



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UnICEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

JOYCE CRISTINE ARAÚJO DE DEUS DA SILVA

BEATRIZ OLIVEIRA DE ANDRADE

**PESQUISA DE ANTICORPOS DO TIPO IgG CONTRA CAXUMBA EM INDIVÍDUOS DE BRASÍLIA-
DF**

BRASÍLIA

2020



JOYCE CRISTINE ARAÚJO DE DEUS DA SILVA

BEATRIZ OLIVEIRA DE ANDRADE

**PESQUISA DE ANTICORPOS DO TIPO IgG CONTRA CAXUMBA EM INDIVÍDUOS DE BRASÍLIA-
DF**

Relatório final da pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Kelly Cristina Rodrigues Simi

BRASÍLIA

2020

RESUMO

A caxumba é uma infecção causada por um vírus de RNA conhecido como mumps virus, é altamente contagioso e sua transmissão ocorre por meio de gotículas de saliva, tosse ou espirro de pessoas infectadas; possui um período de latência de 16 - 18 dias e o quadro clínico característico é parotidite uni ou bilateral, seguido de cefaléia, mal-estar, anorexia, mialgia, febre baixa e também há o risco de complicações e sequelas. A doença é prevenível através da vacina Tríplice Viral, porém recentemente tem ocorrido diversos surtos de caxumba, inclusive no Distrito Federal onde a maioria dos acometidos foram indivíduos de 20 a 49 anos e diversos possuíam registro de vacinação anterior. O presente projeto trata-se de um estudo experimental, com ensaio quantitativo in vitro para anticorpos humanos da classe IgG contra o vírus da Caxumba, através da técnica de ELISA, a fim de verificar a taxa de imunização em indivíduos de 18 - 35 anos residentes de Brasília. Em virtude da pandemia de COVID-19 a pesquisa não pode ser realizada em sua totalidade e a população estudada foi reduzida de 180 para 39 indivíduos. Dos voluntários analisados: 27 estão imunizados, 10 não imunizados e 2 apresentaram resultado indeterminado; todos os voluntários apresentaram titulações de anticorpos muito variadas, o que confirma a hipótese de que os níveis de anticorpos sofrem um decréscimo com o passar dos anos. Portanto conclui-se que apenas 2 doses da vacina na infância não é o suficiente para garantir imunidade para o resto da vida, o essencial seria adicionar à campanha vacinal uma nova dose da vacina na idade adulta, com o objetivo de prevenir a queda da imunização e conseqüente ressurgimento de novos surtos.

Palavras-chave: Parotidite infecciosa. Tríplice viral. Imunização.

ABSTRACT

Mumps is an infection caused by an RNA virus known as mumps virus, it is highly contagious and the transmission occurs through saliva droplets saliva, coughing or sneezing from infected people; it has a latency period of 16 - 18 days and the characteristic clinical picture is unilateral or bilateral mumps, followed by headache, malaise, anorexia, myalgia, low fever and there is also the risk of complications and sequelae. The disease is preventable through the Triple Viral vaccine, but recently there have been several mumps outbreaks, including in the Federal District, where the majority of those affected were individuals aged 20 to 49 years and manifold had a previous vaccination record. This project is an experimental study, with a quantitative in vitro assay for human antibodies of the IgG class against the Mumps virus, using the ELISA technique, in order to verify the immunization rate in individuals aged 18 - 35 years old. from Brasilia. Due to the COVID-19 pandemic, the research cannot be carried out in its entirety and the population studied was reduced from 180 to 39 individuals. Of the volunteers analyzed: 27 are immunized, 10 are not immunized and 2 presented borderline results; all volunteers had very different antibody titers, which confirms the hypothesis that the antibody levels decrease over the years. Therefore, it is concluded that just 2 doses of the vaccine in childhood is not enough to guarantee immunity for the rest of life, the essential action would be to add a new dose of the vaccine in adulthood to the vaccination campaign, with the objective of preventing the fall of immunization. and the consequent resurgence of new outbreaks of Mumps.

Keywords: Infectious mumps. MMR vaccine. Immunization.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS, QUADROS, GRÁFICOS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Figura 01: Distribuição de amostras, calibradores e controles em microplaca de ELISA.

Tabela 01: Valores de referência do teste qualitativo.

Gráfico 01: Curva de calibração com linha de tendência linear.

Tabela 02: Titulações dos controles positivo e negativo.

Tabela 03: Relação de voluntários, média das absorbâncias e concentração.

Gráfico 02: Distribuição de voluntários por faixa etária e titulação de anticorpos.

Gráfico 03: Avaliação Qualitativa por número de indivíduos.

Tabela 04: Valor qualitativo atribuído às amostras.

Tabela 05: Distribuição de voluntários não imunizados quanto a idade, titulação e vacinação.

Gráfico 04: Titulação de anticorpos anti-caxumba de indivíduos com resultados reagentes.

SRC – Sarampo, Caxumba e Rubéola

MMR – *Measles, Mumps and rubella*

MuV – *Mumps virus*

RNA – Ácido ribonucleico

IgG – Imunoglobulina G

DF – Distrito Federal

IgM – Imunoglobulina M

FVP – Falha Vacinal Primária

FVS – Falha Vacinal Secundária

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	07
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	07
3. MÉTODO	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
6. REFERÊNCIAS	21

INTRODUÇÃO

A caxumba, também conhecida como papeira ou parotidite, é uma doença infecciosa causada por um agente viral da família *Paramyxoviridae*, cuja transmissão ocorre por meio de gotículas de saliva, tosse ou espirro de pessoas infectadas (SU; CHANG; CHEN, 2020). O acometimento da doença se dá em grande maioria em crianças e adultos não vacinados, dentre esses, trabalhadores que possuem alta exposição a indivíduos de outros países, que podem não adotar as mesmas medidas de controle da doença (BRASIL, 2013).

Segundo o Ministério da Saúde, a caxumba é prevenível com a vacina da tríplice viral (SRC ou MMR) de vírus atenuado para proteção contra sarampo, caxumba e rubéola. A vacina MMR foi incorporada ao calendário básico de vacinação brasileiro no ano de 2004. O objetivo da vacinação com a tríplice viral é reduzir as taxas de incidência da caxumba e a eliminação do sarampo e rubéola (GERVÁSIO et. al., 2019).

A única forma de garantir a imunização por meio da vacinação é realizar a pesquisa de anticorpos do tipo IgG contra o agente infeccioso na população mais afetada. Desta forma, o presente estudo tem como objetivos ressaltar a relevância da confirmação da imunização de vacinas; titular anticorpos do tipo IgG em soro de indivíduos de Brasília-DF; determinar a prevalência de anticorpos do tipo IgG contra Caxumba na população estudada.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A caxumba é uma doença infecciosa causada por um vírus de RNA, envelopado, conhecido como *mumps virus* (MuV), da família *Paramyxoviridae* (RUBIN et al., 2015). O homem é o único hospedeiro natural conhecido do vírus, sendo que uma parcela dos indivíduos infectados apresenta uma infecção inaparente e constitui importante papel na disseminação da doença (LAM; ROSEN; ZUCKER, 2020). Hipócrates realizou a primeira descrição da doença (460 a 370 a. C.) referindo-se como parotidites as doenças que acometem as glândulas salivares de forma sazonal. O vírus de RNA foi isolado por Habel e Enders (1945) propagando-o em ovos embrionados (GERVÁSIO et. al., 2019).

A doença, que pode ser conhecida também como parotidite infecciosa, apresenta-se classicamente como inflamação unilateral ou bilateral da parótida e de outras glândulas

salivares (LAM; ROSEN; ZUCKER, 2020). O vírus é altamente contagioso e pode ser transmitido através de secreções respiratórias provenientes de tosse e espirros, sendo que a saliva é uma das principais fontes de disseminação (COSTA et al, 2017). O período de incubação é de 16 a 18 dias, mas os casos podem ocorrer de 12 a 25 dias após a exposição. A recomendação de isolamento social com afastamento das atividades habituais é de 5 dias após o início do edema da parótida (SÃO PAULO, 2017).

O quadro clínico da doença é caracterizado por cefaleia, mal-estar, anorexia, mialgia e febre baixa, pacientes com o quadro clássico podem apresentar parotidite uni ou bilateral. Além das glândulas salivares, outros órgãos podem ser infectados pelo vírus como os testículos, próstata, ovários, fígado, pâncreas, baço, tireoide, rins, coração, medula óssea, pulmões e sistema nervoso central. A orquite em homens pós-púberes, mastite e ooforite em mulheres pós-púberes e pancreatite são outras características clínicas encontradas (LAM; ROSEN; ZUCKER, 2020). O vírus também pode ser transmitido por via transplacentária, podendo haver lesões no feto quando a gestante é infectada no 1º trimestre de gravidez (SANTOS et al., 2015).

O risco de sintomas graves e complicações aumenta em adultos. Complicações e sequelas incluem meningite (1-10%), encefalite (0-1%), ooforite (5% dos casos femininos), orquite (15-30% dos casos masculinos), pancreatite (4%) e surdez (0,005%) (CAMARGO, 2018). Outras complicações raras identificadas após a infecção incluem manifestações neurológicas, como surdez neurossensorial súbita, meningite asséptica, encefalite e perda auditiva transitória (LAM; ROSEN; ZUCKER, 2020).

Segundo informativo epidemiológico da subsecretaria de vigilância em saúde do DF, em 2017 foram notificados 1.052 casos de caxumba, sendo que 55,6% dos casos ocorreram em homens e 1.009 (95,9%) entre moradores do DF (BRASIL, 2018). Dentre os acometidos, sua maioria (39,5%), foram em pessoas de 20 a 49 anos, e segundo a situação vacinal dos acometidos, 19% tinham registro de vacinação anterior. É importante observar que a população mais acometida pela doença são homens dentro da faixa etária de jovem adulto. Uma vez que mulheres e crianças tendem a fazer parte do público alvo da vacina tríplice viral (GDF; Secretaria de Saúde, 2019a).

De acordo com o boletim epidemiológico de 2017 do DF foram notificados 20 surtos de caxumba, sendo que 1.009 casos foram reportados nas regiões de saúde no Distrito Federal, e destes 270 ocorreram na região Sudoeste (BRASIL, 2018). No ano de 2018 foram notificados 762 casos, e no ano de 2019 no período de janeiro a abril foram notificados 420 casos de caxumba no DF, mais da metade do total de notificações do ano anterior (GDF; Secretaria de Saúde, 2019b).

A parotidite possui como agente etiológico um vírus da ordem dos *Mononegavirales*, família *Paramyxoviridae* e gênero *Rubulavirus*. É um vírus envelopado com genoma de RNA de fita simples linear, em sua membrana possui 2 complexos de glicoproteínas: proteínas de ligação (H, HN ou G), responsáveis pela ligação ao receptor e as proteínas de fusão (F), responsáveis pela fusão do envelope viral com a membrana plasmática das células-alvo, algumas ainda apresentam a proteína M na superfície celular, importante para a organização viral. O vírus em questão possui atividade de hemolisina, exercida pela proteína F e da hemaglutinina e neuraminidase, exercidas pela proteína HN (GERVÁSIO et al, 2019).

A proteína HN é um sítio alvo para os anticorpos neutralizantes, específicos contra o vírus da caxumba, como parte da resposta imune humoral. Estudos mostraram que as proteínas F e HN são fatores de virulência e são reconhecidos como alvos genéticos para vacinas recombinantes que podem ser desenvolvidas utilizando técnicas moleculares (LAM; ROSEN; ZUCKER, 2020).

Há apenas um sorotipo de MuV, portanto anticorpos gerados em resposta à infecção com uma cepa do vírus podem reconhecer cepas geneticamente divergentes. Porém são observadas variações na produção de anticorpos após a vacinação, de tal forma que títulos duas a seis vezes maiores podem ser necessários para neutralizar as cepas selvagens em comparação com as cepas presentes na vacina (BANKAMP et al, 2019).

Os anticorpos IgM anti-MuV são detectáveis logo após a infecção, já o pico de anticorpos IgG ocorre 1-3 meses após a vacinação e diminui ao longo de um período de vários meses. Vários estudos demonstraram que as respostas de anticorpos anti-MuV sofrem um significativo declínio ao longo do tempo (KENNEDY et al, 2019).

A prevenção contra a caxumba é realizada através da vacina tríplice viral, a qual possui os vírus atenuados da caxumba (família *Paramyxoviridae*, gênero *Rubulavirus*, cepa RIT 4385);

do sarampo (família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbillivirus*, cepa Schwarz) e da rubéola (família *Togaviridae*, gênero *Rubivirus*, cepa Wistar RA 27/3); ou pela tetravalente, onde é acrescentado à tríplice, o vírus atenuado da varicela (vírus *Varicela-Zoster*, cepa Oka) (SILVA; MATTER, 2020).

A vacina tríplice viral foi implementada no Brasil a partir de 1996. Mas somente em 2004 foi incorporada ao calendário básico de vacinação brasileiro, pela portaria nº 597 de 8 de abril de 2004, com duas doses após o primeiro ano de vida. A partir de 2014 foi implantada a vacina tetraviral, com uma dose aos 4 anos de idade (GDF; Secretaria de saúde, 2019b) ; (GERVÁSIO et. al., 2019).

Atualmente o Ministério da Saúde recomenda que a 1º dose da tríplice viral seja ministrada aos 12 meses de idade, e aos 15 meses uma dose da vacina tetravalente deve ser ministrada, correspondente à segunda dose da vacina tríplice e uma dose da varicela. Caso ocorra atraso na vacinação, crianças de até 4 anos de idade podem receber a vacina tetravalente, e em indivíduos de 5 - 29 anos devem ser ministradas 2 doses da vacina tríplice viral. Pessoas de 30 - 49 anos devem receber apenas uma dose (FIOCRUZ, 2017).

Entretanto, alguns estudos demonstram que em alguns casos podem ocorrer uma falta de resposta à vacina, chamada falha vacinal primária (FVP), em cerca de 2% a 5% para sarampo, 3% a 7% para caxumba e 2% a 5% para rubéola. As principais causas de FVP são: presença de anticorpos maternos e condições impróprias da vacina (armazenamento, manuseio e administração); também pode ocorrer falha vacinal secundária (FVS), que é o decréscimo dos níveis de anticorpos. Por conseguinte, tem-se observado que, apesar de a eficácia vacinal ser comprovada, os níveis de anticorpos após a infecção natural são maiores do que após a vacinação (SAMPAIO; ANDRADE, 2018).

Estudos recentes mostraram que a memória dos linfócitos B contra caxumba possui baixa frequência em comparação com sarampo e rubéola, uma vez que os índices de avidéz de IgG de caxumba estavam na faixa de 40 - 60%, intervalo menor do que o sarampo, que teve um índice de avidéz médio de 80%. Além disso, não há correlação definida de imunidade para a parotidite, tornando difícil prever com segurança se as pessoas vacinadas estão protegidas (BANKAMP et al, 2019).

Desde a década de 1990 os surtos de Caxumba têm aumentado em todo o mundo, independentemente do uso implementado da vacina Tríplice viral (MMR). Na busca de explicações para o ressurgimento de casos da doença, pode-se presumir o surgimento de uma variação antigênica, ou seja, novas cepas que escapam da proteção vacinal, ou uma falha secundária da promoção de imunização, uma vez que, indivíduos contraíram a infecção mesmo 10 anos após receberem a última dose da vacina MMR (ALMANSOUR, 2020).

Em 2018, um estudo epidemiológico realizado nos Estados Unidos da América e outros países reuniu outros seis estudos epidemiológicos sobre a eficácia da vacina contra caxumba nas últimas décadas, cujo a força de proteção imunológica foi testada. Posto isso, pôde-se constatar que o ressurgimento da doença entre a população de adultos jovens sugere que os indivíduos que receberam a vacinação na infância perderam proteção contra a doença em média 27 anos após o recebimento da última dose (LEWNARD; GRAD, 2018).

MÉTODO

Esta pesquisa constitui um estudo experimental com ensaio qualitativo e quantitativo *in vitro* para anticorpos humanos da classe IgG contra o vírus da Caxumba em plasma através da técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Em virtude da pandemia de Coronavírus a pesquisa não foi realizada em sua totalidade no local planejado. Para a realização das coletas de material biológico, processamento das amostras e realização da técnica de ELISA foi utilizado o espaço do Laboratório-Escola do Uniceub (Edifício União, Setor Comercial Sul, quadra 01, 1º andar) e os laboratórios do UniCeub (Unidade da Asa Norte, Bloco 9).

Esta pesquisa teve como objeto de estudo uma amostra da população com faixa etária de 18 a 35 anos residente de Brasília-DF. Os indivíduos selecionados foram orientados quanto aos objetivos e riscos da pesquisa. Além de firmar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), no qual é esclarecido todos os aspectos da pesquisa. Em razão da pandemia do COVID-19, a população estudada foi reduzida de 180 para 39 amostras, uma vez que foi inviabilizado o acesso aos voluntários previamente inscritos na pesquisa.

Foram observados os seguintes critérios para inclusão da pesquisa: indivíduos com idade mínima de 18 anos e máxima de 35 anos e residentes de Brasília-DF. Como critérios de exclusão: indivíduos fora da faixa etária estabelecida; indivíduos que recusasse assinar o TCLE; indivíduos em fase aguda de doença infecciosa; indivíduos com sinais ou sintomas de COVID-19.

Foram coletadas amostras de sangue venoso através da técnica de coleta a vácuo com agulhas de 25 x 0,8 mm e tubos de coleta com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) de 4 mL. As amostras foram identificadas com seqüências numéricas identificadas no TCLE, tubo de coleta e tubo *ependorf* e informadas ao voluntário. O material foi processado para separação do plasma através da técnica de centrifugação por 5 minutos a 2.500 rpm. Foram utilizadas micropipetas de 200 - 1000 µL para transferir o plasma para tubos *ependorf* de 1,5 mL, que foram posteriormente armazenados em temperatura entre +2°C e +8°C no Laboratório 9509, bloco 9, UniCeub, Asa Norte.

Foi utilizado o kit anti-Mumps virus ELISA (IgG) Euroimmun para realização dos testes. O procedimento de execução da técnica de ELISA iniciou-se com o descongelamento em temperatura ambiente dos plasmas armazenados. Em seguida foi realizada a diluição das amostras na proporção de 1:101 em tampão de amostra disponibilizado pelo kit utilizado. A incubação das amostras foi realizada transferindo 100µL dos calibradores, controles positivo e negativo e amostras diluídas em duplicata na microplaca (Figura 01) incubada por 30 minutos em temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C). Após a incubação das amostras foram realizadas três lavagens manuais ao esvaziar os poços por inversão e utilizar 300 µL de solução de tampão de lavagem previamente preparado com água destilada na concentração de 1:9. Após a lavagem foi desprezado todo o líquido da microplaca batendo-a em papel absorvente com as aberturas para baixo a fim de remover todo o tampão de lavagem residual.

Figura 01: Distribuição de amostras, calibradores e controles em microplaca de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C-	C-	V4	V4	V12	V12	V20	V20	V28	V28	V36	V36
B	C+	C+	V5	V5	V13	V13	V21	V21	V29	V29	V37	V37
C	C1	C1	V6	V6	V14	V14	V22	V22	V30	V30	V38	V38
D	C2	C2	V7	V7	V15	V15	V23	V23	V31	V31	V39	V39
E	C3	C3	V8	V8	V16	V16	V24	V24	V32	V32		
F	V1	V1	V9	V9	V17	V17	V25	V25	V33	V33		
G	V2	V2	V10	V10	V18	V18	V26	V26	V34	V34		
H	V3	V3	V11	V11	V19	V19	V27	V27	V35	V35		

Em seguida foi realizada a incubação do conjugado pipetando 100 µL do conjugado enzimático (anti-IgG humano marcado com peroxidase) em cada poço da microplaca e incubado por 30 minutos em temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C). Após a incubação do conjugado foi realizada nova sequência de três lavagens conforme descrito anteriormente. Seguidamente foi realizada a incubação do substrato ao pipetar 100 µL da solução substrato/cromógeno em cada um dos poços da microplaca e incubado por 15 minutos em temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C) protegido da luz direta com papel alumínio.

Para realizar a parada da reação foram pipetados 100 µL da solução de parada em cada um dos poços da microplaca na mesma ordem e na mesma velocidade que a solução substrato/cromógeno foi introduzida. Logo após a parada foi realizada a medição fotométrica da intensidade de cor realizada em um comprimento de onda de 450 nm e valor de referência entre 620 nm e 650 nm em instrumento espectrofotômetro.

Para a interpretação dos resultados foi utilizada a ferramenta Excel do pacote office. A partir dos dados das absorbâncias dos calibradores foi realizado o cálculo da média. Com os valores da média e concentração dos calibradores, dos quais são encontrados na bula do kit, foi criado um gráfico de dispersão. Com base nos pontos de dispersão foi definida uma linha de tendência linear e gerado a equação do primeiro grau ($f(x) = ax + b$) do gráfico e seu R^2 . O R^2 , ou coeficiente de determinação múltipla para a regressão múltipla, se dá através de uma medida estatística da proximidade dos dados que compõem a linha de regressão ajustada. Este é representado com um valor entre 0 e 100% ou 0 e 1, sendo que quanto mais

próximo de 1 ou 100%, maior a confiabilidade dos dados gerados. Definidos os valores de titulação de anticorpos de cada voluntário, foi avaliado de acordo com a tabela de valores de referência (Tabela 01) os valores qualitativos que determinam a imunização ou não imunização para Caxumba.

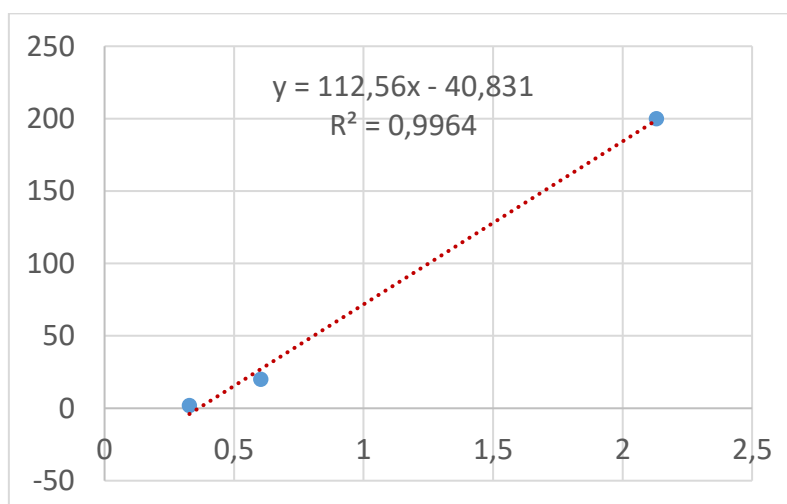
Tabela 01: Valores de referência do teste qualitativo.

Valores de referência	
Positivo	≥ 22 UR/ml
Borderline / Indeterminado	≥ 16 a < 22 UR/ml
Negativo	< 16 UR/ml

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a plotagem ponto-a-ponto dos valores obtidos pela média da absorbância dos calibradores (1, 2 e 3) pelas unidades correspondentes (200, 20 e 0 UR/mL, respectivamente) utilizando planilha do Excel (Gráfico 1). A partir do gráfico, foi gerada uma equação de primeiro grau $f(x) = 112,56x - 40,831$ com R^2 de 0,9964. O $f(x)$ é a concentração a ser determinada e x o valor encontrado da média das absorbâncias de cada voluntário. Com o R^2 confiável e equação da função estabelecida foram então realizados os cálculos para obtenção da concentração (titulação) de anticorpos de cada voluntário. Todas as amostras que obtiveram resultados de concentração com valores negativos, foram considerados como 0 UR/ml nesta pesquisa.

Gráfico 01: Curva de calibração com linha de tendência linear.



A equação também foi utilizada para as titulações dos controles positivo e negativo (Tabela 02) como mais uma forma de verificação de confiabilidade do kit comparando-os com os valores de referência pré-determinados pelo fabricante. Obteve-se então, os valores de 118,554 UR/ml para o controle positivo e 0 UR/ml para o controle negativo. Posto isso, a partir da média das absorbâncias foram encontrados os valores da concentração de anticorpos para cada voluntário (Tabela 03).

Tabela 02: Titulações dos controles positivo e negativo.

Valores de referência	Absorbância 1	Absorbância 2	Média	Concentração (UR/ml)
POSITIVO	1,414	1,418	1,416	118,554
NEGATIVO	0,361	0,363	0,362	0

Tabela 03: Relação de voluntários, média das absorbâncias e concentração.

Voluntário	Média	Concentração (UR/ml)	Voluntário	Média	Concentração (UR/ml)
001	2,9	285,593	021	2,12	197,796
002	1,058	78,2575	022	2,25	212,429
003	1,144	87,8814	023	2,295	217,494
004	0,66	33,4023	024	0,82	51,4119
005	0,736	42,0132	025	0,962	67,3954
006	0,866	56,646	026	0,727	41,0001
007	0,631	30,1944	027	1,136	86,9809
008	1,587	137,745	028	0,819	51,2994
009	0,812	50,5677	029	1,237	98,3494
010	0,453	10,1587	030	0,615	28,3934
011	0,914	61,9926	031	0,626	29,6316
012	1,232	97,8429	032	0,378	1,71668
013	0,77	45,8402	033	0,543	20,2891
014	0,338	0	034	0,268	0
015	2,006	184,908	035	0,413	5,65628
016	0,356	0	036	0,405	4,69952
017	0,551	21,1333	037	0,262	0
018	2,215	208,489	038	0,279	0
019	0,725	40,775	039	0,364	0,14084
020	0,806	49,8924			

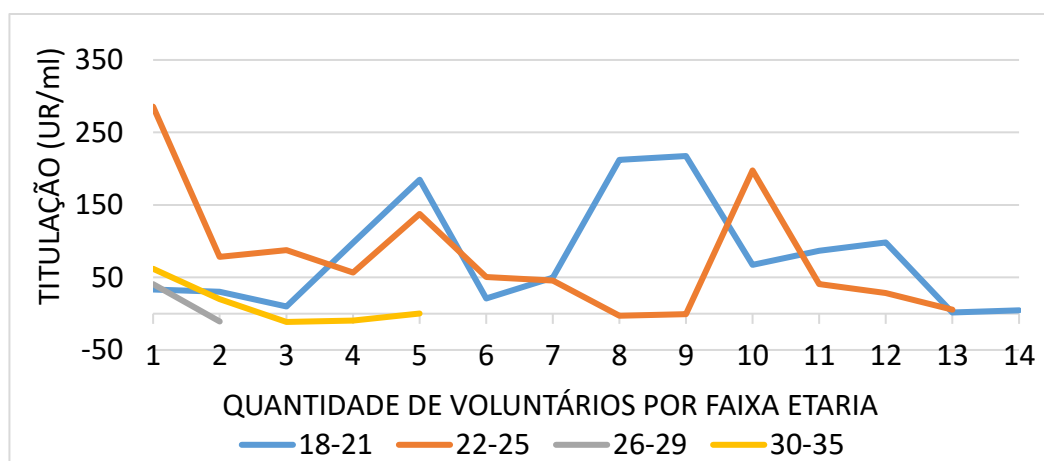
Foi realizada a dosagem de anticorpos do tipo IgG contra Caxumba em 39 indivíduos de Brasília-DF a fim de verificar a imunização destes. Dentre os 39 indivíduos, 31 são do sexo feminino e 8 são do sexo masculino e destes, apenas 7 disponibilizaram seus cartões de

vacinação, alguns com justificativa de perda. Dos que disponibilizaram o cartão foi verificado que todos receberam doses da vacina.

Foram aceitos no estudo somente voluntários com faixa etária entre 18 e 35 anos, que corresponde ao intervalo de idade que, nos últimos dados, foram mais acometidos pela doença. Destes indivíduos, 14 têm entre 18 - 21 anos, 13 têm entre 22 - 25 anos, 2 têm entre 26 - 29 anos e 5 têm entre 30 e 35 anos.

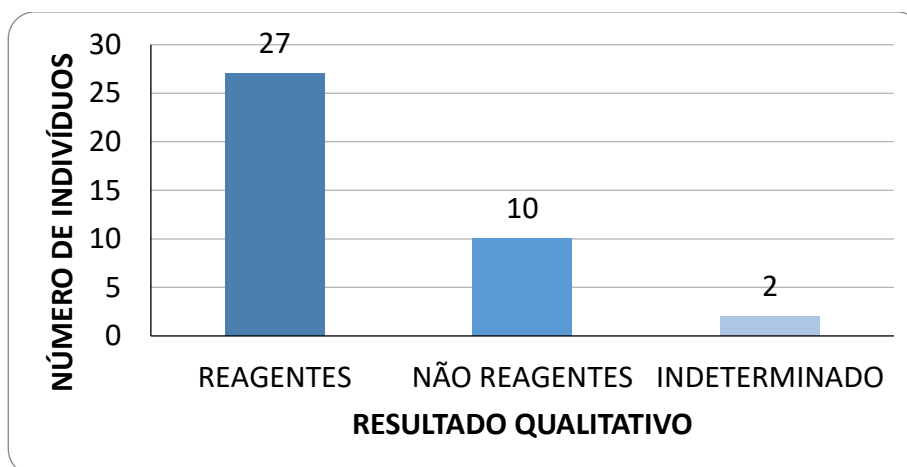
No gráfico 2 é possível observar a diferença de titulação de anticorpos relacionada à idade dos indivíduos, o que corrobora com a hipótese de que com o passar dos anos ocorre um decréscimo na quantidade de anticorpos presentes. Tendo em vista que os voluntários com idade mais avançada possuem menores titulações de anticorpos.

Gráfico 02: Distribuição de voluntários por faixa etária e titulação de anticorpos.



Na avaliação qualitativa (gráfico 03 e tabela 04), dentre os 39 voluntários analisados, 27 apresentaram resultado reagente, 10 não reagente e 2 apresentaram resultados indeterminados (borderline).

Gráfico 03: Avaliação Qualitativa por número de indivíduos.



Para resultados dentro da faixa de borderline é necessário realizar a repetição do exame, cujo procedimento não foi adotado pela equipe. No grupo dos indivíduos negativos para a imunização, 6 não apresentaram o cartão de vacina e 4 apresentaram o cartão, cujo havia o registro da vacina.

Com fundamento no Gráfico 03, é possível observar que, mesmo com a falta de acesso a todos os cartões de vacina dos voluntários, a maioria dos estudados estão imunizados para a doença, não podendo discriminar se a imunização provém da vacinação ou a exposição à doença. Entretanto, os 4 indivíduos que apresentaram as titulações de anticorpos mais altas, relataram ter tido a doença anteriormente, o que confirma que os níveis de anticorpos após a infecção natural são maiores do que após a vacinação.

Tabela 04: Valor qualitativo atribuído às amostras.

Voluntário	Resultado	Voluntário	Resultado	Voluntário	Resultado
001	+	014	-	027	+
002	+	015	+	028	+
003	+	016	-	029	+
004	+	017	Indeterminado	030	+
005	+	018	+	031	+
006	+	019	+	032	-
007	+	020	+	033	Indeterminado
008	+	021	+	034	-
009	+	022	+	035	-
010	-	023	+	036	-
011	+	024	+	037	-
012	+	025	+	038	-
013	+	026	+	039	-

Com base nos dados supracitados, pode-se constatar que dentre os indivíduos com comprovação de vacinação na infância e resultado negativo, com idades de 21, 22, 22 e 30 anos, não produziram anticorpos suficiente para a imunização com titulação respectivamente de 10,158 UR/ml, 0 UR/ml, 1,716 UR/ml e 0 UR/ml.

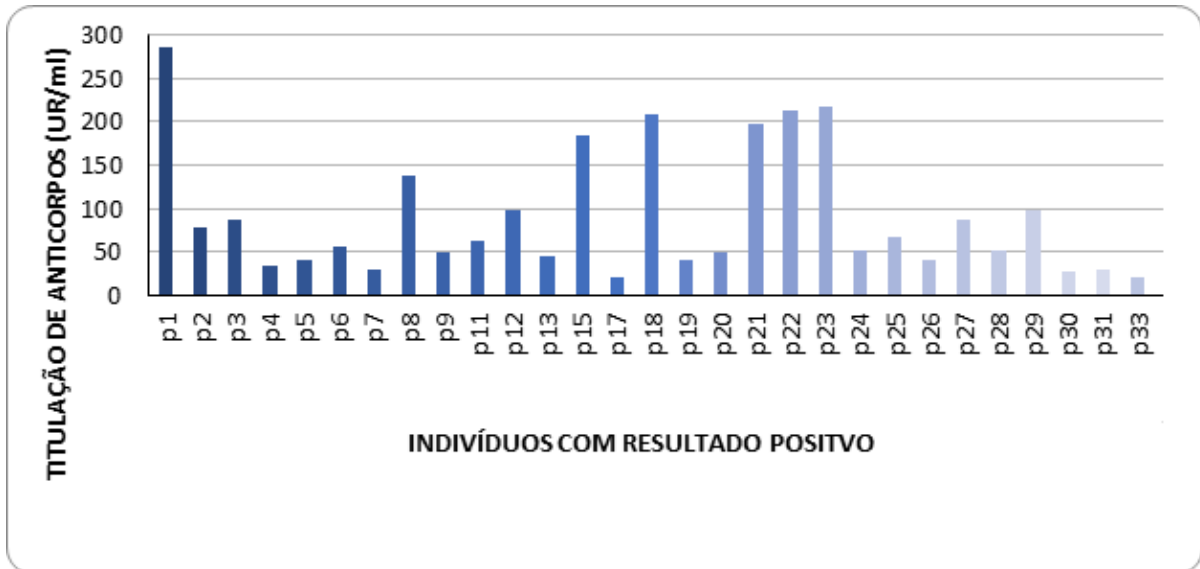
Como pode ser observado na tabela 05, os indivíduos que têm seus registros de vacinação mais antigos são quem apresenta as menores titulações de anticorpos. Fato este que permite formular a hipótese de que mesmo após as doses aplicadas não ocorreu a produção de anticorpos suficientes, ou que a imunização gerada pela vacina pode ter diminuído ao ponto de não ser eficaz nestes indivíduos.

Tabela 05: Distribuição de voluntários com resultados negativos quanto a idade, titulação e vacinação.

Voluntário	Cartão de vacina disponível				Cartão de vacina não disponível					
	10	14	32	37	16	34	35	36	38	39
Idade (anos)	21	22	22	30	22	28	23	20	33	37
Titulação (UR/ml)	10,15	0	1,71	0	0	0	5,65	4,69	0	0,14
Ano de vacinação	2015	2000	2004	1993						

Com base nos dados de titulação obtidos a partir da população estudada, conclui-se que a maior titulação verificada entre os indivíduos com resultados positivo foi de 285,593 UR/ml e a menor foi de 28,393 UR/ml, uma alta variação de resultados (Gráfico 04). Foi observada a taxa de prevalência, referente à população estudada, de 25,64 não imunizados a cada 100 pessoas avaliadas.

Gráfico 04: Titulação de anticorpos anti-caxumba de indivíduos com resultados reagentes



Os indivíduos 9, 13 e 17 dos quais a vacinação foi comprovada apresentaram algumas das menores titulações positivas investigadas. Confirmando a hipótese de que a vacinação gera títulos variáveis de anticorpos, dessa forma não é possível afirmar que apenas 2 doses da vacina na infância geram total imunização. Posto isso, é possível conjecturar que a imunização por vacinação em três doses produz títulos de anticorpos baixos, quando comparado com a produção de anticorpos frente a uma exposição à doença.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O calendário vacinal brasileiro recomenda 2 doses da vacina tríplice viral aos 12 meses e 1 dose da tetraviral aos 15 meses de idade, e na idade adulta ocorre a vacinação da dupla viral, pois se acreditava que era suficiente para a total imunização. Porém diversos estudos sugerem que a titulação de anticorpos tende a diminuir com o passar dos anos. O presente trabalho, embora com suas limitações impostas pela pandemia do novo coronavírus, demonstrou que nem todos os indivíduos vacinados apresentaram anticorpos anti-caxumba detectáveis por imunoenaios. Os indivíduos que relataram ter contraído a doença, foram os que apresentaram a maior concentração plasmática de anticorpos, confirmado que a doença gera títulos superiores que a vacinação. Além, disso, a titulação desses anticorpos apresentou uma alta variação entre os indivíduos imunizados, sugerindo uma queda dos títulos conforme a idade.

Portanto a estratégia ideal seria adicionar à campanha vacinal uma nova dose da vacina tríplice viral de reforço na idade adulta, a fim de prevenir a queda de imunização e o ressurgimento da doença. Além disso, é importante também realizar um exame para comprovar essa imunização, já que também é comprovado que em alguns indivíduos pode ocorrer uma falha vacinal, primária ou secundária.

REFERÊNCIAS

ARUNKUMAR, G. et al. Prevalence of measles, mumps, rubella, and varicella susceptibility among health science students in a University in India. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 56, n. 1, p. 58–64, 2013. DOI: 10.1002/ajim.22046

BANKAMP, B. et al. Successes and challenges for preventing measles, mumps and rubella by vaccination. **Current Opinion in Virology**. v. 34, p. 110 - 116, fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.01.002>.

BRASIL. **Programa Nacional de Imunização: 40 anos**. 1. ed. Brasília, 2013. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/programa_nacional_imunizacoes_pni40.pdf. Acesso em: 03 out. 2020.

BRASIL. **Informativo Epidemiológico das Doenças Imunopreveníveis, de Transmissão Respiratória, Hepatite A, Hídricas e Alimentares e dos Acidentes com Animais Peçonhentos no Distrito Federal em 2017**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, mar. 2018. Disponível em: http://www.saude.df.gov.br/wp-conteudo/uploads/2018/05/Boletim-GEVEI-DADOS-2017_2018.pdf-Corrigido.pdf. Acesso em: 03 out. 2020.

COSTA, G. A. et al. **Caxumba: atualização**. Ver. Med. Minas Gerais; 27:S40-S43. 2017. Doi: <http://www.dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20170028>

CAMARGO, J. P. **Surto de caxumba em uma instituição de ensino superior do Estado de São Paulo, 2015-2017**. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Saúde Coletiva. São Paulo. 2018. Disponível em: <https://www.fcmsantacasasp.edu.br/wp-content/uploads/dissertacoes-e-teses/22-08/2018%20-%20J%20c3%a9ssica%20Pires%20de%20Camargo.pdf>. Acesso em 14 out. 2020.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Ministério da Saúde destaca a importância da vacina tríplice viral**. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/ministerio-da-saude-destaca-importancia-da-vacina-triplice-viral>. Acesso em 15 ago. 2020.

GDF (Governo do Distrito Federal); Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Informativo Epidemiológico: Situação Epidemiológica da Caxumba**. jun. 2019a. Disponível em: <http://www.saude.df.gov.br/wp-conteudo/uploads/2018/05/INFORMATIVO-CAXUMBA.pdf>. Acesso em 13 out. 2020.

GDF (Governo do Distrito Federal); Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Secretaria de Saúde apura supostos casos de caxumba em agência bancária**. mai. 2019b. Disponível em: <http://www.saude.df.gov.br/secretaria-de-saude-apura-supostos-casos-de-caxumba-em-agencia-bancaria/>. Acesso em: 10 out. 2020.

KENNEDY, R.B. et al. Differential durability of immune responses to measles and mumps following MMR vaccination. **Vaccine**. v. 37, n. 13, p. 1775 - 1784, mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.02.030>

RUBIN, S. et al. **Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus**. *The Journal of pathology*, v. 235, n.2, p. 242-252. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.4445>

SAMPAIO, B. F. C. et al., **Pesquisa de anticorpos IgG anti-vírus do sarampo, rubéola, caxumba e toxoplasma gondii em saliva de escolares e universitários da cidade de São Paulo**. Tese de Graduação ao Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. DOI: 10.11606/T.99.2019.tde-11022019-090147

SANTOS, N. S. O. et al. **Virologia Humana**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

SÃO PAULO, Secretaria de Estado de Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. **Profilaxia pós-exposição de caxumba**, 2017. Disponível em: http://nhe.fmrp.usp.br/wp-content/uploads/2018/05/caxumba17_informe05jul17.pdf. Acesso em: 17 ago. 2020.

SILVA, A.D.; MATTER, L.B. Produção de cepas vacinais do vírus da caxumba: uma revisão de literatura. **Infarma**. v. 23, n. 1, p. 6 - 12, mar. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v32.e1.a2020.pp6-12>

LAM, E.; ROSEN, J. B.; ZUCKER J. R. Mumps: an Update on Outbreaks, Vaccine Efficacy, and Genomic Diversity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, i. 2, abr 2020. DOI: 10.1128/CMR.00151-19.

GERVÁSIO, A. P. C. G. et. al. Atualização Sobre a Caxumba, Fisiopatologia e Manifestações Clínicas. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 28, n. 3, p. 54 - 61, nov. 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20191006_205523.pdf. Acesso em: 13 out. 2020.

LEWNARD, J. A.; GRAD, Y. H. Vaccine waning and mumps re-emergence in the United States. **Science Translational Medicine**, v. 10, i. 443, mar. 2018. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao5945.

ALMANSOUR, I. Mumps Vaccines: Current Challenges and Future Prospects. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, art. 1999, ago. 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01999.

SU, S.; CHANG, H.; CHEN, K. Current Status of Mumps Virus Infection: Epidemiology, Pathogenesis, and Vaccine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, i. 5, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17051686>.

BALLALAI, I. et, al. Nota Técnica de Caxumba. **Sociedade Brasileira de Pediatria**, 2015. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2012/12/Nota-Tcnica-Caxumba-SOPERJ-SBIm-SBP.pdf. Acesso em: 20 mai. 2020.

BRASIL. **Programa Nacional de Imunização: 40 anos**. 1. ed. Brasília, 2013. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/programa_nacional_imunizacoes_pni40.pdf. Acesso em: 14 maio 2020.

TOSCANO, C.; KOSIM, L. Cartilha de Vacinas: Para quem quer mesmo saber das coisas. Brasília: **Organização Pan-Americana da Saúde**, 2003. Disponível em: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/cart_vac.pdf. Acesso em: 05 abr. 2020.

BRASIL. **Informativo Epidemiológico das Doenças Imunopreveníveis, de Transmissão Respiratória, Hepatite A, Hídricas e Alimentares e dos Acidentes com Animais Peçonhentos no Distrito Federal em 2017**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, mar. 2018. Disponível em: http://www.sau.gov.br/wp-content/uploads/2018/05/Boletim-GEVEI-DADOS-2017_2018.pdf-Corrigido.pdf. Acesso em: 03 out. 2020.

GDF (Governo do Distrito Federal); Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Boletim Epidemiológico: monitoramento dos casos de parotidite notificados no Distrito Federal, até a Semana Epidemiológica nº 43 de 2016.** p. 8, out. 2016. Disponível em: <https://www.agenciabrasilia.df.gov.br/wp-conteudo/uploads/2016/11/boletim-caxumba-df-semana-43.pdf>. Acesso em: 10 set. 2019.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Vacina Sarampo, Caxumba e Rubéola.** 2015. Acesso em Maio de 2019. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9244512015&pldAnexo=2902096. Acesso em: 10 set. 2019.

WANG, Z. et al. Difficulties in eliminating measles and controlling rubella and mumps: A cross-sectional study of a first measles and rubella vaccination and a second measles, mumps, and rubella vaccination. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 1–7, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089361>.

WHITE, S. J. et al. Measles, Mumps, and Rubella. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 55, n. 2, p. 550–559, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3334858/>. Acesso em: 20 set. 2020.

KAAIJIK, P.; et. al. A third Dose of Measles-Mumps-Rubella Vaccine to Improve Immunity Against Mumps in Young Adults. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 221, i. 6, p. 902-909, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz188>.

CARDEMIL, C. V.; et. al. Effectiveness of a Third Dose of MMR Vaccine for Mumps Outbreak Control. **The New England Journal of Medicine**, v. 310, n. 10, p. 947-956, set. 2017. DOI:10.1056/NEJMoa1703309.