Revisiones

Diversidad antigénica de las vacunas antiparotiditicas

Antigenic diversity of vaccines againts mumps

Rosa I Hernández R[1], Dileyvic Giambalvo G[1], María de los A Montilla M[1], Dulce M Morón R[2], Gladys Ghisays[3]

RESUMEN

La parotiditis es una enfermedad infecciosa inmunoprevenible causada por el virus de la parotiditis, miembro del género *Rubulavirus*, familia *Paramyxoviridae*, del cual se conocen 12 genotipos confirmados, designados como A-L y otro nuevo genotipo designado como M. Las vacunas antiparotiditis por lo general, se fabrican empleando virus vivo atenuado de alguno de estos genotipos y están disponibles como monovalente (parotiditis) y trivalente (sarampión-rubéola-parotiditis).

A pesar de los programas de vacunación implementados por muchos países, se han presentado brotes de parotiditis en forma epidémica en la cual se ha detectado co-circulación de genotipos entre poblaciones vacunadas. Entre las posibles explicaciones están: el fracaso primario a la vacunación, pérdida de efectividad secundaria e infección por virus heterólogos. Como consecuencia la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado estudios moleculares epidemiológicos, que incluya la genotipificación de cepas circulantes del virus de la parotiditis, como parte del programa de vigilancia. Esto permitirá una mayor información de la distribución de los genotipos en todo el mundo, contribuyendo a la vigilancia de la parotiditis y posiblemente en la reformulación de vacunas más eficaces.

ABSTRACT

Mumps is a vaccine-preventable infectious disease, caused by mumps virus, member of *Rubulavirus* genus, Paramyxoviridae family, has been classified into 12 confirmed genotypes, designated as A-L and one proposed genotype, M. Usually the anti-mumps vaccines are manufactured using attenuated live virus genotypes and any of these are available as monovalent (mumps) and trivalent (measles-mumps-rubella).

Although vaccination programs implemented by many countries, there have been outbreaks of mumps in epidemic form, in which has been detected co-circulation of genotypes among vaccinated populations. Possible explanations are: the primary vaccination failure, loss of high effectiveness and heterologous virus infection. Because of this, the World Health Organization (WHO) has recommended molecular epidemiological studies, including genotyping of circulating strains of mumps virus as part of the monitoring program. This information will allow greater distribution of genotypes worldwide, contributing to monitoring and possibly mumps reformulating more effective vaccines. This review shows the importance of molecular characterization and genotyping of mumps virus, in order to understand and explain the epidemiological behavior of

1 Laboratorio de Aislamiento Viral, Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Apdo.1040, Caracas-Venezuela. Telf: 0212-2191702. Correo electrónico: canaima005@yahoo.com

2 División de Vigilancia Epidemiológica. Gerencia de Diagnóstico. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”.

3 Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud-Ecuador.

Esta revisión muestra la importancia que tiene la caracterización molecular o genotipificación del virus de la parotiditis, con el propósito de comprender y explicar el comportamiento epidemiológico de esta enfermedad que ha sido ampliamente controlada por la aplicación sistemática de la vacuna a nivel mundial.

Palabras clave: parotiditis, virus de la parotiditis, genotipificación, genotipos, vacunas.

the disease has been largely controlled by the systematic application of the vaccine worldwide.

Keywords: mumps, mumps virus, genotyping, genotype, vaccines.

LA PAROTIDITIS Y SU AGENTE ETIOLÓGICO

La parotiditis es una enfermedad típica de la infancia, por lo general benigna, caracterizada por la inflamación de las glándulas parótidas y salivales; no obstante, se ha reportado que un porcentaje superior al 10% de los pacientes infectados pueden desarrollar meningitis aséptica y otras complicaciones menos frecuentes, pero más serias, tales como; encefalitis, sordera, orquitis y pancreatitis, que pueden resultar en una discapacidad permanente[1]. El agente etiológico de la enfermedad es el virus de la parotiditis perteneciente al género *Rubulavirus*, familia *Paramyxoviridae*, es un virus de ARN de cadena simple no segmentado y polaridad negativa, cuyo genoma consta de 15.384 nucleótidos. El ARN genómico contiene siete genes que codifican nueve marcos abiertos de lectura: NP (nucleoproteina), P (fosfoproteina), M (proteína matriz), F (proteína de fusión), SH (proteína hidrofóbica pequeña), HN (hemaglutinina-neuranimidasa) y L (proteína larga) (Fig. 1). El gen SH del genoma del virus de la parotiditis es la región más pequeña y variable, y sus secuencias han sido ampliamente utilizadas para la caracterización molecular de la cepa[2-7].

Existe un solo serotipo del virus de la parotiditis. Según el análisis de secuencia de nucleótidos de la región del gen SH las cepas conocidas han sido clasificadas en 12 genotipos, designados desde la A hasta la L y un genotipo propuesto designado como M[1-2,8].

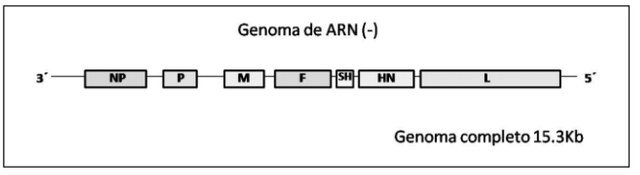


Figura 1. Representación gráfica del genoma del Virus Parotiditis.

ANTECEDENTES

Por muchos años, la inmunidad adquirida de por vida que seguía a una infección natural, o a la vacunación, pareció ser una forma de control de la enfermedad; sin embargo, la reinfección por el virus de la parotiditis se considera un tema de preocupación a nivel de salud pública mundial[4,7-8], ya que se han reportado brotes en poblaciones con alta cobertura de vacunación con una dosis[9-12].

En los años 2005-2007 se reportaron brotes en poblaciones con altas coberturas de vacunación, tales como los brotes en Nueva Escocia-Canadá en mayo 2005, seguido más tarde por uno en Québec-Canadá, y otro en Iowa-USA en septiembre del mismo año, reportándose más de 10.000 casos asociados con este último brote que se extendió y abarcó 45 estados de los Estados Unidos[4].

En febrero 2006, el Departamento de Salud Pública de Iowa fue notificado de un brote de parotiditis entre estudiantes vacunados de dos colegios que reportaron altas coberturas de vacunación con dos dosis. En respuesta, se diseñaron protocolos de aislamiento de pacientes, fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica, y vacunación masiva previo examen clínico. A pesar de estos esfuerzos el virus se esparció en Iowa y estados vecinos, resultando la epidemia más grande reportada en los Estados Unidos desde 1980, con más de 1.950 casos locales y más de 5.700 a nivel nacional[13].

Aunque no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas, el recibir más de una dosis de vacuna contra la parotiditis parece ser beneficioso; aparentemente, la recepción de dos dosis puede conferir por encima de 5 veces la protección de una dosis única[11]. Un ejemplo de esto, puede ser que en países como Finlandia y Suecia, que adoptaron el esquema de

vacunación de doble dosis de trivalente viral (sarampión-rubeola-parotiditis) en 1982, lograron, por lo menos en Finlandia, la eliminación de la parotiditis en 1996[14-15].

VACUNAS ANTIPAROTIDÍTICAS

Considerando que el virus de la parotiditis es monotípico, la vacuna producida con cualquier cepa contra esta enfermedad debería proveer protección de por vida contra infecciones posteriores, sin embargo, los brotes de parotiditis no han sido eliminados completamente aún en poblaciones con altas coberturas de vacunación. Por otra parte, en algunos casos, los anticuerpos neutralizantes del virus de la parotiditis no protegen contra la reinfección con genotipos virales heterólogos[9-11,16-17]. La estrategia de vacunación global establecida por la OMS, consiste en la vacunación de parotiditis junto con rubéola y sarampión en una formulación triple, y es parte del esquema de inmunización de varios países[18]. Actualmente, las cepas vacunales más utilizadas son: Jeryl Lynn (JL), RIT 4385, Urabe-AM9, Leningrado-3 (L-3) y Leningrado-Zagreb (L-Zagreb)[7]. Debido a que todas las vacunas de parotiditis son poblaciones de quasiespecies, la descripción adecuada del genoma del virus vacunal debe incluir además de la secuencia propia, la evaluación cuantitativa de las variantes virales existentes[1].

Vacuna Jeryl Lynn

Desarrollada en 1967, a partir de un aislado faríngeo de un paciente. Se preparó mediante pases del virus por huevos de gallina embrionados y luego por cultivos de células de embriones de pollo. Tuvo el privilegio de ser la primera vacuna de parotiditis disponible en el mercado internacional, Estados Unidos la adoptó como cepa vacunal única[7, 20].

Esta vacuna contiene dos poblaciones virales, designadas como JL-5 Y JL-2, evidenciadas al observarse altos niveles de divergencia entre ellas, con 414 nucleótidos y 87 aminoácidos de diferencia; por tal motivo, la vacuna JL es una mezcla de dos cepas virales diferentes, lo cual es probablemente una ventaja[21-22]. La cepa es muy segura, como se muestra en estudios de reactogenicidad utilizando parotiditis monovalente o la vacuna trivalente SRP. Otra de las ventajas de dicha vacuna es que no se han documentado casos de meningitis aséptica, evento adverso considerado el talón de Aquiles de las vacunas de parotiditis[21].

Los primeros ensayos con la cepa vacunal JL demostraron una eficacia de aproximadamente 95%, pero en condiciones epidémicas, la efectividad disminuye hasta 62%.

En un estudio realizado por Castilla et al[23], se demostró que en una población de niños de 1-10 años de edad, la vacuna trivalente SRP que tenía la cepa JL presentó 72% de efectividad en la prevención de los casos de parotiditis, encontrándose que la efectividad para una dosis fue de 66%, alcanzando después de la segunda dosis una efectividad de 83%.

Vacuna Rubini

Otra vacuna de parotiditis considerada como segura derivó su nombre de Rubini, el niño suizo cuya orina se utilizó como fuente del aislamiento viral. En 1985 fue autorizado su uso en Suiza y fue perfeccionada mediante el pase del virus por un cultivo en línea celular diploide humana, con pases sucesivos por huevos de gallina embrionados y adaptación a la línea celular diploide humana MRC-5[24].

La desventaja de esta vacuna, que utiliza la cepa celular diploide humana es que reporta un rango de baja a ninguna efectividad clínica [24].

Cabe destacar que Portugal comenzó a usar exclusivamente esta vacuna en 1992, como consecuencia el país completo padeció de una larga epidemia.

Experiencias similares se registraron en otros países como Suecia, Italia, y Singapur, lo que ha conducido al abandono de la cepa vacunal Rubini[24].

Vacuna Urabe-AM9

La cepa Urabe deriva de un aislado de saliva de un paciente. La vacuna se desarrolló en Japón, extendiéndose su producción en Europa en la década del 80. (Bélgica, Francia e Italia)[25]. Esta cepa se produce en el amnios de los huevos de gallina embrionados o en cultivos de células de embriones de pollo, la cepa es altamente inmunogénica, con un 95% de seroconversión en niños con edades comprendidas entre 14-20 meses [25].

Comparada con la vacuna JL, la inmunogenicidad de la cepa Urabe-AM9, medida por ELISA y traducida en protección es equivalente, reportándose en un estudio

que 88% de los niños entre 13-15 meses que recibieron la vacuna, desarrollaron anticuerpos neutralizantes[25].

La desventaja de esta cepa es su tendencia a producir meningitis aséptica. La razón de esta tendencia no ha sido completamente esclarecida, aunque hay que considerar que la vacuna contiene dos cepas distintas, representando una mezcla de quasiespecies, una de las cuales parece ser más neurovirulenta. Sauder et al (2006), mostraron que el cambio en la heterogeneidad genética en sitios específicos del genoma pueden tener un efecto profundo sobre el fenotipo neurovirulento de cepas de Urabe-AM9. De hecho este investigador afirma que la meningitis que ocurre después de la administración de la vacuna de parotiditis es clasificada clínicamente como moderada, pero cualquier inflamación del sistema nervioso central inducida por vacuna es materia de importancia[25].

Otros estudios demuestran que en cuanto a efectividad clínica la vacuna Urabe-AM9 compite con la vacuna JL[26].

En un estudio comparativo realizado por Miller y col[27], en el Reino Unido, utilizando vacunas preparadas con las cepas JL o Urabe-AM9, en combinación con las vacunas contra el sarampión y la rubéola se encontró que cuatro años después de la administración de una dosis única de la vacuna trivalente SRP las tasas de seropositividad eran del 85% para la cepa Urabe-Am9 y del 81% para la JL. Resultados similares, se reportaron en Canadá, en donde las tasas correspondientes entre 5-6 años después de la administración de una dosis única de vacuna trivalente SRP, fueron del 93% para la cepa Urabe-AM9 y del 85% para la JL[28].En ese estudio Boulianne N y col (1995) demostraron que la cepa vacunal Urabe-AM9 tiene una efectividad entre 54%-87%, pero es propensa de causar meningitis aséptica.

Vacuna Leningrado-3

La cepa vacunal L-3 se preparó en 1953 a partir de 5 aislados de virus de la parotiditis combinados en una única cepa. Se preparó en un cultivo celular de riñón de cobayo y pasada a cultivos embrionarios de codorniz Japonesa. Se caracterizó como heterogénea sobre la base de morfología de placa y un auto radiograma de secuencia con algunas ambigüedades en los genes P y F pero la composición de L-3 nunca se publicó[7].

Desde 1980, la ex Unión Soviética, la ha utilizado en su programa nacional de inmunización, reportándose una alta efectividad y una protección entre 91-99%[29].

En la ex República Democrática Alemana, la observación de ocurrencia de eventos de meningitis aséptica entre los receptores de esta cepa vacunal, tuvo como consecuencia que los ensayos clínicos se cancelaran[30].

Así mismo, en Novosibirsk, Siberia, se comprobó que la cepa vacunal L-3 podía transmitirse horizontalmente, además de causar enfermedad sintomática en vacunados. Por ésta razón, ésta vacuna tuvo baja aceptación en las naciones del ex bloque comunista[30].

Vacuna Leningrado-Zagreb

Traída a Zagreb, Croacia, en la ex Yugoslavia, la vacuna L-3 fue atenuada y posteriormente renombrada Leningrado-Zagreb (L-Zagreb). Se desarrolló por una adaptación de subcultivo de la cepa vacunal L-3 en cultivo primario de fibroblastos embriónicos de pollo, demostrándose su estabilidad genética a nivel de la secuencia típica de esta cepa vacunal en el curso del proceso de producción[7].

Mediante dos experimentos de clonación independientes, Tanja KG y col (2008). Demostraron que se la cepa vacunal L-Zagreb contiene una sola cepa viral. Sin embargo, numerosas posiciones de los nucleótidos demostraron ser heterogénicas e indicaron una naturaleza de quasiespecies de esta cepa. Se logró aislar dos tipos de clones virales llamados variante A, idénticos a la secuencia consenso, y variante B con diferencias en nucleótidos en comparación con la secuencia consenso (quasiespecies). Los más abundantes son los llamados variante B, que se detectaron en todas las muestras DE VACUNAS L-Zagreb analizadas[7].

Esta variante que solo difiere de la secuencia consenso en tres nucleótidos, se demostró que era una consecuencia de los pasajes por cultivo celular en el cual el virus se replica pero que no constituía una nueva variante de la cepa original[7].

A pesar de la asociación con meningitis aséptica de la cepa L-Zagreb esto ha sido materia de discusión, ya que por una parte en Brasil, en 1998, se observó que luego de dos campañas de vacunación utilizando la vacuna trivalente SRP, se encontró una alta incidencia de meningitis aséptica[31]. Sin embargo, resultados contrarios se

encontraron en la india donde se encontró un solo caso de meningitis aséptica por 95.361 dosis aplicadas[32].

Investigaciones recientes señalan que la meningitis aséptica no es materia de importancia en la vacunación con la cepa L-Zagreb, especialmente si se sopesa con la buena protección que provee la vacuna contra la parotiditis y sus complicaciones asociadas, tal como quedo demostrado en Croacia (2007) donde se evidenció la naturaleza benigna de la meningitis asociada a casos vacunales[4].

La vacuna L-Zagreb llena cumple con los requerimientos de la OMS y ha sido vendida en cientos de millones de dosis en países en desarrollo, donde es ampliamente utilizada con un costo de una fracción de lo que cuesta una vacuna en países desarrollados, presentando resultados alentadores, ya que algunos estudios demuestran que la efectividad de ésta vacuna es mayor del 95%.

En conclusión, varias de las vacunas antiparotidíticas, entre ellas las preparadas con las cepas JL, Urabe-AM9 y L-3, contienen más de un clon vírico atenuado; desconociéndose las posibles repercusiones de esta heterogeneidad vírica en cuanto a la inmunidad protectora y los efectos adversos.

El uso de diferentes cepas vacunales en cada país, ilustra un cuadro globalmente complejo que podría ser la causa de diferentes patrones geográficos de la circulación de genotipos del virus de parotiditis observada. Es por ello que la OMS recomienda estudios de epidemiología molecular, tales como la genotipificación de cepas circulantes del virus parotiditis como parte del programa de vigilancia, para fortalecer el estudio del patrón de circulación y evolución viral. Para ello se hace necesario, fortalecer el conocimiento de las características epidemiológicas del virus parotiditis, así como su variación antigénica, por medio de estudios de genotipificación usando análisis filogenético. Los objetivos de la vigilancia epidemiológica de la parotiditis deben adaptarse al nivel de control de la enfermedad que se haya alcanzado en cada país, en países con altas coberturas de vacunación y baja incidencia de parotiditis, incluso la aparición de brotes, la vigilancia debe servir no sólo para identificar grupos de riesgo, predecir y prevenir la aparición de brotes sino además para conocer las características moleculares de los genotipos circulantes y su relación con la fisiopatogenia de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) Pandurang SK, Mohan MK, Umila KK. Genotyping of Mumps viruses based on SH gene: Development of a Server using alignment-free and alignment-based methods. Immunome Research. 2011; 7:3-4.

(2) Afzal MA, Dussupt V, Minor PD, Pipkin PA, Fleck R, Hockley DJ, Stacey GN. Assessment of mumps virus growth on various continuous cell lines by virologica, immunological molecular and morphological investigation. J Virol Methods. 2005; 126 (1-2):149-56.

(3) Boddicker JD, Rota PA, Kreman T, Wangeman A, Lowe L, Hummel KB, Thompson R, Bellini WJ, Pentella M, Desjardin LE. Real-time reverse transcription-PCR assay for detection of mumps virus RNA in clinical specimens. J Clin Microbiol. 2007; 45:2902-2908.

(4) Heikki P, Prasad SK, Subhash VK, Mikko P, Suresh SJ, and Rajeev MD. Mumps Outbreaks in Canada and the United States: Time for New Thinking on Mumps Vaccines. Clinical Infectious Diseases. 2007; 45 (4): 459-66.

(5) Jin L, Brown DWG, Litton PA, White JM. Genetic diversity of mumps virus in oral fluid specimens: Application to mumps epidemiological study. J Infect Dis. 2004; 189: 1001-1008.

(6) Jin L, Rima B, Brown D, Orvell C, Tecle T, Afzal M, et al. Proposal for genetic characterization of wild-type mumps strains: Preliminary standardization of the nomenclature. Arch Virol. 2005; 150:1903-1909.

(7) Tanja KG, Dubravko F, Maja S, Ramljak A, Sanja ML, Mazuran R. Genetic heterogeneity of L-Zagreb mumps virus vaccine strain. Virology Journal. 2008; 5:79

(8) Santos CLS, Ishida MA, Foster PG, Sallum MAM, Benega MA, Borges DB, et al. Detection of a New Mumps Virus Genotype During Parotiditis Epidemic of 2006-2007 in the State of Säo Paulo, Brazil Journal of Medical Virology. 2008; 80:323-329.

(9) Wharton M, Cochi SL, Hutcheson RH, Bistowish JM, Schaffner W. A large outbreak of Mumps in the post-vaccine era. J Infect Dis. 1988; 158:1253-60.

(10) Cheek JE, Baron R, Atlas H, WilsonDL, Crider jr RD. Mumps outbreak in a highly vaccinated school population. Evidence for large-scale vaccination failure. Arch Pedriatr Adolesc Med. 1995; 149:774-8.

(11) Hersh BS, Fine PEM, Kent WK, Cochi SL, Kahn LH, Zell EER, et al. Mumps outbreak in a highly vaccinated population. Journal of Pediatric. 1991; 119:187-193.

(12) Kim SH, Song KJ, Shin YK, Kim JH, Choi SM, Park KS, et al. Phylogenetic analysis of the small hydrophobic (SH) gene of mumps virus in Korea identification of a new genotype. Microbiology and Immunology. 2000; 44,173-177.

(13) Marin M, Quinlisk P, Shimabukuro T, Sawhney Ch, Brown C, Lebaron Cw. Mumps vaccination coverage and vaccine

effectiveness in a large outbreak among college students-Iowa, 2006.Vaccine. 2006; 26:3601-3607.

(14) Peltola H, Karanko V, Kurki T, Hukkanen V, Virtanen M, Penttinene K et al. Rapid effect on endemic measles, mumps, and rubella of nationwide vaccination programme in Finland. Lancet. 1986; 1:137-9.

(15) Peltola H, Davidkin I, Paunio M, Valle M, Leinikiki P, Heinonen OP. Mumps and rubella eliminated from Finland. JAMA. 2000; 284:2643-7.

(16) Nojd J, Tecle T, Samuelsson A and Orvell C. Mumps virus neutralizing antibodies do not Protect against reinfection with a heterologous mumps virus genotype.Vaccine. 2001; 19 (13-14):1727-1731.

(17) Rubin S, Mauldin J, Chumakov K, Vanderzande J, Iskow R, Carbone K. Serological and phylogenetic evidence of monotypic immune responses to different mumps virus strains. Vaccine. 2006; 24 (14) : 2662-8.

(18) Galazka AM, Robertson SE, Kraigher A. Mumps and Mumps Vaccine: A global review.Bull World Health Organ. 1999; 77 (1):3-14.

(19) Echevarría JE, Castellanos A, Sanz JC, Martínez MV, Rey IP, Mosquera M, De Ory F, Royuela E : Mumps Virus Genotyping : Basis and Known Circulating Genotypes. Open vaccine Journal. 2010; 3:37-41

(20) Buynak EB, Hilleman MR. Live Attenuated mumps virus vaccine: vaccine development.Proc Soc Exp Biol Med. 1966; 123: 768-75.

(21) Nalin DR. Mumps vaccine complications which strain? Lancet. 1989; 2:1396.

(22) Afzal M.A, Pickford AR, Forsey T, Heath AB and Minor PD. The Jeryl Lynn vaccine strain of mumps virus is a mixture of two distinct isolates. Journal of General Virology. 1993; 74, 917-920.

(23) Castilla J, García C, Arriazu M, Fernández-Alonso M, Martínez-Artola V, Etxeberria J, Irisarri F, Barricarte A. Efectiveness of Jeryl Lynn-containing vaccine in Spanish children. Vaccine. 2009; 27 (15):2089-2093

(24) Ong G, Goh KT, Ma S, Chew SK. Comparative efficacy of Rubini, Jeryl Lynn and Urabe mumps vaccine in an Asian population. J Infect. 2005; 51(4):294-8.

(25) Sauder CJ, Vandenburgh KM, Iskow RC, Malik T, Carbone KM, Rubin SA. Changes in Mumps virus neurovirulence phenotype associated with quasispecies heterogeneity.Virology. 2006; 350 (1):48-57.

(26) Brown EG, Dimock K, Wright KE. The Urabe AM9 Mumps Vaccine is a mixture of viruses differing at aminoacid 335 of the hemagglutinina-neuraminidase gene with one form associated with disease J Infect Dis. 1996; 174 (3):619-22.

(27) Miller E, Hill A, Morgan-Capner P, Forsey T, Rush M. Antibodies to measles, mumps and rubella in UK children 4 years after vaccination with diferente MMR vaccines. Vaccine. 1995; 13 (9):799-802.

(28) Boulianne N, De Serres G, Ratnam S, Ward BJ, Joly JR, Duval B. Measles, Mumps and Rubella in children 5-6 years after immunization: effect of vaccine type and age of vaccination. Vaccine. 1995; 13 (16):1611-1616.

(29) Garaseferian MG, Bolotovskii VM, Shatova LP, Tetova NS. Prevention of Mumps in preschool institutions using a live mumps vaccine made from strain L-3 Zh. Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 1988; 4:39-42.

(30) Tisher A, Gerike E. Immune response alter primary and revaccination with different combined vaccines againts measles, mumps, rubella. Vaccine. 2000; 18:1382-92.

(31) Da Cunha SS, Rodríguez LC, Barreto ML, Dourado I. Outbreak of aseptic meningitis and mumps alter mass vaccination with MMR vaccine using the Leningrad-Zagreb mumps strain. Vaccine. 2002; 20:1106-12.

(32) Phadke MA, Patki PS, Kullkarni PS, Jadhav SS, Kapre SV. Pharmaco-Vigilance on MMR vaccine containing L-Zagreb mumps strain. Vaccine. 2004; 22:4135-6.

Recibido: 06 de junio de 2014 Aprobado: 12 de junio de 2014