT	E-Z	PRN (1:8)	✓	x
Bolotovskii, 1994 ¹¹⁷	Uzbekistan	3677	NRCT	Schwarz, E-Z, AIK-C, Leningrad-16	HAI (1:2)	✓	x
Johnson, 1994 ²⁶⁴	USA	35	NRCT	Moraten	MN (1:10)	✓	x
Sakatoku, 1994 ²⁶⁵	Ghana	234	Before-after	Schwarz	HAI (1:8)	✓	x
Singh, 1994 ²⁶⁶	India	164	NRCT	Schwarz	HAI (1:4)	✓	x
Ndumbe, 1995 ¹¹⁸	Cameroon	258	Before-after	Schwarz, Connaught	ELISA (200mIU/ml)	✓	x
Adu, 1996 ²¹⁷	Nigeria	1177	NRCT	Schwarz, Biken-CAM, E-Z	HAI (1:10)	✓	x
Hussey, 1996 ¹¹⁹	South Africa	88	NRCT	Schwarz	PRN (200mIU/ml)	✓	x
Markowitz, 1996 ²⁰²	USA	1008	NRCT	Moraten	PRN (1:120)	✓	x
Gans, 1998 ²⁶⁷	USA	87	NRCT	Moraten	PRN (1:120)	✓	x
Kumar, 1998 ²⁶⁸	USA	169	NRCT	Moraten	MN (1:10)	✓	x
Johnson, 2000 ⁹⁰	USA	94	NRCT	Moraten	MN (1:10)	✓	x
Klinge, 2000 ⁸⁷	Germany	129	NRCT	Moraten	ELISA (200mIU/ml)	✓	x
Gans, 2001 ⁹	USA	248	NRCT	Moraten	PRN (120mIU/ml)	✓	✓
Garly, 2001 ⁸⁶	Guinea-Bissau	1748	RCT	Schwarz, E-Z	HAI (1:8)	✓	x
Youwang, 2001 ⁸⁴	China	503	NRCT	Hu191	ELISA (1:200)	✓	✓
Zanetta, 2001 ²⁶⁹	Brazil	552	Before-after	Biken-CAM	ELISA (10 AU)	✓	x
Gans, 2004 ⁸⁵	USA	138	NRCT	Moraten	PRN (1:4)	✓	✓
Redd, 2004 ⁸⁹	USA	1026	RCT	Moraten	ELISA (NR)	✓	x
Borras, 2012 ²¹⁸	Spain	61	Before-after	Schwarz	ELISA (150mIU/ml)	✓	x
Fowlkes, 2011 ²⁰⁰	Malawi	2200	RCT	E-Z	ELISA (NR)	✓	x
Vesikari, 2012 ⁸⁸	Finland, France, Germany	1620	RCT	Moraten	ELISA (255mIU/ml)	✓	✓
He, 2014 ⁹²	China	280	RCT	Hu191	ELISA (200mIU/ml)	✓	✓
Martins, 2014 ²⁰³	Guinea-Bissau	909	RCT	E-Z	HAI (125mIU/ml)	✓	✓

Abbreviations: AU=arbitrary units; CF=complement fixation test; ELISA= enzyme immunoassays test; E-Z=Edmonston-Zagreb; HAI=hemagglutination inhibition test; IF=indirect fluorescent kit; IU=international units; LFA=live further attenuated; MN=micro neutralization assay; NA=not applicable, not possible

to calculate; NR=not reported; NRCT=non-randomized controlled trial; PRN= plaque reduction neutralization test; RCT=randomized controlled trial; VE= vaccine efficacy; ✓=yes; ✗=non;

^a Vaccination status ascertained by written records

^b Measles cases confirmed by laboratory or clinical definition plus epidemiologically linked to another case; "Partially" means that only a proportion of cases were laboratory confirmed or had a clinical definition with an epidemiologic link.

^c Overall vaccine efficacy calculated for one and two doses (according to the study)

^d Total number of vaccinated participants

^e Laboratory assay used and threshold for seropositivity

Supplementary Table 3-2 : Sensitivity analysis of all outcomes including only studies at low risk of bias

Comparison:	Outcome	Sub-analysis (seroconversion definition)	Number of studies		I ²		Effect estimate [95% CI]	
			All	Low Risk of Bias (ref)	All	Low Risk of Bias	All	Low Risk of Bias
Age at MCV1 in months								
<9 vs 12	Measles RR		5	2 ^{54,230}	3%	0%	1.86 [1.01, 3.43]	0.86 [0.24, 3.08]
9-11 vs 12	Measles RR		6	2 ^{54,230}	25%	0%	1.19 [0.76, 1.86]	1.36 [0.86, 2.14]
≥15 vs 12	Measles RR		15	1 ⁵⁶	30%	-	0.47 [0.36, 0.62]	0.60 [0.27, 1.32]
<12 vs 12	Measles OR		8	4 ^{95,99,183,226}	0%	0%	1.34 [1.19, 1.51]	1.02 [0.74, 1.71]
≥15 vs 12	Measles OR		9	5 ^{52,95,99,183,226}	74%	48%	0.25 [0.17, 0.37]	0.31 [0.19, 0.50]
<9 vs 12	Seroconversion RR	4-fold	6	4 ^{83,85,242,267}	79%	65%	0.69 [0.57, 0.84]	0.74 [0.63, 0.87]
<9 vs 12	Seroconversion RR	+/- PRE	12	4 ^{9,239,252,254}	75%	0%	0.78 [0.70, 0.86]	0.86 [0.79, 0.94]
<9 vs 12	Seroconversion RR	4-fold & +/- PRE	2	2 ^{92,254}	0%	0%	0.99 [0.97, 1.02]	0.99 [0.97, 1.02]
9-11 vs 12	Seroconversion RR	4-fold	6	4 ^{83,85,242,267}	0%	0%	0.94 [0.91, 0.97]	0.94 [0.91, 0.97]
9-11 vs 12	Seroconversion RR	+/- PRE	18	5 ^{85,87,88,239,254}	59%	74%	0.95 [0.92, 0.98]	0.97 [0.88, 1.06]
9-11 vs 12	Seroconversion RR	4-fold & +/- PRE	3	3 ^{87,89,254}	46%	46%	0.93 [0.84, 1.03]	0.93 [0.84, 1.03]
≥15 vs 12	Seroconversion RR	4-fold	1	0	-	-	1.01 [0.96, 1.06]	-
≥15 vs 12	Seroconversion RR	+/- PRE	8	3 ^{87,90,254}	31%	0%	1.03 [0.99, 1.08]	1.05 [0.99, 1.11]
≥15 vs 12	Seroconversion RR	4-fold & +/- PRE	3	3 ^{87,89,254}	0%	0%	1.03 [1.01, 1.06]	1.03 [1.01, 1.06]

Abbreviations: CI= Confidence interval; 4-fold= fourfold increase in paired samples pre and post-vaccination; +/- PRE= seropositivity among seronegative pre-vaccination; MCV1= First dose of measles-containing vaccine; OR= Odds Ratio; RR= Risk Ratio

Supplementary Table 3-3 : Seroconversion after one dose of measles vaccine by age at first vaccination

Author, year (strain) (ref)	N ^a	Serocon -version dfn ^b	Seroconversion risk by age at MCV1 ^c [95%CI]								
			<6	6	7-8	9	10-11	12	13-14	15	>15
Stewien, 1978 (Schwarz) ²⁴²	38	4-fold			0.42 [0.14-0.70]	0.79 [0.61-0.97]		1.00 [-]			
Mittal, 1979 (Schwarz) ²⁴⁴	23	4-fold					0.82 [0.59-1]		0.92 [0.76-1]		
Shaoyuan, 1982 ⁴ (Jing55) ²⁴⁷	82	4-fold	0.20 [0.06-0.34]		0.46 [0.26-0.66]	0.75 [0.54-0.96]		0.92 [0.76-1]			
Dequadros, 1983 (Moraten) ⁸³	1633	4-fold		0.59 [0.54-0.64]	0.76 [0.73-0.80]	0.87 [0.83-0.91]	0.94 [0.91-0.96]	0.97 [0.94-1]			
Ekunwe, 1985 (Moraten) ²⁰⁴	108	4-fold		0.74 [0.61-0.88]	0.79 [0.65-0.93]	0.86 [0.71-1]		0.87 [0.69-1]			
Kakakios, 1990 ²⁵⁷ (Schwarz/Moraten)	329	4-fold						0.97 [0.94-1]	0.94 [0.91-0.97]	0.98 [0.95-1]	
Rogers, 1991 (E-Z) ²⁶⁰	39	4-fold	0.74 [0.58-0.91]	1.00 [-]		1.00 [-]					
Abanamy, 1992 (Schwarz) ²⁶²	78	4-fold		0.56 [0.37-0.75]		0.70 [0.57-0.82]					
Kaan, 1992 (Schwarz) ²⁰⁶	170	4-fold	0.58 [0.39-0.77]			0.70 [0.62-0.79]			0.79 [0.67-0.92]		
Gans, 1998 (Moraten) ²⁶⁷	65	4-fold		0.65 [0.46-0.85]		0.90 [0.77-1]		1.00 [-]			
Gans, 2004 (Moraten) ⁸⁵	130	4-fold		0.86 [0.74-0.99]		0.95 [0.86-1]		0.98 [0.94-1]			
Miller, 1967 (Schwarz) ²³⁹	46	+/- PRE	0.73 [0.46-0.99]			1.00 [-]		1.00 [-]			
Ruben, 1973 (LFA) ²⁴⁰	165	+/- PRE		0.61 [0.47-0.76]		0.81 [0.74-0.88]					
Dick, 1975	64	+/- PRE		0.23	0.52	0.81		0.80			

(Moraten) ²⁰⁸			[0-0.46]	[0.32-0.72]	[0.64-0.98]		[0.45-1]				
Wallace, 1976 (Schwarz) ²⁴¹	136	+/- PRE			0.64 [0.47-0.80]		0.89 [0.83-0.95]				
Guyer, 1977 (Schwarz) ²⁰⁹	21	+/- PRE			0.50 [0.22-0.78]		0.89 [0.68-1]				
Wilkins, 1979 (Moraten) ²⁴³	851	+/- PRE		0.32 [0.16-0.49]	0.64 [0.50-0.78]	0.72 [0.60-0.84]	0.92 [0.86-0.98]	0.95 [0.93-0.97]	0.96 [0.91-1]	0.93 [0.79-1]	0.95 [0.82-1]
Ogunmekan, 1981 (Moraten) ²⁴⁵	77	+/- PRE	0.06 [0-0.16]	0.25 [0.08-0.42]	0.40 [0.21-0.59]	0.60 [0.30-0.90]					
Ogunmekan, 1981b (Schwarz) ²⁴⁶	171	+/- PRE		0.56 [0.42-0.69]		0.55 [0.45-0.66]		0.40 [0.21-0.59]			
Shaoyuan, 1982 ^d (Jing55) ²⁴⁷	1070	+/- PRE	0.64 [0.55-0.74]		0.84 [0.79-0.89]	0.94 [0.92-0.97]		0.97 [0.95-0.99]			
De Haas, 1983 (Sw/Moraten) ²⁴⁸	56	+/- PRE			0.57 [0.31-0.83]	0.87 [0.73-1]		0.84 [0.68-1]			
Sehgal, 1983 (Schwarz) ²⁵⁰	99	+/- PRE		0.80 [0.68-0.92]			0.83 [0.73-0.93]				
Climie, 1984 ^e (Schwarz) ²⁵¹	172	+/- PRE				1.00 [-]	0.96 [0.88-1]	1.00 [-]	1.00 [-]	0.97 [0.93-1]	
Job, 1984 (Moraten) ²⁵²	181	+/- PRE		0.87 [0.80-0.94]		0.97 [0.93-1]		1.00 [-]			
Chen, 1985 (Schwarz) ²⁵³	798	+/- PRE				0.95 [0.91-0.99]	0.95 [0.93-0.98]	0.99 [0.97-1]	0.98 [0.97-0.99]		
Halsey, 1985 (Moraten) ¹²⁷	333	+/- PRE		0.45 [0.31-0.59]	0.74 [0.65-0.83]	0.84 [0.75-0.94]	0.95 [0.90-0.99]	1.00 [-]			
Maluf, 1985 (NR) ²¹²	223	+/- PRE		0.50 [0.42-0.58]		0.52 [0.33-0.71]	0.77 [0.61-0.93]	0.70 [0.42-0.98]	0.80 [0.55-1]	0.81 [0.62-1]	
Soerensen, 1985 (Schwarz) ²³¹	1206	+/- PRE			0.53 [0.49-0.56]	0.75 [0.69-0.82]	0.79 [0.67-0.90]				
Lhuillier, 1989 (Schwarz) ²⁵⁵	132	+/- PRE	0.96 [0.91-1]		0.98 [0.95-1]						

Tidjani, 1989 (AIK-C) ¹¹⁴	130	+/- PRE	0.96 [0.93-1]			0.87 [0.73-1]				
Huang, 1990 (Schwarz) ²⁵⁶	160	+/- PRE					0.88 [0.82-0.95]		1.00 [-]	
Makino, 1990 (AIK-C) ²⁵⁸	699	+/- PRE				1.00 [-]			0.996 [0.99-1]	
Jain, 1990 (NR) ²¹⁶	130	+/- PRE			0.54 [0.38-0.69]			0.64 [0.45-0.83]		0.64 [0.52-0.75]
Job, 1991 (E-Z) ¹¹⁶	69	+/- PRE		0.76 [0.63-0.88]	0.96 ^f [0.88-1]					
Job, 1991 (Schwarz) ¹¹⁶	86	+/- PRE		0.52 [0.38-0.67]	0.83 ^f [0.72-0.95]					
Kiepiela, 1991 (Schwarz; E-Z) ²⁵⁹	55	+/- PRE	0.10 [0-0.29]	0.45 [0.16-0.75]	0.38 [0.12-0.65]	0.57 [0.36-0.78]				
Soula, 1991 (Schwarz) ²⁶¹	132	+/- PRE		0.83 [0.75-0.90]					0.98 [0.93-1]	
Giammanco, 1993 (E-Z) ²⁶³	78	+/- PRE					0.98 [0.93-1]			0.94 [0.87-1]
Johnson, 1994 (Moraten) ²⁶⁴	33	+/- PRE		0.78 [0.59-0.97]					1 [-]	
Singh, 1994 (Schwarz) ²⁶⁶	115	+/- PRE				0.80 [0.68-0.91]		0.98 [0.93-1]		0.95 [0.86-1]
Adu, 1996 (Schwarz, Biken- CAM,E-Z) ²¹⁷	143	+/- PRE		0.79 [0.63-0.95]			0.94 [0.90-0.98]			
Markowitz, 1996 (Moraten) ²⁰²	303	+/- PRE				0.95 [0.91-0.99]		0.95 [0.92-0.98]		
Kumar, 1998 (Moraten) ²⁶⁸	41	+/- PRE		0.81 [0.66-0.96]					1 [-]	
Johnson, 2000 (Moraten) ⁹⁰	93	+/- PRE					0.94 [0.82-0.99]		0.98 [0.88-1]	

Gans, 2001 (Moraten) ⁹	187	+/- PRE		0.77 [0.61-0.93]		0.97 [0.92-1]		0.96 [0.91-1]			
Youwang, 2001 (Hu191) ⁸⁴	503	+/- PRE		0.81 [0.73-0.90]	0.91 ^g [0.84-0.98]	0.94 ^h [0.92-0.97]					
Borras, 2012 (Schwarz) ²¹⁸	31	+/- PRE				0.64 [0.44-0.84]	0.56 [0.23-0.88]				
Vesikari, 2012 (Moraten) ⁸⁸	1401	+/- PRE				0.73 [0.69-0.77]	0.88 ⁱ [0.85-0.91]	0.90 [0.87-0.93]			
Martins, 2014 (E-Z) ²⁰³	489	+/- PRE	0.87 [0.82-0.92]			0.96 [0.93-0.98]					
WHO, 1977 (Schwarz) ²⁰¹	196	4 fold & +/- PRE	0.59 [0.47-0.71]	0.57 [0.41-0.74]	0.93 [0.86-1]		1.00 ⁱ [-]				
Saha, 1985 (Schwarz) ²¹¹	769	4 fold & +/- PRE		0.33 [0.19-0.46]		0.53 [0.46-0.59]			0.42 [0.33-0.50]		0.41 [0.36-0.46]
Diaz-Ortega, 1986 (Schwarz) ²⁵⁴	237	4 fold & +/- PRE			0.55 ^f [0.33-0.77]	0.67 [0.54-0.80]	0.58 [0.46-0.70]	0.67 [0.54-0.81]	0.68 [0.55-0.80]		
Deivanayagam, 1990 (Schwarz) ²⁰⁵	71	4 fold & +/- PRE		0.48 [0.26-0.69]	0.50 [0.36-0.64]						
Markowitz, 1990 (Schwarz) ¹¹⁵	274	4 fold & +/- PRE	0.57 [0.49-0.65]		0.85 [0.79-0.91]						
Markowitz, 1990 (E-Z) ¹¹⁵	322	4 fold & +/- PRE	0.77 [0.70-0.84]		0.96 [0.94-0.99]						
Bolotovskii, 1994 (AIK-C) ¹¹⁷	281	4 fold & +/- PRE		0.83 [0.77-0.88]		0.94 [0.89-0.97]					
Bolotovskii, 1994 (E-Z) ¹¹⁷	296	4 fold & +/- PRE		0.67 [0.59-0.74]		0.91 [0.86-0.95]					
Bolotovskii, 1994 (L16) ¹¹⁷	288	4 fold & +/- PRE		0.75 [0.68-0.81]		0.95 [0.91-0.98]					
Bolotovskii, 1994 (Schwarz) ¹¹⁷	301	4 fold & +/- PRE		0.66 [0.58-0.73]		0.95 [0.91-0.98]					
Ndumbe, 1995	45	4 fold &	0.57	0.71							

(Schwarz) ¹¹⁸		+/- PRE	[0.39-0.75]	[0.49-0.92]							
Ndumbe, 1995 (Conraught) ¹¹⁸	68	4 fold & +/- PRE	0.59 [0.44-0.74]	0.82 [0.64-1]	0.83 [0.62-1]						
Klinge, 2000 (Moraten) ⁸⁷	118	4 fold & +/- PRE				0.85 [0.74-0.95]	0.97 [0.90-1]		1 [-]		
Redd, 2004 (Moraten) ⁸⁹	990	4 fold & +/- PRE				0.87 [0.84-0.91]	0.95 [0.93-0.97]		0.98 [0.97-1]		
He, 2014 (Hu 191) ⁹²	280	4 fold & +/- PRE			0.99 ⁶ [0.97-1]		0.99 [0.96-1]				
Gendrel, 1988 (Schwarz) ²¹⁵	37	Other (1)	0.45 ^l [0.23-0.67]	0.41 ^k [0.18-0.65]							
Hussey, 1996 (Schwarz) ¹¹⁹	45	Other (2)		0.92 [0.81-1]		0.95 [0.86-1]					
Lee, 1983 (Moraten) ²⁴⁹	113	+		0.82 [0.64-1]	0.93 [0.84-1]	1 [-]	1 [-]	1 [-]			
McGraw, 1986 (Moraten) ²¹³	111	+			0.88 [0.77-0.99]	0.90 [0.80-1]	0.88 [0.76-1]		0.95 [0.86-1.04]		
Swami, 1987 (Schwarz) ²¹⁴	60	+	0.43 [0.22-0.64]			0.73 [0.54-0.91]			0.64 [0.42-0.87]		
Berry, 1992 (EZ) ²⁰⁷	239	+	0.67 [0.58-0.76]		0.94 [0.90-0.98]						
Sakatoku, 1994 (Schwarz) ²⁶⁵	159	+	0.46 [0.31-0.60]	0.87 [0.69-1]	0.93 [0.88-0.99]	0.92 [0.78-1]	0.91 [0.83-0.99]				
Garly, 2001 (EZ) ⁸⁶	292	+		0.95 [0.90-1]		0.99 [0.97-1]					
Garly, 2001 (Schwarz) ⁸⁶	416	+		0.78 [0.70-0.86]		0.97 [0.95-0.99]					
Zanetta, 2001 (Biken-CAM) ²⁶⁹	290	+		0.31 [0.23-0.39]	0.44 [0.37-0.52]						
Fowlkes, 2011 (EZ) ²⁰⁰	988	+		0.62 [0.58-0.66]		0.76 [0.72-0.80]					

Abbreviations: CI=Confidence interval; E-Z=Edmonston-Zagreb; NR=Not reported; MCV1= dose one of measles-containing vaccine

^a Number of cases for the calculation of the age effect

^b 4-fold= fourfold increase in paired samples pre and post-vaccination; +/-PRE= seropositivity among seronegative pre-vaccination; += seropositivity among all participants; other(1)= twofold increase; other(2)= fourfold rise two weeks after immunization or twofold rise three months after immunization or titer >200 mIU/ml;

^c By age in months of administration of MCV1

^d Data presented separately for seronegative and seropositive pre-vaccination

^e Age categories: 8.5 to 9.4 months; 9.5 to 11.4 months; 11.5 to 12.4 months; 12.5 to 14.4 months; 14.5 to 23 months

^f 8 months

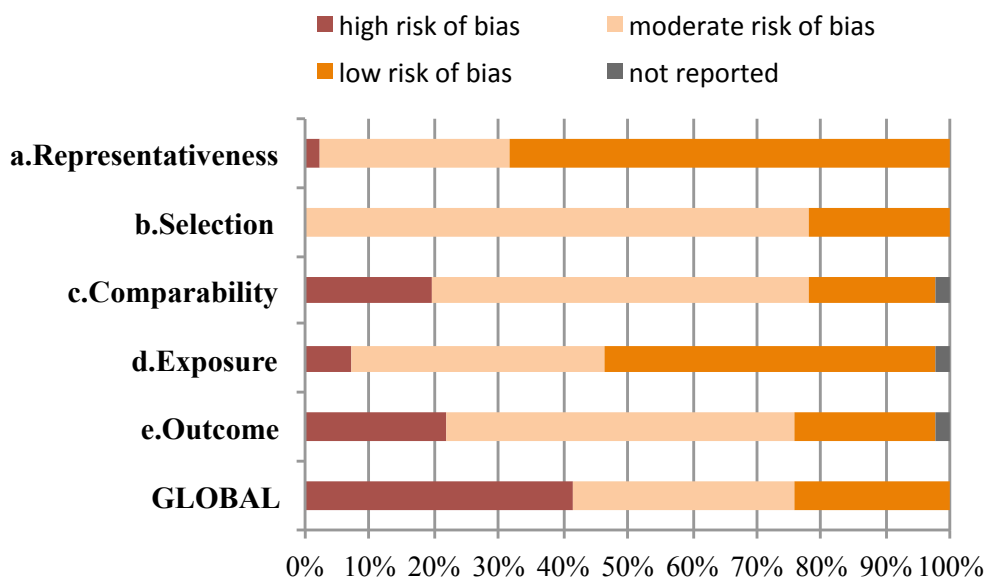
^g 7 months

^h 8 to 15 months

ⁱ 11 months

^j 3 to 4 months

^k 5 to 7 months



Supplementary Figure 3-1 : Risk of bias of the observational studies included in the effectiveness analysis (n=41)

^a Representativeness based on the description of the source population, the representativeness of the eligible population, the inclusion criteria and the percentage of participation.

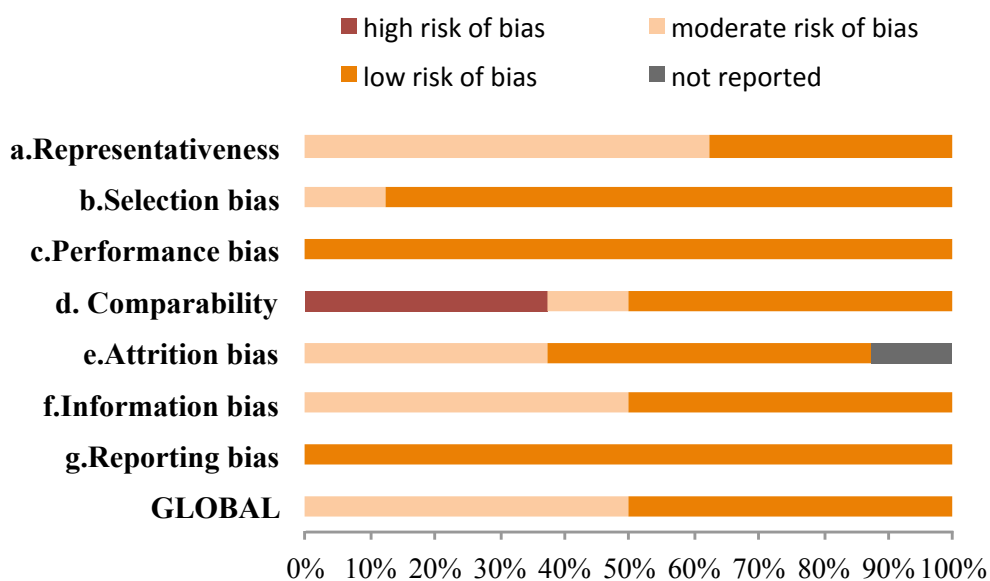
^b Selection of the compared groups from the same source and the response rate.

^c Comparability of administered vaccine, time since vaccination, risk of exposure to measles, malnutrition and exposure to control measures between groups.

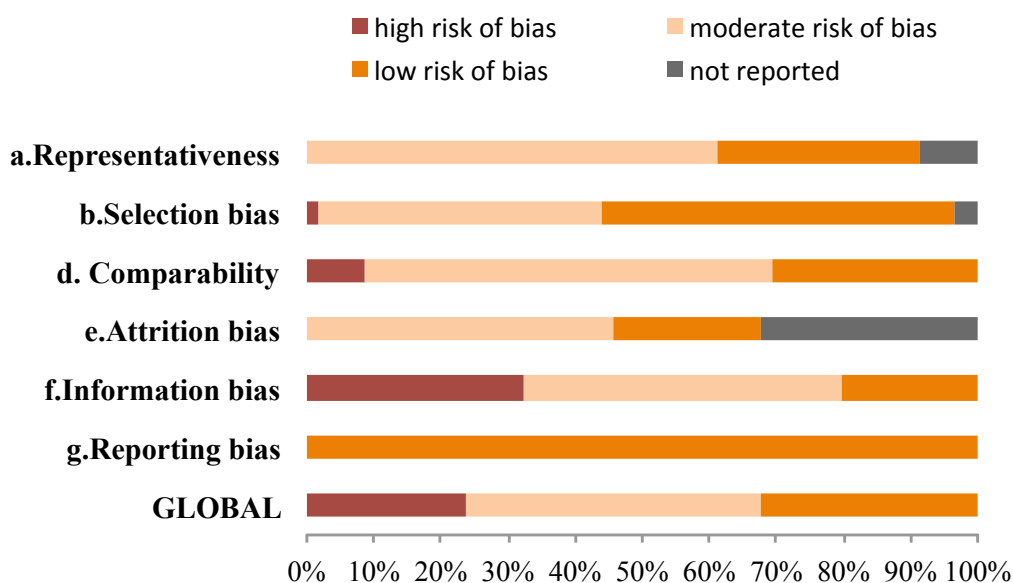
^d Exposure assessment based on the method to ascertain vaccination status for all groups and the demonstration of no history of measles among no-cases.

^e Outcome assessment based on the case definition and the completeness of case reporting.

A. Randomized Controlled Trials (n=8)



B. Non-randomized Controlled Trials / Before-after studies (n=59)



Supplementary Figure 3-2 : Risk of bias of the experimental studies included in the immunogenicity analysis

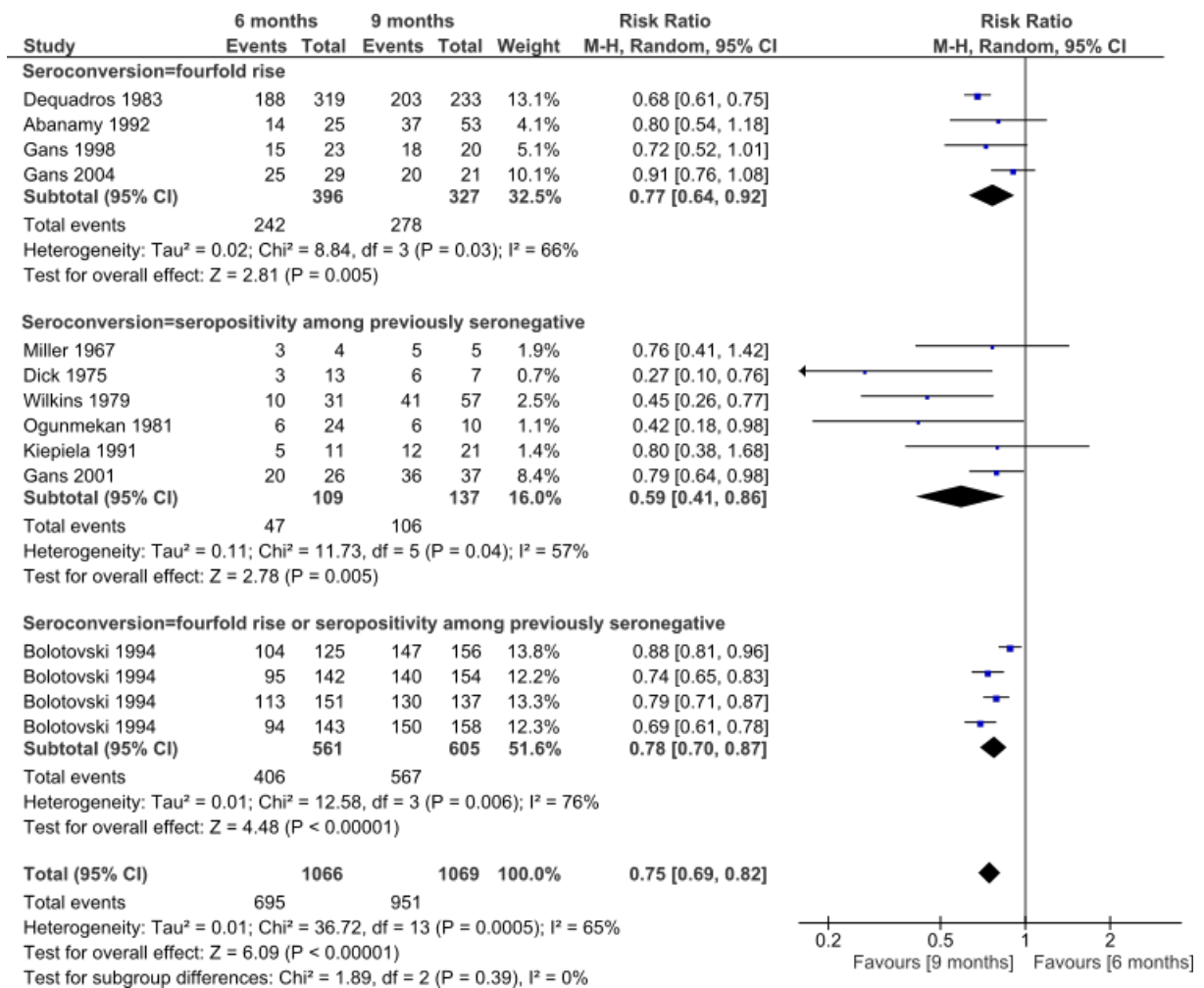
^a Representativeness based on the description of the source population, the representativeness of the eligible population, the inclusion criteria and the percentage of participation.

^b Selection of the compared groups from the same source and the response rate.

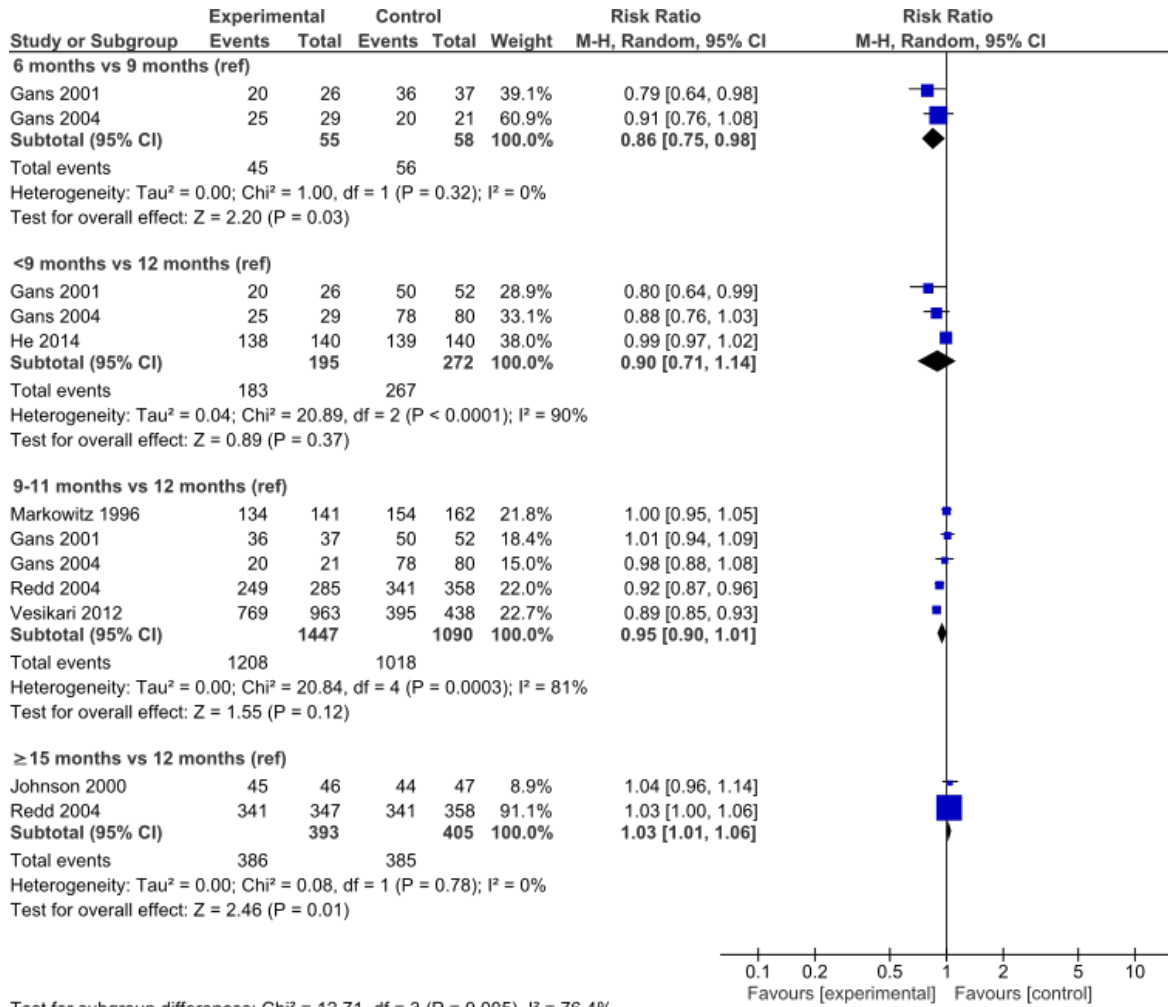
^c Blinding of study participants and personnel or no impact on the results

^d Comparability of administered vaccine, time since vaccination, risk of exposure to measles, malnutrition and no control for maternal antibodies.

^e Completeness of outcome data.



Supplementary Figure 3-3 : Association between age at administration of one dose of measles-containing vaccine (6 months versus 9 months) and seroconversion, by seroconversion definition



Supplementary Figure 3-4 : Sensitivity analysis including immunological studies with participants mostly born to vaccinated mothers: seroconversion prevalence ratios after one dose of MCV1, all comparisons

Chapitre 4: Reduced antibody response to infant measles vaccination: effects based on type and timing of the first vaccine dose persist after the second dose

Sara Carazo Perez, MD PhD(c)¹, Gaston De Serres, MD PhD^{1,2}, Alexandre Bureau, PhD¹, Danuta M Skowronski, MD, FRCP(c)³

¹Department of Social and Preventive Medicine, Laval University, Quebec, Canada

²Institut National de Santé Publique du Québec, Quebec, Canada

³British Columbia Center for Disease Control, Vancouver, Canada

Article publié:

Carazo Perez S, De Serres G, Bureau A, Skowronski DM. Reduced antibody response to infant measles vaccination: effects based on type and timing of the first vaccine dose persist after the second dose. *Clin infect dis* 2017; 65(7): 1094-102.

Réponse d'anticorps réduite chez les enfants vaccinés contre la rougeole : les effets selon le type et le moment de la première dose de vaccin persistent après la deuxième dose.

4.1 Résumé

Nous avons évalué l'effet de l'âge à la première dose sur l'immunogénicité de deux doses du vaccin rougeole-oreillons-rubéole (RRO) ou RRO-varicelle (RROV) chez des enfants nés de mères vaccinées. Il s'agit d'une analyse secondaire des données d'immunogénicité de cinq essais cliniques menés en Europe et aux États-Unis entre 2004 et 2010. Les concentrations moyennes géométriques (CMG) d'anticorps et la proportion séronégative ont été calculées selon l'âge à la première dose.

Parmi les 5542 enfants vaccinés avec une dose de vaccin antirougeoleux à 11, 12, 13-14 et 15-22 mois, la proportion de séronégatifs a diminué de 8,5% à 3,2%, 2,4% et 1,5% respectivement, alors que les CMG augmentaient avec l'âge. Les CMG après la première et la deuxième dose étaient fortement corrélées et le RROV induisait des CMG plus élevées que le RRO. La réponse sérologique réduite en fonction de l'âge à la première dose persistait après la deuxième dose.

4.2 Abstract

Background. The effect of age at first dose on the immunogenicity of a two-dose pediatric schedule of Measles-Mumps-Rubella (MMR) or MMR-Varicella (MMRV) vaccines was assessed in children born to mostly vaccinated mothers.

Methods. Immunogenicity data among children given their first measles vaccine dose between 11 and 22 months of age were pooled from five randomized controlled trials conducted in Europe and the United States between 2004 and 2010. Measles antibody titers were measured by ELISA before/after each dose: geometric mean concentrations (GMCs) and the proportion sero-negative ($\text{GMC} < 150 \text{ mIU/ml}$) were derived by age at first dose.

Results. Among 5542 children given a first measles vaccine dose at 11, 12, 13-14 and 15-22 months of age, the proportion sero-negative decreased from 8.5% to 3.2%, 2.4% and 1.5%, respectively ($p < 0.001$), whereas GMCs increased with older age measles vaccine initiation ($p < 0.001$). First and second dose GMCs were highly correlated (Spearman coefficient=0.8) and MMRV induced higher GMCs than MMR ($p < 0.001$).

Conclusions. As previously noted among infants born to mothers with history of wild-type measles, antibody responses among children born to vaccinated mothers were reduced based on earlier administration of their first measles vaccine dose at ≤ 12 versus ≥ 15 months of age. Negative effects of earlier age at first measles vaccine dose persisted after the second dose. The measles elimination goal may require a careful balance between earlier infant protection and the risk of reduced antibody responses and secondary vaccine failure among successive birth cohorts systematically initiated to measles vaccination below 15 months of age.

4.3 Introduction

All regions of the World Health Organization now have measles elimination targets.⁵ To achieve elimination, high levels of immunity need to be maintained through high vaccine coverage and a minimum proportion of vaccine failures. With one-dose programs, a greater risk of primary vaccine failure was observed in association with first vaccination at ≤ 12 months versus ≥ 15 months of age.^{270,271} These failures were believed due to maternal antibody interference on the active infant immune response to measles vaccination.⁸ When countries opted for two-dose programs, age at first dose was devalued because children who experienced primary vaccine failure generally seroconverted after the second dose,^{88,269} and were considered protected. In addition, in countries like Canada or the United States (US) where measles vaccination programs have been in place for more than 40 years, primary vaccine failure was considered less likely because vaccinated mothers would transfer less measles antibodies.¹⁰⁹ However, vaccine failures have continued to represent 13% to 44% of measles cases reported in several large outbreaks^{234,237,272,273} and in two epidemics up to 14% of cases had received at least two measles vaccine doses.^{234,237} Epidemic investigations have shown increased risk of disease among two-dose recipients when the first dose was administered at a younger age.^{101,274}

We evaluate the effect of age at first dose on the immunogenicity of measles-containing vaccines (MCV) among children born to mostly vaccinated mothers. We compare this effect among Measles-Mumps-Rubella (MMR) and MMR-Varicella (MMRV) recipients and assess the correlation between first and second dose antibody responses.

4.4 Methods

Study design

Post-hoc meta-analysis of the combined data from five randomized-controlled trials (RCT) originally conducted to evaluate immunogenicity and safety of the tetravalent vaccine MMRV (RCTs MMRV-038, MMRV-043, MMRV-044),^{136,165-167} or the trivalent vaccine MMR (MMR-157); or the efficacy of MMRV against varicella (OKAH-179).¹⁶⁹ Four multicenter RCTs were conducted in 13 European countries (Germany, Austria, Finland, Greece, Poland, Czech Republic, Italy, Lithuania, Norway, Romania, Russian Federation, Slovakia and Sweden) between 2004 and 2008. RCT MMR-157 was conducted in the US between 2010 and 2012. In all studies children were followed for 12 weeks after their first

vaccination and in RCTs MMRV-038, MMR-157 and OKAH-179 there was annual follow-up two or three years after vaccination (**Table 4-1**). Ethics committees of investigating sites approved the original RCT protocols; the ethics committee of CHU de Quebec Research Center approved this post-hoc analysis.

Participants

Healthy 9- to 23-month-old children were recruited after written parental/guardian consent. Exclusion criteria precluded: previous MMR/V vaccination or known exposure to these diseases; vaccination with other products 30 days before or during the study; personal or family history of immunosuppressive condition; neurological disorder; or history of allergy related to the vaccination. For this analysis, children <11 months or >22 months and those sero-positive for measles before vaccination were excluded.

Vaccination and laboratory analysis

Children were randomized to receive either two doses, separated by six weeks, of the MMRV vaccine *Priorix-tetra*®; or co-administration of the MMR vaccine *Priorix*® with Varicella vaccine *Varilrix*®, followed by a second dose of MMR vaccine *Priorix*®, both MCV containing the Schwarz strain. Children in RCT MMR-157 were randomized to receive only a single MMR dose as *Priorix*® or *M-M-R*®II. The latter includes the Moraten measles strain and was analyzed separately even if the genome of the two strains is identical.²⁹

Blood samples were collected before and six weeks after each vaccination. Measles antibodies were measured in sera with the Enzygnost (Behring) ELISA assay, with a cut-off value corresponding to 150 mIU/ml. Antibody concentrations were expressed as geometric mean concentrations (GMCs), derived as antilog of the mean log₁₀-transformed concentrations. Sera with undetectable anti-measles titers were assigned the arbitrary value of 75 mIU/ml for GMC derivation. Sero-conversion was defined as a positive antibody titer among those with a negative pre-vaccination titer. Concentrations 150-499 mIU/ml arbitrarily defined a “low response” corresponding to ~2.5% of children post-dose one.

Table 4-1 : Inclusion and characteristics of the study population

	MMRV-038	MMRV-043	MMRV-044	MMR-157	OKAH-179	TOTAL
Recruited	494	1438	970	1259	1880 ^a	6041
Vaccination Dose 1	494 (100)	1438 (100)	969 (99.9)	1220 (96.9)	1880 (100)	6001 (99.3)
Vaccination Dose 2	470 (95.1)	1386 (96.4)	934 (96.3)	0 (0)	1778 (94.6)	4568 (75.6)
Exclusions:	25 (5.1)	48 (3.3)	43 (4.4)	219 (17.4)	117 (6.2)	452 (7.5)
No vaccinated	0 (0)	0 (0)	1 (0.1)	39 (3.1)	0 (0)	40 (0.7)
No pre-vaccination results	6 (1.2)	2 (0.1)	6 (0.6)	29 (2.3)	18 (1.0)	61 (1.0)
Positives pre-vaccination	8 (1.6)	25 (1.7)	16 (1.6)	6 (0.5)	17 (0.9)	72 (1.2)
No post-vaccination results	8 (1.6)	20 (1.4)	10 (1.0)	145 (11.5)	82 (4.4)	265 (4.4)
Age <11 or >22 months	3 (0.6)	1 (0.1)	10 (1.0)	0 (0)	0 (0)	14 (0.2)
Inclusions in the study	469 (94.9)	1390 (96.7)	927 (95.6)	1040 (82.6)	1763 (93.8)	5589 (92.5)
Age (months):						
11	3 (0.6)	147 (10.6)	254 (27.4)	0 (0)	5 (0.3)	409 (7.3)
12	101 (21.5)	251 (18.1)	260 (28.0)	810 (77.9)	414 (23.5)	1836 (32.9)
13-14	180 (38.4)	522 (37.5)	253 (27.3)	206 (19.8)	548 (31.1)	1709 (30.6)
15-22	185 (39.5)	470 (33.8)	160 (17.3)	24 (2.3)	796 (45.1)	1635 (29.2)
Sex:						
Male	242 (51.6)	723 (52.0)	486 (52.4)	536 (51.5)	913 (51.8)	2900 (51.9)
Country:						
Germany	427 (91.0)	482 (34.7)	927 (100)	0 (0)	0 (0)	1836 (32.9)
Poland	0 (0)	456 (32.8)	0 (0)	0 (0)	194 (11.0)	650 (11.6)
US	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1040 (100)	0 (0)	1040 (18.6)
Other ^b	42 (9.0)	452 (32.5)	0 (0)	0 (0)	1569 (89.0)	2063 (36.9)
Inclusions dose1 analysis	462 (93.5)	1376 (95.7)	917 (94.5)	1040 (82.6)	1747 (92.9)	5542 (91.7)
Inclusions dose2 analysis	463 (93.7)	1358 (94.4)	904 (93.2)	0 (0)	961 (51.1)	3686 (61.0)
1 year follow-up	384 (77.7)	0 (0)	0 (0)	904 (71.8)	866 (46.1)	1250 (20.7) ^c
Inclusions year1 analysis	377 (76.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	851 (45.3)	1228 (20.3)
2 years follow-up	360 (72.9)	0 (0)	0 (0)	793 (63.0)	811 (43.1)	1171 (19.4) ^c
Inclusions year2 analysis	343 (69.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	779 (42.5)	1122 (18.6)
3 years follow-up	293 (59.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	293 (4.9)
Inclusions year3 analysis	267 (54.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	267 (4.4)

Data are number and column percentage: n (%)

^a Children recruited for the serological component of the study

^b Austria, Czech Republic, Finland, Greece, Italy, Lithuania, Norway, Romania, Russian Federation, Slovakia, Sweden

^c Participants who received two doses of measles containing vaccine (study MMRV-038 and OKAH-179)

Statistical analysis

Individual subjects from the five databases were combined. GMCs six weeks after each measles dose and proportion showing seroconversion, stratified by type of MCV, were calculated for each age group. Age in months was modeled using indicator variables.

GMC ratios and relative risks (RR) for sero-negativity and low response were computed using 12 months as the reference age. Estimates were adjusted for the type of vaccine, the country and the original study using, respectively, linear models of the \log_{10} concentrations, and log binomial regression models (fitted using Poisson regression with robust standard errors when maximization of the binomial likelihood failed). All included the Dunnett adjustment for multiple comparisons. No change in the standard errors was observed when using an estimator robust to heteroscedasticity; accordingly, results are presented with the usual mean squares estimator. Antibody response trends were also analyzed with age as a continuous variable. The Spearman correlation coefficient compared antibody response after the first and second dose.

For studies providing longer term follow-up, we compared antibody response by age group six weeks, one, two and three years' post-second dose using generalized estimating equations for longitudinal data with an autoregressive working correlation matrix. To avoid the impact of missing observations due to attrition the observed values were weighted by the inverse probability of censoring.¹⁷⁵ Because the GMC and sero-negative ratios were not modified by time, a global measure is presented.

4.5 Results

Study population

Among the 6041 children recruited across the 5 RCTs with serology testing, 5542 (92%) were analyzed for post-dose one results and 3686 (61%) for post-second dose. Reasons for exclusion were (n): no vaccination (40); sero-positivity pre-vaccination (72); missing serological results (326); and age <11 (11) or >22 months (3) at first dose. The longitudinal analysis included 1228 (20%), 1122 (19%) and 267 (4%) children vaccinated with two doses and followed during one, two and three years respectively. Participants without results post-second dose (16), with missing values through the follow-up (41) or aged 11 months (6) were excluded. Among participants, 52% were males, 79% were Caucasian, 33% were recruited in Germany, 19% in the USA, 12% in Poland and <6% in each of the other countries (**Table 4-1**).

Immunogenicity

Six weeks after the first dose of MCV 97.2% had sero-converted (96.8% with MMRV, 97.4% with MMR (Schwarz strain) and 99.6% with MMR (Moraten strain), $p=0.02$) (data not shown). The overall GMC was 2960 mIU/ml (3408 mIU/ml, 2474 mIU/ml and 2942 mIU/ml respectively, $p<0.001$). The proportion sero-negative following vaccination decreased significantly with older age at the first dose, from 8.5% in children vaccinated at 11 months to 3.2%, 2.4% and 1.5% with vaccination at 12, 13-14 and 15-22 months respectively ($p<0.001$). This significant trend was seen both with MMRV ($p<0.001$) and MMR (Schwarz strain) ($p<0.001$) (**Table 4-2**). The trend was also observed but non-significant with MMR (Moraten strain), given the limited statistical power with 77% of children being vaccinated at 12 months. Similarly, the proportion of children with low response (150 to 499 mIU/ml) was greater with first dose at 11 months (7.5%) versus older ages (2.8%, 1.7%, 1.5%), globally ($p<0.001$) and for each vaccine ($p<0.001$ and $p=0.005$) (**Figure 4-1**). The GMC also steadily increased with older age at first vaccination, from 1835 mIU/ml (11 months) to 3562 mIU/ml (15-22 months) ($p<0.001$) (**Table 4-2**).

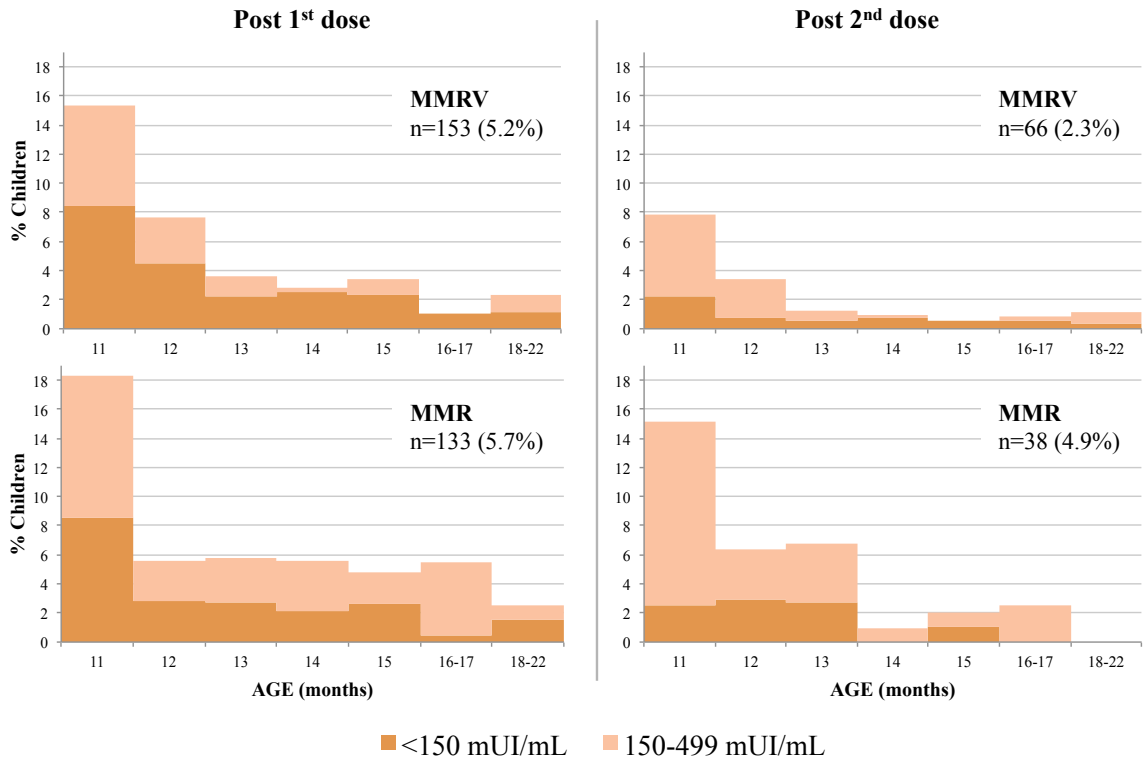


Figure 4-1 : Age distribution of children with low and negative response after vaccination with one or two doses of measles containing vaccine

Note: Includes children who received MMRV and MMR vaccines containing Schwarz strain

Table 4-2 : Antibody titer following the first and second dose of measles-containing vaccines by age at first dose and type of vaccine

Age at 1 st dose (months)	11	12	13-14	15-22	TOTAL	p ^a
Post 1st dose						
N	402	1825	1696	1619	5542	
Seronegative	8.5% (34/402)	3.2% (58/1825)	2.4% (40/1696)	1.5% (25/1619)	2.8%(157/5542)	<0.001
MMRV ^b	8.4% (27/320)	4.5% (29/644)	2.4% (24/1014)	1.5% (15/982)	3.2% (95/2960)	<0.001
MMR (Schwarz)	8.5% (7/82)	2.9% (28/980)	2.5% (16/631)	1.6% (10/629)	2.6% (61/2322)	0.0028
MMR (Moraten)	-	0.5% (1/201)	0.0% (0/51)	0.0% (0/8)	0.4% (1/260)	1.0000
150-499 mIU/mL	7.5% (30/402)	2.8% (51/1825)	1.7% (29/1696)	1.5% (24/1619)	2.4%(134/5542)	<0.001
MMRV ^b	6.9% (22/320)	3.1% (20/644)	0.9% (9/1014)	0.7% (7/982)	2.0% (58/2960)	<0.001
MMR (Schwarz)	9.8% (8/82)	2.8% (27/980)	3.2% (20/631)	2.7% (17/629)	3.1% (72/2322)	0.0050
MMR (Moraten)	-	2.0% (4/201)	0.0% (0/51)	0.0% (0/8)	1.5% (4/260)	0.6345
GMC (mIU/ml)	1835	2630	3155	3562	2960	<0.001
[95%CI]	[1672-2013]	[2517-2747]	[3016-3301]	[3401-3731]	[2885-3036]	
MMRV ^b	2051	2887	3632	4199	3408	<0.001
	[1848-2277]	[2682-3108]	[3425-3852]	[3956-4457]	[3293-3528]	
MMR (Schwarz)	1188	2425	2526	2751	2474	<0.001
	[970-1455]	[2287-2572]	[2348-2717]	[2557-2960]	[2381-2571]	
MMR (Moraten)	-	2891	3005	3976	2942	0.4572
		[2616-3194]	[2465-3663]	[2411-6556]	[2695-3211]	
Post 2nd dose						
N	396	811	1248	1231	3686	
Seronegative	2.3% (9/396)	1.2% (10/811)	0.8% (10/1248)	0.5% (6/1231)	0.9% (35/3686) ^c	0.0109
MMRV ^b	2.2% (7/317)	0.8% (5/638)	0.6% (6/995)	0.5% (5/966)	0.8% (23/2916)	0.0232
MMR ^b	2.5% (2/79)	2.9% (5/173)	1.6% (4/253)	0.4% (1/265)	1.6% (12/770)	0.1109
150-499 mIU/mL	7.1% (28/396)	2.8% (23/811)	1.0% (12/1248)	0.5% (6/1231)	1.9% (69/3686)	<0.001
MMRV ^b	5.7% (18/317)	2.7% (17/638)	0.5% (5/995)	0.3% (3/966)	1.5% (43/2916)	<0.001
MMR ^b	12.7% (10/79)	3.5% (6/173)	2.8% (7/253)	1.1% (3/265)	3.4% (26/770)	<0.001
GMC (mIU/ml)	2933	3983	4738	5442	4536	<0.001
[95%CI]	[2690-3198]	[3749-4231]	[4512-4975]	[5181-5716]	[4407-4670]	
MMRV ^b	3392	4444	5360	6058	5098	<0.001
	[3101-3711]	[4171-4735]	[5095-5638]	[5754-6378]	[4939-5261]	
MMR ^b	1635	2659	2917	3679	2916	<0.001
	[1322-2023]	[2303-3070]	[2589-3286]	[3275-4133]	[2742-3101]	

^a Chi-2 or exact Fisher test for sero-negativity and low response; F- test for GMC

^b MMRV and MMR vaccines containing Schwarz strain except otherwise indicated

^c 8 of the 35 seronegative post dose two seroconverted after dose one

GMCs post-second dose were highly correlated with GMCs post-first dose (Spearman coefficient=0.8) (**Supplementary Figure 4-1**). The pattern of improved antibody response with older age at first dose and MMRV vaccine persisted after the second dose (**Table 4-2**). Among the 119 children sero-negative after their first dose and with information after the second dose, 23% still had an undetectable titer after a second dose, and this was observed more frequently with MMR (10/28=36%) than with MMRV (17/91=19%) (p=0.06). Eight children seronegative post-second dose had detectable titers after the first dose. Sensitivity analysis excluding them did not change the results. While none of the 134 children with a concentration between 150 and 499 mIU/ml post-first dose was seronegative post-second dose, their titers remained significantly lower than those with a higher first-dose response (610 mIU/ml, 95%CI=538, 691 versus 5138 mIU/ml, 95%CI=5016, 5259).

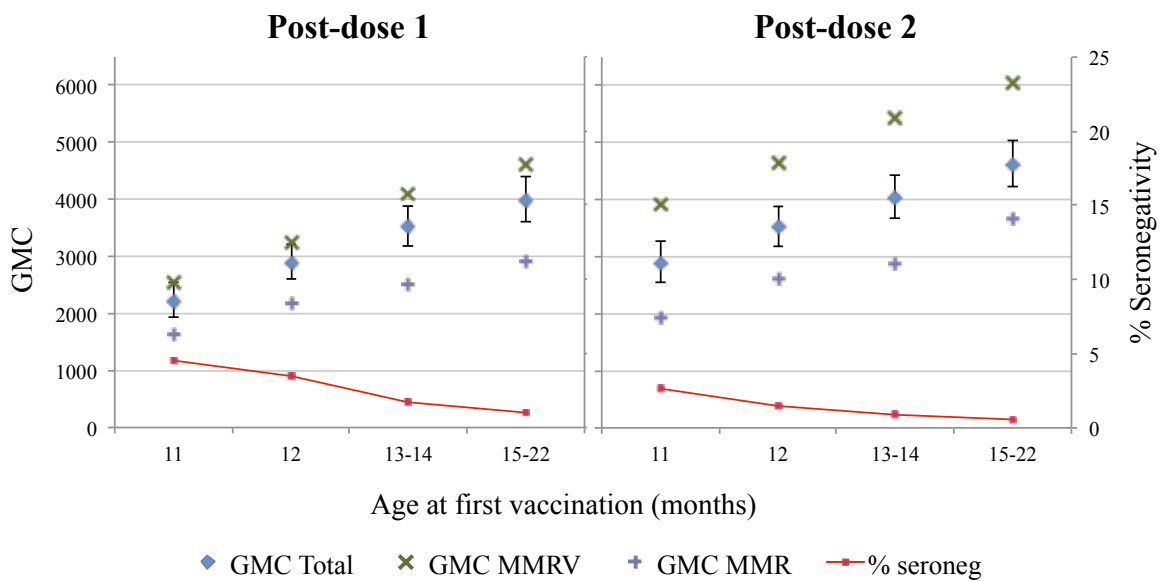


Figure 4-2 : GMC and proportion sero-negative after one and two doses of measles containing vaccine by age at first vaccination

Note: Included the children receiving MMRV and MMR vaccines containing Schwarz strain

Post-dose 1: Total GMC and proportion sero-negative adjusted for type of vaccine, country and study; GMC for MMRV and MMR adjusted for country and study

Post-dose 2: Total GMC adjusted for type of vaccine, country and study; Proportion sero-negative adjusted for type of vaccine; GMC for MMRV and MMR adjusted for country and study

Abbreviations: GMC=Geometric Mean Concentrations; MMR=Measles, Mumps and Rubella vaccine; MMRV=Measles, Mumps, Rubella and Varicella vaccine

In multivariable analysis adjusting for the type of vaccine, the country and the study, GMCs increased significantly with older age at first dose (**Figure 4-2**). Children vaccinated at 11 months had a 23% lower GMC and 30% increased risk of sero-negativity compared to children vaccinated at 12 months of age. In children vaccinated with one dose at 13-14 or 15-22 months the GMCs were respectively 1.21 (95%CI=1.1, 1.3) and 1.37 (95%CI=1.2, 1.5) times greater than in children vaccinated at 12 months and their adjusted RRs for sero-negativity were 49% (RR=0.51; 95%CI=0.3, 0.8) and 71% (RR=0.29; 95%CI=0.2, 0.5) lower, respectively. After two doses, the association between the age at first dose and the GMC was slightly weaker but still significant (GMC ratios of 0.82, 1.15 and 1.32 for 11, 13-14 and 15-22 months versus 12 months). Compared to children first vaccinated at 12 months, the adjusted proportion sero-negative was 30% higher for those vaccinated at 11 months but 28% and 52% lower for those vaccinated at 13-14 and 15-22 months. However the latter comparisons did not reach statistical significance (**Table 4-3**).

Table 4-3 : GMC ratios and sero-negativity risk ratios (SRR) after one and two doses of measles containing vaccine by age at first vaccination

Age at 1 st dose (months)	Post 1 st dose (n=5542)				Post 2 nd dose (n=3686)			
	GMC ratio [95%CI]		SRR [95%CI]		GMC ratio [95%CI]		SRR [95%CI]	
	Crude	Adjusted ^a	Crude	Adjusted ^b	Crude	Adjusted ^a	Crude	Adjusted ^c
11	0.70 [0.61-0.80]	0.77 [0.66-0.88]	2.66 [1.62-4.36]	1.30 [0.76 – 2.23]	0.74 [0.65-0.84]	0.82 [0.73-0.93]	1.84 [0.62-5.44]	1.30 [0.43-3.95]
12 ^d	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)
13-14	1.20 [1.10-1.30]	1.21 [1.10-1.32]	0.74 [0.46-1.20]	0.51 [0.31 – 0.84]	1.19 [1.08-1.31]	1.15 [1.05-1.26]	0.65 [0.23-1.86]	0.73 [0.25-2.10]
15-22	1.35 [1.25-1.47]	1.37 [1.25-1.51]	0.49 [0.28-0.85]	0.29 [0.16 – 0.54]	1.37 [1.24-1.50]	1.32 [1.20-1.45]	0.40 [0.12-1.34]	0.48 [0.14-1.66]
p ^e	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.0229	0.2889
Per month ^f	1.07 [1.06-1.08]	1.06 [1.05-1.08]	0.59 [0.45-0.78]	0.56 [0.43-0.72]	1.07 [1.06-1.08]	1.06 [1.04-1.07]	0.51 [0.32-0.82]	0.63 [0.40-0.99]
p ^f	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.0015	0.0272

^a Linear model adjusted for type of vaccine, country and study, with Dunnett adjustment for multiple comparisons

^b Log-binomial regression model adjusted for type of vaccine, country and study, with Dunnett adjustment for multiple comparisons

^c Log-binomial regression model adjusted for type of vaccine and study, with Dunnett adjustment for multiple comparisons

^d Reference age group

^e Wald test for age

^f Estimations with age as a continuous variable. Wald test for log linear trend with age in the GMC and the seronegativity risk

When analyzed as a continuous variable, age at first dose showed a significant log-linear relationship with GMCs after one ($p<0.001$) and two doses ($p<0.001$) and with the prevalence of sero-negativity post-first ($p<0.001$) and second dose ($p=0.03$) (**Table 4-3**).

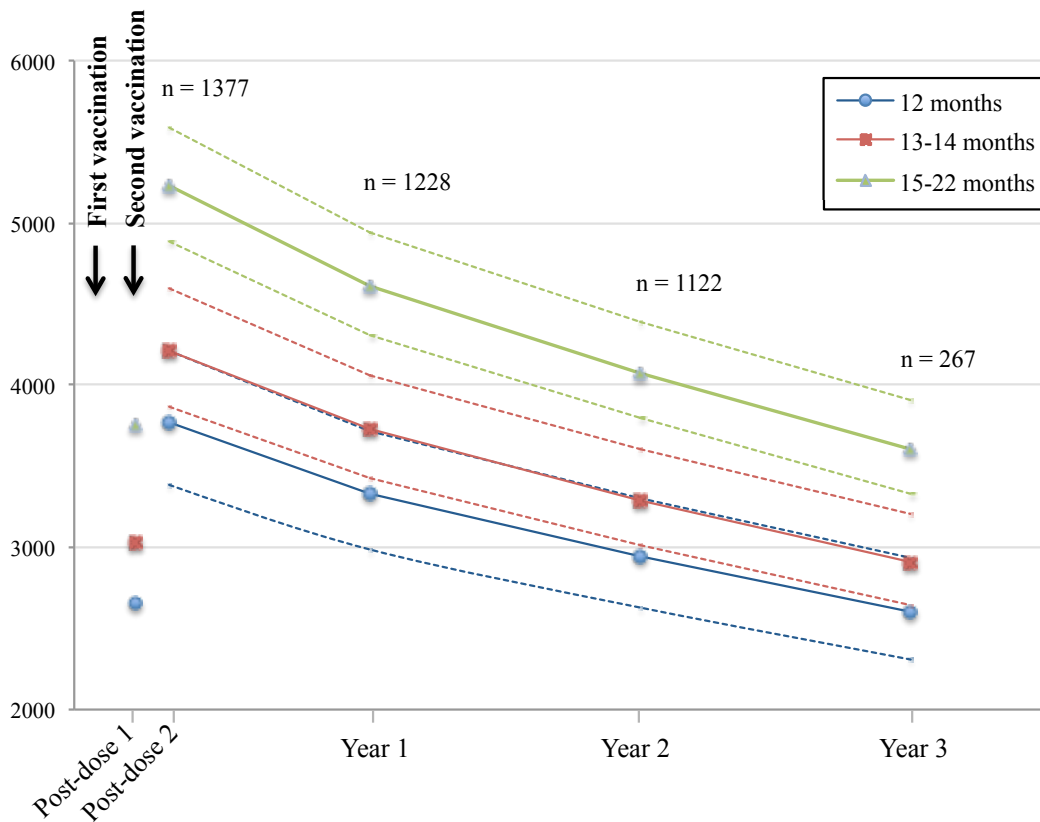


Figure 4-3 : Three-year follow-up of GMC by age at first vaccination

Note: GMC calculated using generalized estimating equations for correlated data, adjusted for type of vaccine and country and weighted using the inverse probability of censoring. Titers post-first dose are presented for comparability. Dotted lines represent 95% confidence intervals.

Antibody GMCs one to three years post-second dose

In two-dose recipients, the adjusted GMC decreased with time, at three years diminishing to levels similar to those measured six weeks after the first dose (**Figure 4-3**). Thus, the initial increase of antibody levels six weeks after the second vaccination was not maintained in any age group three years later. In repeated measures analysis over the three years post vaccination, the GMC was 40% higher in children first vaccinated at 15-22 months compared to 12 months (GMC ratio=1.4; 95%CI=1.2, 1.6) and the adjusted sero-negative RRs were 0.9 (95%CI=0.2, 3.7) for a first dose at 13-14 months and 0.3 (95%CI=0.1, 1.3) for 15-22 months, both compared to 12 months (**Table 4-4**).

Table 4-4 : Antibody titer post-second dose among children with 1, 2 or 3 years of follow-up by age at first vaccination

		AGE at first vaccination (months)			
		12	13-14	15-22	Total
Post-dose 2	n	297	481	599	1377
Seronegative [95%CI]		0.5% [0.2-1.3]	0.5% [0.1-1.6]	0.1% [0.0-0.5]	
150-499 mIU/mL [95%CI]		2.6% [1.4-5.0]	1.6% [1.0-2.5]	0.6% [0.3-1.2]	
GMC [95%CI]		3771 [3381-4205]	4216 [3872-4591]	5223 [4879-5590]	
Year 1	n	253	426	549	1228
Seronegative [95%CI]		0.8% [0.4-2.0]	0.8% [0.3-1.9]	0.2% [0.1-0.7]	
150-499 mIU/mL [95%CI]		2.8% [1.5-5.1]	1.6% [1.1-2.6]	0.6% [0.3-1.2]	
GMC [95%CI]		3333 [2985-3721]	3726 [3420-4060]	4615 [4312-4941]	
Year 2	n	225	389	508	1122
Seronegative [95%CI]		1.3% [0.5-3.7]	1.2% [0.6-2.6]	0.4% [0.1-1.0]	
150-499 mIU/mL [95%CI]		3.0% [1.6-5.4]	1.8% [1.1-2.8]	0.7% [0.3-1.3]	
GMC [95%CI]		2946 [2628-3302]	3293 [3011-3601]	4079 [3796-4384]	
Year 3	n	58	107	102	267
Seronegative [95%CI]		2.2% [0.6-7.9]	2.0% [0.9-4.5]	0.6% [0.2-1.8]	
150-499 mIU/mL [95%CI]		3.2% [1.7-6.0]	1.9% [1.1-3.2]	0.7% [0.4-1.4]	
GMT [95%CI]		2603 [2308-2936]	2910 [2644-3203]	3605 [3330-3903]	
SRR [95%CI]		1.0	0.9 [0.2-3.7]	0.3 [0.1-1.3]	
GMC ratio [95%CI]		1.0	1.1 [1.0-1.3]	1.4 [1.2-1.6]	

Note: GMC adjusted for type of vaccine and the country; proportion of seronegativity and proportion of low response (150-499 mIU/mL) adjusted for type of vaccine; all weighted using the inverse probability of censoring

4.6 Discussion

In this study, immunogenicity of the measles vaccine improved significantly with first vaccination at 13-14 and ≥ 15 months compared to 12 months of age and was conversely significantly lower when administered at 11 months. The immunogenicity of MMRV was consistently higher than that of MMR but followed the same age-related pattern. When the response to the first dose was poor, the response to the second dose was also poor. Antibody concentrations declined shortly after the second dose with a return towards the concentration obtained after first immunization.

When programs included only a single dose of measles vaccine, vaccinated cases were considered to be mostly due to primary vaccine failure and rarely to waning immunity.⁶⁰ In two-dose programs, the second dose was intended to seroconvert children who did not respond to the first dose, not to boost antibody levels. As most children who failed to seroconvert after a first dose seroconverted after a second dose,⁸ the lower protection

associated with a first dose administered at 12 (versus 15) months of age was expected to be overcome by two-dose programs. However, in Finland, a higher risk (RR=3.5) of measles was reported in twice-vaccinated children whose first dose was administered before rather than after 14 months.¹⁰¹ Similarly, the 2011 outbreak in Canada identified a three-fold greater risk of measles when the first dose was administered at 12 rather than ≥ 15 months of age in two-dose recipients.²⁷⁴

As these findings were observed mostly in individuals born to mothers who had had wild measles, it was unclear if it could be extrapolated to children born instead to vaccinated mothers. In the current study the information about vaccination or disease in the mothers of participants was not available. However, given that measles vaccination programs were introduced in the US in the 1960s and in Europe in the 1970s,²⁷⁵ the vast majority of children born after 2003 were likely born to vaccinated women. In these children, maternal antibody interference was not expected to pose a problem by 12 months of age. Indeed the proportion who remained sero-negative (primary vaccine failures) following two doses of MCV was very small whatever the age at first dose or the type of vaccine used. However, the proportion of children sero-negative or with low concentrations (150-499 mIU/mL) was greater in those first vaccinated at 12 compared to ≥ 15 months of age.

With antibody decline over time, it is likely that children with low concentrations immediately after the second dose become at risk for secondary vaccine failure. Loss of protective antibody concentrations six years after revaccination has also been demonstrated in 36% of 33 students with initial low levels of antibodies post-dose one⁴⁴. While the proportion who will eventually become susceptible to measles is unknown, it is interesting to note that the proportions of children with concentrations < 500 mIU/mL after two doses if first vaccinated at 12 months (6.5%) or ≥ 15 months (1.5%) are similar to the proportions of vulnerable adolescents despite two doses of MMR observed during the 2011 Canadian outbreak —7% (93% vaccine effectiveness) and 2.5% (97.5% vaccine effectiveness), respectively.²⁷⁴ Our results are also consistent with those from a large serological survey where sero-negativity in twice-vaccinated German children declined with an age at first dose moving from < 12 up to 17 months and increased with a longer interval since the last dose.²⁷⁶

While some participants who were sero-negative at the screening test may have had maternal antibodies given the threshold of detection for the ELISA assay, poorer

immunogenicity at 11 versus 12 months may also be explained by immaturity of the immune system. Indeed, in children with no maternal antibodies detectable by the sensitive plaque reduction neutralization assay (PRN), both the humoral and cellular immune response improved with older age at first dose (from 6 to 9 to 12 months) and 4% of those receiving MMR at 12 months remained sero-negative, a proportion similar to what we observed.⁹ If immaturity of the immune system may explain the response associated with age at first dose in children born to vaccinated mothers,^{87,89} the high correlation between antibody concentrations after the first and second dose and the return to pre-second dose levels with time are concerning signals that have also been reported elsewhere.^{44,46,277} As a poor response to an early first dose is not overcome in a durable manner by a second dose, it is unclear whether the effect of earlier age at first vaccine dose may be remediable with additional doses, or for how long. This is critical to understand in the context of the measles elimination goal and successive cohorts of children systematically vaccinated with measles vaccine for the first time at <15 months of age.

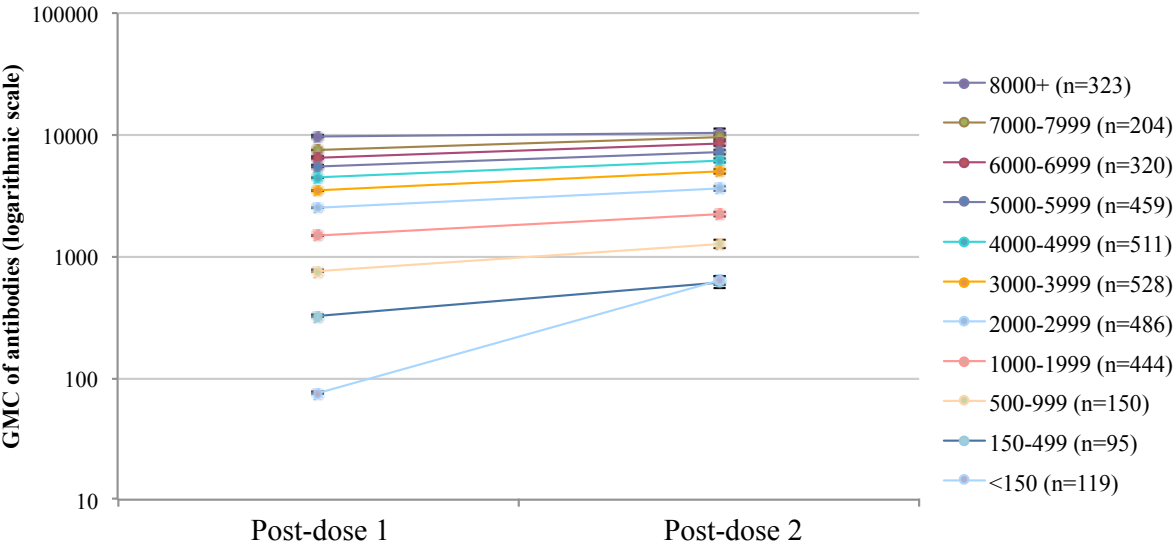
The strength of this study is its large number of RCT participants from several countries who underwent similar protocols and were tested with the same standardized ELISA test, optimizing the validity and generalizability of the results and providing good sample size for a precise analysis of the modifying effect of age at first dose. Nevertheless, this study has limitations. The original trials were randomized to compare two vaccines and not vaccination schedules. We cannot rule out some residual confounding from factors like differential exposure to wild virus or maternal status between different age groups, but this seems most unlikely considering the similar low prevalence of sero-positivity before vaccination (0.5% in US and 1.4% in Europe who were excluded). With a sensitivity of 88% to detect low PRN titers, the Enzygnost ELISA test³⁸ may have missed some children with low levels of measles neutralizing antibodies potentially interfering with the vaccine^{44,278} but with a nearly 100% sensitivity to detect protective PRN-titers of ≥ 120 ³⁸ our conclusions about individual and population vulnerability after vaccination seem robust. The interval between doses was short (6 weeks) but considering the high seropositivity rate, it is unlikely that a longer interval would have changed our conclusions. The greatest limitation is the clinical relevance of immunogenicity data.²⁷⁹ The interpretation that low antibody levels shortly after a second dose may not be protective over the long-term is speculative; protective cellular immunity may exist in the absence of antibody response.³⁷

However, a correlation between low antibody titers and measles susceptibility has been shown in prior epidemic analysis³⁵ and our results align well with data from outbreak investigations.^{101,274}

Measles elimination requires the maintenance of population immunity above 92%-94%.⁵ In pursuit of that goal, strategies need not only to maintain the highest vaccine coverage but also to minimize the proportion of both primary and secondary vaccine failures. In elimination settings, while the epidemiology is mostly driven by lack of vaccination, some vaccinated individuals acquire measles that may be mild^{18,35} but contribute to transmission.^{280,281} In this context, the additional protection of 3% to 5% of vaccinated children against secondary vaccine failures by postponing the first dose from 12 to 15 months of age would be significant and the risk would be minimal in countries that achieved elimination. As an example, measles incidence was 0.7 per 100 000 in infants aged 6-11 months in the US between 2009 and 2014, and 1.3 per 100 000 in infants <1 year old in Canada between 2002 and 2013.^{22,23} Many of these infant cases were from families with philosophical or religious objections. This suggests that within families that accept vaccination, the measles risk for infants whose vaccination is delayed to 15 months of age would be much lower than 1 per 100 000. The much greater proportion of children sero-negative or with low titers when their first dose is administered at 11 rather than 12 months of age may be a greater concern in the context of policies that recommend that for infant daycare entry.

Ultimately, these and other findings suggest that the measles elimination goal may require a careful balance between earlier infant protection and the risk of secondary vaccine failure among successive birth cohorts systematically initiated to measles vaccine below 15 months of age.

Appendix – Supplementary material



Supplementary Figure 4-1 : GMC post-second dose, by antibody response to first dose (10 categories)

Chapitre 5: Post-immunization fever and the antibody response to measles-containing vaccines

Sara Carazo Perez, MD PhD(c)¹, Alexandre Bureau, PhD^{1,2}, Gaston De Serres, MD PhD^{1,3}

¹Department of Social and Preventive Medicine, Laval University, Quebec, Canada

²CERVO Brain Research Center, Quebec, Canada

³Institut National de Santé Publique du Québec, Quebec, Canada

Article accepté pour publication par la revue « Epidemiology and Infection »

Le rôle de la fièvre post-vaccination sur la réponse immunitaire aux vaccins antirougeoleux

5.1 Résumé

La fièvre après la vaccination antirougeoleuse survient plus souvent chez les enfants plus âgés et chez ceux recevant le vaccin rougeole-rubéole-oreillons-varicelle (RROV) versus le vaccin RRO. À partir des données de 5216 enfants de 11 à 22 mois vaccinés entre 2004 et 2012 en Europe et aux États-Unis, nous avons évalué l'association entre la fièvre et la concentration moyenne géométrique (CMG) d'anticorps, et son rôle comme modificateur de l'effet ou médiateur dans les associations entre l'âge à la première vaccination, le type du vaccin, et l'immunogénicité.

Les CMG d'anticorps ont augmenté de 60% chez les enfants fébriles. Pour ceux vaccinés à ≥ 12 mois, la fièvre n'était pas un facteur modifiant ni médiateur de l'association entre l'âge et les titres d'anticorps. La fièvre médiait 18% de l'association entre le type de vaccin et la CMG. Elle était le meilleur prédicteur des titres d'anticorps, indépendamment de l'âge et du type de vaccin.

5.2 Abstract

Fever is a common adverse event following measles vaccination, more frequent among older children and those receiving Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine versus Measles-Mumps-Rubella vaccine, two factors associated with a better antibody response. However, the role of fever in the immunogenicity of measles-containing vaccines (MCV) is unclear. We performed a post-hoc pooled analysis of data of 5216 11 to 22 month-old children receiving MCV from 2004 to 2012 in Europe and US to evaluate the association between post-immunization fever and antibody response, measured by geometric mean concentrations (GMCs). We further evaluated fever as an effect modifier or a mediator in the associations between the type of MCV or the age at first vaccination and vaccine immunogenicity. After the first dose, fever was associated with 60% higher GMCs (95%CI: 1.51, 1.68). For children vaccinated at ≥ 12 months, fever did not modify and minimally mediated (2 to 3%) the association between age and antibody response. Fever mediated 18% of the association between type of MCV and GMCs. In a model including fever, age and type of vaccine, fever was the strongest predictor of GMCs. These results suggest that fever is associated with a stronger measles antibody response independently of age and type of MCV.

5.3 Introduction

Fever and rash are common adverse events following measles vaccination.⁸ Similar to natural disease, these reactions seem to be a consequence of the host response to the replication of the measles vaccine virus, with fever typically preceding antibody detection.^{2,158} Earlier studies on attenuated measles vaccines showed a correlation between vaccine reactions (fever, rash or malaise) and antibody response.^{156,157}

The final antibody response to measles vaccine seems to reflect a complex interaction between the immunogenicity of the vaccine (depending on strain and type of combined measles vaccine), the age-related host immune system (depending on the presence of maternal antibodies and the maturity of the immune system) and individual genetic factors.^{8,155} Older age at first vaccination is associated with increased reactogenicity and antibody response.^{87,88} Similarly, Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine (MMRV) is more reactogenic and immunogenic compared to Measles-Mumps-Rubella vaccine (MMR).⁶ Finally, Kuter et al have suggested an association between antibody response after first dose of measles-containing vaccine (MCV) and the incidence of fever and measles-like rash.¹⁴

Considering the hypotheses that post-vaccination fever is 1) a marker of innate and/or cell-mediated immunity preceding humoral response^{32,282} and 2) associated with age at first dose (MCV1) and type of MCV, we aimed to explore fever as a mediator in the pathways between each of these two expositions (age at vaccination and type of vaccine) and antibody response. A mediation analysis allowed us to decompose the total effect of each exposition into its direct effect, not mediated by fever, plus its indirect effect, mediated by fever (Figure 1). In case of exposure-mediator interaction, there are two measures of direct effect: the controlled direct effect (CDE) and the natural direct effect (NDE). The CDE expresses the direct effect of the exposure for a fixed level of fever and will potentially vary for each level of the mediator. The NDE corresponds to the direct effect observed if fever distribution is set to that of the reference exposure category (e.g. 12 month-olds).¹⁸⁰

We performed a post-hoc pooled analysis of data of 5 randomized controlled trials (RCT) including more than 5000 children vaccinated with one or two doses of MMRV or MMR in order to:

- a) Describe the frequency of adverse events following immunization with MCV and their association with type of vaccine and age at vaccination.
- b) Evaluate the association between post-immunization fever and rash and the antibody response.
- c) Explore if fever is a mediator in the pathway between age at first vaccination or type of MCV and the antibody response.

5.4 Methods

Study design, population, intervention and immunogenicity assessment

We pooled the data of five multicenter RCTs conducted in Europe between 2004 and 2008 and in the US between 2010 and 2012, which compared the immunogenicity and the safety of MMRV to MMR. The detailed methodology of the studies has been described elsewhere.²³² In short, healthy children aged 11 to 22 months were vaccinated with one or two doses of MMRV or MMR separated by six weeks. Measles antibody concentrations were measured before and six weeks after each dose using the Enzygnost (Behring) ELISA assay. The cut-off value for seropositivity corresponds to a concentration ≥ 150 mIU/mL of measles IgG antibody. Geometric mean concentrations (GMCs) were calculated as the antilog of the mean of the \log_{10} transformations of the concentrations. By convention, negative results were assigned a value of 75 mIU/mL. For this analysis, only subjects with undetectable antibodies pre-vaccination and immunized with MMRV *Priorix-tetra*[®] and MMR *Priorix*[®] containing the Schwarz measles strain and manufactured by GlaxoSmithKline (GSK) were included. This study was approved by the ethics committee of Centre Hospitalier Universitaire de Quebec Research Center.

Safety data

The parents recorded daily children's temperature during 15 days following each vaccination. Daily incidence of fever was defined as the presence of an axillary temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$ in a child previously afebrile. Cumulative incidence of fever was calculated as the number of children with temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$ measured at least once during the at-risk period, predefined as days 4 to 11 post-immunization with day 0 being the day of vaccination, divided by all immunized subjects. An investigator examined any child with rash appearing during the 43 days after each dose and determined the nature of

the rash (measles/rubella-like, varicella-like or other) and its likelihood of being related to vaccination.

Statistical analysis

Daily incidence of fever and cumulative incidence of fever and measles/rubella-like rash after each dose of MCV were computed with 2 sided 95% confidence intervals (CI) and stratified by type of vaccine (MMRV or MMR) and age at first vaccination (7 categories).

The association between fever following MCV1 and the antibody response post-MCV1 was assessed with a linear regression model comparing GMCs and with a log-binomial model for the risk of seronegativity. Models were adjusted for the type of vaccine, age at MCV1, study, country and season. A robust Poisson regression was used when the convergence of binomial likelihood maximization failed due to small number of events (seronegativity) compared to the number of covariates; adjustment for country was not possible in this last model. Similar models were constructed to evaluate seronegativity risk ratio (RR) and GMC ratio according to the onset of measles/rubella-like rash.

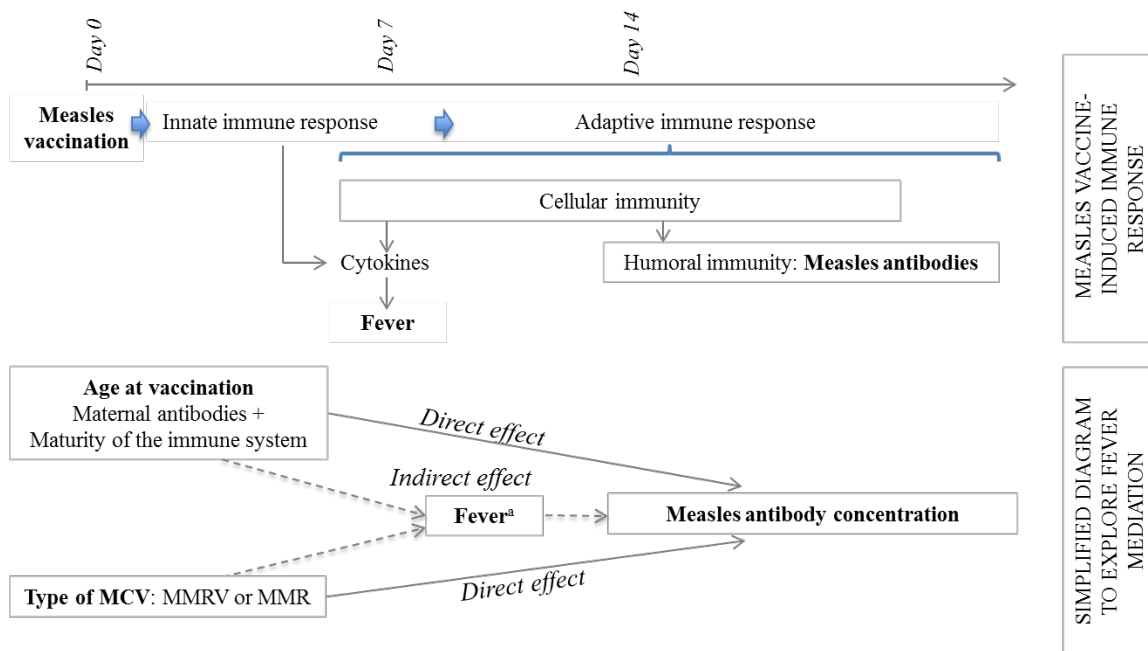


Figure 5-1 : Conceptual frame of the determinants of the antibody response to measles vaccination

Abbreviations: MMR=Measles, Mumps and Rubella vaccine; MMRV=Measles, Mumps, Rubella and Varicella vaccine

^a Fever as a marker of the immune processes preceding humoral response

The associations of the determinants of MCV's immunogenicity examined in the mediation analysis are presented in a conceptual frame (**Figure 5-1**). For the mediation analysis, fever was coded as 5 ordered categories (<38, 38<38.5, 38.5<39, 39<39.5 and ≥39.5°C) according to the maximum temperature measured during the at-risk period and age was categorized in four groups (11, 12, 13-14 and 15-22 months) using indicator variables. After testing its linear relationship with the antibody concentrations, temperature was introduced as an ordinal variable in the models, which increased power and simplified analyses. The models' assumptions were respected; multicollinearity between study and country did not affect the outcome's variance. The interaction terms for *age*fever* and *vaccine*fever* were sequentially tested in the previously defined linear regression model. In case of interaction between fever and age, we considered the following regression models, adjusted for the covariates type of vaccine, country and study (*F*):

$$(a) E[\text{fever}|\mathbf{X}] = \beta_0 + \beta_1 \text{age}_{11} + \beta_2 \text{age}_{13-14} + \beta_3 \text{age}_{15-22} + \beta_{4-20} F$$

$$(b) E[\log_{10}\text{-titer}|\mathbf{X}] =$$

$$\theta_0 + \theta_1 \text{age}_{11} + \theta_2 \text{age}_{13-14} + \theta_3 \text{age}_{15-22} + \theta_4 \text{fever} + \theta_5 \text{age}_{11} x \text{fever} + \\ \theta_6 \text{age}_{13-14} x \text{fever} + \theta_7 \text{age}_{15-22} x \text{fever} + \theta_{8-24} F$$

Based on these results, the direct and indirect effects were assessed using the following equations to calculate the CDE (c), NDE or pure NDE (d) and the natural indirect effect (NIE) or total NIE (e) of age at 11 months, with 12 months and a temperature <38°C as the reference levels and the covariates set to their average level. For each age category, β_1 , θ_1 and θ_5 were replaced by the corresponding coefficient. Total effect was the sum of NDE and NIE.^{180,181}

$$(c) CDE = \theta_1 + \theta_5 \text{fever}$$

$$(d) NDE = \theta_1 + \theta_5(\beta_0 + \beta_{4-20} F)$$

$$(e) NIE = \theta_4 \beta_1 + \theta_5 \beta_1$$

In the absence of interaction ($\theta_{5-7} = 0$), the formulae were simplified and CDE=NDE. The proportion of the total effect mediated by fever was calculated as NIE/Total effect*100. Equivalent models and equations were applied to decompose the effect of the type of vaccine.

If no mediation was demonstrated, the contributions of fever, age at first vaccination and type of vaccine to the variation of GMCs post-MCV1 were estimated calculating the difference in R-square when each variable was removed from the fully adjusted model. The sum would be less than the R-square of the model if the variables were correlated, being the remaining variance explained by more than one variable.

All analyses were performed using SAS/STAT® software version 9.4 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 2013).

5.5 Results

Population

From the 6041 subjects recruited for the five serologic studies, 6001 (99.3%) received a first dose of MCV and 3883 (64.3%) received a second dose; 5216 and 3631 were analyzed in this study. Reasons for exclusion were (n): detectable antibodies pre-vaccination (72), no serological results pre or post-vaccination (373), age <11 or >22 months at first dose (14) and vaccinated with *M-M-R®II* containing the Moraten strain (260). Additionally, 66 (1.1%) and 55 (1.2%) children, who did not have any temperature recorded during days 4 to 11 after MCV1 and after the second dose (MCV2), were also excluded from the respective analyses.

Reactogenicity

Following MCV1, the daily incidence of fever was low in days 0 to 3 (2.5%), higher during the at-risk period between days 4 and 11 (6.0%), highest (>8%) on days 7 to 9 and returned to low levels days 12-14 (0.8%). After MCV2, there was no increase of daily incidence of fever during days 4 to 11 compared to other days, ranging between 1.0% and 3.1%. The daily incidence post-MCV1 was higher with MMRV than MMR vaccine (**Figure 5-2**).

During the at-risk period the crude overall cumulative incidence of fever post-MCV1 increased with older age at vaccination from 11 (34.7%) to 16-17 months (45.4%) ($P<0.001$) but decreased at 18-22 months (36.3%). This pattern persisted when adjusting for type of vaccine and country, but the difference in fever incidence was more pronounced for 11- versus 12-month-old children and attenuated for older ages. Post-immunization

fever was 1.8 times higher with MMRV rather than MMR (51.8%, 95%CI: 50.1%, 53.7% versus 29.4%, 95%CI: 27.6%, 31.3%) (Figure 5-3).

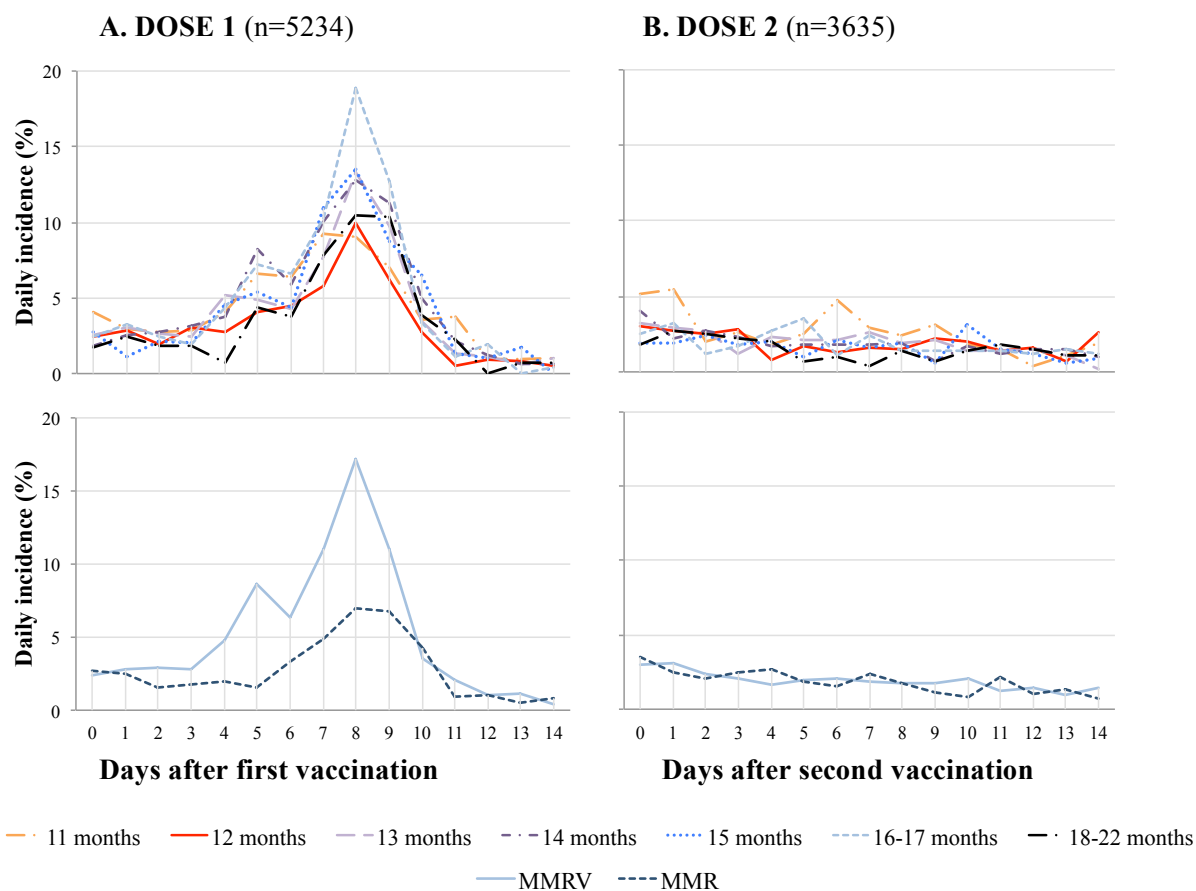


Figure 5-2 : Daily incidence of fever post dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization and type of vaccine

Abbreviations: MMR=Measles, Mumps and Rubella vaccine; MMRV=Measles, Mumps, Rubella and Varicella vaccine

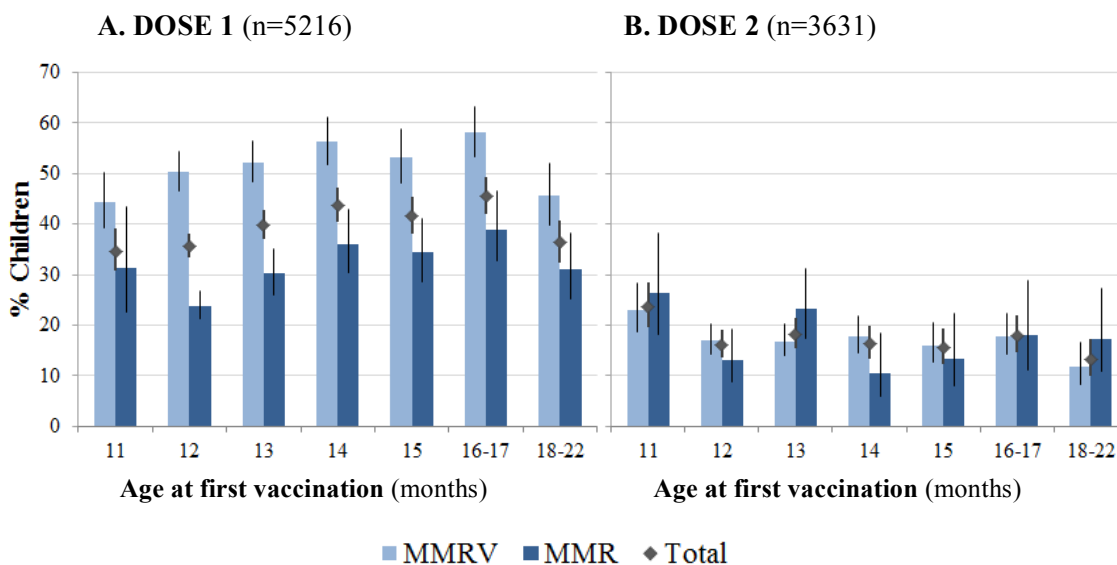


Figure 5-3 : Cumulative incidence of fever during days 4 to 11 post dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization and type of vaccine^a

Abbreviations: MMR=Measles, Mumps and Rubella vaccine; MMRV=Measles, Mumps, Rubella and Varicella vaccine

^a Total cumulative incidences of fever are adjusted for the type of combined vaccine and the country

Measles/rubella-like rash occurred in 8.1% (95%CI: 7.4%, 8.9%) and 4.4% (95%CI: 3.9%, 5.1%) of subjects following MCV1 and MCV2 respectively. However, rash considered by the investigators as vaccine-related was observed in only 4.3% (95%CI: 3.8%, 4.9%) post-MCV1 (83% occurring between days 4-11) and 1.2% (95%CI: 0.9%, 1.6%) post-MCV2. The cumulative incidence of vaccine-related rash post-MCV1 was lower for those vaccinated with MMR (3.2%, 95%CI: 2.6%, 4.0%) than for those receiving MMRV (5.1%, 95%CI: 4.4, 6.0) but was not different post-MCV2 (0.8% versus 1.4%, $P=0.06$). Age at first vaccination was not associated with the occurrence of vaccine-related rash ($P=0.17$ post-MCV1 and $P=0.51$ post-MCV2) (data not shown).

Fever and antibody response

The crude and adjusted GMCs post-MCV1 were 60% higher for febrile versus afebrile children (adjusted GMCs: 4416 mIU/mL and 2766 mIU/mL respectively) and increased with higher recorded temperature from 2775 mIU/mL (<38°C) to 3828 mIU/mL (38- <38.5°C) and 5290 mIU/mL ($\geq 39.5^\circ\text{C}$) (Table 5-1). This difference was present for each type of vaccine and each age category (Figure 5-4). Conversely, the adjusted risk of seronegativity was 70% lower for febrile (0.8%) compared to afebrile subjects (2.7%)

($P < 0.001$) (**Table 5-1**). Antibody concentrations post-MCV2 were associated with age at MCV1 ($P < 0.001$) and type of vaccine ($P < 0.001$), but not with fever post-MCV2 ($P = 0.75$) (**Figure 5-4**).

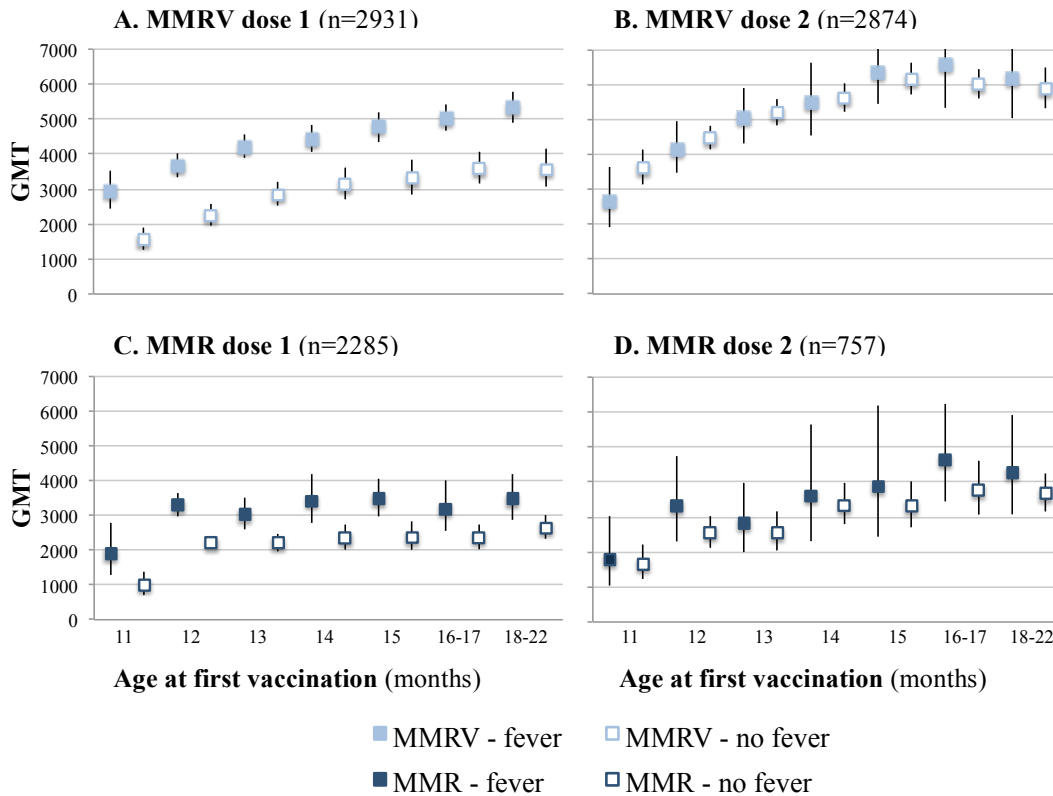


Figure 5-4 : GMC of antibodies 6 weeks after dose one and two of measles containing vaccine by age at first immunization, type of vaccine and onset of fever on days 4-11 after each dose

Abbreviations: GMC=Geometric Mean Concentrations; MMR=Measles, Mumps and Rubella; MMRV=Measles, Mumps, Rubella and Varicella;

Table 5-1: Association between post-immunization fever and measles/rubella-like rash after the first dose of a measles-containing vaccine and antibody response

		Seronegativity ^a					Antibody concentration ^b				
		Risk	95%CI	Risk ratio	95%CI	P	GMC ^c	95%CI	GMC ratio	95%CI	P
Fever	No	0.027	0.02, 0.04	1 (ref)			2766	2510, 3048	1 (ref)		
	Yes	0.008	0.005, 0.01	0.30	0.20, 0.44	<0.001	4416	3998, 4877	1.60	1.51, 1.68	<0.001
Max. temp^d	<38	0.027	0.02, 0.04	1 (ref)			2775	2519, 3057	1 (ref)		
	38 -<38.5	0.011	0.01, 0.02	0.40	0.23, 0.69	<0.001	3828	3424, 4280	1.38	1.28, 1.49	<0.001
	38.5-<39	0.008	0.004, 0.02	0.30	0.15, 0.61	<0.001	4485	3992, 5039	1.62	1.49, 1.75	<0.001
	39-<39.5	0.009	0.004, 0.02	0.34	0.16, 0.73	0.006	4842	4272, 5487	1.74	1.59, 1.92	<0.001
	≥39.5	0.001	0.0002, 0.01	0.05	0.01, 0.37	0.003	5290	4652, 6015	1.91	1.73, 2.10	<0.001
Rash	Overall	No	0.019	0.01, 0.03	1 (ref)			3304	2999, 3641	1 (ref)	
		Yes	0.014	0.01, 0.03	0.71	0.30, 1.69	0.36	4302	3691, 5013	1.30	1.15, 1.48
	Among afebrile children	No	0.025	0.02, 0.04	1 (ref)			2940	2567, 3368	1 (ref)	
		Yes	0.035	0.01, 0.08	1.38	0.59, 3.22	0.46	3115	2403, 4039	1.06	0.61, 1.34
	Among febrile children ^e	No	0.031	0.02, 0.04	1 (ref)			3949	3450, 4519	1 (ref)	
		Yes	0.041	0.02, 0.10	1.34	0.56, 3.21	0.51	4978	4171, 5942	1.26	1.11, 1.43

Abbreviations: CI=Confidence intervals; GMC=Geometric mean concentration; Ref= reference category

^a Robust Poisson model adjusted for age at vaccination (7 categories), type of vaccine, study and season, *P*-values correspond to type III tests

^b Linear regression model adjusted for age at vaccination (7 categories), type of vaccine, study, country and season, *P*-values correspond to test F

^c Measured in mIU/mL

^d Maximum temperature registered during the days 4 to 11 post-first vaccination (5 categories)

^e Robust Poisson model restricted to febrile children is adjusted for age at vaccination (7 categories), type of vaccine and season.

Rash and antibody response

Subjects presenting vaccine-related measles/rubella like rash had 30% higher GMCs post-MCV1 than vaccinees without rash, but no difference in seronegativity (**Table 5-1**). Among children presenting with rash, 66% also reported fever but given the low incidence of vaccine-related rash the correlation between fever and rash was low (Pearson coefficient=0.10). The association between rash and antibody response diminished from a GMC ratio of 1.30 (95%CI: 1.15, 1.48) to 1.18 (95%CI: 1.05, 1.34) when adjusting for fever. Stratified analysis showed an association between rash and GMCs among febrile but not afebrile children (**Table 5-1**). Adding rash to a model including fever, age, type of vaccine, study and country only improved the proportion of variability in antibody log-concentrations explained by the model by 0.1% (data not shown).

Fever as a mediator in the associations between age, type of vaccine and antibody response

There was an interaction in a fully adjusted log-additive model between age at MCV1 and temperature, but only for a change in age from 11 to 12 months ($P<0.001$). Among afebrile children vaccinated at 11 versus 12 months the GMC ratio was 0.73 (95%CI: 0.64, 0.83), but 0.86 (95%CI: 0.76, 0.95) among those with a temperature of 38- $<38.5^{\circ}\text{C}$ and 1.38 (95%CI: 1.04, 1.84) among subjects with high fever ($\geq 39.5^{\circ}\text{C}$). No interaction with fever was demonstrated for older age categories or type of vaccine (**Supplementary Table 5-1**).

The mediation analysis showed that the greater antibody concentrations with older age at MCV1 (from 12 months to 13-14 months or 15-22 months) were not mediated by the presence of fever (GMC ratios for NIE: 1.00 and 1.01 respectively). By contrast, for a change in age from 11 to 12 months, the proportion of the total effect mediated by fever was 26.5% without considering the age*fever interaction, or 44.5% when the interaction was specified. The latter analysis found that, for vaccination at 11 versus 12 months the total effect was a 25% lower antibody concentration; natural direct and indirect effects corresponding to reductions of 15% and 12% respectively; the total effect was equal to the sum of the NIE and the NDE in the \log_{10} scale (Table 2). The CDE of this age change varied with the level of temperature, from a GMT ratio of 0.72 for $<38^{\circ}\text{C}$ to a GMT ratio of 0.85 (95%CI: 0.76, 0.95) and 1.20 (95%CI: 0.98, 1.47) for temperatures of 38- $<38.5^{\circ}\text{C}$ and 39- $<39.5^{\circ}\text{C}$ respectively.

Table 5-1 : Mediation analysis of fever in the association between age at first vaccination or type of vaccine and antibody concentration

			CDE ^a	95%CI	NDE ^{bc}	95%CI	NIE	95%CI	TE	95%CI	NIE/ TE ^d
Effect of age on antibody concentration											
(with age*fever interaction) ^e											
Age (months) (ref=12)	11	Log ₁₀ MC diff	-0.14	-0.20, -0.09	-0.07	-0.12, -0.02	-0.06	-0.08, -0.03	-0.13	-0.18, -0.07	44.5%
		GMC ratio	0.72	0.63, 0.81	0.85	0.76, 0.95	0.88	0.83, 0.93	0.75	0.66, 0.84	
	13-14	Log ₁₀ MC diff	0.08	0.05, 0.11	0.08	0.05, 0.11	0.002	-0.01, 0.01	0.09	0.05, 0.12	2.0%
		GMC ratio	1.21	1.13, 1.30	1.21	1.13, 1.30	1.00	0.99, 1.02	1.22	1.13, 1.31	
	15-22	Log ₁₀ MC diff	0.16	0.12, 0.19	0.14	0.11, 0.17	0.003	-0.003, 0.01	0.14	0.11, 0.18	2.3%
		GMC ratio	1.44	1.32, 1.57	1.38	1.28, 1.48	1.01	0.99, 1.02	1.39	1.29, 1.50	
Effect of age on antibody concentration											
(without age*fever interaction) ^e											
Age (months) (ref=12)	11	Log ₁₀ MC diff			-0.08	-0.13, -0.03	-0.03	-0.04, -0.02	-0.11	-0.16, -0.06	26.5%
		GMC ratio			0.83	0.74, 0.93	0.93	0.91, 0.96	0.78	0.69, 0.87	
	13-14	Log ₁₀ MC diff			0.08	0.05, 0.11	0.002	-0.01, 0.01	0.09	0.05, 0.12	2.0%
		GMC ratio			1.21	1.13, 1.30	1.00	0.99, 1.02	1.22	1.13, 1.31	
	15-22	Log ₁₀ MC diff			0.14	0.11, 0.17	0.004	-0.004, 0.01	0.14	0.11, 0.17	2.9%
		GMC ratio			1.37	1.27, 1.48	1.01	0.99, 1.03	1.38	1.28, 1.49	
Effect of type of vaccine on antibody concentration^f											
Type of vaccine (ref=MMR)	MMRV	Log ₁₀ MC diff			0.17	0.14, 0.20	0.04	0.03, 0.04	0.21	0.18, 0.24	17.6%
		GMC ratio			1.48	1.39, 1.58	1.09	1.07, 1.11	1.61	1.51, 1.72	

Abbreviations: CDE=Controlled direct effect; CI=Confidence intervals; GMC=Geometric mean concentrations; Log₁₀MC diff=Difference of log base 10 mean concentrations; MMR=Measles-Mumps-Rubella vaccine; MMRV=Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine; NDE=Natural direct effect; NIE=Natural indirect effect; TE=Total effect; Ref=reference category

^a CDE for fever set at temperature <38°C

^b NDE for covariates set at their average level

^c For models without interaction term CDE=NDE

^d Percentage of the total effect mediated by fever = $NIE/TE*100$

^e Models adjusted for type of vaccine, study and country

^f Models adjusted for age at first vaccination, study and country

Vaccination with MMRV induced 61% higher GMCs compared with vaccination with MMR (total effect); a rise in GMCs of 49% was due to the direct effect while an increase of 9% was mediated by fever (**Table 5-2**).

In an analysis restricted to children ≥ 12 -months-old at MCV1, the model including fever, age, type of vaccine, study and country explained 13% of the total variance; the estimated relative contributions on antibody log-concentrations were 5%, 2% and 3% for fever, age and type of vaccine respectively (**Table 5-3**).

Table 5-3 : Relative contribution of fever, age, type of vaccine, study and country on the antibody concentration 6 weeks after the administration of a MCV to children aged ≥ 12 months

Parameter	Beta	GMC ratio ^a	DF	F value	P value	Partial R squared ^b
Fever (ref= afebrile)	0.1934	1.56	1	269.94	<0.001	4.9%
Age in months (ref=12)			5	17.76	<0.001	1.6%
13	0.0669	1.17				
14	0.1089	1.28				
15	0.1216	1.32				
16-17	0.1454	1.40				
18-22	0.1702	1.48				
Vaccine MMRV (ref=MMR)	0.1740	1.49	1	160.93	<0.001	2.9%
Study			4	8.56	<0.001	0.6%
Country			12	7.39	<0.001	1.6%
Full model			23	30.60	<0.001	12.8%

Abbreviations: DF=Degrees of freedom; GMC=Geometric Mean Concentration; MCV= Measles-containing vaccine; MMR=Measles-Mumps-Rubella vaccine; MMRV=Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine; Ref=reference category

^a GMC ratio for a change in each variable adjusted for the other variables of the model

^b Difference between the R-squared of the whole model and the R-squared of the model after removal of the selected variable

5.6 Discussion

In this analysis, fever post-MCV1 was a strong predictor of higher antibody response whereas the independent effect of vaccine-related rash post-MCV1 was minimal. For children first vaccinated at ≥ 12 months, the effect of age on antibody response was not modified by fever, which mediated only 2 to 3% of the total effect. The higher antibody response to MMRV versus MMR was not modified by fever, which mediated 18% of the total effect of the type of vaccine. These results suggest that age at first dose, type of vaccine and fever have mostly independent

but additive causal pathways on immunogenicity. While fever was the strongest predictor of antibody concentration, it explained only 5% of the 13% of the variation in a model including fever, age at first vaccination, type of vaccine, country and study. This suggests that individual genetic or other unmeasured factors determine most of the humoral response to MCV.⁷

Measles infection induces an initial innate response that stimulates adaptive immunity: T-cell activation and antibody production by B-cells, this latter being also influenced by CD4 T-helper cells.^{32,158} Both innate and cellular immune responses include the production of cytokines, some of them acting as endogenous pyrogens directly or mediated by prostaglandins.^{159,282,283} However, the pathogenesis of immunity activation after measles vaccination and the relative contribution of post-vaccination cellular and humoral immunity in protection against measles are less known.²⁸⁴ Fever has been shown to boost innate and adaptive immunity during infections in general,¹⁵⁹ but its role after measles infection or measles immunization has not been well defined.^{32,285} Our mediation analysis is based on the hypothesis that fever would be a marker of the innate or cellular immune response in the pathway to the antibody response to MCV.

Higher immunogenicity and a 1.4-fold increased risk of fever and rash has been described after vaccination with MMRV compared with MMR, findings with an unknown underlying mechanism but that might be a consequence of an increased local measles vaccine virus replication.^{6,14,15} Similarly, we found 80% and 60% significantly higher risk of fever and measles/rubella-like rash following MMRV versus MMR. Our results support the positive association between fever post-MCV1 and antibody titers reported by Kuter et al¹⁴ and we therefore expected fever to be a mediator in the association between type of MCV and antibody response. We found instead that 82% was due to the direct effect of MMRV and only 18% to the indirect effect mediated by fever, suggesting another mechanism.

Infants receiving MCV1 at 11 months develop a lower antibody response than those vaccinated after their first birthday.^{83,87,88,232} Our results suggest that fever is not only a marker of enhanced immune response among infants but also modifies the association between age at MCV1 (11 versus 12 months) and antibody response, reaching similar GMCs among vaccinees at 11 or 12 months with fever ≥ 39.5 °C (GMC ratio=1.38; 95%CI: 1.04, 1.84). This underscores the need to better understand the relationship between post-immunization fever and immunogenicity among children ≤ 11 months old.

Similar to other safety studies,^{145,168,286} there was an increase in fever during days 4 to 11 after the first but not the second dose. Fever post-MCV1 increased with age from 11 to 17 months, but decreased in children aged 18 to 22 months. This is consistent with other studies, which report greater fever incidence when comparing vaccination at 9 and/or 11 months versus 12 months,^{87,88,151} but no difference or a decrease in fever when vaccinated at 15-17⁸⁷ or 16-23 months.¹⁵

To our knowledge this is the first study to explore the pathways underlying the associations between age at first vaccination, type of combined measles vaccine, reactogenicity and antibody response. The large sample size of this study permitted the analysis of several age categories and effect modification. Our study suffers from some limitations. The original trials were randomized for type of vaccine and not for age at vaccination, but residual confounding seems unlikely. Definition of post-immunization fever varies according to the measurement method, the period at risk and the threshold considered. As described in the literature, we predefined the at-risk period as days 4 to 11 post-vaccination, but on day 11 fever incidence had returned to baseline level. While our cut-off of 38°C for fever was lower than in some other studies,¹⁴⁶ the analysis of temperature as an ordinal variable showed increased immunogenicity also for children with mild fever. There was a low incidence of rash and its attribution as vaccine-related could have varied between studies and investigators; our conclusions about its association with measles vaccine immunogenicity are not robust. Other determinants of MCV antibody response, like vaccine strain or participant race, have not been studied, as our sample was mostly restricted to Caucasian children vaccinated with the Schwarz strain. Our results may not apply in settings where age at vaccination is recommended before 11 months of age.

The ideal measles vaccine would be non-reactogenic and highly immunogenic in very young infants but is not currently an option.²⁸⁷ Fever appears to induce stronger measles antibody response independently of age at vaccination and type of vaccine, but the underlying mechanisms remain unclear. Understanding the positive relationship between fever and immunogenicity may help parents, clinicians and public health decision makers to better tolerate this adverse event.

Appendix – Supplementary material

Supplementary Table 5-1 : Modifying effect of fever on the associations between age at first vaccination or type of vaccine and antibody response

$\mathbb{E}[\log_{10_titer X}] =$				
Model: $\beta_0 + \beta_{1-3}age + \beta_4fever + \beta_{5-10}age * fever + \beta_{11}vaccine + \beta_{12-22}country + \beta_{23-25}study + \beta_{26}season$				
Parameter	DF	F value	t-test	P value
Age (4 categories, ref=12 months)	3	38.00		<0.001
Fever (quantitative with 5 categories)	1	286.59		<0.001
Age*Fever	3	7.12		<0.001
			11months*fever	3.77
			13-14months*fever	0.10
			15-22months*fever	-1.28
				<0.001
				0.92
				0.20
Model: $\mathbb{E}[\log_{10_titer X}] = \beta_0 + \beta_1vaccine + \beta_2fever + \beta_3vaccine * fever + \beta_{4-6}age + \beta_{7-17}country + \beta_{18-20}study + \beta_{21}season$				
Parameter	DF	F value	t-test	P value
Vaccine MMRV (ref=MMR)	1	155.37		<0.001
Fever (quantitative with 5 categories)	1	277.42		<0.001
Vaccine*Fever	1	0.01		0.93

Abbreviations: DF=Degrees of freedom; MMR=Measles-Mumps-Rubella vaccine; MMRV=Measles-Mumps-Rubella-Varicella vaccine; Ref=reference category

Chapitre 6: Discussion

Ce chapitre résume en premier lieu les principaux résultats des trois études de cette thèse. Il abordera ensuite les forces et limites méthodologiques de chaque étude. Les résultats et leurs retombées seront interprétés dans le contexte canadien d'élimination de la rougeole en répondant aux questions posées après l'épidémie de Québec en 2011. Finalement, on discutera des orientations de recherche futures.

6.1 Résumé des principaux résultats

La revue systématique de la littérature a documenté que, pour les enfants vaccinés contre la rougeole avec une dose, la protection et la proportion de séroconversion augmentaient avec un âge plus avancé à la vaccination, de moins de 9 mois à 9-11 mois, à 12 mois et à 15 mois et plus. Peu d'études ont évalué l'effet de l'âge à la première dose après l'administration d'une deuxième dose. Elles suggèrent une augmentation du risque de la rougeole lié à un âge plus jeune (de 10 mois à plus de 15 mois), mais la séropositivité post-deuxième dose est très élevée même avec un début précoce de la vaccination. La grande majorité des études recensées dans cette revue systématique reflètent la réponse à la vaccination d'enfants vaccinés avec une dose et nés de mères ayant fait la rougeole. Ces résultats sont donc difficiles à extrapoler au contexte actuel d'enfants vaccinés avec deux doses et nés de mères vaccinées.

Notre deuxième étude a analysé les données immunologiques de plus de 5000 enfants ayant reçu deux doses du RRO ou RROV et vraisemblablement nés de mères vaccinées. Après la première dose, le risque de séronégativité diminuait et la CMG d'anticorps augmentait avec l'âge à la vaccination de 11 à 15-22 mois. Avec l'administration de la deuxième dose, le risque de séronégativité était faible pour tous les enfants, mais la CMG d'anticorps et la proportion d'enfants avec un faible titre étaient encore fortement associées à l'âge à la première dose. Le suivi de trois ans a montré un déclin progressif des titres, qui ont atteint une CMG similaire à celle mesurée six semaines après la première dose et ce, pour chaque catégorie d'âge à la première dose. Par ailleurs, le vaccin RROV a induit un titre d'anticorps contre la rougeole plus élevé que le vaccin RRO, mais l'effet de l'âge à la vaccination persistait pour les deux vaccins.

La troisième étude, qui évaluait l'impact de la fièvre post-vaccinale sur la réponse immunitaire, a montré une augmentation de la survenue de la fièvre 4 à 11 jours après la première vaccination contre la rougeole, mais pas après la deuxième dose. L'incidence de fièvre post-vaccinale était

plus élevée chez les enfants vaccinés avec le RROV par rapport au RRO et pour ceux vaccinés à un âge plus avancé. La fièvre était le facteur prédictif le plus important de la réponse en anticorps. L'analyse de médiation a montré que la fièvre expliquerait 18% de l'effet total du type de vaccin sur la réponse immunitaire mais que l'effet de l'âge était essentiellement indépendant de la survenue de la fièvre pour les enfants vaccinés avec une dose entre 12 et 22 mois. Globalement, la fièvre n'expliquait que 5% de la variation des titres d'anticorps.

6.2 Forces et limites des études

6.2.1 Étude 1 : Effet de l'âge sur la protection et l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole : revue systématique de la littérature et méta-analyse

La revue de la littérature a suivi une méthodologie et une présentation systématique fondés sur les recommandations du manuel Cochrane et les lignes directrices PRISMA, ce qui donne des résultats reproductibles et fiables.^{162,185} Pour répondre à notre question de recherche, nous avons inclus les études de protection vaccinale et les études d'immunogénicité. L'information sur la protection est la plus intéressante au niveau clinique et en terme de santé publique, mais elle est généralement obtenue dans des études observationnelles, plus affectées par des biais. Ainsi, les données immunologiques provenant des études expérimentales ont aidé à compléter et valider les résultats des enquêtes épidémiologiques. Une des forces de cette revue a été la robustesse des conclusions sur l'effet de l'âge chez les vaccinés avec une dose. Les résultats des études de protection et immunologiques étaient consistants et un gradient « dose-réponse » avec l'augmentation de l'âge à la vaccination (de 6 mois, à 9 mois, à 12 mois et à ≥ 15 mois) a été observé.

La limite principale était la rareté de publications qui ont étudié l'effet de l'âge à la première dose sur la protection des jeunes ayant reçu deux doses et nés de mères vaccinées. Cette rareté serait partialement expliquée par le plus faible pourcentage d'individus avec deux doses qui font la rougeole. Ils ne constituent que 2 à 3% des cas dans la plupart des épidémies récentes.^{235,288-291} Malheureusement l'effet de l'âge n'a pas été analysé dans les grandes épidémies de France en 2008-2011, de Bulgarie en 2009-2011 ou d'Ukraine en 2005-2006, où, respectivement, 318, 1238 et 692 cas étaient vaccinés avec deux doses.^{236,237,292} D'autre part, les quelques études d'immunogénicité qui ont examiné la réponse après deux doses chez des enfants probablement nés de mères vaccinées ont comparé la première dose à 4 ou 9 mois par rapport à 12 mois et n'ont pas évalué ce qui se passe chez des enfants vaccinés après 12 mois.

Les résultats de notre revue ne s'extrapolent pas bien aux jeunes de pays développés avec des calendriers de deux doses qui débutent généralement à 12 ou 15 mois et aux cohortes nées de mères vaccinées.

Comme dans toute synthèse de connaissances, la qualité des conclusions est dépendante des limites des études publiées.²⁹³ Seulement 33% des études de protection avaient un faible risque de biais, ce qui était insuffisant pour estimer les rapports de risque de rougeole selon l'âge à la vaccination dans une analyse de sensibilité. Les biais des études individuelles les plus fréquents qui ont été identifiés étaient les biais d'information. Les erreurs de mesure sur l'identification du statut vaccinal, l'identification des cas et l'exposition à la rougeole ont cependant peu de chance d'être associées à l'âge à la première dose. Donc, elles seront non différentielles et auront principalement tendance à sous-estimer l'efficacité vaccinale. Nous ne pouvons cependant prévoir la direction du biais dans l'association entre l'âge à la vaccination et la protection contre la rougeole.

Nous pouvons aussi signaler d'autres limites méthodologiques. Les catégories d'âge comparées (9-11 mois, 12 mois et ≥ 15 mois) ont été choisies pour représenter les calendriers de vaccination les plus souvent recommandés.⁴² Néanmoins, les intervalles d'âge n'étaient pas semblables entre les études et nous étions limités par les catégories rapportées dans les études. Selon l'étude, le groupe de 12 mois pouvait correspondre à exactement 12 mois ou à 12-14 mois ou à 12 mois et plus. Même si l'imprécision dans les catégories d'âge peut induire un certain biais d'information, nous avons considéré que l'inclusion de plus d'études était préférable. Une autre limite a été l'impossibilité d'évaluer à quel âge la protection atteint un plafond. Nous avons groupé ensemble les enfants vaccinés à 15 mois ou plus, car presque aucune étude n'a détaillé l'âge de vaccination au-dessus de 15 mois.

La variable dépendante pour l'analyse d'immunogénicité a été la séroconversion. Le titre d'anticorps est une mesure plus informative sur l'intensité de la réponse immunitaire que la simple séroconversion, mais l'hétérogénéité des tests a empêché la comparaison et synthèse des CMG. La limite la plus importante liée à la séroconversion est que nous savons qu'il n'est pas toujours juste de l'interpréter comme étant bien corrélée avec la protection, surtout que seulement 12% des études ont mesuré des anticorps neutralisants.³⁴ D'où l'intérêt de l'analyse principale basée sur les études épidémiologiques d'observation ayant évalué la protection contre la rougeole selon l'âge à la première dose.

Dans la plupart des publications qui ont rapporté des mesures stratifiées pour l'âge à la vaccination, ces mesures n'étaient pas ajustées pour des facteurs confondants potentiels. Donc, nos estimations sommaires sont basées sur des mesures brutes. Les études observationnelles sur la protection vaccinale pourraient avoir de la confusion résiduelle. Le temps depuis la vaccination pourrait jouer un rôle dans la protection contre la rougeole. Ce facteur pourrait aussi être associé à l'âge à la vaccination par une cause commune, comme la cohorte de naissance. Cependant, le temps depuis la vaccination était associé à la protection dans seulement 33% des 18 études incluses dans notre revue qui l'ont évalué.¹⁰ Les études d'immunogénicité seraient moins affectées par la confusion compte tenu du devis expérimental, car l'exposition des participants a été contrôlée par les chercheurs (de façon aléatoire ou non).

Nous ne pouvons pas exclure un possible biais de publication dans la section portant sur la protection conférée par deux doses. Seulement six études ont porté sur ce sujet et les catégories d'âge n'étaient pas comparables. Cela a empêché la construction d'un graphique en entonnoir pour clarifier cette question.

En conclusion, à la lumière des forces et limites, nous sommes confiants de nos résultats sur l'effet de l'âge à la vaccination sur la protection et l'immunogénicité des enfants vaccinés avec une dose dans un contexte de mères qui ont fait la maladie. Nos conclusions par rapport aux vaccinés avec deux doses et aux enfants nés de mères vaccinées sont beaucoup moins solides.

6.2.2 Études 2 et 3 : Effet de l'âge et du type de vaccin sur l'immunogénicité et rôle des manifestations cliniques indésirables

Les deuxième et troisième études utilisent les données d'immunogénicité et réactogénicité de plus de 5000 enfants ayant participé à des essais cliniques randomisés. À notre connaissance, notre publication est la plus grande étude immunologique qui a examiné l'effet de l'âge sur l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole, ce qui nous a permis d'analyser en détail plusieurs catégories d'âge. En plus, l'échantillon d'enfants nés entre 2003 et 2009 et recrutés en Europe et aux États-Unis, est vraisemblablement représentatif des cohortes de naissance actuelles dans les pays développés ayant éliminé ou avec une faible transmission de rougeole, comme le Canada.

Une autre force de nos études est le fait que les données ont été recueillies dans le cadre d'essais cliniques randomisés. Leur devis expérimental permet d'assurer la qualité, la

standardisation et l'exhaustivité de la collecte d'informations, ce qui est confirmé par le minimum de données manquantes. Ainsi, les parents ont reçu des instructions pour signaler la température quotidienne et toute éruption survenant au cours de la période post-vaccinale. La collecte systématique des données sur les manifestations cliniques indésirables est beaucoup plus exhaustive que celle obtenue sur la base de consultations spontanées.¹⁵ Elle permet de détecter la grande majorité des épisodes et d'éviter le possible biais de sélection lié aux habitudes de consultation, qui pourraient être différentes selon l'âge des enfants.

L'analyse de médiation de la fièvre a été faite avec une approche qui a une bonne robustesse méthodologique. Elle est basée sur les définitions contrefactuelles de l'effet direct et l'effet indirect, l'inclusion des termes d'interaction et l'identification des facteurs de confusion potentiels entre l'exposition et l'issue et entre le médiateur et l'issue.¹⁸¹ Nous avons défini un modèle causal, dans lequel la fièvre serait un proxy de la réponse immunitaire déterminant la production d'anticorps. Les associations causales représentées dans le modèle sont basées sur les connaissances actuelles sur le rôle de la fièvre dans les infections virales²⁸⁵ et la relation temporelle entre la fièvre et l'apparition des anticorps après la vaccination.

Dans les limites, il faut d'abord signaler celles qui sont associées à l'analyse secondaire de données. Les participants ont été randomisés pour recevoir différents vaccins combinés, donc l'étude est observationnelle pour l'analyse de l'effet de l'âge. Le nombre d'enfants vaccinés à chaque âge a été différent. Nous avons regroupé les participants pour avoir des catégories d'âge de tailles similaires, tout en représentant les âges proposés dans les calendriers de vaccination.^{110,111,113} Cependant, la taille du groupe de 11 mois était plus petite et la dernière catégorie regroupait des enfants de 15 à 22 mois, limitant notre capacité pour évaluer en profondeur l'effet de l'âge à exactement 15 mois et au-delà de 15 mois.

Une autre limite des analyses secondaires est l'absence d'informations concernant certaines covariables. Dans notre cas, nous n'avions pas d'information sur le statut vaccinal de la mère, ce qui aurait été très utile pour confirmer le contexte immuno-épidémiologique des enfants participants. Ce contexte a été déduit à partir de l'année de recrutement des enfants, l'année d'introduction du programme vaccinal contre la rougeole dans chaque pays, l'âge moyen à la maternité et le faible pourcentage d'enfants ayant des anticorps maternels dans notre échantillon. Sur cette base, nous avons déduit qu'il s'agissait d'enfants très probablement nés de mères vaccinées.

Il semble improbable qu'un biais de sélection ait affecté nos résultats. Même si l'âge des enfants avait pu influencer les parents dans leur décision de participer à l'étude, la participation ne devrait pas être associée à la réponse immunologique. Par ailleurs, moins de 5% des enfants recrutés ont été perdus de vue au moment de la deuxième vaccination. Nous avons pris en compte l'impact potentiel des pertes de suivi après 2 et 3 ans (21% et 42% respectivement) en utilisant une pondération par la probabilité inverse de censure.¹⁷⁵ Les résultats ont été très similaires aux estimations sans pondération, ce qui suggère que les pertes de suivi n'étaient pas une source importante de biais.

L'utilisation des données d'immunogénicité comme mesure indirecte de protection limite l'interprétation clinique de nos résultats, car le titre d'anticorps n'est pas un corrélat parfait de la protection contre la rougeole.⁸ La survenue de la maladie chez une personne vaccinée représente un échec vaccinal. Au niveau immunologique, un échec vaccinal primaire est défini par une absence de séroconversion après la vaccination, tandis qu'un échec secondaire correspond à la survenue de la maladie chez un individu qui avait initialement répondu à la vaccination. Ces définitions dépendent de la sensibilité et spécificité du test utilisé, du seuil de protection défini et du temps écoulé entre la vaccination et la détermination des anticorps. Le test ELISA utilisé dans notre étude a un seuil de séropositivité établi par le fabricant de 150 UI/mL. Avec ce seuil, le test a une sensibilité de 100% et une spécificité de 90,7% pour détecter une concentration d'anticorps neutralisants de 1:120.³⁸ Cependant l'étude de Chen et al montrait que les étudiants ayant un titre entre 1:120 et 1:1052 étaient à risque de faire une rougeole atténuée.³⁵ Donc, parmi les enfants séropositifs avec ELISA, certains ne seront pas complètement protégés contre la maladie, et cela même avant de considérer le déclin progressif des titres avec le temps. Un titre d'anticorps neutralisants >1:120 est considéré comme protecteur contre la rougeole classique,⁸ mais il n'existe pas de consensus sur le seuil d'anticorps (PRN ou ELISA) qui correspond à une protection totale. La proportion d'échecs secondaires augmenterait avec le temps depuis la vaccination, mais le suivi à 3 ans n'a pas permis d'estimer directement la vulnérabilité à long terme. Nous avons estimé indirectement cette vulnérabilité à partir de la proportion de participants ayant un faible titre d'anticorps, mais cette approche n'a pas été validée.

Il y a des limites associées aux mesures des manifestations cliniques indésirables. Les parents étaient responsables de prendre la température, ce qui pourrait avoir entraîné des problèmes de fidélité dans la mesure. Cependant, nous considérons que les erreurs ne seront pas très importantes car les chercheurs donnaient un thermomètre et des instructions au moment du

recrutement. Comme décrit dans la section méthodologique (2.3.5), la période à risque de fièvre liée à la vaccination et le seuil de température pour définir la fièvre post-immunisation ont été choisis selon la littérature. Pendant la période à risque (jours 4 à 11), il est probable que de 1 à 2% des enfants fébriles aient développé un épisode de fièvre non lié à la vaccination, comme observé pendant les jours 0 à 3 et 12 à 15, qui servaient de jours témoins. Ce petit pourcentage de fièvre non causée par le vaccin aurait l'effet de sous-estimer très légèrement son association avec le type de vaccin, l'âge et l'immunogénicité.

La deuxième manifestation clinique systémique examinée a été l'éruption cutanée. Elle a été définie par les chercheurs comme d'allure rougeoleuse/rubéoleuse et liée ou non à la vaccination. Déjà, la définition impliquait une erreur de classification par rapport à l'événement indésirable d'intérêt, soit, l'éruption causée par le vaccin contre la rougeole. Cette erreur aurait comme conséquence une probable sous-estimation de l'association entre le rash et le titre d'anticorps.²⁹⁴ Son impact pourrait être important à cause de la faible fréquence d'éruption, ce qui limite l'interprétation des résultats par rapport à l'éruption cutanée suivant la vaccination contre la rougeole.

Les principaux facteurs de confusion identifiés dans notre cadre conceptuel étaient : le type de vaccin combiné, la race et le pays. La race n'a pas été incluse dans le modèle car c'était une population composée principalement de Caucasiens. Comme mentionné dans la section méthodologique, le pays n'a pu être inclus dans le modèle log-binomial qui a évalué le RR de séronégativité après deux doses. Pour estimer l'impact du biais de confusion résiduel, nous avons utilisé les résultats après la première dose. Par rapport au modèle ajusté pour le type de vaccin, l'étude et le pays, le modèle sans ajustement pour le pays surestimait de 8% le RR pour le contraste d'âge de 11 versus 12 mois et sous-estimait de 9% et 17% les comparaisons des 13-14 et 15-22 mois versus 12 mois. Malgré ces différences, la direction de l'association et les conclusions étaient similaires pour les deux modèles.

Par ailleurs, l'utilisation d'un proxy comme variable intermédiaire dans l'analyse de médiation implique qu'elle doit avoir une forte corrélation avec le vrai médiateur. Cependant, dans le cadre de notre projet, nous n'avons pas eu le moyen de vérifier cette association, car les mécanismes immunitaires précis à l'origine de la fièvre ou des éruptions cutanées sont mal connus.

Enfin, le fait d'avoir utilisé les essais randomisés rendus disponibles par GSK, limite la validité externe à l'intervention évaluée et à la population sélectionnée. Presque tous les participants

ont reçu le vaccin contre la rougeole contenant la souche Schwarz. Cette dernière a une séquence génomique identique à la souche Moraten,²⁹ et des associations similaires à celles observées pour la souche Schwarz seront donc attendues. Cependant, d'autres souches comme Edmonston-Zagreb, pourraient donner des réponses immunitaires différentes.^{86,114,115} Par rapport aux participants, notre échantillon était limité à une population majoritairement caucasienne européenne et nord-américaine. Des études incluant des enfants d'autres races, notamment de race noire, seraient nécessaires pour valider nos observations.¹²² Nos résultats ne peuvent pas être généralisés directement aux pays en développement et ceux qui ont une transmission continue de la rougeole. En plus de la différence de population, nous n'avons pas évalué le calendrier vaccinal débutant à 9 mois, qui est actuellement recommandé dans les pays avec une transmission continue.⁴²

6.3 Interprétation des résultats et retombées

Au Québec, où la couverture vaccinale à une et deux doses était de 97% et 89%, l'épidémie de 2011 a soulevé la question de l'âge optimal auquel devraient être administrées les deux doses de vaccin contre la rougeole pour maximiser la protection à long terme des jeunes et maintenir l'élimination.²⁹⁵

Dans les pays l'ayant éliminé ou avec une faible transmission de la rougeole et avec une couverture vaccinale globale élevée, comme le Canada, les États-Unis et certains pays européens, des épidémies de rougeole sont la conséquence de la transmission survenant suite à des cas importés. La distribution et les caractéristiques des cas vaccinés et non vaccinés lors de ces épidémies sont importantes pour discuter des implications des différents calendriers vaccinaux.

Au Canada, 78% des 1171 cas confirmés entre 2002 et 2013 n'avaient reçu aucune dose du vaccin contre la rougeole.²² Similairement, 86% des cas rapportés aux États-Unis entre 2001 et 2014 étaient survenus chez des non vaccinés.²⁹⁶ En Europe, des épidémies décrites dans les derniers dix ans rapportent aussi de 80% à 94% de cas non vaccinés. Une grande partie des chaînes de transmission décrites sont survenues auprès de communautés non vaccinées pour des raisons idéologiques ou religieuses.^{289,297-301} Les individus qui partagent des croyances ou des pratiques anti-vaccinales restent souvent regroupés et ont fréquemment des contacts entre eux, ce qui facilite la transmission du virus.³⁰² Des changements au calendrier vaccinal n'auront aucun impact direct sur les épidémies dans ces communautés non-vaccinées.

Quand les épidémies touchent la population générale, les enfants trop jeunes pour être vaccinés seront à risque de rougeole lorsque les anticorps maternels disparaissent. Dans le contexte actuel de mères vaccinées, on s'attend à une vulnérabilité plus précoce due à la diminution des anticorps transférés pendant la grossesse.¹³ Au Canada (2002 à 2013) et aux États-Unis (2001 à 2014), 1,3% et 9,2% des cas avaient moins d'un an d'âge et 5,6% des cas américains avaient entre 12 et 15 mois.^{22,23} Le pourcentage de cas survenus chez des nourrissons avant l'âge recommandé à la première vaccination varie fortement entre les épidémies européennes, de 2,6% des enfants de moins d'un an en Suisse entre 2006 et 2009 (n=4391)²⁸⁸ à 27,4% des cas âgés de moins de 15 mois, incluant 3,5% entre 12 et 15 mois, observés dans une épidémie en Espagne en 2011-2012 (n=789).³⁰¹ Il faut souligner que ces données représentent la totalité des cas avant l'âge de début du calendrier vaccinal, y compris les enfants qui appartiennent aux familles refusant la vaccination. Un changement de l'âge à la vaccination de 12 à 15 mois augmenterait le risque de faire la maladie entre 12 et 15 mois seulement chez les enfants dont les parents prévoient de les faire vacciner selon le calendrier, tandis que la vulnérabilité des nourrissons de moins de 12 mois et des enfants dont les parents refusent la vaccination restera inchangée. De fait, le risque des nourrissons non vaccinés pourrait être réduit si l'augmentation de l'âge à la première dose améliore l'immunité de groupe. Notre recherche montre qu'il y aurait une augmentation potentielle de 3% à 5% de l'immunité de chaque cohorte vaccinée à 15 mois versus 12 mois. Même si cette augmentation semble petite, des études de modélisation ont signalé que des changements relativement mineurs dans l'immunité de la population (1% ou 2%) peuvent avoir un impact substantiel sur la transmissibilité et le nombre attendu de cas de rougeole.^{303,304} Néanmoins, dans le but de bien évaluer l'impact de un changement d'âge à la vaccination de 12 à 15 mois, il faudra considérer non seulement les cas de rougeole prévenus par la vaccination à 12 mois, mais aussi la fréquence et la gravité des complications chez les nourrissons.

Selon les données épidémiologiques du Canada et des États-Unis, 21,8% et 14,2% des cas étaient vaccinés.^{22,296} Dans les pays européens qui ont récemment eu des périodes de transmission de la rougeole, les échecs vaccinaux ont représenté entre 6,6% et 19,7% de tous les cas.^{236,288,305} Même si les programmes de ces pays incluent deux doses de vaccin, au Canada 10,3% des cas avaient reçu une dose,²² tandis que dans les épidémies décrites aux États-Unis et en Europe, entre 4,5% et 15,8% des cas sont survenus chez des individus vaccinés avec une seule dose.^{235,288-291,298,300,301,306-309} Il est donc important de maximiser la réponse immunitaire à la première dose du vaccin contre la rougeole. Selon les résultats de

notre étude immunitaire, les échecs primaires pourraient être deux fois plus fréquents (de 3,3% à 1,6%) avec une dose du vaccin de RRO donnée à 12 mois versus 15 mois. Un changement dans le calendrier pourrait donc diminuer le nombre total de cas de rougeole dans des pays avec une couverture vaccinale élevée comme le Canada, et cela même dans les nouvelles cohortes nées de mères vaccinées.

Les personnes vaccinées avec deux doses semblent avoir une très bonne protection et constituent entre 0% et 3% des cas affectés dans la plupart des épidémies.^{235,288-291,298,301,306,309}

Cependant, quelques enquêtes épidémiologiques ont décrit une proportion plus élevée d'échecs vaccinaux chez ceux ayant reçu 2 doses. Dans l'épidémie de 2011 au Québec, 16,2% des cas avec un statut vaccinal connu étaient vaccinés avec deux doses.²³⁴ De même, 13,4% des cas dans l'épidémie de 2012-2013 dans le Grand Manchester, Royaume-Uni et 4,7% des 18.434 cas de la grande épidémie qui a touché la France de 2008 à 2011 avaient reçu deux doses.^{236,310} Les cas observés dans l'épidémie de Québec, et probablement aussi ceux des épidémies européennes survenues dans les mêmes années, étaient principalement nés de mères ayant fait la rougeole. Notre recherche montre que, malgré la rareté des échecs primaires après deux doses chez des enfants nés de mères vaccinées (environ 1%), l'effet de la deuxième dose pourrait être temporaire chez les enfants qui n'ont pas bien répondu à la première dose. En conséquence, le risque d'échec secondaire diminuerait aussi une vaccination débutée à 15 plutôt qu'à 12 mois.

Un changement dans le calendrier vaccinal avec un retard de l'âge à la première vaccination et/ou avec l'utilisation du RROV comme première dose induirait un gain marginal de protection, avec une augmentation probable de 2% à 5% de l'immunité par cohorte vaccinée. Cela pourrait avoir de l'importance dans les pays en élimination et donc sans contact avec le virus, où le déclin progressif du titre d'anticorps est bien documenté.⁶⁹ Par ailleurs, la taille des épidémies suite aux importations pourrait être sensible à de petits changements de l'immunité de la population.³⁰³

Après l'épidémie du Québec en 2011, plus de 80.000 doses ont été administrées lors d'une vaste campagne de vaccination scolaire organisée pour prévenir de futures flambées. Malgré l'effort colossal requis par cette campagne, cette dernière n'a permis d'augmenter l'immunité contre la rougeole que de 1,7% dans l'ensemble de la population scolaire.³¹¹ Dans le but de prévenir des épidémies importantes, la modification du calendrier vaccinal semble un moyen plus efficient et plus rentable pour augmenter l'immunité de la population.

Actuellement, le calendrier recommandé au Québec pour la vaccination contre la rougeole est une première dose du RRO à 12 mois et une deuxième dose du RROV à 18 mois.¹¹² La première dose est administrée à l'âge de 12 mois depuis l'introduction du vaccin en 1970. À partir de 1996, une deuxième dose du vaccin RRO à 18 mois a été introduite au Québec. En 2006, une dose du vaccin contre la varicelle a été ajoutée. Elle était administrée à 12 mois, en même temps que la première dose du RRO. Les deux vaccins ont été remplacés par le RROV en 2008.³¹² En 2013, le RRO et le RROV ont été permutés afin de réduire le risque de convulsions fébriles liées au vaccin RROV quand il est administré comme première dose. À partir de ce moment, le vaccin RRO a été utilisé à l'âge de 12 mois et le RROV à 18 mois.³¹³ Dans notre étude, aucun enfant n'a reçu le vaccin RRO suivi par le RROV. Cependant, nous avons montré que la réponse immunitaire à la première dose déterminera la réponse aux doses suivantes. On peut donc en déduire que le RROV utilisé comme deuxième dose n'a pas permis d'augmenter la réponse immunitaire contre la rougeole. Pour maximiser l'immunité contre la rougeole nous devrions soit augmenter l'âge à la première vaccination, soit commencer la vaccination avec le RROV ou combiner les deux changements. Depuis 2016, une deuxième dose de vaccine contre la varicelle a été ajoutée au calendrier. Elle est maintenant administrée à 4-6 ans, ce qui a permis le rattrapage des enfants nés depuis 2009.³¹⁴ Nous pourrions donc proposer les calendriers suivants selon le type du vaccin combiné et l'âge à la première et deuxième dose :

- a) RROV à 15 mois et RROV à 4-6 ans (entrée scolaire)
- b) RRO+V à 15 mois et RROV à 4-6 ans (entrée scolaire)
- c) RROV à 12 mois et RROV à 18 mois

Selon nos résultats, la première option donnerait l'immunogénicité du vaccin la plus élevée. Le début de la vaccination à 15 mois signifie que les enfants entre 12 et 15 mois ne seront pas protégés. Leur risque absolu serait faible dans les pays ayant éliminé la rougeole, mais le fardeau de la maladie devrait être quantifié en considérant aussi la proportion accrue de rougeole à forme sévère chez les nourrissons.²⁰ L'utilisation du vaccin RROV comme première dose au lieu de l'administration séparée des vaccins RRO et varicelle, aura comme conséquence une augmentation des manifestations cliniques indésirables, notamment la fièvre et les convulsions fébriles. Leur fréquence sera aussi plus élevée en débutant avec le RROV à 15 mois par rapport à la vaccination avec RROV à 12 mois.^{15,155} Finalement, avant de mettre en place un changement dans le calendrier vaccinal, il est primordial d'évaluer son impact potentiel sur la couverture vaccinale. Au Québec le vaccin contre la diphtérie, la coqueluche, le tétanos

et le polio est administré à l'entrée scolaire, mais aucun vaccin n'est donné à 15 mois. Le suivi de la couverture vaccinale sera donc indispensable si les moments d'administration des vaccins sont modifiés. Le calendrier avec RROV à 12 et 18 mois permettra de garder les visites pédiatriques actuelles, d'augmenter l'immunité contre la rougeole et de protéger les enfants de 12 à 18 mois également contre la varicelle.

Le choix du calendrier doit prendre en compte l'augmentation de l'immunité de la population selon l'âge et le type du vaccin, le risque des enfants de 12 à 15 mois, et la tolérance par les cliniciens et les parents de l'augmentation de la fièvre et les convulsions fébriles post-vaccinales. Le rôle de la fièvre comme prédicteur d'une réponse immunitaire accrue pourrait faciliter l'acceptation de cette manifestation clinique indésirable. Il faut souligner que, même si le risque relatif de convulsions fébriles est deux fois plus élevé pour le RROV en comparaison aux vaccins RRO et varicelle, l'augmentation absolue du risque serait faible, à savoir d'une convulsion fébrile additionnelle pour 2600 enfants vaccinés.¹⁴⁸ En plus du faible risque absolu de convulsions fébriles, la survenue de celles-ci est généralement bénigne.³¹⁵ En outre, il faudra assurer la faisabilité du calendrier à 15 mois en fonction d'autres vaccins et des visites pédiatriques programmées, et s'assurer que la couverture vaccinale de la vaccination à 4-6 ans soit aussi élevée que celle de 18 mois. Des pays européens où la première dose du vaccin contre la rougeole est donnée à 15 mois ou même à 18 mois montrent qu'il est possible d'adapter le calendrier pédiatrique de vaccination.¹¹³

Les résultats de ce projet de recherche suggèrent donc qu'on pourrait améliorer l'immunité de la population en augmentant l'âge à la première dose ou en utilisant le RROV comme première dose, ce qui pourrait contribuer à contrôler la propagation des cas importés et à maintenir l'élimination de cette maladie.

6.4 Orientations futures

Notre recherche va dans le même sens que les observations faites au cours de l'épidémie au Québec en 2011, montrant une meilleure protection lorsque la première dose de vaccin est donnée à 15 mois plutôt qu'à 12 mois.^{11,274} Les futures enquêtes lors d'épidémies de rougeole devraient analyser l'effet de l'âge à la première dose chez les jeunes ayant reçu deux doses de vaccin et nés de mères vaccinées pour confirmer la généralisation de nos résultats et quantifier l'impact de l'âge dans les différents contextes épidémiologiques. Il serait d'un grand intérêt d'examiner l'effet de l'âge sur la protection dans les pays en voie de développement où la première dose est recommandée à l'âge de 9 mois.

Le cours de la maladie semble être moins sévère chez les cas vaccinés, principalement parmi les personnes ayant reçu deux doses.^{48,78,81} Dans un contexte d'élimination, l'importance épidémiologique des cas ayant reçu deux doses est donc surtout liée à leur contribution à la transmission. Cette capacité à transmettre la rougeole pourrait varier selon qu'il s'agisse d'un échec vaccinal primaire ou secondaire. Nous manquons de données pour le confirmer mais certains éléments peuvent permettre de l'explorer. Il est actuellement possible de distinguer le type d'échec vaccinal grâce aux tests d'avidité des anticorps.⁷⁶ Des analyses des chaînes de transmission en fonction du statut vaccinal pourraient donner une meilleure compréhension sur la capacité de transmettre des cas vaccinés.

Alors que certains travaux de modélisation mathématique assument que l'immunogénicité du vaccin contre la rougeole est indépendante de l'âge à la vaccination en l'absence d'anticorps maternels,³¹⁶ nos résultats indiquent qu'il faut tenir compte de l'âge à la première vaccination dans l'estimation de la protection conférée par le vaccin. La modélisation peut permettre de quantifier les risques, mesurés par le nombre et la sévérité des cas avant l'âge à la vaccination, et les avantages, en termes de taille attendue des épidémies, de chacun des calendriers proposés. Elle devrait inclure des données sur la couverture vaccinale et le mélange hétérogène de la population pour chaque milieu. Cette évaluation permettra aux autorités de santé publique de décider des meilleures stratégies pour atteindre ou maintenir l'élimination de la rougeole. Une évaluation supplémentaire sur le coût-efficacité de chacun des calendriers donnerait des informations additionnelles utiles pour la prise de décision.

Bibliographie

1. Andrus JK, de Quadros CA, Castillo Solórzano C, Roses Periago M, Henderson DA. Measles and rubella eradication in the Americas. *Vaccine* 2011; **29**(SUPPL. 4): D91-D6.
2. Moss WJ, Griffin DE. Measles. *Lancet* 2012; **379**(9811): 153-64.
3. Patel MK, Gacic-Dobo M, Strebel PM, et al. Progress Toward Regional Measles Elimination - Worldwide, 2000-2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2016; **65**(44): 1228-33.
4. Gay NJ. The theory of measles elimination: implications for the design of elimination strategies. *The Journal of infectious diseases* 2004; **189** Suppl 1: S27-35.
5. World Health Organization. Global measles and rubella strategic plan. 2012-2020. 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44855/1/9789241503396_eng.pdf.
6. Ma SJ, Li X, Xiong YQ, Yao AL, Chen Q. Combination Measles-Mumps-Rubella-Varicella Vaccine in Healthy Children: A Systematic Review and Meta-analysis of Immunogenicity and Safety. *Medicine* 2015; **94**(44): e1721.
7. Haralambieva IH, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Richard B. The genetic basis for interindividual immune response variation to measles vaccine: new understanding and new vaccine approaches. *Expert Rev Vaccines* 2013; **12**(1): 57-70.
8. Moss W, Scott S. The Immunological Basis for Immunization Series. Module 7: Measles. Update 2009. 2009. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44038/1/9789241597555_eng.pdf (accessed 20 May 2016).
9. Gans H, Yasukawa L, Rinki M, et al. Immune responses to measles and mumps vaccination of infants at 6, 9, and 12 months. *The Journal of infectious diseases* 2001; **184**: 817-26.
10. Strebel PM, Papania MJ, Fiebelkorn AP, Halsey N. Measles vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines*. 6th ed. China: Elsevier Saunders; 2013.
11. Defay F, De Serres G, Skowronski DM, et al. Measles in children vaccinated with 2 doses of MMR. *Pediatrics* 2013; **132**(5): e1126-33.
12. Poethko-Muller C, Mankertz A. Sero-epidemiology of measles-specific IgG antibodies and predictive factors for low or missing titres in a German population-based cross-sectional study in children and adolescents (KiGGS). *Vaccine* 2011; **29**(45): 7949-59.
13. Leuridan E, Hens N, Hutse V, Ieven M, Aerts M, Van Damme P. Early waning of maternal measles antibodies in era of measles elimination: longitudinal study. *BMJ* 2010; **340**: c1626.
14. Kuter BJ, Brown MLH, Hartzel J, et al. Safety and immunogenicity of a combination measles, mumps, rubella and varicella vaccine (ProQuad (R)). *Hum Vaccin* 2006; **2**(5): 205-14.
15. Rowhani-Rahbar A, Fireman B, Lewis E, et al. Effect of age on the risk of Fever and seizures following immunization with measles-containing vaccines in children. *JAMA Pediatr* 2013; **167**(12): 1111-7.
16. Lessler J, Reich NG, Brookmeyer R, Perl TM, Nelson KE, Cummings DA. Incubation periods of acute respiratory viral infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2009; **9**(5): 291-300.
17. Edmonson MB, Addiss DG, McPherson JT, Berg JL, Circo SR, Davis JP. Mild measles and secondary vaccine failure during a sustained outbreak in a highly vaccinated population. *Jama* 1990; **263**(18): 2467-71.
18. Aaby P, Bukh J, Leerhoy J, Lisse IM, Mordhorst CH, Pedersen IR. Vaccinated children get milder measles infection: a community study from Guinea-Bissau. *The Journal of infectious diseases* 1986; **154**: 858-63.
19. World Health Organization. WHO | Measles. 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/>.

20. Centers for Disease Control and Prevention. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. 13th ed. Washington D.C.: Public Health Foundation; 2015.
21. Dabbagh A, Patel MK, Dumolard L, et al. Progress Toward Regional Measles Elimination - Worldwide, 2000-2016. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2017; **66**(42): 1148-53.
22. De Serres G, Desai S, Shane A, Hiebert J, Ouakki M, Severini A. Measles in Canada Between 2002 and 2013. *Open forum infectious diseases* 2015; **2**(2): ofv048.
23. Fiebelkorn AP, Redd SB, Gastanaduy PA, et al. A Comparison of Postelimination Measles Epidemiology in the United States, 2009-2014 Versus 2001-2008. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2017; **6**: 40-8.
24. Lemos DR, Franco AR, de Sa Roriz ML, et al. Measles epidemic in Brazil in the post-elimination period: Coordinated response and containment strategies. *Vaccine* 2017; **35**(13): 1721-8.
25. World Health Organization. Fifth meeting of the European regional verification commission for measles and rubella elimination (RCV). October 2016 2017. http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/330917/5th-RVC-meeting-report.pdf?ua=1 (accessed 20/11/2017).
26. Dowdle WR. The principles of disease elimination and eradication. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 1999; **48**(SU01): 23-7.
27. Horsburgh CR, Mahon BE. Infectious Disease Epidemiology. In: Rothman KJ, Greenland S, Lash TL, eds. *Modern Epidemiology*. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008: 549-63.
28. Guerra FM, Bolotin S, Lim G, et al. The basic reproduction number (R0) of measles: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2017; **17**(12): e420-e8.
29. Bankamp B, Takeda M, Zhang Y, Xu W, Rota PA. Genetic characterization of measles vaccine strains. *The Journal of infectious diseases* 2011; **204**(Suppl 1): S533-48.
30. Orenstein WA, Bernier RH, Dondero TJ, et al. Field evaluation of vaccine efficacy. *Bulletin of the World Health Organization* 1985; **63**(6): 1055-68.
31. Uzicanin A, Zimmerman L. Field effectiveness of live attenuated measles-containing vaccines: a review of published literature. *The Journal of infectious diseases* 2011; **204** Suppl 1(Suppl 1): S133-48.
32. Griffin DE. The Immune Response in Measles: Virus Control, Clearance and Protective Immunity. *Viruses* 2016; **8**(10).
33. Dhiman N, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, et al. Correlates of lymphoproliferative responses to measles, mumps, and rubella (MMR) virus vaccines following MMR-II vaccination in healthy children. *Clinical Immunology* 2005; **115**(2): 154-61.
34. Albrecht P, Herrmann K, Burns GR. Role of virus strain in conventional and enhanced measles plaque neutralization test. *J Virol Methods* 1981; **3**(5): 251-60.
35. Chen RT, Markowitz LE, Albrecht P, et al. Measles antibody: reevaluation of protective titers. *The Journal of infectious diseases* 1990; **162**: 1036-42.
36. Lee MS, Nokes DJ, Hsu M, Lu CF. Protective titres of measles neutralising antibody. *Journal of Medical Virology* 2000; **62**(4): 511-7.
37. Ward BJ, Boulianne N, Ratnam S, Guiot MC, Couillard M, De Serres G. Cellular immunity in measles vaccine failure: demonstration of measles antigen-specific lymphoproliferative responses despite limited serum antibody production after revaccination. *The Journal of infectious diseases* 1995; **172**: 1591-5.
38. Ratnam S, Gadag V, West R, et al. Comparison of commercial enzyme immunoassay kits with plaque reduction neutralization test for detection of measles virus antibody. *J Clin Microbiol* 1995; **33**: 811-5.
39. Neumann PW, Weber JM, Jessamine aG, O'Shaughnessy MV. Comparison of measles antihemolysin test, enzyme-linked immunosorbent assay, and hemagglutination inhibition test

with neutralization test for determination of immune status. *Journal of clinical microbiology* 1985; **22**(2): 296-8.

40. Cohen BJ, Parry RP, Doblaz D, et al. Measles immunity testing: Comparison of two measles IgG ELISAs with plaque reduction neutralisation assay. *Journal of Virological Methods* 2006; **131**(2): 209-12.

41. de Souza VA, Pannuti CS, Sumita LM, Albrecht P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measles antibody. A comparison with haemagglutination inhibition, immunofluorescence and plaque neutralization tests. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1991; **33**(1): 32-6.

42. World Health Organization. Measles vaccines: WHO position paper, April 2017 - Recommendations. *Vaccine* 2017.

43. Christenson B, Böttiger M. Measles antibody: comparison of long-term vaccination titres, early vaccination titres and naturally acquired immunity to and booster effects on the measles virus. *Vaccine* 1994; **12**(2): 129-33.

44. Markowitz LE, Albrecht P, Orenstein WA, Lett SM, Pugliese TJ, Farrell D. Persistence of measles antibody after revaccination. *The Journal of infectious diseases* 1992; **166**: 205-8.

45. Cohn ML, Robinson ED, Faerber M, et al. Measles vaccine failures: lack of sustained measles-specific immunoglobulin G responses in revaccinated adolescents and young adults. *The Pediatric infectious disease journal* 1994; **13**(1): 34-8.

46. Stetler HC, Orenstein WA, Bernier RH, Herrmann KL. Impact of revaccinating children who initially received measles vaccine before 10 months of age. *Pediatrics* 1986; **77**: 471-6.

47. Dine MS, Hutchins SS, Thomas A, Williams I, Bellini WJ, Redd SC. Persistence of vaccine-induced antibody to measles 26-33 years after vaccination. *Journal of Infectious Diseases* 2004; **189**: S123-S30.

48. Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Rota PA, Mercader S, Bellini WJ. Two case studies of modified measles in vaccinated physicians exposed to primary measles cases: high risk of infection but low risk of transmission. *The Journal of infectious diseases* 2011; **204** Suppl 1: S559-63.

49. Panum P. Observations Made During the Epidemic of Measles on the Faroe Islands in the Year 1846. New York: American Public Health Association; 1940.

50. Amanna IJ, Carlson NE, Slifka MK. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. *New England Journal of Medicine* 2007; **357**(19): 1903-15.

51. Krugman S. Further-attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Reviews of infectious diseases* 1983; **5**(3): 477-81.

52. Hull HF, Montes JM, Hays PC, Lucero RL. Risk factors for measles vaccine failure among immunized students. *Pediatrics* 1985; **76**(4): 518-23.

53. Hersh BS, Markowitz LE, Hoffman RE, et al. A measles outbreak at a college with a prematriculation immunization requirement. *American journal of public health* 1991; **81**(3): 360-4.

54. Hennessey KA, Ion-Nedelcu N, Craciun MD, Toma F, Wattigney W, Strebel PM. Measles epidemic in Romania, 1996-1998: assessment of vaccine effectiveness by case-control and cohort studies. *American journal of epidemiology* 1999; **150**(11): 1250-7.

55. Nkowane BM, Bart SW, Orenstein WA, Baltier M. Measles Outbreak in a Vaccinated School Population - Epidemiology, Chains of Transmission and the Role of Vaccine Failures. *American journal of public health* 1987; **77**(4): 434-8.

56. Hutchins SS, Markowitz LE, Mead P, et al. A school-based measles outbreak: The effect of a selective revaccination policy and risk factors for vaccine failure. *American journal of epidemiology* 1990; **132**(1): 157-68.

57. Davis RM, Whitman ED, Orenstein WA, Preblud SR, Markowitz LE, Hinman AR. A persistent outbreak of measles despite appropriate prevention and control measures. *American journal of epidemiology* 1987; **126**(3): 438-49.

58. Robertson SE, Markowitz LE, Berry DA, Dini EF, Orenstein WA. A million dollar measles outbreak: epidemiology, risk factors, and a selective revaccination strategy. *Public health reports (Washington, DC : 1974)* 1992; **107**(1): 24-31.
59. Sutcliffe PA, Rea E. Outbreak of measles in a highly vaccinated secondary school population. *Canadian Medical Association Journal* 1996; **155**(10): 1407-13.
60. Markowitz LE, Preblud SR, Fine PE, Orenstein WA. Duration of live measles vaccine-induced immunity. *The Pediatric infectious disease journal* 1990; **9**: 101-10.
61. Reyes MA, de Borrero MF, Roa J, Bergonzoli G, Saravia NG. Measles vaccine failure after documented seroconversion. *The Pediatric infectious disease journal* 1987; **6**(9): 848-51.
62. Mathias RG, Meekison WG, Arcand TA, Schechter MT. The role of secondary vaccine failures in measles outbreaks. *American journal of public health* 1989; **79**(4): 475-8.
63. Hirose M, Hidaka Y, Miyazaki C, Ueda K, Yoshikawa H. Five cases of measles secondary vaccine failure with confirmed seroconversion after live measles vaccination. *Scandinavian journal of infectious diseases* 1997; **29**(2): 187-90.
64. Rosen JB, Rota JS, Hickman CJ, et al. Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2014; **58**(9): 1205-10.
65. Ammari LK, Bell LM, Hodinka RL. Secondary measles vaccine failure in healthcare workers exposed to infected patients. *Infection control and hospital epidemiology* 1993; **14**(2): 81-6.
66. Dai B, Chen ZH, Liu QC, et al. Duration of immunity following immunization with live measles vaccine: 15 years of observation in Zhejiang Province, China. *Bulletin of the World Health Organization* 1991; **69**(4): 415-23.
67. Kremer JR, Schneider F, Muller CP. Waning antibodies in measles and rubella vaccinees - A longitudinal study. *Vaccine* 2006; **24**(14): 2594-601.
68. Davidkin I, Valle M. Vaccine-induced measles virus antibodies after two doses of combined measles, mumps and rubella vaccine: a 12-year follow-up in two cohorts. *Vaccine* 1998; **16**(20): 2052-7.
69. Davidkin I, Jokinen S, Broman M, Leinikki P, Peltola H. Persistence of measles, mumps, and rubella antibodies in an MMR-vaccinated cohort: a 20-year follow-up. *The Journal of infectious diseases* 2008; **197**(7): 950-6.
70. Kontio M, Jokinen S, Paunio M, Peltola H, Davidkin I. Waning antibody levels and avidity: implications for MMR vaccine-induced protection. *The Journal of infectious diseases* 2012; **206**(10): 1542-8.
71. LeBaron CW, Beeler J, Sullivan BJ, et al. Persistence of measles antibodies after 2 doses of measles vaccine in a postelimination environment. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 2007; **161**(3): 294-301.
72. Gonçalves G, Frade J, Nunes C, Mesquita JR, Nascimento MSJ. Persistence of measles antibodies, following changes in the recommended age for the second dose of MMR-vaccine in Portugal. *Vaccine* 2015; **33**(39): 5057-63.
73. He H, Chen E-f, Li Q, et al. Waning immunity to measles in young adults and booster effects of revaccination in secondary school students. *Vaccine* 2013; **31**(3): 533-7.
74. Chen CJ, Lee PI, Hsieh YC, et al. Waning population immunity to measles in Taiwan. *Vaccine* 2012; **30**(47): 6721-7.
75. de Souza VA, Pannuti CS, Sumita LM, de Andrade Junior HF. Enzyme-linked immunosorbent assay-IgG antibody avidity test for single sample serologic evaluation of measles vaccines. *J Med Virol* 1997; **52**(3): 275-9.
76. Mercader S, Garcia P, Bellini WJ. Measles virus IgG avidity assay for use in classification of measles vaccine failure in measles elimination settings. *Clinical and vaccine immunology : CVI* 2012; **19**(11): 1810-7.

77. Sowers SB, Rota JS, Hickman CJ, et al. High Concentrations of Measles Neutralizing Antibodies and High-Avidity Measles IgG Accurately Identify Measles Reinfection Cases. *Clinical and vaccine immunology : CVI* 2016; **23**(8): 707-16.
78. Paunio M, Hedman K, Davidkin I, et al. Secondary measles vaccine failures identified by measurement of IgG avidity: high occurrence among teenagers vaccinated at a young age. *Epidemiology and infection* 2000; **124**(2): 263-71.
79. Pannuti CS, Morello RJ, Moraes JC, et al. Identification of primary and secondary measles vaccine failures by measurement of immunoglobulin G avidity in measles cases during the 1997 Sao Paulo epidemic. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 2004; **11**(1): 119-22.
80. Atrasheuskaya AV, Kulak MV, Neverov AA, Rubin S, Ignatyev GM. Measles cases in highly vaccinated population of Novosibirsk, Russia, 2000-2005. *Vaccine* 2008; **26**(17): 2111-8.
81. Hahne SJ, Nic Lochlainn LM, van Burgel ND, et al. Measles Outbreak Among Previously Immunized Healthcare Workers, the Netherlands, 2014. *The Journal of infectious diseases* 2016; **214**(12): 1980-6.
82. Jones J, Klein R, Popescu S, et al. Lack of Measles Transmission to Susceptible Contacts from a Health Care Worker with Probable Secondary Vaccine Failure - Maricopa County, Arizona, 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2015; **64**(30): 832-3.
83. Dequadros CA. Seroconversion Rates and Measles Antibody-Titers Induced by Measles Vaccination in Latin-American Children 6 to 12 Months of Age. *Reviews of infectious diseases* 1983; **5**(3): 596-605.
84. Youwang Y, Ping W, Feng C. Serological and epidemiological effects and influence factors of primary immunization with current live attenuated measles vaccine (Hu191) among infants aged 6-15 months. *Vaccine* 2001; **19**(15-16): 1998-2005.
85. Gans HA, Yasukawa LL, Alderson A, et al. Humoral and cell-mediated immune responses to an early 2-dose measles vaccination regimen in the United States. *Journal of Infectious Diseases* 2004; **190**(1): 83-90.
86. Garly ML, Bale C, Martins CL, et al. Measles antibody responses after early two dose trials in Guinea-Bissau with Edmonston-Zagreb and Schwarz standard-titre measles vaccine: better antibody increase from booster dose of the Edmonston-Zagreb vaccine. *Vaccine* 2001; **19**(15-16): 1951-9.
87. 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**: 3134-40.
88. Vesikari L, Becker T, Gajdos V, et al. Immunogenicity and safety of a two-dose regimen of a combined measles, mumps, rubella and varicella live vaccine (ProQuad®) in infants from 9 months of age. *Vaccine* 2012; **30**: 3082-9.
89. Redd SC, King GE, Heath JL, Forghani B, Bellini WJ, Markowitz LE. Comparison of vaccination with measles-mumps-rubella vaccine at 9, 12, and 15 months of age. *The Journal of infectious diseases* 2004; **189**(Suppl 1): S116-22.
90. Johnson CE, Darbari A, Darbari DS, et al. Measles vaccine immunogenicity and antibody persistence in 12 vs 15-month old infants. *Vaccine* 2000; **18**(22): 2411-5.
91. Martins CL, Benn CS, Andersen A, et al. A randomized trial of a standard dose of Edmonston-Zagreb measles vaccine given at 4.5 months of age: effect on total hospital admissions. *The Journal of infectious diseases* 2014; **209**(11): 1731-8.
92. He H, Chen E, Chen H, et al. Similar immunogenicity of measles-mumps-rubella (MMR) vaccine administered at 8 months versus 12 months age in children. *Vaccine* 2014; **32**(31): 4001-5.
93. Hull HF, Williams PJ, Oldfield F. Measles mortality and vaccine efficacy in rural West Africa. *Lancet* 1983; **1**(8331): 972-5.

94. Chawla U, Benera SK, Bandyopadhyay S, et al. Field evaluation of measles vaccine efficacy in New Seemapuri, Shahdara Zone-Delhi during 1990. *The Journal of communicable diseases* 1990; **22**(2): 134-9.
95. Rivest P, Bedard L, Arruda H, Trudeau G, Remis RS. Risk factors for measles and vaccine efficacy during an epidemic in Montreal. *Canadian journal of public health = Revue canadienne de sante publique* 1995; **86**(2): 86-90.
96. Murray M, Rasmussen Z. Measles outbreak in a northern Pakistani village: epidemiology and vaccine effectiveness. *American journal of epidemiology* 2000; **151**(8): 811-9.
97. De la Puente ML, Corio R, Alvarez J, Planas C, Isalt R, Marzo M. [An epidemic outbreak of measles in a rural area]. *Atencion primaria / Sociedad Espanola de Medicina de Familia y Comunitaria* 1993; **12**(4): 205-6, 8-10.
98. McIntyre RC, Preblud SR, Polloi A, Korean M. Measles and measles vaccine efficacy in a remote island population. *Bulletin of the World Health Organization* 1982; **60**(5): 767-75.
99. McDonnell LF, Jorm LR, Patel MS. Measles outbreak in western Sydney. Vaccine failure or failure to vaccinate? *The Medical journal of Australia* 1995; **162**(9): 471-5.
100. De Serres G, Sciberras J, Naus M, Boulianne N, Duval B, Rochette L. Protection after two doses of measles vaccine is independent of interval between doses. *The Journal of infectious diseases* 1999; **180**(1): 187-90.
101. Paunio M, Peltola H, Valle M, Davidkin I, Virtanen M, Heinonen OP. Twice vaccinated recipients are better protected against epidemic measles than are single dose recipients of measles containing vaccine. *J Epidemiol Community Health* 1999; **53**(3): 173-8.
102. Martin CM, Manfredonia SJ, Webb NC, Markham FS, Ruegsegger JM. Controlled trial of live measles vaccine. Effects of age, history of measles in siblings, prevaccine antibody, and human gamma-globulin on symptomatic and immune responses. *Am J of Diseases of Children* 1963; **106**: 267-79.
103. Krugman S, Giles JP, Friedman H, Stone S. STUDIES ON IMMUNITY TO MEASLES. *The Journal of pediatrics* 1965; **66**: 471-88.
104. Reilly CM, Hilleman MR, Goldner H, Buynak EB, Stokes J. Living Attenuated Measles-Virus Vaccine in Early Infancy - Studies of Role of Passive Antibody in Immunization. *New England Journal of Medicine* 1961; **265**(4): 165-&.
105. Albrecht P, Ennis FA, Saltzman EJ, Krugman S. Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months: mechanism of measles vaccine failure. *The Journal of pediatrics* 1977; **91**(5): 715-8.
106. Siegrist CA. Mechanisms by which maternal antibodies influence infant vaccine responses: review of hypotheses and definition of main determinants. *Vaccine* 2003; **21**(24): 3406-12.
107. Gans HA, Maldonado Y, Yasukawa LL, et al. IL-12, IFN-gamma, and T cell proliferation to measles in immunized infants. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 1999; **162**(9): 5569-75.
108. Pabst HF, Spady DW, Carson MM, Krezolek MP, Barreto L, Wittes RC. Cell-mediated and antibody immune responses to AIK-C and Connaught monovalent measles vaccine given to 6 month old infants. *Vaccine* 1999; **17**(15-16): 1910-8.
109. Leuridan E, Van Damme P. Passive transmission and persistence of naturally acquired or vaccine-induced maternal antibodies against measles in newborns. *Vaccine* 2007; **25**: 6296-304.
110. Strikas RA. Advisory committee on immunization practices recommended immunization schedules for persons aged 0 through 18 years--United States, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015; **64**(4): 93-4.
111. Government of Canada PHAoC. Measles Vaccine - Part 4 - Active Vaccines - Canadian Immunization Guide - Public Health Agency of Canada. 2012.

112. Ministère de la Santé et des Services Sociaux Q. Calendrier régulier de vaccination. 2016.
http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/vaccination/index.php?calendrier_de_vaccination
 (accessed 7 May 2016).
113. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Schedule. 2015.
<http://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/Pages/Scheduler.aspx> (accessed 5 May 2016).
114. Tidjani O, Guerin N, Lecam N, et al. Serological Effects of Edmonston-Zagreb, Schwarz, and Aik-C Measles-Vaccine Strains Given at Ages 4-5 or 8-10 Months. *Lancet* 1989; **2**(8676): 1357-60.
115. Markowitz LE, Sepulveda J, Diaz-Ortega JL, et al. Immunization of six-month-old infants with different doses of Edmonston-Zagreb and Schwarz measles vaccines. *The New England journal of medicine* 1990; **322**(9): 580-7.
116. Job JS, Halsey NA, Boulos R, et al. Successful immunization of infants at 6 months of age with high dose Edmonston-Zagreb measles vaccine. Cite Soleil/JHU Project Team. *The Pediatric infectious disease journal* 1991; **10**(4): 303-11.
117. Bolotovskii VM, Grabowsky M, Clements CJ, et al. Immunization of 6 and 9 month old infants with AIK-C, Edmonston-Zagreb, Leningrad-16 and Schwarz strains of measles vaccine. *Int J Epidemiol* 1994; **23**(5): 1069-77.
118. Ndumbe PM, Gilchrist SA, Pabst H, Sama MT, Mbede J. Comparison of Edmonston-Zagreb, Connaught and Schwarz measles vaccines in Cameroonian infants aged 3-8 months. *Vaccine* 1995; **13**(3): 276-80.
119. Hussey GD, Goddard EA, Hughes J, et al. The effect of Edmonston-Zagreb and Schwarz measles vaccines on immune responses in infants. *Journal of Infectious Diseases* 1996; **173**(6): 1320-6.
120. Jacobson RM, Poland GA. The genetic basis for measles vaccine failure. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992) Supplement* 2004; **93**(445): 43-6; discussion 6-7.
121. Mentzer AJ, O'Connor D, Pollard AJ, Hill AV. Searching for the human genetic factors standing in the way of universally effective vaccines. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences* 2015; **370**(1671).
122. Voigt EA, Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, et al. Genetically defined race, but not sex, is associated with higher humoral and cellular immune responses to measles vaccination. *Vaccine* 2016; **34**(41): 4913-9.
123. McQuillan GM, Kruszon-Moran D, Hyde TB, Forghani B, Bellini W, Dayan GH. Seroprevalence of measles antibody in the US population, 1999-2004. *The Journal of infectious diseases* 2007; **196**(10): 1459-64.
124. Moss WJ, Cutts F, Griffin DE. Implications of the human immunodeficiency virus epidemic for control and eradication of measles. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1999; **29**(1): 106-12.
125. Al-Attar I, Reisman J, Muehlmann M, McIntosh K. Decline of measles antibody titers after immunization in human immunodeficiency virus-infected children. *The Pediatric infectious disease journal* 1995; **14**(2): 149-51.
126. Arpadi SM, Markowitz LE, Baughman AL, et al. Measles antibody in vaccinated human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Pediatrics* 1996; **97**(5): 653-7.
127. Halsey NA, Boulos R, Mode F, et al. Response to measles vaccine in Haitian infants 6 to 12 months old. Influence of maternal antibodies, malnutrition, and concurrent illnesses. *The New England journal of medicine* 1985; **313**(9): 544-9.
128. Ifekwunigwe AE, Grasset N, Glass R, Foster S. Immune responses to measles and smallpox vaccinations in malnourished children. *The American journal of clinical nutrition* 1980; **33**(3): 621-4.

129. Dao H, Delisle H, Fournier P. Anthropometric status, serum prealbumin level and immune response to measles vaccination in Mali children. *Journal of tropical pediatrics* 1992; **38**(4): 179-84.
130. Lyamuya EF, Matee MIN, Aaby P, Scheutz F. Serum levels of measles IgG antibody activity in children under 5 years in Dar-es-Salaam, Tanzania. *Annals of Tropical Paediatrics* 1999; **19**(2): 175-83.
131. Baggs J, Gee J, Lewis E, et al. The Vaccine Safety Datalink: a model for monitoring immunization safety. *Pediatrics* 2011; **127 Suppl 1**: S45-53.
132. Chen RT, DeStefano F. Vaccine adverse events: causal or coincidental? *Lancet* 1998; **351**(9103): 611-2.
133. De Serres G, Duval B, Boulianne N, et al. Importance of attributable risk in monitoring adverse events after immunization: hepatitis B vaccination in children. *American journal of public health* 2001; **91**(2): 313-5.
134. Andrews N. Epidemiological designs for vaccine safety assessment: methods and pitfalls. *Biologicals : journal of the International Association of Biological Standardization* 2012; **40**(5): 389-92.
135. Rowhani-Rahbar A, Klein NP, Dekker CL, et al. Biologically plausible and evidence-based risk intervals in immunization safety research. *Vaccine* 2012; **31**(1): 271-7.
136. Czajka H, Schuster V, Zepp F, Esposito S, Douha M, Willems P. A combined measles, mumps, rubella and varicella vaccine (Priorix-Tetra): immunogenicity and safety profile. *Vaccine* 2009; **27**: 6504-11.
137. LeBaron CW, Bi D, Sullivan BJ, Beck C, Gargiullo P. Evaluation of potentially common adverse events associated with the first and second doses of measles-mumps-rubella vaccine. *Pediatrics* 2006; **118**(4): 1422-30.
138. Klein NP, Fireman B, Yih WK, et al. Measles-Mumps-Rubella-Varicella Combination Vaccine and the Risk of Febrile Seizures. *Pediatrics* 2010; **126**(1): E1-E8.
139. 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-E.
140. Farrington CP. Control without separate controls: evaluation of vaccine safety using case-only methods. *Vaccine* 2004; **22**(15-16): 2064-70.
141. Leung JH, Hirai HW, Tsoi KK. Immunogenicity and reactogenicity of tetravalent vaccine for measles, mumps, rubella and varicella (MMRV) in healthy children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Expert Rev Vaccines* 2015; **14**(8): 1149-57.
142. Marcy SM, Kohl KS, Dagan R, et al. Fever as an adverse event following immunization: case definition and guidelines of data collection, analysis, and presentation. *Vaccine* 2004; **22**(5-6): 551-6.
143. Demicheli V, Rivetti A, Debalini MG, Di Pietrantonj C. Vaccines for measles, mumps and rubella in children. *The Cochrane database of systematic reviews* 2012; **2**: CD004407-CD.
144. Vesikari T, Baer M, Willems P. Immunogenicity and safety of a second dose of measles-mumps-rubella-varicella vaccine in healthy children aged 5 to 6 years. *The Pediatric infectious disease journal* 2007; **26**(2): 153-8.
145. Kuter BJ, Brown M, Wiedmann RT, Hartzel J, Musey L. Safety and Immunogenicity of M-M-R/II (Combination Measles-Mumps-Rubella Vaccine) in Clinical Trials of Healthy Children Conducted Between 1988 and 2009. *The Pediatric infectious disease journal* 2016; **35**(9): 1011-20.
146. 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): 939-42.
147. Barlow WE, Davis RL, Glasser JW, et al. The risk of seizures after receipt of whole-cell pertussis or measles, mumps, and rubella vaccine. *The New England journal of medicine* 2001; **345**(9): 656-61.

148. Jacobsen SJ, Ackerson BK, Sy LS, et al. Observational safety study of febrile convulsion following first dose MMRV vaccination in a managed care setting. *Vaccine* 2009; **27**(34): 4656-61.
149. Marin M, Broder KR, Temte JL, Snider DE, Seward JF. Use of combination measles, mumps, rubella, and varicella vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control* 2010; **59**(Rr-3): 1-12.
150. van der Maas NAT, Woudenberg T, Hahne SJM, de Melker HE. Tolerability of Early Measles-Mumps-Rubella Vaccination in Infants Aged 6-14 Months During a Measles Outbreak in The Netherlands in 2013-2014. *Journal of Infectious Diseases* 2016; **213**(9): 1466-71.
151. Ceyhan M, Kanra G, Erdem G, Kanra B. Immunogenicity and efficacy of one dose measles-mumps-rubella (MMR) vaccine at twelve months of age as compared to monovalent measles vaccination at nine months followed by MMR revaccination at fifteen months of age. *Vaccine* 2001; **19**(31): 4473-8.
152. Hauser WA. The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia* 1994; **35 Suppl 2**: S1-6.
153. Jones T, Jacobsen SJ. Childhood febrile seizures: overview and implications. *Int J Med Sci* 2007; **4**(2): 110-4.
154. Offringa M, Hazebroek-Kampschreur AA, Derksen-Lubsen G. Prevalence of febrile seizures in Dutch schoolchildren. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1991; **5**(2): 181-8.
155. Hambidge SJ, Newcomer SR, Narwaney KJ, et al. Timely versus delayed early childhood vaccination and seizures. *Pediatrics* 2014; **133**(6): e1492-9.
156. Anonymus. Vaccination against measles: a study of clinical reactions and serological responses of young children. A report to the medical council by the measles vaccines committee. *BMJ* 1965; **1**: 817-23.
157. Lepow ML, Gray N, Robbins FC. Studies on an attenuated measles-virus vaccine. V. Clinical, antigenic and prophylactic effects of vaccine in institutionalized and home-dwelling children. *The New England journal of medicine* 1960; **263**(4): 170-3.
158. Enders G. Paramyxoviruses. In: Baron S, ed. *Medical microbiology*. 4th ed. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
159. Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nat Rev Immunol* 2015; **15**(6): 335-49.
160. Roberts NJ, Jr. Impact of temperature elevation on immunologic defenses. *Reviews of infectious diseases* 1991; **13**(3): 462-72.
161. Tabacchi G, Costantino C, Napoli G, et al. Determinants of European parents' decision on the vaccination of their children against measles, mumps and rubella: A systematic review and meta-analysis. *Hum Vaccin Immunother* 2016; **12**(7): 1909-23.
162. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. In: Higgins J, Green S, editors.: *The Cochrane Collaboration*, 2011; 2011.
163. Borenstein M, Hedges LV, Higgins JPT, Rothstein HR. *Introduction to Meta-Analysis*. United Kingdom: Wiley; 2009.
164. Nisen P, Rockhold F. Access to patient-level data from GlaxoSmithKline clinical trials. *The New England journal of medicine* 2013; **369**(5): 475-8.
165. Knuf M, Habermehl P, Zepp F, et al. Immunogenicity and safety of two doses of tetravalent measles-mumps-rubella-varicella vaccine in healthy children. *The Pediatric infectious disease journal* 2006; **25**(1): 12-8.
166. Knuf M, Zepp F, Helm K, et al. Antibody persistence for 3 years following two doses of tetravalent measles-mumps-rubella-varicella vaccine in healthy children. *European journal of pediatrics* 2012; **171**(3): 463-70.

167. Schuster V, Otto W, Maurer L, et al. Immunogenicity and safety assessments after one and two doses of a refrigerator-stable tetravalent measles-mumps-rubella-varicella vaccine in healthy children during the second year of life. *The Pediatric infectious disease journal* 2008; **27**(8): 724-30.
168. Blatter MM, Klein NP, Shepard JS, et al. Immunogenicity and safety of two tetravalent (measles, mumps, rubella, varicella) vaccines coadministered with hepatitis a and pneumococcal conjugate vaccines to children twelve to fourteen months of age. *The Pediatric infectious disease journal* 2012; **31**(8): e133-40.
169. Prymula R, Bergsaker MR, Esposito S, et al. Protection against varicella with two doses of combined measles-mumps-rubella-varicella vaccine versus one dose of monovalent varicella vaccine: a multicentre, observer-blind, randomised, controlled trial. *Lancet* 2014; **383**(9925): 1313-24.
170. GlaxoSmithKline. Study to evaluate immunogenicity and safety of three production lots of GSK Biologicals' combined MeMuRu-OKA candidate vaccine given on a two-dose schedule to healthy children in their second year of life, as compared to separate administration of GSK Biologicals' Priorix™ and Varilrix™ vaccines. 2004. <https://www.gsk-clinicalstudyregister.com/study/208136/038-rs> (accessed 01-04-2014).
171. GlaxoSmithKline. Blinded, randomised study to assess the immunogenicity and safety of GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals' live attenuated measles-mumps-rubella-varicella candidate vaccine when given to healthy children in their second year of life. 2005. https://www.gsk-clinicalstudyregister.com/study/104020?search=study&search_terms=104020-ps (accessed 01-04-2014).
172. GlaxoSmithKline. Blinded, randomised, controlled study to evaluate the immunogenicity and safety of GlaxoSmithKline Biologicals' combined measles-mumps-rubella-varicella candidate vaccine given to healthy children in their second year of life. 2005. https://www.gsk-clinicalstudyregister.com/study/104389?search=study&search_terms=104389-ps (accessed 01-04-2014).
173. GlaxoSmithKline. Study in Healthy Children (<2 Years) to Evaluate the Safety and Efficacy of GSK Biologicals' Live Attenuated Varicella Vaccine (Varilrix™) and of GSK Biologicals' Combined Measles-Mumps-Rubella-Varicella Vaccine. 2004. https://www.gsk-clinicalstudyregister.com/study/100388?search=study&search_terms=100388-ps (accessed 01-04-2014).
174. GlaxoSmithKline. A phase III, blinded, randomized, multicenter U.S. study evaluating the clinical consistency of three production lots of SmithKline Beecham Biologicals' MMR vaccine (PRIORIX) and comparability of PRIORIX with Merck's M-M-R II vaccine, administered to healthy children 12 to 18 months of age. 2008. https://www.gsk-clinicalstudyregister.com/study/209762/136?search=study&search_terms=209762-csr (accessed 01-04-2014).
175. Fitzmaurice G, Laird N, Ware J. Applied Longitudinal Analysis. Second ed. Philadelphia: John Wiley & Sons; 2011.
176. Greenland S, Rothman KJ. Fundamentals of Epidemiologic Data Analysis. Modern Epidemiology, 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012: 758.
177. Klein NP, Lewis E, Fireman B, et al. Safety of measles-containing vaccines in 1-year-old children. *Pediatrics* 2015; **135**(2): e321-9.
178. Shann F, Mackenzie A. Comparison of rectal, axillary, and forehead temperatures. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1996; **150**(1): 74-8.
179. Petersen ML, Sinisi SE, van der Laan MJ. Estimation of direct causal effects. *Epidemiology* 2006; **17**(3): 276-84.
180. Valeri L, Vanderweele TJ. Mediation analysis allowing for exposure-mediator interactions and causal interpretation: theoretical assumptions and implementation with SAS and SPSS macros. *Psychol Methods* 2013; **18**(2): 137-50.

181. VanderWeele TJ. A three-way decomposition of a total effect into direct, indirect, and interactive effects. *Epidemiology* 2013; **24**(2): 224-32.
182. Hanley J, Moodie E. Sample Size, Precision and Power Calculations: A Unified Approach. *Journal of Biometrics & Biostatistics* 2011; **2**(124).
183. De Serres G, Boulianne N, Meyer F, Ward BJ. Measles vaccine efficacy during an outbreak in a highly vaccinated population: incremental increase in protection with age at vaccination up to 18 months. *Epidemiology and Infection* 1995; **115**(2): 315-23.
184. Lochlainn LN, de Gier B, van der Maas NAT, et al. Measles vaccination below 9 months of age: Systematic literature review and meta-analysis of effects and safety. 2017. http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2017/october/7_RIVM_MCV_Under_6months_systematic_review.pdf (accessed 10/09/2017).
185. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol* 2009; **62**(10): e1-34.
186. Waibale P, Bowlin SJ, Mortimer EA, Whalen C. The effect of human immunodeficiency virus-1 infection and stunting on measles immunoglobulin-G levels in children vaccinated against measles in Uganda. *International Journal of Epidemiology* 1999; **28**(2): 341-6.
187. Orenstein WA, Bernier RH, Hinman AR. Assessing vaccine efficacy in the field. Further observations. *Epidemiologic reviews* 1988; **10**: 212-41.
188. NICE. Methods for the development of NICE public health guidance (third edition). 2012. p. 214-186.
189. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; **327**(7414): 557-60.
190. George K, Joseph A, Muliylil J, Abraham S, Bhattacharji S, John KR. Measles vaccination before nine months. *Tropical Medicine & International Health* 1998; **3**(9): 751-6.
191. Faust HS, Thompson FE. Age at and time since vaccination during a measles outbreak in a rural community. *American Journal of Diseases of Children* 1983; **137**(10): 977-80.
192. Coetzee N, Hussey GD, Visser G, Barron P, Keen A. The 1992 measles epidemic in Cape Town--a changing epidemiological pattern. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde* 1994; **84**(3): 145-9.
193. Lopes MH, de Mendonca JS, Pannuti CS, et al. Measles vaccination: influence of age on its efficacy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1989; **31**(5): 322-7.
194. Sharma RS, Chawla U, Datta KK. Field evaluation of measles vaccine efficacy in Najafgarh zone of delhi. *The Journal of communicable diseases* 1988; **20**(1): 38-43.
195. Kotb MM, Khella AK, Allam MF. Evaluation of the effectiveness of routine measles vaccination: case-control study. *The Journal of the Egyptian Public Health Association* 1999; **74**(1-2): 59-68.
196. Kaninda AV, Legros D, Jataou IM, et al. Measles vaccine effectiveness in standard and early immunization strategies, Niger, 1995. *The Pediatric infectious disease journal* 1998; **17**(11): 1034-9.
197. Anonymus. Measles in Brazil. *EPI newsletter / c Expanded Program on Immunization in the Americas* 1984; **6**(3): 1-3.
198. Lee MS, Lee LL, Chen HY, Wu YC, Horng CB. Post mass-immunization measles outbreak in Taoyuan County, Taiwan: dynamics of transmission, vaccine effectiveness, and herd immunity. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 1999; **3**(2): 64-9.
199. John S, Sanghi S, Prasad S, Bose A, George K. Two doses of measles vaccine: are some states in India ready for it? *Journal of tropical pediatrics* 2009; **55**(4): 253-6.
200. Fowlkes A, Witte D, Beeler J, et al. Persistence of vaccine-induced measles antibody beyond age 12 months: a comparison of response to one and two doses of Edmonston-Zagreb

- measles vaccine among HIV-infected and uninfected children in Malawi. *The Journal of infectious diseases* 2011; **204 Suppl 1**: S149-57.
201. Anonymus. Measles immunity in the first year after birth and the optimum age for vaccination in Kenyan children. Collaborative study by the Ministry of Health of Kenya and the World Health Organization. *Bull World Health Organ* 1977; **55**(1): 21-31.
202. Markowitz LE, Albrecht P, Rhodes P, et al. Changing levels of measles antibody titers in women and children in the United States: Impact on response to vaccination. *Pediatrics* 1996; **97**(1): 53-8.
203. Martins C, Garly ML, Bale C, et al. Measles virus antibody responses in children randomly assigned to receive standard-titer Edmonston-Zagreb measles vaccine at 4.5 and 9 months of age, 9 months of age, or 9 and 18 months of age. *Journal of infectious diseases* 2014; **210**(5): 693-700.
204. Ekunwe EO. Separating the factors in measles vaccine failure. *Annals of Tropical Paediatrics* 1985; **5**(2): 103-6.
205. Deivanayagam N, Ramamurthy N, Krishnamurthy PV, et al. Age for measles immunization seroconversion after measles vaccination at 6-8 months of age--a randomized controlled trial. *Indian pediatrics* 1990; **27**(11): 1171-6.
206. Kaan JA, Vanvlokoven PCA, Schneeberger PM, Nijhof W. Immunogenicity of Measles-Vaccine from a Hospital Based and Outreach Program in Rural Kenya. *Tropical Doctor* 1992; **22**(1): 30-2.
207. Berry S, Hernandez H, Kanashiro R, et al. Comparison of high titer Edmonston-Zagreb, Biken-CAM and Schwarz measles vaccines in Peruvian infants. *The Pediatric infectious disease journal* 1992; **11**(10): 822-7.
208. Dick B, Smith T, Kipps A. A minimum age for measles vaccine administration to coloured children. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde* 1975; **49**(47): 1951-4.
209. Guyer B, Atangana S. A programme of multiple-antigen childhood immunization in Yaounde, Cameroon: first-year evaluation, 1975-1976. *Bull World Health Organ* 1977; **55**(5): 633-42.
210. Seghal S, Sharma RS, Das A, Sebastian M, Arora RR. Seroconversion after measles vaccination in infants and children. *The Journal of communicable diseases* 1983; **15**(2): 75-9.
211. Saha SM, Aggarwal RK, Sood DK, Saxena SN. Seroconversion in different age groups after measles vaccination. *Indian journal of pediatrics* 1985; **52**(416): 303-5.
212. Maluf EM, Ribeiro RC, Rodriguez MA, Skraba I, de Carvalho JF. [Induction of specific antibodies by measles vaccine. Study in normal and undernourished infants 6 to 24-months old]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1985; **27**(6): 353-60.
213. McGraw TT. Reimmunization following early immunization with measles vaccine: a prospective study. *Pediatrics* 1986; **77**(1): 45-8.
214. Swami SS, Chandra S, Dudani IU. Seroconversion following measles immunisation. *The Journal of communicable diseases* 1987; **19**(2): 141-5.
215. Gendrel D, Garin D, Dutailly C, et al. Immunization of young infants with high doses of Schwartz measles vaccine. *The Pediatric infectious disease journal* 1988; **7**(7): 523-5.
216. Jain DC, Meena HS, Yadav BS, Meena KC, Khare S, Datta KK. Sero-epidemiology of measles--a three years prospective study in a rural population of Rajasthan. *The Journal of communicable diseases* 1990; **22**(3): 165-72.
217. Adu FD, Omotade OO, Oyedele OI, Ikusika O, Odemuyiwa SO, Onoja AL. Field trial of combined yellow fever and measles vaccines among children in Nigeria. *East African medical journal* 1996; **73**(9): 579-82.
218. Borrás E, Urbiztondo L, Costa J, et al. Measles antibodies and response to vaccination in children aged less than 14 months: implications for age of vaccination. *Epidemiol Infect* 2012; **140**(9): 1599-606.

219. McCombie SC, Worrell RD, Porter BW, Browning JA, Ray CG. Risk for measles related to immunization status in two Tucson high schools. *Public health reports (Washington, DC : 1974)* 1988; **103**(2): 162-6.
220. Balshem H, Helfand M, Schunemann HJ, et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. *J Clin Epidemiol* 2011; **64**(4): 401-6.
221. Lee MS, King CC, Jean JY, et al. Seroepidemiology and evaluation of passive surveillance during 1988-1989 measles outbreak in Taiwan. *Int J Epidemiol* 1992; **21**(6): 1165-74.
222. Malfait P, Jataou IM, Jollet MC, Margot A, Debenoist AC, Moren A. Measles Epidemic in the Urban-Community of Niamey - Transmission Patterns, Vaccine Efficacy and Immunization Strategies, Niger, 1990 to 1991. *Pediatric Infectious Disease Journal* 1994; **13**(1): 38-45.
223. Shelton JD, Jacobson JE, Orenstein WA, Schulz KF, Donnell HD, Jr. Measles vaccine efficacy: influence of age at vaccination vs. duration of time since vaccination. *Pediatrics* 1978; **62**(6): 961-4.
224. Judelsohn RG, Fleissner ML, O'Mara DJ. School-based measles outbreaks: correlation of age at immunization with risk of disease. *American journal of public health* 1980; **70**(11): 1162-5.
225. Wassilak SG, Orenstein WA, Strickland PL, Butler CA, Bart KJ. Continuing measles transmission in students despite school-based outbreak control program. *American journal of epidemiology* 1985; **122**(2): 208-17.
226. Chen RT, Goldbaum GM, Wassilak SG, Markowitz LE, Orenstein WA. An explosive point-source measles outbreak in a highly vaccinated population. Modes of transmission and risk factors for disease. *American journal of epidemiology* 1989; **129**(1): 173-82.
227. Mast EE, Berg JL, Hanrahan LP, Wassell JT, Davis JP. Risk factors for measles in a previously vaccinated population and cost-effectiveness of revaccination strategies. *Jama* 1990; **264**(19): 2529-33.
228. Agocs MM, Markowitz LE, Straub I, Domok I. The 1988-1989 Measles Epidemic in Hungary - Assessment of Vaccine Failure. *International Journal of Epidemiology* 1992; **21**(5): 1007-13.
229. Ng T, Hockin J, Stratton F, Allan P. Low measles vaccine failure in a school outbreak--Newfoundland. *Canada diseases weekly report = Rapport hebdomadaire des maladies au Canada* 1990; **16**(12): 53-7.
230. Patel M, Lush D. Measles vaccine effectiveness in central Australian aboriginal children vaccinated at or after eight months of age. *Australian and New Zealand journal of public health* 1998; **22**(6): 729-30.
231. Soerensen B, Takeda AK, Nakandakare IK, et al. [Measles: optimum age and number of doses recommended for vaccination in Brazil]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1985; **27**(2): 55-65.
232. Carazo Perez S, De Serres G, Bureau A, Skowronski DM. Reduced antibody response to infant measles vaccination: effects based on type and timing of the first vaccine dose persist after the second dose. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2017; **65**(7): 1094-102.
233. Miyamura K, Sato TA, Sakae K, et al. Comparison of gelatin particle agglutination and hemagglutination inhibition tests for measles seroepidemiology studies. *Archives of Virology* 1997; **142**(10): 1963-70.
234. De Serres G, Markowski F, Toth E, et al. Largest measles epidemic in North America in a decade--Quebec, Canada, 2011: contribution of susceptibility, serendipity, and superspreading events. *The Journal of infectious diseases* 2013; **207**: 990-8.
235. Vivancos R, Keenan A, Farmer S, et al. An ongoing large outbreak of measles in Merseyside, England, January to June 2012. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2012; **17**(29).

236. Antona D, Levy-Bruhl D, Baudon C, et al. Measles elimination efforts and 2008-2011 outbreak, France. *Emerging infectious diseases* 2013; **19**(3): 357-64.
237. Muscat M, Marinova L, Mankertz A, et al. The measles outbreak in Bulgaria, 2009-2011: An epidemiological assessment and lessons learnt. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2016; **21**(9): 30152.
238. Castillo-Solorzano C, Marsigli C, Danovaro-Holliday MC, Ruiz-Matus C, Tambini G, Andrus JK. Measles and rubella elimination initiatives in the Americas: lessons learned and best practices. *The Journal of infectious diseases* 2011; **204** Suppl 1: S279-83.
239. Miller G, Gale J, Villarejos V, et al. Edmonston B and a further attenuated measles vaccine--a placebo controlled double blind comparison. *American journal of public health and the nation's health* 1967; **57**(8): 1333-40.
240. Ruben FL, Smith EA, Foster SO, et al. Simultaneous administration of smallpox, measles, yellow fever, and diphtheria-pertussis-tetanus antigens to Nigerian children. *Bull World Health Organ* 1973; **48**(2): 175-81.
241. Wallace RB, Landrigan PJ, Smith EA, Pifer J, Teller B, Foster SO. Trial of a reduced dose of measles vaccine in Nigerian children. *Bulletin of the World Health Organization* 1976; **53**(4): 361-4.
242. Stewien KE, Barbosa V, de Lima OS, Osiro K. The influence of maternally derived antibody on the efficacy of further attenuated measles vaccine. *Infection* 1978; **6**(5): 207-10.
243. Wilkins J, Wehrle PF. Additional evidence against measles vaccine administration to infants less than 12 months of age: altered immune response following active/passive immunization. *The Journal of pediatrics* 1979; **94**(6): 865-9.
244. Mittal SK, Gulati A, Kumari P, Bala V, Gupta S. Seroconversion following measles immunisation. *Indian Pediatr* 1979; **16**(4): 309-11.
245. Ogunmekan DA, Harry TO. Optimal age for vaccinating Nigerian children against measles. II. Seroconversion to measles vaccine in different age groups. *Tropical and geographical medicine* 1981; **33**(4): 379-82.
246. Ogunmekan DA, Bracken P, Marshall WC. An assessment of the effectiveness of the measles immunization programme in Lagos, Nigeria. *Annals of tropical medicine and parasitology* 1981; **75**(1): 87-92.
247. Shaoyuan W, Xiuqing X, Yihao Z, et al. An investigation of the causes of failures in measles vaccination in early infancy. *Journal of biological standardization* 1982; **10**(3): 197-203.
248. de Haas PW, Masurel N, Anker WJ. Measles in Tanzania: antibody response in children after vaccination and antibody state of mothers and newborns. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1983; **77**(2): 267-70.
249. Lee YL, Black FL, Chen CL, Wu CL, Berman LL. The optimal age for vaccination against measles in an Asiatic city, Taipei, Taiwan: reduction of vaccine induced titre by residual transplacental antibody. *Int J Epidemiol* 1983; **12**(3): 340-3.
250. Sehgal S, Sharma RS, Mehta PK, Sebastian M, Arora RR. Sero-epidemiological survey of measles. *The Journal of communicable diseases* 1983; **15**(1): 1-7.
251. Climie A, Andre FE. Field trial of a heat-stable measles vaccine in Papua New Guinea. *The Journal of tropical medicine and hygiene* 1984; **87**(6): 249-55.
252. Job JS, John TJ, Joseph A. Antibody response to measles immunization in India. *Bull World Health Organ* 1984; **62**(5): 737-41.
253. Chen ST, Lam SK. Optimum age for measles immunization in Malaysia. *The Medical journal of Malaysia* 1985; **40**(4): 281-8.
254. Diaz-Ortega JL, Zarate-Aquino ML, Valdespino-Gomez JL, Cardenas-Ayala VM, Ruiz-Matus C. [Seroconversion with measles vaccine in children 8-18 months old]. *Boletin medico del Hospital Infantil de Mexico* 1986; **43**(9): 526-31.

255. Lhuillier M, Mazzariol MJ, Zadi S, et al. Study of combined vaccination against yellow fever and measles in infants from six to nine months. *Journal of biological standardization* 1989; **17**(1): 9-15.
256. Huang LM, Lee CY, Hsu CY, et al. Effect of monovalent measles and trivalent measles-mumps-rubella vaccines at various ages and concurrent administration with hepatitis B vaccine. *The Pediatric infectious disease journal* 1990; **9**(7): 461-5.
257. Kakakios AM, Burgess MA, Bransby RD, Quinn AA, Allars HM. Optimal age for measles and mumps vaccination in Australia. *The Medical journal of Australia* 1990; **152**(9): 472-4.
258. Makino S, Sasaki K, Nakayama T, et al. A new combined trivalent live measles (AIK-C strain), mumps (Hoshino strain), and rubella (Takahashi strain) vaccine. Findings in clinical and laboratory studies. *American journal of diseases of children (1960)* 1990; **144**(8): 905-10.
259. Kiepiela P, Coovadia HM, Loening WEK, et al. Lack of Efficacy of the Standard Potency Edmonston-Zagreb Live, Attenuated Measles-Vaccine in African Infants. *Bulletin of the World Health Organization* 1991; **69**(2): 221-7.
260. Rogers S, Sanders RC, Alpers MP. Immunogenicity of standard dose Edmonston-Zagreb measles vaccine in highland Papua New Guinean children from four months of age. *The Journal of tropical medicine and hygiene* 1991; **94**(2): 88-91.
261. Soula G, Sylla A, Pichard E, et al. [A new combined vaccine against yellow fever and measles in infants aged 6 to 24 months in Mali]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique (1990)* 1991; **84**(5 Pt 5): 885-97.
262. Abanamy A, Khalil M, Salman H, Abdel Azeem M. Vaccination of Saudi children against measles with Edmonston-Zagreb. *Annals of Saudi medicine* 1992; **12**(1): 110-1.
263. Giammanco G, Livolti S, Salemi I, Bilancia GG, Mauro L. Immune-Response to Simultaneous Administration of a Combined Measles, Mumps and Rubella Vaccine with Booster Doses of Diphtheria-Tetanus and Poliovirus Vaccine. *European Journal of Epidemiology* 1993; **9**(2): 199-202.
264. Johnson CE, Nalin DR, Chui LW, Whitwell J, Marusyk RG, Kumar ML. Measles Vaccine Immunogenicity in 6- Versus 15-Month-Old Infants Born to Mothers in the Measles Vaccine Era. *Pediatrics* 1994; **93**: 939-44.
265. Sakatoku H, Nakano T, Arai S, Afari EA. Antibody response to measles immunization in rural Ghanaian infants. *Journal of tropical pediatrics* 1994; **40**(5): 291-3.
266. Singh R, John TJ, Cherian T, Raghupathy P. Immune response to measles, mumps and rubella vaccine at 9, 12 and 15 months of age. *Indian Journal of Medical Research* 1994; **100**(OCT.): 155-9.
267. Gans HA, Arvin AM, Galinus J, Logan L, DeHovitz R, Maldonado Y. Deficiency of the humoral immune response to measles vaccine in infants immunized at age 6 months. *Jama* 1998; **280**(6): 527-32.
268. Kumar ML, Johnson CE, Chui LW, Whitwell JK, Staehle B, Nalin D. Immune response to measles vaccine in 6-month-old infants of measles seronegative mothers. *Vaccine* 1998; **16**(20): 2047-51.
269. Zanetta RAC, Amaku M, Azevedo RS, Zanetta DMT, Burattini MN, Massad E. Optimal age for vaccination against measles in the State of São Paulo, Brazil, taking into account the mother's serostatus. *Vaccine* 2001; **20**(1-2): 226-34.
270. Krugman RD, Rosenberg R, McIntosh K, et al. Further attenuated live measles vaccines: the need for revised recommendations. *The Journal of pediatrics* 1977; **91**: 766-7.
271. Yeager AS, Davis JH, Ross LA, Harvey B. Measles immunization. Successes and failures. *Jama* 1977; **237**: 347-51.
272. European Centre for Disease Prevention and Control. Biannual measles and rubella monitoring reports. 2016. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/measles/epidemiological_data/Pages/annual_epidemiological_reports.aspx (accessed 2 May 2016).

273. De Schrijver K. Outbreak of measles among adolescents, Belgium, 1996. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 1996; **1**(6): 46-7.
274. De Serres G, Boulianne N, Defay F, et al. Higher risk of measles when the first dose of a 2-dose schedule of measles vaccine is given at 12-14 months versus 15 months of age. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2012; **55**(3): 394-402.
275. Wolfson LJ, Strebel PM, Gacic-Dobo M, Hoekstra EJ, McFarland JW, Hersh BS. Has the 2005 measles mortality reduction goal been achieved? A natural history modelling study. *Lancet* 2007; **369**: 191-200.
276. Poethko-Muller C, Mankertz A. Seroprevalence of measles-, mumps- and rubella-specific IgG antibodies in German children and adolescents and predictors for seronegativity. *PLoS One* 2012; **7**(8): e42867.
277. Carson MM, Spady DW, Beeler Ja, Krezolek MP, Audet S, Pabst HF. Follow-up of infants given measles vaccine at 6 months of age: antibody and CMI responses to MMRII at 15 months of age and antibody levels at 27 months of age. *Vaccine* 2005; **23**: 3247-55.
278. Ratnam S, Chandra R, Gadag V. Maternal measles and rubella antibody levels and serologic response in infants immunized with MMR II vaccine at 12 months of age. *The Journal of infectious diseases* 1993; **168**: 1596-8.
279. World Health Organization. Correlates of vaccine-induced protection: methods and implications. 2013. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/84288/1/WHO_IVB_13.01_eng.pdf (accessed 20 April 2016).
280. Whittle HC, Aaby P, Samb B, Jensen H, Bennett J, Simondon F. Effect of subclinical infection on maintaining immunity against measles in vaccinated children in West Africa. *Lancet* 1999; **353**: 98-102.
281. Mossong J, Nokes DJ, Edmunds WJ, Cox MJ, Ratnam S, Muller CP. Modeling the impact of subclinical measles transmission in vaccinated populations with waning immunity. *American journal of epidemiology* 1999; **150**: 1238-49.
282. Ohga S, Miyazaki C, Okada K, Akazawa K, Ueda K. The inflammatory cytokines in measles: correlation between serum interferon-gamma levels and lymphocyte subpopulations. *European journal of pediatrics* 1992; **151**(7): 492-6.
283. Conti B, Tabarean I, Andrei C, Bartfai T. Cytokines and fever. *Front Biosci* 2004; **9**: 1433-49.
284. Dhiman N, Ovsyannikova IG, Ryan JE, et al. Correlations among measles virus-specific antibody, lymphoproliferation and Th1/Th2 cytokine responses following measles-mumps-rubella-II (MMR-II) vaccination. *Clinical and experimental immunology* 2005; **142**(3): 498-504.
285. Dianzani F, Baron S. Nonspecific defenses. In: Baron S, ed. *Medical Microbiology*. 4th ed. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
286. Stokes J, Jr., Weibel RE, Villarejos VM, Arguedas JA, Buynak EB, Hilleman MR. Trivalent combined measles-mumps-rubella vaccine. Findings in clinical-laboratory studies. *Jama* 1971; **218**(1): 57-61.
287. Griffin DE, Pan CH, Moss WJ. Measles vaccines. *Front Biosci* 2008; **13**: 1352-70.
288. Richard JL, Masserey Spicher V. Large measles epidemic in Switzerland from 2006 to 2009: consequences for the elimination of measles in Europe. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2009; **14**(50).
289. Schmid D, Holzmann H, Schwarz K, et al. Measles outbreak linked to a minority group in Austria, 2008. *Epidemiology and Infection* 2010; **138**(3): 415-25.
290. Salimovic-Besic I, Seremet M, Hubschen JM, et al. Epidemiologic and laboratory surveillance of the measles outbreak in the Federation of Bosnia and Herzegovina, February 2014-April 2015. *Clin Microbiol Infect* 2016; **22**(6): 563 e1-7.

291. Werber D, Hoffmann A, Santibanez S, Mankertz A, Sagebiel D. Large measles outbreak introduced by asylum seekers and spread among the insufficiently vaccinated resident population, Berlin, October 2014 to August 2015. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2017; **22**(34).
292. Velicko I, Muller LL, Pebody R, et al. Nationwide measles epidemic in Ukraine: The effect of low vaccine effectiveness. *Vaccine* 2008; **26**(52): 6980-5.
293. Gluud LL. Bias in clinical intervention research. *American journal of epidemiology* 2006; **163**(6): 493-501.
294. VanderWeele TJ, Hernan MA. Results on differential and dependent measurement error of the exposure and the outcome using signed directed acyclic graphs. *American journal of epidemiology* 2012; **175**(12): 1303-10.
295. Boulianne N, Bradet R, Audet D, Ouakki M. Enquête sur la couverture vaccinale des enfants de 1 an et 2 ans au Québec en 2010. In: travail Ddrbedlsa, editor. Québec: Institut National de Santé Publique du Québec; 2011. p. 149.
296. Gastanaduy PA, Paul P, Fiebelkorn AP, et al. Assessment of the Status of Measles Elimination in the United States, 2001-2014. *American journal of epidemiology* 2017; **185**(7): 562-9.
297. Gastañaduy PA, Budd J, Fisher N, et al. A measles outbreak in an underimmunized amish community in Ohio. *New England Journal of Medicine* 2016; **375**(14): 1343-54.
298. Woudenberg T, van Binnendijk RS, Sanders EA, et al. Large measles epidemic in the Netherlands, May 2013 to March 2014: changing epidemiology. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2017; **22**(3).
299. Panic M, Gheorhe M. Écllosion de rougeole survenue dans la région de Lanaudière au Québec. Rapport d'investigation.: Agence de la Santé Publique du Canada, 2016.
300. Pervanidou D, Horefti E, Patrinos S, et al. Spotlight on measles 2010: ongoing measles outbreak in Greece, January-July 2010. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2010; **15**(30).
301. Garcia Comas L, Ordobas Gavin M, Sanz Moreno JC, et al. Community-wide measles outbreak in the Region of Madrid, Spain, 10 years after the implementation of the Elimination Plan, 2011-2012. *Hum Vaccin Immunother* 2017; **13**(5): 1078-83.
302. Fournet N, Mollema L, Ruijs WL, et al. Under-vaccinated groups in Europe and their beliefs, attitudes and reasons for non-vaccination; two systematic reviews. *BMC Public Health* 2018; **18**(1): 196.
303. Blumberg S, Enanoria WTA, Lloyd-Smith JO, Lietman TM, Porco TC. Identifying postelimination trends for the introduction and transmissibility of measles in the United States. *American journal of epidemiology* 2014; **179**(11): 1375-82.
304. Colzani E, McDonald SA, Carrillo-Santistevé P, Busana MC, Lopalco P, Cassini A. Impact of measles national vaccination coverage on burden of measles across 29 Member States of the European Union and European Economic Area, 2006-2011. *Vaccine* 2014; **32**(16): 1814-9.
305. Amendola A, Bubba L, Piralla A, et al. Surveillance and vaccination coverage of measles and rubella in Northern Italy. *Human vaccines & immunotherapeutics* 2015; **11**(1): 206-13.
306. Measles - United States, January 1-August 24, 2013. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2013; **62**(36): 741-3.
307. Zipprich J, Winter K, Hacker J, Xia D, Watt J, Harriman K. Measles outbreak--California, December 2014-February 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2015; **64**(6): 153-4.
308. Navarro E, Mochon MM, Galicia MD, Marin I, Laguna J. Study of a measles outbreak in Granada with preventive measures applied by the courts, Spain, 2010 to 2011. *Euro*

surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin 2013; **18**(43).

309. Filia A, Bella A, Del Manso M, Baggieri M, Magurano F, Rota MC. Ongoing outbreak with well over 4,000 measles cases in Italy from January to end August 2017 - what is making elimination so difficult? *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2017; **22**(37).

310. Pegorie M, Shankar K, Welfare WS, et al. Measles outbreak in Greater Manchester, England, October 2012 to September 2013: epidemiology and control. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2014; **19**(49).

311. Billard MN, De Serres G, Gariepy MC, et al. Prevalence of risk factors for acquiring measles during the 2011 outbreak in Quebec and impact of the province-wide school-based vaccination campaign on population immunity. *PLoS One* 2017; **12**(10): e0186070.

312. Ministère de la Santé et des Services Sociaux Q. Protocole d'immunisation du Québec (PIQ) - Édition 6. In: Sociaux LDdcdmldSedS, editor. Québec; 2013. p. 544.

313. Comité sur l'immunisation du Québec. Risque de convulsions et de fièvre après l'administration du vaccin combiné contre la rougeole, la rubéole, les oreillons et la varicelle (RROV) en comparaison aux vaccins RRO et varicelle administrés séparément. Québec: Institut national de santé publique du Québec; 2013. p. 57.

314. Comité sur l'immunisation du Québec. Avis du Comité de l'immunisation du Québec sur la pertinence d'une 2^e dose de vaccin contre la varicelle. Institut National de Santé Publique du Québec; 2015. p. 17.

315. Verity CM, Golding J. Risk of epilepsy after febrile convulsions: a national cohort study. *BMJ* 1991; **303**(6814): 1373-6.

316. McKee A, Shea K, Ferrari MJ. Optimal vaccine schedules to maintain measles elimination with a two-dose routine policy. *Epidemiology and Infection* 2017; **145**(2): 227-35.

Annexes

Annexe 1. Protocole de la Revue Systématique

Effect of age at vaccination on the measles vaccine immunogenicity and effectiveness: a systematic review protocol

Sara Carazo Perez, Marie-Noëlle Billard, Amélie Boutin, Gaston De Serres

Background

Measles-containing vaccine (MCV) effectiveness has been estimated to be 84 to 92.5% for one dose and 94% for two doses.¹ The immune response to MCV is affected by age at vaccination due to the interference of measles maternal antibodies and the immaturity of the immune system of younger infants.²⁻⁵ Therefore, the age at vaccination needs to balance the risk of acquiring measles infection by infants with the decreased immunogenicity when measles vaccine was administered early in life.⁶ The introduction of two-dose schedules aimed to seroconvert infants who did not respond to the first dose mainly due to low age at vaccination.⁷ However, epidemic investigations⁸⁻¹⁰ and serological studies¹¹ have suggested that the effect of age at first vaccination could persist after two doses, with a lower protection among children vaccinated before 15 months. Although several studies have addressed the importance of the age at measles vaccination in the response to MCV, no review has systematically summarized these data.^{12,13}

Objectives

To evaluate the effect of the age of administration of the first dose of MCV (MCV1) on the effectiveness and immunogenicity of measles vaccination with one and two doses, we have reviewed observational studies estimating vaccine effectiveness (VE) and/or measles attack rates (AR) by age at vaccination as well as experimental studies comparing seroconversion prevalence by age at vaccination.

Methods

Study design

We conducted a systematic review of the literature following The Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions¹⁴ methodological recommendations, and we reported our results according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement.¹⁵

Eligibility criteria

The inclusion criteria were based on the PICOS (population, interventions, comparisons, outcomes and study design) framework (**Table A-1**).

Table A-1. Research question structured according to PICOS

Population	Participants first vaccinated against measles below 2 years of age
Intervention	Immunization with one or two doses of further attenuated live measles-containing vaccine
Comparator	4 comparison groups by age at first vaccination: less than 9 months, 9-11 months, 12 or 12-14 months and 15 months or older. Vaccination at 12-14 months as reference category.
Primary outcomes	Vaccine effectiveness by age at first vaccination Measles risk ratio or odds ratio by age at first vaccination Seroconversion or seropositivity prevalence ratio by age at first vaccination
Study design	Cohort, case-controls and randomized trials

To evaluate measles vaccine effectiveness by age at vaccination, cohort and case-control studies were included if at least 80% of participants were first vaccinated with a further attenuated live measles-containing vaccine without concomitant administration of anti-measles immunoglobulin during the first two years of life and at least two weeks before outbreak onset. The two outcomes of interest were the vaccine effectiveness and the measles attack rates by age at vaccination.

To assess the effect of age on the antibody response, randomized control trials (RCT) and quasi-experimental studies were included if the first dose of a further attenuated live standard dose of MCV was administered intramuscular or subcutaneously before the age of two years. Studies of killed and high titre vaccines were excluded, as well as those administered by aerosol or intradermal. Studies targeting populations with special characteristics that could affect their response to vaccination, like immunosuppressed or malnourished children,¹⁶ were excluded, but not those reporting less than 5% of acute malnutrition in the general population of children.¹⁷ When different vaccine strains were administered in one study, several results were extracted to

compare children receiving same strain at different age. The outcomes examined were the seroconversion after MCV1 and the seropositivity after MCV2.

All studies published in English, French, Spanish or Portuguese were eligible. **Table A-2** summarizes the inclusion criteria.

Table A-2. Inclusion criteria for article selection

Effectiveness analysis	Immunogenicity analysis
Vaccination with one or two doses of a further attenuated live measles-containing vaccine without IgG co-administration ($\geq 80\%$ of at-risk population)	Intramuscular or subcutaneous vaccination with one or two doses of a further attenuated live measles-containing vaccine
First dose of measles vaccine administered before the age of two years	First dose of measles vaccine administered before the age of two years
Vaccine effectiveness or attack rates reported by age at first vaccination	Antibody response reported by age at first vaccination
Same number of doses for the compared groups	Same intervention with respect to the number of doses and measles strain vaccine
Observational studies: Cohort, case-control	Experimental studies: Randomized and non-randomized trials
Publication in English, French, Spanish or Portuguese	Publication in English, French, Spanish or Portuguese

Information sources

Studies were identified by a systematic search of the databases PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science and Cochrane from 1964, when the first measles vaccine was licensed, up to May 2017. Additionally, references of selected articles and key published reviews were also hand searched.^{1,18-20}

Search strategy

The terms included in the MEDLINE search were: Measles Vaccine, Measles-Mumps-Rubella Vaccine, Measles/prevention and control, Vaccination, Measles Mumps Rubella Varicella vaccin*, MMR, MMRV, Vaccine effectiveness, Efficacy, Epidemic, Outbreak, Treatment failure, Vaccine failure, Antibod*, Serologic Tests, Seroconversion, Immunogenicity, Age at vaccination, Age at immunization and Age factor, all combined with the appropriate connectors. The search

strategy, validated by a professional librarian, was subsequently adapted to the other databases. Results and detailed search strategy for each database is presented in **Table A-3**.

Study Selection

After elimination of duplicates using the EndNote software and manually completed, two reviewers (SCP and MNB) independently selected the studies based on the described criteria. An initial pilot phase based on 25 references facilitated clarification of the inclusion criteria. The process followed the standard stages, with a first screening based on title and abstract and the final inclusion decided after revision of the full text. All disagreements were solved by consensus or consultation of a third party (GDS). The main reason for exclusion was recorded during the full text examination.

Data Collection Process

A data extraction form was developed including the variables of interest regarding: (1) the study's characteristics (author, year of publication, year of epidemic/study, country, design, language, and funding), (2) the population (sex, nutrition status, immunization status of cases and non-cases, presence of maternal antibodies pre-immunization), (3) the intervention (measles vaccine strain, age at vaccination, number of doses, interval between doses, vaccine status ascertainment, and immunization context) and (4) the outcome (measles case definition, seroconversion definition, assay for antibody measurement, attack rates, seroconversion and seropositivity prevalence). An adapted form was used for each analysis (immunogenicity or effectiveness). The forms were tested by two reviewers (SCP and MNB) with three articles and adapted consequently.

One of the authors (SCP or MNB) collected the data from the studies, which was checked by a second reviewer (SCP or MNB). When missing or inaccurate information, authors of the articles were contacted. If not reported, but enough data allowed the estimation of vaccine effectiveness or seroconversion prevalence by age at vaccination, the calculation was done by the reviewers. Age categories with less than 10 subjects were grouped before inclusion in the meta-analysis in order to increase statistical power.

Data items

VE was defined as the protection against measles conferred by the vaccine in field conditions.²¹ It can be calculated comparing the attack rates among vaccinated and non-vaccinated or

comparing the vaccination status of cases and non-cases during measles epidemics.^{22,23} Measles cases were defined by clinical, epidemiological and/or immunological criteria. Attenuated or non-classical measles cases were included only if confirmed by laboratory.⁶

Seroconversion was defined, according to the study, as the presence of measles antibodies in individuals with previously undetectable titers, the fourfold increase in their concentration or both, while seropositivity corresponds to an antibody concentration higher than the protective threshold.²⁴ Assays to measure antibody levels included the enzyme immunoassay (ELISA), hemagglutination (HAI), plaque reduction neutralization (PRN) or complement fixation (CF) tests.^{25,26}

Risk of bias of individual studies

Two reviewers (SCP and MNB) independently evaluated the risk of bias of each outcome in each study.

For the assessment of the observational studies, a scale was adapted from the NICE public health guidance to evaluate the study representativeness, the selection process, the comparability of the groups, the vaccination status ascertainment and the outcome definition and completeness (**Table A-4**).^{23,27}

The Cochrane collaboration tool was adapted to evaluate the risk of bias in clinical trials.¹⁴ The representativeness, the risk of selection bias, performance bias, comparability, attrition bias, information bias and reporting bias were evaluated for each outcome. An item considering the adjustment or stratification for the presence of maternal antibodies was added, because the evaluation of the effect of age implies the unequal distribution of this factor (**Table A-5**).

Summary measures and synthesis of results

In all analysis, one and two dose recipients were analyzed separately.

In the qualitative summary of the field protection conferred by MCV1 and MCV2, we reported VE estimations for each age group.

All quantitative meta-analysis for the defined outcomes were performed using random effect models. A visual examination of the forest plot and a statistic measure of heterogeneity (I^2), generated by RevMan 5.3, were used to evaluate homogeneity between studies. An I^2 statistic

of >50% was interpreted as significant heterogeneity,²⁸ which was therefore explored according to a priori identified factors, known to be potential effect modifiers.

Based on study design, risk ratios (RR) or odds ratios (OR) of measles by age at vaccination were calculated when possible. Meta-analysis were performed to pool RR/OR of children first vaccinated before 9 months, between 9 to 11 months and at 15 months or older, all compared with the category containing those vaccinated at 12 months. These age categories were chosen based on current vaccination policies.²⁹⁻³¹ In case of significant heterogeneity, subgroup analysis were planned to evaluate the modifying effect of the measles case definition, the WHO world region and the year of epidemic (before or after 1985).

For the immunogenicity analysis, seroconversion or seropositivity prevalence after MCV1 or MCV2 was presented by age at vaccination. The effect of age at vaccination was summarized computing the pooled prevalence ratio (PR) of seroconversion/seropositivity that compared the same age categories previously described. Only studies with a standard definition of seroconversion (fourfold increase with or without adjustment for antibody decay, seropositivity among previously seronegative or both) were included in the quantitative pooled analysis. The pooled PR was calculated separately by seroconversion definition and the overall measure of association was only presented if the test for subgroup differences was non-significant. To increase the power of these meta-analyses, all studies allowing calculation of different seroconversion definitions were included in each subgroup analysis. In case of heterogeneity, further stratified analyses were conducted to test the modifying effect of the vaccine strain, the assay to quantify antibody titers and the year of study. Studies exclusively presenting the seropositivity after MVC1 or using an alternative definition of seroconversion were only presented in the qualitative results.

Risk of bias across studies

The publication bias was visually evaluated for each outcome by examination of a funnel plot.

Additional analysis

A pre-specified sensitivity analyses for studies with low risk of bias and for RCTs was conducted for all outcomes when appropriate.

Table A-3: Search strategies in MEDLINE, Web of Science, Embase and Cochrane databases

#	A. MEDLINE [Period: 1964 to 8, May 2017]	Results
1	Intervention: [vaccination with a measles-containing vaccine] "Measles Vaccine"[Mesh] OR "Measles-Mumps-Rubella Vaccine"[Mesh] OR ("Measles/prevention and control"[Mesh:NoExp] AND "Vaccination"[Mesh]) OR Measles vaccin* [TIAB] OR (Measles Mumps Rubella vaccin*[TIAB]) OR (Mumps Measles Rubella vaccin*[TIAB]) OR (Measles Mumps Rubella Varicella vaccin*[TIAB]) OR (MMR vaccin*[TIAB]) OR (MMRV vaccin*[TIAB]) OR Priorix*[TIAB] OR (Triviraten[TIAB] AND Berna[TIAB]) OR Trimovax[TIAB] OR Virivac[TIAB] OR Pluserix[TIAB] OR ProQuad[TIAB]	9,834
2	Outcome: [vaccine efficacy or immunogenicity] "Antibodies, Viral"[Mesh:NoExp] OR "Serologic Tests"[Mesh] OR Seroconversion[TIAB] OR Immunogenicity[TIAB] OR Serological[TIAB] OR Antibod*[TIAB] OR "Vaccine effectiveness"[TIAB] OR Efficacy[TIAB] OR Epidemic[TIAB] OR Outbreak[TIAB] OR "Treatment failure"[Mesh] OR "Vaccine failure"[TIAB]	1,672,118
3	Comparison: [age at first vaccination] "Age Factors"[Mesh] OR "Age factor*" [TIAB] OR "Age at vaccination" OR "Age at immunization" OR "Age at first vaccination"	455,817
4	Studies in humans Animals [Mesh] NOT Humans [Mesh]	
5	#1 AND #2 AND #3 NOT #4	624
#	B. WEB OF SCIENCE [Period: 1964 to 8, May 2017]	Results
1	Intervention: [vaccination with a measles-containing vaccine] TS=('measles vaccine' OR (measles NEAR/3 (vaccin* OR immunization)) OR mmr OR mmrv OR priorix* OR 'triviraten berna' OR trimovax OR virivac OR pluserix OR proquad OR immoravax OR 'moruviraten berna' OR tresivac)	14,642
2	Outcome: [vaccine efficacy or immunogenicity] TS=('measles antibody' OR serodiagnosis OR 'drug efficacy' OR 'vaccine effectiveness' OR Immunogenicity OR Antibod* OR epidemic OR outbreak OR 'treatment failure' OR (vaccine NEAR/2 failure))	1,331,874
3	Comparison: [age at first vaccination] TS=(age OR 'age group' OR 'age factor')	2,431,669
4	#1 AND #2 AND #3	1,676
#	C. EMBASE [Period: 1964 to 8, May 2017]	Results
1	Intervention: [vaccination with a measles-containing vaccine] 'measles vaccine':de,ab,ti OR (measles NEAR/4 (vaccin* OR immunization)):ab,ti OR	13,447

	(mmr NEXT/2 (vaccin* OR immunization)):ab,ti OR (mmrv NEXT/2 (vaccin* OR immunization)):ab,ti OR priorix*:ab,ti OR 'triviraten berna':ab,ti OR trimovax:ab,ti OR virivac:ab,ti OR pluserix:ab,ti OR proquad:ab,ti OR 'm r vax':ab,ti OR immoravax:ab,ti OR 'moruviraten berna':ab,ti OR tresivac:ab,ti	
2	Outcome: [vaccine efficacy or immunogenicity]	
	'measles antibody'/de OR 'serodiagnosis'/de OR 'drug efficacy'/de OR 'vaccine effectiveness':ti,ab OR Immunogenicity:ti,ab OR Antibod*:ti,ab OR 'epidemic':de,ti,ab OR outbreak:ti,ab OR 'treatment failure'/exp OR (vaccine AND failure):ab,ti	2,003,591
3	Comparison: [age at first vaccination]	
	'age'/exp OR 'age group':ti,ab OR 'age factor':de,ti,ab OR 'age at vaccination':de,ti,ab	853,728
4	Studies in humans	
	'animal'/exp NOT 'human'/exp	
5	#1 AND #2 AND #3 NOT #4	549

#	D. COCHRANE [Period: 1964 to 8, May 2017]	Results
1	Intervention: [vaccination with a measles-containing vaccine]*	
	MeSH descriptor:[Measles Vaccine] explode all trees OR (measles NEAR/4 (vaccin* OR immunization)):ab,ti,kw OR mmr:ab,ti,kw OR mmrv:ab,ti,kw OR priorix*:ab,ti,kw OR 'triviraten berna':ab,ti,kw OR trimovax:ab,ti,kw OR virivac:ab,ti,kw OR pluserix:ab,ti,kw OR proquad:ab,ti,kw OR 'm r vax':ab,ti,kw OR immoravax:ab,ti,kw OR 'moruviraten berna':ab,ti,kw OR tresivac:ab,ti,kw	869
2	Outcome: [vaccine efficacy or immunogenicity]	
	MeSH descriptor:[Antibodies, Viral] this term only OR MeSH descriptor:[Serologic Tests] explode all trees OR 'vaccine effectiveness':ti,ab,kw OR Immunogenicity:ti,ab,kw OR Antibod*:ti,ab,kw or seroconversion:ti,ab,kw OR epidemic:ti,ab,kw OR outbreak:ti,ab,kw OR MeSH descriptor:[Treatment Failure] explode all trees OR (vaccine AND failure):ab,ti,kw	34,492
3	Studies in humans	
	MeSH descriptor:[Animals] explode all trees	
4	#1 AND #2 NOT #3	412

Table A-4: Tool to evaluate the risk of bias in observational studies (vaccine effectiveness analysis)

EVALUATION OF RISK OF BIAS: Observational studies*			
CODE: ++ : the risk of bias has been minimized + : answer is not clear or not all potential sources of bias have been addressed - : significant sources of bias may persist NR: not reported NA: not applicable			
SECTION	ITEM	LABEL	COMMENTS (items to be checked)
Study design	Design	Study design	Study design based on the NICE's public health guidance
Representativeness	Source population	Is the source population/area well described?	Description of country, setting, location and population demographics.
Representativeness	Eligible population	Is the eligible population/area representative of the source population/area?	-Recruitment well defined -Eligible population representative of the source (school epidemics considered representative of that population)
Representativeness	Participants	Do the selected participants/areas represent the eligible population/area?	-Method of selection of participants: cases representative of the epidemic (++) or hospitalized cases (-) -% of selected who agree to participate: (++) ≥90% participation (+) 60-90% participation (-) <60% participation -Inclusion/ exclusion criteria
Representativeness	Representativeness	Global score	Based on the 3 previous items
Selection	Selection of the comparison group	Is comparison group drawn from the same community as the exposed cohort? Are controls selected from the same source than cases?	Risk of selection bias based on the selection of comparison group (cohort study) or control group (case-control study).
Selection	Response rate	Is there the same rate of non-response for both groups?	Non-response rate for cases and controls (case-control studies) /population at risk (retrospective cohorts)
Selection	Selection	Global score	Based on the 2 previous items
Comparability	Comparability	Are the groups comparable by design or analysis?	Potential confounders: (++): controlled or not associated to

		Potential confounders: - Time since vaccination - Malnutrition status - Vaccine strain and potential use of killed vaccine or IgG - Exposure to measles - Affected by control measures	age at vaccination (+): not clear or potential confounding still existing (-): probable association to age at vaccination and not controlled for it
Exposure	Vaccination ascertainment	Has the vaccination status been ascertained vaccine record?	Vaccination status ascertained by: (++): vaccine record (+): school record (-): interview/self-reported
Exposure	Vaccination ascertainment for the comparison group	Has the same method been used for both groups to ascertain the vaccination status?	-Method to ascertain vaccination status similar for cases and controls /exposed and non-exposed: (++) yes; (-) non; -Number with unknown vaccination status in each group
Exposure	Measles history	Is there a demonstration of no history of measles among controls /non-exposed?	(++): Active questioning on measles history among controls / non-exposed group? (+): not reported but low possibility of previous measles history (-): not reported and high possibility of previous measles history
Exposure	Exposure	Global score	Based on the 3 previous items
Outcome	Case ascertainment	Have the measles cases been well defined?	(++): cases defined by laboratory or epidemiological link to a confirmed case (+): cases defined by clinical signs or epidemiological link (-): cases defined by official records, nurse diagnosis without case definition or questionnaire to families
Outcome	Incomplete outcome	Has the outcome been completely reported?	(++): active search of all cases identified (+): no active search (-): very probably some cases not included
Outcome	Outcome	Global score	Based on the 2 previous items

*Adapted from the NICE public health guidance

Table A-5: Tool to evaluate the risk of bias in experimental studies (immunogenicity analysis)

EVALUATION OF RISK OF BIAS: Experimental studies*			
CODE: ++ : the risk of bias has been minimized + : answer is not clear or not all potential sources of bias have been addressed - : significant sources of bias may persist NR: not reported NA: not applicable			
SECTION	ITEM	LABEL	COMMENTS (items to be checked)
Study design	Design	Study design	Study design based on the NICE's public health guidance
Representativeness	Source population	Is the source population/area well described?	Description of country, setting, location and population demographics.
Representativeness	Eligible population	Is the eligible population/area representative of the source population/area?	-Recruitment well defined -Eligible population representative of the source
Representativeness	Participants	Do the selected participants/areas represent the eligible population/area?	-Method of selection of participants -% of selected who agree to participate -Inclusion/ exclusion criteria
Representativeness	Representativeness	Global score	Based on the 3 previous items
Selection bias	Randomization	Random sequence generation	Method used to generate the allocation sequence in sufficient detail to allow an assessment of whether it should produce comparable groups (for RCT)
Selection bias	Baseline	Selection of non-randomized groups	Differences in compared groups due to differential selection (sex, maternal ab, malnutrition, measles history) (++): exclusion if measles history, not differences on sex /malnutrition distribution (-): differential selection is probable
Selection bias	Selection	Global score	Based on the 2 previous items
Performance bias	Blinding of participants	Blinding of participants and personnel	Measures to blind study participants and personnel from knowledge of which intervention a participant received (for RCT) (++): Blindness or no impact on results

Comparability	Maternal antibodies	- Stratification or regression for the presence of maternal antibodies	Maternal antibodies have been measured and taken into account in the analysis. (++): all (with and without maternal ab) included or both measures given (-): restriction to seronegative
Comparability	Control for other confounders	Potential confounders: - Malnutrition status - Measles exposition pre or post-vaccination - Time from vaccination to sampling - Interval between doses	(++): adjustment if necessary (+): partial adjustment (-): bias potential due to not adjustment when potential confounding existing
Comparability	Confounding	Global score	Based on the 2 previous items
Attrition bias	Incomplete outcome	Incomplete outcome data	Completeness of outcome data, including attrition and exclusions from the analysis: if reported, numbers in each group and reasons. (++): number and reasons reported (+): no reported the reasons
Information bias	Intervention	Intervention	All participants received the same intervention: vaccine strain and potency
Information bias	Outcome	Lab method	(++): PRN (+): other (ELISA, HAI) (-): dry pad
Information bias	Information bias	Global score	Based on the 2 previous items
Reporting bias	Selective reporting	Selective reporting	Possibility of selective outcome reporting.

*Adapted from the Cochrane collaboration tool

References

1. Uzicanin A, Zimmerman L. Field effectiveness of live attenuated measles-containing vaccines: a review of published literature. *J Infect Dis* 2011; **204**: S133-48.
2. Gans H, Yasukawa L, Rinki M, et al. Immune responses to measles and mumps vaccination of infants at 6, 9, and 12 months. *J Infect Dis* 2001; **184**: 817-26.
3. Klinge J, Lugauer S, Korn K, Heining 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**: 3134-40.
4. Redd SC, King GE, Heath JL, Forghani B, Bellini WJ, Markowitz LE. Comparison of vaccination with measles-mumps-rubella vaccine at 9, 12, and 15 months of age. *J Infect Dis* 2004; **189**: S116-22.
5. Leuridan E, Van Damme P. Passive transmission and persistence of naturally acquired or vaccine-induced maternal antibodies against measles in newborns. *Vaccine* 2007; **25**: 6296-304.
6. Strebel PM, Papania MJ, Fiebelkorn AP, Halsey N. Measles vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines*. 6th ed. China: Elsevier Saunders; 2013.
7. World Health Organization. Global measles and rubella strategic plan. 2012-2020. 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44855/1/9789241503396_eng.pdf. (accessed 01 May 2015)
8. De Serres G, Boulianne N, Meyer F, Ward BJ. Measles vaccine efficacy during an outbreak in a highly vaccinated population: incremental increase in protection with age at vaccination up to 18 months. *Epidemiol Infect* 1995; **115**: 315-23.
9. Paunio M, Peltola H, Valle M, Davidkin I, Virtanen M, Heinonen OP. Twice vaccinated recipients are better protected against epidemic measles than are single dose recipients of measles containing vaccine. *J Epidemiol Community Health* 1999; **53**: 173-8.
10. Defay F, De Serres G, Skowronski DM, et al. Measles in children vaccinated with 2 doses of MMR. *Pediatrics* 2013; **132**: e1126-33.
11. Poethko-Muller C, Mankertz A. Sero-epidemiology of measles-specific IgG antibodies and predictive factors for low or missing titres in a German population-based cross-sectional study in children and adolescents (KiGGS). *Vaccine* 2011; **29**: 7949-59.
12. Vesikari L, Becker T, Gajdos V, et al. Immunogenicity and safety of a two-dose regimen of a combined measles, mumps, rubella and varicella live vaccine (ProQuad®) in infants from 9 months of age. *Vaccine* 2012; **30**: 3082-9.
13. Gans HA, Yasukawa LL, Alderson A, et al. Humoral and cell-mediated immune responses to an early 2-dose measles vaccination regimen in the United States. *J Infect Dis* 2004; **190**: 83-90.
14. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. In: Higgins J, Green S, editors.: The Cochrane Collaboration, 2011; 2011.
15. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol* 2009; **62**: e1-34.
16. Waibale P, Bowlin SJ, Mortimer EA, Whalen C. The effect of human immunodeficiency virus-1 infection and stunting on measles immunoglobulin-G levels in children vaccinated against measles in Uganda. *Int J Epidemiol* 1999; **28**: 341-6.
17. World Health Organization. Global Database on Child Growth and Malnutrition. 1997. <http://www.who.int/nutgrowthdb/about/introduction/en/index2.html2016> (accessed 20 May 2016).
18. Lochlainn LN, de Gier B, van der Maas NAT, et al. Measles vaccination below 9 months of age: Systematic literature review and meta-analysis of effects and safety. In: Control CfID, editor. Bilthoven, the Netherlands; 2015. p. 109.

19. Demicheli V, Rivetti A, Debalini MG, Di Pietrantonj C. Vaccines for measles, mumps and rubella in children. *The Cochrane database of systematic reviews* 2012; **2**: CD004407.
20. Moss W, Scott S. The Immunological Basis for Immunization Series. Module 7: Measles. Update 2009. 2009. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44038/1/9789241597555_eng.pdf (accessed 20 May 2016).
21. Weinberg GA, Szilagyi PG. Vaccine epidemiology: efficacy, effectiveness, and the translational research roadmap. *J Infect Dis* 2010; **201**: 1607-10.
22. Orenstein WA, Bernier RH, Dondero TJ, et al. Field evaluation of vaccine efficacy. *Bull World Health Organ* 1985; **63**: 1055-68.
23. Orenstein WA, Bernier RH, Hinman AR. Assessing vaccine efficacy in the field. Further observations. *Epidemiol Rev* 1988; **10**: 212-41.
24. Chen RT, Markowitz LE, Albrecht P, et al. Measles antibody: reevaluation of protective titers. *J Infect Dis* 1990; **162**: 1036-42.
25. Neumann PW, Weber JM, Jessamine aG, O'Shaughnessy MV. Comparison of measles antihemolysin test, enzyme-linked immunosorbent assay, and hemagglutination inhibition test with neutralization test for determination of immune status. *J Clin Microbiol* 1985; **22**: 296-8.
26. Ratnam S, Gadag V, West R, et al. Comparison of commercial enzyme immunoassay kits with plaque reduction neutralization test for detection of measles virus antibody. *J Clin Microbiol* 1995; **33**: 811-5.
27. NICE. Methods for the development of NICE public health guidance (third edition). 2012. p. 214-186.
28. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; **327**: 557-60.
29. World Health Organization. Measles vaccines: WHO position paper, April 2017 - Recommendations. *Vaccine* 2017.
30. Strikas RA. Advisory committee on immunization practices recommended immunization schedules for persons aged 0 through 18 years--United States, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015; **64**: 93-4.
31. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Schedule. 2015. <http://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/Pages/Scheduler.aspx> (accessed 5 May 2016).