

LOUISE ANDRIEUX

IMUNIZAÇÃO PASSIVA:
O FUTURO DA VACINAÇÃO CONTRA A CÁRIE DENTÁRIA?

-

REVISÃO NARRATIVA



UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PORTO, 2023

LOUISE ANDRIEUX

IMUNIZAÇÃO PASSIVA:
O FUTURO DA VACINAÇÃO CONTRA A CÁRIE DENTÁRIA?

-

REVISÃO NARRATIVA



UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PORTO, 2023

LOUISE ANDRIEUX

IMUNIZAÇÃO PASSIVA:
O FUTURO DA VACINAÇÃO CONTRA A CÁRIE DENTÁRIA?

-

REVISÃO NARRATIVA

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Dentária.

Louise Andrieux

RESUMO

A cárie dentária é o problema de saúde mais prevalente em todo o mundo e a sua vacina tem sido investigada há mais de três décadas. Pelas suas potencialidades, a imunização passiva surge como uma alternativa viável à imunização ativa. O objetivo desta revisão é estudar o papel da imunização passiva na redução da cárie dentária e as suas implicações na Medicina Dentária.

Nesta revisão bibliográfica, foram selecionados artigos nas bases de dados PubMed, PMC, b-on e Google Scholar juntamente com uma pesquisa manual nas referências.

Foram analisados ensaios clínicos em humanos tendo a maioria confirmado a eficácia da imunização passiva, o que pode conduzir a um impacto revolucionário. Esta inovação poderia implementar mudanças ao nível sócio-econômico e ambiental, tal como incentivar estratégias inovadoras. Os profissionais de saúde devem priorizar opções eficazes, mesmo que isso exija mudanças nas suas abordagens.

Palavras-chave: Imunização passiva, vacinação contra a cárie dentária, *Streptococcus mutans*, perspectivas, anticorpos contra a cárie dentária, prevenção da cárie dentária

ABSTRACT

Dental caries is the most prevalent health problem worldwide and its vaccine has been investigated for more than three decades. Due to its potential, passive immunisation has emerged as a viable alternative to active immunisation. The aim of this review is to study the role of passive immunisation in reducing dental caries and its implications in dentistry.

In this literature review, articles were selected from PubMed, PMC, b-on and Google Scholar databases along with a manual search of references.

Human clinical trials were analysed and most of them confirmed the efficacy of passive immunisation, which could lead to a revolutionary impact. This innovation could implement changes at the socio-economic and environmental level, as well as encourage innovative strategies. Health professionals should prioritise effective options, even if this requires changes in their approaches.

Keywords: Passive immunisation, vaccination against dental caries, *Streptococcus mutans*, prospects, antibodies against dental caries, prevention of dental caries

DEDICATÓRIAS

À mes parents, Virginie-Anne et Stéphane

Merci pour votre amour et soutien inconditionnels tout au long de mon parcours. Merci pour vos encouragements, votre écoute pendant ces milliers d'heures au téléphone. Merci pour toutes les portes que vous m'avez ouvertes, je ne serais jamais arrivée jusqu'ici sans vous, et je vous en serai toujours reconnaissante.

À ma sœur, Faustine et mon frère, Édouard

Merci pour votre soutien, votre compréhension et votre humour. Merci pour toutes ces tables débarrassées pour moi qui ont véritablement contribué à mon succès, le karma vous le rendra ;)

À mes grands-parents, Anne et Guy

Merci pour vos encouragements et votre disponibilité sans faille. Merci d'avoir pensé à moi à chaque exam et d'avoir été si investis durant ma scolarité ! Vous avez toujours tout fait pour me rendre la vie plus facile, je ne pourrai jamais vous remercier assez.

À mon arrière-grand-mère, Paulette

Merci pour ton soutien et de m'avoir transmis tant de choses qui m'ont servies pendant mes études.

À Valentin

Merci pour ton amour et ta patience infinie pendant ces deux dernières années. Merci pour les aventures, les balades nocturnes et d'avoir fait tant d'aller-retours. Surtout, merci de toujours croire en moi. Sincèrement, il n'y a pas assez d'*ovos moles* au Portugal pour te prouver ma gratitude. Tu es un pilier de ma vie et j'ai hâte de découvrir ce que le futur nous réserve !

To Teresa

Without your help I never could be here today, thank you from the bottom of my heart.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar o meu profundo agradecimento à Prof.^a Doutora Rosa Begonha, minha orientadora de dissertação, pela sua orientação e apoio neste trabalho. Agradeço sinceramente a sua valiosa contribuição e profissionalismo.

Quero expressar a minha imensa gratidão à Dr^a Maria João Begonha, minha co-orientadora, pela disponibilidade e ajuda inestimável durante todo o processo de escrita. Agradeço seu apoio amável, mesmo diante dos meus muitos e-mails ansiosos. A sua experiência e dedicação foram fundamentais para o sucesso deste trabalho. Estou extremamente grata pela sua orientação que foi essencial.

Je tiens à sincèrement remercier le Docteur Christine Eloy-Imbert et à son assistante Renée Ponsolle de m'avoir ouvert les portes de leur cabinet avec tant de gentillesse. J'ai tant appris au cours de ces années d'observation, cela m'a sauvée plus d'une fois en clinique. Merci pour tout et à très bientôt !

Je tiens à remercier particulièrement mon binôme de clinique, Pierre. Merci d'avoir pris la première extraction, d'être allé chercher les patients en salle d'attente et de rendre les longues heures d'attente (presque) supportables. Ce fut un plaisir de faire mes premiers pas de dentiste avec toi, merci pour tout. Bon courage pour la suite Dr BN!

Merci à toutes les personnes qui m'ont accompagnée pendant ces années d'études à Fernando Pessoa. Tant de bons souvenirs : les cafés de la machine et ceux du Campo, les repas sur le pouce au milieu des longues journées de révisions, les Spritz, Somersby et autres vins rouges au soleil, les sushis à volonté, les brunchs et les rooftops, les soirées devant un vidéoprojecteur et les autres en boîte de nuit, les dîners qui s'éternisent, et tant d'autres... Merci à Anthony, Marine, Pierre, Tracy, Clément, Elisa, Morgane, Myriam, Selma, Paola, Alma, Capucine, Emilie, ainsi que tous les autres qui ont fait partie du voyage, je sais que vous vous reconnaîtrez!

Merci Mimi pour toutes ces années de colocation, merci d'avoir été présente dans les moments heureux comme dans les plus difficiles. Tu as été une constante de mon parcours

depuis Dublin jusqu'à Porto, merci pour tous ces moments de complicités, ils me manqueront c'est sûr. Je te souhaite une belle réussite, and now I pass it to Mimi ;)

Obrigada, Stéphanie, pela tua amizade e apoio constantes. Encontrei em ti a grande irmã que nunca tive. Sinto-me tão feliz por ter tantas boas lembranças contigo e por termos crescido juntas nestes últimos anos! Vou sentir uma saudade imensa de ti...

Antho, merci pour tous les bons souvenirs : les sorties McDo en claquettes, les réveils forcés à la coloc, les soirées Pékin Express ou Koh Lanta, entre autres, mais surtout pour les news de Nice Matin ! Ce fut un vrai plaisir de te pousser à bout pendant nos interminables débats, j'espère continuer encore longtemps. Bon courage pour la dernière ligne droite, on se retrouve de l'autre côté !!

Merci à Eloïse, Megan et Mélanie, pour votre amitié et votre soutien, cela n'aurait pas été aussi sympa sans vous trois.

Enfin, merci Eiko, tu es celui qui a le plus révisé avec moi.

ÍNDICE

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
DEDICATÓRIAS	iii
AGRADECIMENTOS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
I- INTRODUÇÃO	p.1
1) Materiais e métodos	p.1
2) Princípios da imunização passiva	p.2
a) História da imunização passiva	p.2
b) Revisão sobre os anticorpos: seu papel e função	p.2
c) Imunização passiva	p.4
3) Métodos de produção de anticorpos utilizados na pesquisa selecionada	p.6
a) Anticorpos policlonais produzidos por animais	p.6
b) Anticorpos monoclonais obtidos por meio da tecnologia de hibridoma	p.6
c) Anticorpos recombinantes	p.7
4) Administração de anticorpos	p.7
II- DESENVOLVIMENTO	p.8
1) Etiologia da cárie dentária	p.8
2) Ensaio clínico em humanos de substâncias ativas contra <i>S. mutans</i>	p.10
a) Tabelas de comparação dos estudos selecionados	p.10
b) Anticorpos contra o antigénio I/II	p.13
c) Anticorpos contra glicosiltransferases (GTFs)	p.14
d) Anticorpos contra a molécula de sinalização quorum sensing ComD	p.16
III- DISCUSSÃO	p.18
1) Resultados, benefícios e limitações da imunização passiva contra a cárie dentária	p.18

2) O papel da imunização passiva contra a cárie dentária na prática da Medicina Dentária	p.21
a) A dimensão socioeconómica da cárie dentária	p.21
b) A dimensão ecológica da cárie dentária	p.23
c) Prioridade à inovação	p.24
d) Implicações para o médico dentista, o seu consultório e os seus pacientes	p.25
IV- CONCLUSÃO	p.28
BIBLIOGRAFIA	p.30

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

Ag I/II	Antigénio I/II
ATP	Adenosina trifosfato
CA-GTF	Glicosiltransferases associadas a células
CAD	Canadian Dollars
CHX	Clorhexidina
CT	Tomografia computadorizada
EU	Estados Unidos
EUA	Estados Unidos da América
Fab	Fragmento de ligação ao antigénio
GBP	Proteína de ligação a glucanos
GTF	Glicosiltransferases
IAOMT	Academia Internacional de Medicina Oral e Toxicologia
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IgY	Imunoglobulina Y
mAb	Anticorpos monoclonais
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAC	Antígeno de proteína de superfície
sIgA	Forma secretora da imunoglobulina A
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. sobrinus</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
USD	United States Dollars
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Vantagens e desvantagens de anticorpos policlonais e monoclonais
(Tello *et al.*, 2020)

Tabela 2a: Tabela recapitulativa dos estudos selecionados de 1997 até 2005

Tabela 2b: Tabela recapitulativa dos estudos selecionados de 2011 até 2022

I- INTRODUÇÃO

A cárie dentária é a doença mais prevalente, com cerca de 2 mil milhões de casos não tratados (OMS, 2022). Durante décadas, a imunização humana contra a cárie dentária tem sido uma prioridade de pesquisa no campo odontológico. Enquanto a vacinação ativa contra o principal agente etiológico da cárie dentária (*S. mutans*) ainda está em desenvolvimento, medicamentos de imunização passiva já estão disponíveis em farmácias no Japão, Índia e outros países asiáticos (Nguyen *et al.*, 2011, Jain *et al.*, 2022). A imunização passiva envolve a administração de anticorpos pré-formados, proporcionando proteção imediata contra o patógeno sem necessidade de resposta imune do hospedeiro.

O objetivo desta revisão narrativa é compreender o papel da imunização passiva na corrida para a erradicação da cárie dentária; pode ser o único ator para o futuro da vacinação contra essa doença? Qual o impacto desses produtos na profissão? Embora seja impossível prever o futuro, por meio do estudo de novas tecnologias, podemos, como médicos dentistas, compreender e prepararmo-nos para o futuro da nossa profissão.

Este trabalho consiste numa revisão extensa dos ensaios clínicos humanos de imunização passiva contra *S. mutans*, permitindo ter uma compreensão ampla da tecnologia e as suas perspectivas. Os princípios gerais da imunidade passiva e o papel do *S. mutans* na etiologia da cárie dentária serão explicados antes da revisão dos estudos selecionados. Por fim, serão analisadas as implicações desse método preventivo inovador.

1) Materiais e métodos

Esta é uma revisão narrativa qualitativa que estuda a história dos ensaios clínicos em humanos, de produtos de imunização passiva contra *S. mutans*, os princípios nos quais se baseia e suas perspectivas.

Os artigos foram obtidos nas bases de dados PubMed, PMC, b-on e Google Scholar. As palavras-chave utilizadas foram as seguintes: "imunização passiva", "anticorpo", "anticorpos", "*Streptococcus mutans*", "cárie dentária", "vacina contra a cárie dentária". Também foi realizada uma pesquisa manual minuciosa nas listas de referências dos artigos principais.

Os critérios de inclusão dos artigos na revisão da literatura foram: (a) artigos que apresentassem resultados de um ensaio clínico em humanos, (b) artigos que apresentassem o uso de anticorpos direcionados ao *S. mutans*, (c) artigos com texto completo disponível. Os critérios de exclusão foram: (a) artigos que apresentassem ensaios clínicos *in vitro* e em animais, (b) artigos duplicados, (c) artigos que apresentassem substâncias ativas diferentes de

anticorpos. Após essa pesquisa, 11 artigos foram selecionados para a revisão. Todas as fontes estão referenciadas na secção de bibliografia disponível no final deste trabalho.

2) Princípios da imunização passiva

a) História da imunização passiva

Em 1890, Emil Von Behring e Shibasaburo Kitasato do laboratório Koch, em Berlim, descobriram o uso de soro sanguíneo de animais previamente infetados no tratamento da difteria e do tétano. Esta descoberta foi galardoada com o primeiro Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina em 1901 (Slifka e Amanna, 2018).

Na mesma altura, no laboratório Koch, o cientista Paul Ehrlich foi o primeiro a formular o conceito de anticorpos e a distinguir entre imunidade ativa e passiva. A sua "side-chain theory" valeu-lhe o Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina com Elie Metschnikoff em 1908, uma teoria que explica a formação de anticorpos pelas células imunitárias em circulação. Ehrlich conseguiu identificar a natureza da substância ativa presente no soro utilizado na soroterapia, lançando assim as bases da utilização terapêutica dos anticorpos na luta contra os agentes patogénicos (Marcotte e Hammarström, 2015).

A soroterapia foi muito utilizada no início do século XX até à descoberta dos antibióticos em 1940 (Slifka e Amanna, 2018). No final do século XX, os avanços nos mecanismos de imunização passiva e nas técnicas de produção de anticorpos levaram a estratégias para prevenir infeções virais ou bacterianas (Marcotte e Hammarström, 2015).

b) Revisão sobre anticorpos: o seu papel e função

Os anticorpos, também conhecidos como imunoglobulinas, são proteínas relacionadas com a resposta do sistema imunológico contra patógenos. Produzidos pelos linfócitos B, os anticorpos têm uma forma em "Y". O seu principal papel é ligar-se especificamente aos antígenos de agentes patogénicos, neutralizando assim a sua atividade e marcando estes agentes para serem destruídos por outras células imunitárias. Os anticorpos também facilitam a fagocitose, ativam o sistema do complemento e promovem a resposta inflamatória. São proteínas heterodiméricas constituídas por duas cadeias polipeptídicas pesadas e duas cadeias polipeptídicas leves. Eles são divididos em duas regiões: constante e variável. A região variável é responsável pelo contacto direto com o antígeno e determina sua especificidade (Abbas et al., 2020).

Existem cinco classes principais de anticorpos com estrutura de região constante e função imune diferentes: IgM, IgG, IgA, IgD e IgE.

A IgM representa 5-10% das imunoglobulinas e é o primeiro anticorpo produzido pelo recém-nascido, bem como o primeiro anticorpo na resposta primária ao antígeno. Devido à sua estrutura, a sua capacidade de agregação é notável, especificamente contra partículas virais e glóbulos vermelhos. A ativação do complemento é também muito importante, graças à estrutura pentamérica da IgM (Freeman *et al.*, 2007).

A IgG é a classe mais abundante, representando 80% das imunoglobulinas séricas. Existem 4 subclasses de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, com diferentes atividades biológicas. As IgG1, 3 e μ 4 desempenham um papel importante na proteção do feto durante o desenvolvimento uterino. A IgG também é importante durante a ativação do complemento, em particular a IgG3 e a IgG1 seguida da IgG2, ao contrário da IgG4 que não tem esta capacidade. Finalmente, a opsonização é favorecida por IgG1 e IgG3 (Freeman *et al.*, 2007).

A IgA constitui 10 a 15% das imunoglobulinas no soro e apresenta-se principalmente sob a forma de monómero, mas também pode apresentar-se sob a forma de polímero. É a classe de imunoglobulina que predomina nas secreções externas, como o leite materno e a saliva (entre outras), encontrando-se por isso na forma secretora: sIgA. Esta forma envolve a combinação de um dímero ou tetrâmero associado a uma cadeia J (cadeia polipeptídica utilizada para ligar os monómeros entre si) e a um componente secretor (cadeia polipeptídica utilizada para atravessar as membranas celulares). A produção diária de IgA é a mais elevada em comparação com outros tipos de imunoglobulina, com cerca de 5 a 15 g de sIgA nas secreções mucosas (Freeman *et al.*, 2007). A sua função é eliminar o patógeno antes que ele atravesse a barreira epitelial (Abbas *et al.*, 2020).

A IgD constitui 0,2% das imunoglobulinas séricas e foi o quarto tipo de imunoglobulina a ser descoberto. Esta classe de imunoglobulinas está geralmente associada à IgM na superfície de linfócitos B maduros. Atualmente, o papel fisiológico da IgD nos linfócitos B não é conhecido e não foi identificada qualquer outra função para IgD (Freeman *et al.*, 2007).

A IgE tem uma concentração extremamente baixa no soro: cerca de 0,3 µg/mL. Esta imunoglobulina medeia as reações de hipersensibilidade imediata responsáveis pelos sintomas da febre dos fenos, urticária e choque anafilático. A IgE liga-se aos recetores Fc presentes nas membranas dos basófilos do sangue e dos mastócitos dos tecidos. A ligação cruzada das moléculas de IgE ligadas aos recetores por um antígeno (alergénio) induz a desgranulação dos basófilos e dos mastócitos, conduzindo a reações alérgicas. (Freeman et al., 2007).

c) **Imunização passiva**

A imunização é essencial para a prevenção de doenças infecciosas. A imunização passiva, por oposição à imunização ativa, confere uma proteção temporária através da exploração de anticorpos pré-existentes. Ao contrário da imunização ativa, que estimula o sistema imunitário e gera uma memória imunológica, a imunização passiva envolve a receção direta de anticorpos produzidos por outro organismo. Este processo proporciona uma imunidade imediata, mas transitória (Tilman, 2022).

Erlich demonstrou que a imunidade pode ser transferida de mãe para filho em quase todas as espécies de mamíferos. A imunidade sistémica é conferida ao feto através da placenta por meio da transferência de IgG materna. Após o nascimento, os anticorpos continuam a ser fornecidos aos filhos através do colostro, a primeira secreção das glândulas mamárias após o nascimento, que contém 90% de IgA secretora (sIgA) e 2% de IgG (Slifka e Amanna, 2018).

A imunização depende do ambiente em que se insere a mãe, durante ou após a gravidez e permite uma proteção contra os patogéneos mais facilmente encontrados. De forma interessante, foi comprovado que mães com alta incidência de cárie dentária secretam colostro com teor significativamente maior de anticorpos maternos IgG contra *S. mutans* (Alred et al., 1986).

Existem parâmetros críticos para garantir os resultados terapêuticos da imunização passiva, tais como: selecionar o isótopo correto (considerando a sua localização *in vivo*, semi-vida e afinidade tecidual), momento da administração e especificidade do anticorpo (Slifka e Amanna, 2018).

As IgG possuem características mais interessantes para a imunização passiva. Elas são extravasculares, têm alta afinidade pelo patogéneo atribuído e semi-vida de 21 dias, o que é

vantajoso. Além disso, a IgG pode entrar em tecidos não linfóides e penetrar em tecidos mucosos (Slifka e Amanna, 2018).

Para Erlich, o momento da administração é fundamental para uma terapia com soro, bem-sucedida. A taxa de cicatrização aumenta com a administração precoce do soro. No entanto, se a terapia for iniciada mais tarde é necessária uma quantidade maior de soro.

Por fim, a especificidade do concentrado de anticorpos é um fator crítico que influencia a erradicação do patógeno. Anticorpos com maior especificidade apresentam maior capacidade de eliminar o patógeno com eficácia. Através desse parâmetro, há dois tipos de anticorpos que são produzidos artificialmente: anticorpos policlonais e monoclonais (Slifka e Amanna, 2018).

Os anticorpos policlonais contêm múltiplas especificidades de epítomos, bem como diferentes isótopos e subclasses de anticorpos. Esses anticorpos podem ser colhidos do soro humano ou de produtos animais, como leite bovino ou ovos de galinha (Marcotte e Hammarström, 2015).

Os anticorpos monoclonais contêm uma única especificidade de epítomo e são produzidos por animais ou plantas transgênicas (Marcotte e Hammarström, 2015).

	Anticorpos policlonais	Anticorpos monoclonais
Vantagens	Especificidade polivalente Múltiplos isótopos com múltiplas funções	Elevada especificidade Potência normalizada Disponibilidade ilimitada Potencial mínimo de risco biológico
Desvantagens	Baixa atividade específica Grande variação na potência Disponibilidade limitada Risco biológico dos produtos derivados de sangue humano	Especificidade monovalente Isótopo único Potencial de seleção de mutantes de fuga

Tabela 1: Vantagens e desvantagens de anticorpos policlonais e monoclonais (Tello *et al.*, 2020)

3) Métodos de produção de anticorpos utilizados na pesquisa selecionada

a) Anticorpos policlonais produzidos por animais

Os ovos de galinha oferecem um método eficiente e económico para a produção de anticorpos. No entanto, ao contrário do soro de mamíferos, a gema do ovo contém exclusivamente um único isótopo de anticorpo conhecido como IgY. Os concentrados de gema de ovo contêm até 25 mg/mL de IgY, resultando em aproximadamente 160 mg de IgY por ovo e aproximadamente 40 g por ano por galinha. Notavelmente, espera-se que 1% a 10% desses anticorpos sejam específicos para antígenos. O processo para uma imunização máxima requer apenas uma pequena dose intramuscular do patógeno. (Marcotte e Hammarström, 2015).

O colostro bovino pode servir como uma fonte valiosa para a produção de anticorpos, permitindo a criação de quantidades significativas de imunoglobulinas, variando de 1 a 1,5 kg, nos primeiros dias após o parto. Aproximadamente 75% dessas imunoglobulinas são do subtipo IgG. Geralmente, a imunização é repetitiva e feita durante a fase tardia da gravidez, por meio de injeções intramusculares ou subcutâneas (Marcotte e Hammarström, 2015).

b) Anticorpos monoclonais pela tecnologia de hibridoma

A produção inicial de anticorpos monoclonais envolvia a criação de um único clone de hibridoma pela fusão de células plasmáticas de um camundongo imunizado com células de mieloma. No entanto, esses anticorpos derivados de animais desencadeavam frequentemente respostas imunológicas. Para superar isso, foram desenvolvidos anticorpos monoclonais quiméricos que combinam domínios constantes humanos com domínios variáveis de roedores. Posteriormente, o processo de humanização foi introduzido, mas levou a resultados decepcionantes devido à perda de afinidade (Chan *et al.*, 2009).

Atualmente, surgiram camundongos transgênicos como uma ferramenta valiosa para a produção de anticorpos monoclonais totalmente humanos. No entanto, a tecnologia de hibridoma continua a ser o método mais amplamente utilizado para gerar anticorpos monoclonais (Marcotte e Hammarström, 2015).

c) Anticorpos recombinantes

Esta técnica consiste na construção de anticorpos por meio da associação de diferentes fragmentos da proteína. Ela permite a produção de fragmentos de anticorpos ou anticorpos completos. Podem ser usadas várias técnicas de produção; foram obtidos anticorpos recombinantes contra *S. mutans* usando biotecnologias bacterianas e de plantas (Krüger *et al.*, 2004, 2005, Ma *et al.*, 1995, Larrick *et al.*, 1998).

Utilizando plantas transgênicas e empregando técnicas meticulosas de cruzamento, é possível obter anticorpos totalmente secretórios (Ma *et al.*, 1995). Atualmente, várias espécies de plantas, incluindo cereais, leguminosas e frutas, podem ser utilizadas para a produção e armazenamento de anticorpos completos ou fragmentos, aumentando as capacidades de armazenamento e facilitando a administração (Schirrmann *et al.*, 2008).

Os biorreatores vegetais têm um rendimento importante de planticorpos por acre. Em termos de custo, é mais interessante do que biorreatores de microorganismos (Marcotte e Hammarström, 2015).

4) Administração de anticorpos

Na imunização passiva, a facilidade de administração é crucial, especialmente considerando a alta frequência do tratamento. Produtos imunizantes transgênicos, como ovos ou plantas, podem ser consumidos diretamente quando aplicáveis (Tilahun, Negash e Fesseha, 2019). Em alternativa, os anticorpos podem ser administrados por meio de colutórios, soro, gomas de mascar ou pastilhas poliméricas (Hatta *et al.*, 1997, Ma *et al.*, 1998, Nguyen *et al.*, 2011, Nishihara *et al.*, 2014).

II- DESENVOLVIMENTO

1) Etiologia da cárie dentária

Na cavidade oral existem 774 espécies de bactérias. As espécies mais comuns são as seguintes: *S. mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus* e *Lactobacillus* (Lu, Xuan e Wang, 2019). Historicamente, *S. mutans* é considerada a bactéria mais potente no processo patológico da cárie dentária (Cherukuri *et al.*, 2021), pois é a primeira a fixar-se no esmalte (Patel, 2019, Bahadir, 2021, Sahu *et al.*, 2021, Wig *et al.*, 2021).

A cárie dentária resulta da desmineralização do esmalte devido ao ácido láctico produzido pelo *S. mutans*, e a sua transmissão tem sido comprovada repetidamente desde o século XIX (Caufield, Li e Dasanayake, 2005). A OMS define as doenças infecciosas como doenças causadas por patógenos ou pelas suas toxinas, transmitidas de uma pessoa infetada, animal ou reservatório para um hospedeiro suscetível. Assim, a definição de cárie dentária como uma doença infecciosa é cientificamente correta.

A virulência de *S. mutans* assenta em quatro características únicas principais que desempenham um papel central na iniciação da cárie dentária: aderência ao esmalte dentário através de adesinas, acidogenicidade através da produção de ácido láctico a um ritmo rápido, acidez e produção de biofilme (Cherukuri *et al.*, 2021).

De acordo com Taubman e Nash, o processo patológico de *S. mutans* divide-se em três fases (Cherukuri *et al.*, 2021):

- A primeira fase é numa fase de fixação mediada por adesinas (Russel e Lehner, 1978) encontradas na saliva e conhecidas como antigénio I/II (Ag I/II), quando contactam a superfície de *S. mutans* (Smith, 2003). A fixação é mediada pela dextranase, que permite a invasão da placa dentária inicial rica em dextrano (Bahadir, 2021).

- Segue-se a fase de estabelecimento e acumulação, que depende das glicosiltransferases (GTFs) segregadas pelo *S. mutans* que permite a fixação à superfície do dente e às bactérias circundantes (Rezaei *et al.*, 2022). As GTFs dependem do metabolismo da sacarose dietética para sintetizar glucanos, com diferentes solubilidades em água (Cherukuri *et al.*, 2021, Rezaei *et al.*, 2022). Os glucanos interagem com as proteínas de ligação aos glucanos (GBPs) e com o domínio de ligação aos glucanos dos GTFs, organizando e ancorando a matriz extracelular que rodeia o *S. mutans*, criando o biofilme em germinação (Cherukuri *et al.*, 2021).

- Finalmente, durante a fase de invasão dos tecidos e da doença, o biofilme cresce e as condições são agora maioritariamente anaeróbias. Assim, a bactéria metaboliza os seus polissacarídeos extracelulares em frutose e glucose. Através dos ciclos da glicólise e do ácido cítrico são produzidos ATP e ácido láctico, o subproduto responsável pela desmineralização do esmalte dentário e subsequente cárie dentária (Patel, 2019, Cherukuri *et al.*, 2021, Bahadir, 2021, Rezaei *et al.*, 2022)

A imunogenicidade é fundamental na imunização passiva, porque determina a capacidade do anticorpo transferido para provocar uma resposta imunitária no hospedeiro. Assim, a identificação dos alvos imunogénicos de *S. mutans* para reduzir o desenvolvimento de cáries é fundamental (Cherukuri *et al.*, 2021).

Os alvos usados em ensaios clínicos em humanos são:

1. Antigénio I/II (Ma *et al.*, 1998, Weintraub, 2005)
2. GTFs (Hatta *et al.*, 1997, Shimazaki *et al.*, 2001, Chiba *et al.*, 2005, Nguyen *et al.*, 2011, Nishihara *et al.*, 2014, Mary e Matthews, 2020, Jain *et al.*, 2022, Ramachandra e Gopinath, 2022)
3. Recetor de deteção de quórum ComD (Bachtiar *et al.*, 2019)

2) **Ensaios clínicos em seres humanos de substâncias ativas contra *S. mutans***

a) **Tabelas de comparação dos estudos selecionados**

Tabela 2a: Tabela recapitulativa dos estudos selecionados de 1997 até 2005

Autor, ano	Hatta <i>et al.</i>, 1997	Ma <i>et al.</i>, 1998	Shimazaki <i>et al.</i>, 2001	Chiba <i>et al.</i>, 2005	Weintraub <i>et al.</i>, 2005
Forma galénica	Colutório contendo IgY	Líquido para aplicação tópica	Leite de vaca imunizado como colutório	Pastilhas Ovalgen® DC	Líquido para aplicação tópica
Objetivo	Prevenir a colonização da placa por <i>S. mutans</i>	Prevenir a recolonização de <i>S. mutans</i> e outras bactérias	Prevenir a recolonização de <i>S. mutans</i>	Erradicar <i>S. mutans</i> na cavidade oral	Prevenir a colonização da placa bacteriana por <i>S. mutans</i>
Sujeitos	60 adultos	Adultos	8 adultos	99 adultos	56 adultos
Duração	Dois grupos: 4h (grupo de curta duração), 7 dias (grupo de longa duração)	120 dias, incluindo 21 dias de protocolo	70 dias, incluindo 14 dias de protocolo	5 dias de protocolo	6,8 meses, incluindo 21 dias de protocolo
Protocolo antimicrobiano anterior	Sim	Sim (químico e mecânico)	Sim (químico e mecânico)	Não	Sim (químico)
Número de aplicações	A mesma dosagem para todos, 2 lavagens por dia durante 7 dias	A mesma dosagem para todos	Mesma dose para todos, 2 bochechos por dia	A mesma dosagem para todos	Substância ativa seguida de medicação placebo
Amostras recolhidas	Placa e saliva	Placa e saliva	Placa e saliva	Placa e saliva	Placa e saliva
Controlo	Ligeira inibição da aderência de <i>S. mutans</i> (8,2%)	Aumento da população de <i>S. mutans</i> na saliva e na placa bacteriana ao longo dos 4 meses após o tratamento com CHX	Aumento da população de <i>S. mutans</i> na saliva e na placa bacteriana durante os 60 dias de acompanhamento	Não foi observada erradicação de <i>S. mutans</i>	A recolonização por <i>S. mutans</i> ocorreu e os níveis foram equivalentes entre os dois grupos após 6 meses

<p>Intervenção</p>	<p>Inibição da aderência de <i>S. mutans</i> (59,2%)</p>	<p>Não houve aumento da população de <i>S. mutans</i> na saliva e na placa bacteriana ao longo dos 4 meses após o tratamento com CHX</p>	<p>Aumento inferior (significativo por vezes) da população de <i>S. mutans</i> na saliva e na placa bacteriana durante os 60 dias de seguimento</p>	<p>Foi observada uma diminuição significativa específica da população de <i>S. mutans</i></p>	<p>Não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes grupos de controlo e de intervenção</p>
<p>Conclusões</p>	<p>Apesar de não se ter encontrado uma alteração significativa nos grupos devido ao grande desvio padrão, observou-se uma redução da formação de placa no grupo de teste.</p>	<p>Tanto o mAb murino como o sIgA vegetal têm propriedades protetoras e específicas durante um período de quatro meses. Não foram registados efeitos secundários.</p>	<p>O período de imunização passiva obtido foi de 2 semanas, enquanto os níveis basais de <i>S. mutans</i> foram encontrados 8 semanas após o início do enxaguamento bucal.</p>	<p>Ovalgen® DC é eficaz na supressão de <i>S. mutans</i>, não tendo sido observadas alterações significativas noutras populações bacterianas, o que sublinha a especificidade do produto.</p>	<p>Após 6 meses, os indivíduos do grupo de intervenção com um bom controlo químico pré-tratamento tiveram uma diminuição sustentada da população de <i>S. mutans</i> após cada aplicação do líquido preventivo.</p>

Tabela 2b: Tabela recapitulativa dos estudos selecionados de 2011 até 2022

Autor, ano	Nguyen <i>et al.</i> , 2011	Nishihara <i>et al.</i> , 2014	Bachtiar <i>et al.</i> , 2019	Mary & Matthews, 2020	Jain <i>et al.</i> , 2022	Ramachandra and Gopinath, 2022
Forma galénica	Pastilhas Ovalgen® DC	Pastilha elástica contendo Ovalgen® DC	Colutório	Gomas de mascar NoDecay™	Gomas de mascar NoDecay™	Gomas de mascar NoDecay™
Objetivo	Prevenir a colonização por <i>S. mutans</i> e outras bactérias anaeróbias	Ovalgen® DC utilizado como substância de controlo	Diminuir a formação de biofilme	Avaliar a evolução da população de <i>S. mutans</i> em crianças com alto risco de cárie	Diminuição da contagem salivar de <i>S. mutans</i> em crianças	Avaliar o efeito da IgY na contagem de <i>S. mutans</i> em crianças com elevado risco de cárie
Sujeitos	99 adultos	64 adultos	Adultos	20 crianças (3 a 5 anos de idade)	120 crianças (6 a 12 anos de idade)	30 crianças (5 a 8 anos de idade)
Duração	7 dias, incluindo 5 dias de protocolo	14 dias de protocolo	7 dias, incluindo 6 dias de protocolo	90 dias, incluindo 15 dias de protocolo	90 dias, incluindo 15 dias de protocolo	30 dias de protocolo
Protocolo antimicrobiano anterior	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Número de aplicações	A mesma dosagem para todos	A mesma dosagem para todos	A mesma dosagem para todos	Mesma dosagem para todos	A mesma dosagem para todos	Mesma dosagem para todos
Amostras recolhidas	Saliva	Saliva	Placa e superfície oclusal dos dentes	Superfície oclusal dos dentes	Saliva	Saliva
Controlo	População de <i>S. mutans</i> permaneceu estável no grupo de controlo e aumentou no grupo placebo.	Ovalgen® DC é utilizado como controlo	Colutório contendo anti-ComD IgY e quitosano, havia um aumento da formação de biofilme.	População de <i>S. mutans</i> manteve-se estável no grupo de controlo ao longo dos 3 meses do estudo.	População de <i>S. mutans</i> permaneceu estável no grupo de controlo ao longo dos 3 meses do estudo.	Diminuição não significativa na população de <i>S. mutans</i> quando o grupo de controlo foi administrado com pastilhas elásticas de xilitol.

Intervenção	Após o tratamento, registou-se uma diminuição significativa da população de <i>S. mutans</i>	Foi registada uma redução de 38,5% na população de <i>S. mutans</i> após a utilização de Ovalgen® DC	Isoladamente, o colutório permitiu uma diminuição da formação de biofilme que não foi considerada significativa.	A população de <i>S. mutans</i> significativamente e os resultados mantiveram-se estáveis durante os 3 meses do estudo.	População diminuiu de forma constante ao longo e a diferença foi considerada significativa ao longo de todo o estudo.	Os autores registaram uma diminuição significativa específica da população de <i>S. mutans</i> .
Conclusões	Concluiu-se que a IgY anti- <i>S. mutans</i> teve um efeito supressor sobre a população de <i>S. mutans</i> sem afetar o resto da microflora da cavidade oral. Considera-se necessário um estudo a longo prazo para obter resultados mais sólidos.	Ovalgen® DC aumentou significativamente a capacidade tampão salivar em comparação com os comprimidos de xilitol, a razão é desconhecida. Ovalgen® DC também foi considerado específico para <i>S. mutans</i> , uma vez que não perturbou o resto da microflora da cavidade oral	Este estudo forneceu uma visão geral do efeito dos anticorpos IgY anti-ComD <i>S. mutans</i> e do quitosano na capacidade da bactéria para produzir biofilme. Espera-se que, com mais investigação, seja possível estabelecer as proporções correctas de modo a obter uma proteção adequada.	Estudo comprovou eficácia do NoDecay™ na redução de colónias microbianas em pacientes com alto risco de cárie. Mais estudos necessários para compreender eficácia a longo prazo da IgY anti- <i>S. mutans</i> .	A administração de IgY anti- <i>S. mutans</i> durante 15 dias com xilitol foi considerada um benefício significativo contra o <i>S. mutans</i> salivar. Para os autores, a imunização passiva é uma ferramenta preventiva que deve ser incluída na prática clínica tendo em conta a sua eficácia.	A administração de pastilhas NoDecay™ foi considerada eficiente e benéfica para crianças com alto risco de cárie. No entanto, amostras maiores e estudos mais longos permitiriam uma melhor avaliação do NoDecay™.

b) Anticorpos que visam o antígeno I/II

Os 13 anticorpos monoclonais Guy's contra *S. mutans* foram desenvolvidos em 1989 no Guy's Hospital, em Londres. São anticorpos monoclonais IgG que visam o antígeno I/II do *S. mutans*, um importante fator de virulência, e impedem a colonização da superfície dentária (Lehner, 1985). A primeira produção foi de anticorpos IgG monoclonais murinos (Lehner, 1989), testados várias vezes por Ma *et al.* em 1987, 1989 e 1990. Mais tarde, foram produzidos com plantas de tabaco recombinantes (Ma *et al.*, 1995) pela Planet Biotechnology Inc., como anticorpos sIgA/G denominados CaroRX® (Larrick, 1998).

Os anticorpos Guy's 13 IgG e sIgA/G foram comparados clinicamente por Ma *et al.* em 1998. Os indivíduos foram submetidos a bochechos com clorhexidina (CHX) tópica durante 9 dias para avaliar a duração da recolonização da cavidade oral por *S. mutans*. Dois grupos de teste distribuídos aleatoriamente fizeram um protocolo de 3 semanas, com 2 aplicações por semana da solução tópica. Nenhum dos indivíduos tratados quer com a planta sIgA/G quer com a murina Guy's 13 IgG foi recolonizado por *S. mutans* durante ou após a experiência até ao dia 118. Concluiu-se que, com a mesma eficiência, a sIgA/G produzida por plantas é economicamente mais interessante do que os anticorpos monoclonais murinos (Ma *et al.*, 1998).

Em 2005, Weintraub *et al.* efetuaram um estudo para avaliar a eficiência de anticorpos derivados de plantas contra *S. mutans*. Foi aplicado um protocolo semelhante ao anterior; os indivíduos seguiram um tratamento de 9 dias com CHX (que foi menos eficaz do que no estudo anterior) e foram depois distribuídos aleatoriamente por 4 grupos, tendo o tratamento sido aplicado duas vezes por semana durante 3 semanas. Os seus resultados foram significativamente diferentes, uma vez que não consideraram o anticorpo vegetal estatisticamente mais eficaz do que o placebo na consulta de controlo aos 6 meses. Os autores atribuíram esta divergência de resultados a várias diferenças com os protocolos de Ma *et al.* (Weintraub *et al.*, 2005).

Em 2006, o CaroRX[®] foi a primeira vacina veterinária à base de plantas contra um vírus aviário aprovada pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) (Vermij, 2006). Foi avaliada em ensaios clínicos de fase I e II nos EUA e registada como dispositivo médico na Europa, como solução tópica oral contra *S. mutans* para prevenir a cárie dentária. (Juarez *et al.*, 2016). Não foram encontrados estudos recentes envolvendo este produto.

c) Anticorpos que visam as glicosiltransferases (GTF)

As GTFs são enzimas que produzem glucanos extracelulares, contribuindo para a formação da placa dentária. Existem três formas de GTFs: a GTF-I sintetiza glucano insolúvel em água, a GTF-S-I sintetiza glucano insolúvel e solúvel em água e a GTF-S sintetiza glucano solúvel em água. Os GTF que sintetizam formas de glucano insolúveis em água estão intimamente associados à patogenicidade (Bahadir, 2021).

Hatta *et al.* formularam um elixir oral à base de IgY para atacar especificamente as glucosiltransferases associadas às células (CA-GTFs). O estudo incluiu duas investigações distintas. O estudo inicial envolveu 11 indivíduos e teve uma duração de 4 horas. Na investigação subsequente, com a duração de 7 dias, 60 indivíduos foram submetidos a uma destartarização antes de fornecerem amostras de placa bacteriana e saliva. O grupo teste efetuou dois bochechos imunizados por dia, após a escovagem dos dentes, completando o regime durante o período de 7 dias. Os resultados foram decepcionantes, pois a IgY visava especificamente os glucanos insolúveis produzidos pelas bactérias e não a própria enzima. O colutório preveniu a placa de *S. mutans*, mas não proporcionou imunização passiva contra a bactéria (Hatta *et al.*, 1997).

No seu estudo, Shimazaki *et al.* visaram o antígeno da proteína de superfície (Pac ou AgI/II) e a GTF-I. Foi construída uma proteína de fusão, PacA-GB, e as vacas foram imunizadas com ela. O leite obtido da vaca continha anticorpos contra GTF-I+Pac. Os indivíduos seguiram um protocolo de pré-tratamento de 5 dias para reduzir a população de *S. mutans*. Durante as 2 semanas seguintes, passaram a bochechar com leite imunizado durante 1 minuto, duas vezes por dia, após a escovagem. No grupo teste, a população de *S. mutans* diminuiu durante a primeira semana, enquanto o rácio aumentou no grupo de controlo. No geral, os resultados sugerem que o bochecho com leite imunizado pode ajudar a suprimir *S. mutans* na cavidade oral (Shimazaki *et al.*, 2001).

O Ovalgen®DC é um ingrediente à base de IgY que tem como alvo a GTF associada às células (CA-GTF) (Nguyen *et al.*, 2011). É utilizado em vários alimentos saudáveis e produtos cosméticos, como comprimidos, rebuçados e pasta de dentes, disponíveis no Japão e noutros países asiáticos¹. Foram encontrados e analisados três artigos que apresentavam resultados de ensaios clínicos entre 2005 e 2011: Chiba *et al.*, 2005, Nguyen *et al.*, 2011 e Nishihara *et al.*, 2014. Os três estudos encontraram uma diminuição da população de *S. mutans*, mas apenas dois estudos demonstraram uma eficácia significativa: Chiba *et al.*, 2005 e Nguyen *et al.*, 2011. Nishihara *et al.* obtiveram resultados após uma utilização única de Ovalgen®DC; foi observada uma diminuição da população de *S. mutans*, mas não foi significativa e não estavam disponíveis grupos de controlo para comparar os resultados (Nishihara *et al.*, 2014). Em contraste, os outros

¹ <https://ew-nutrition.com/healthfood/health-food-products/ovalgen/>, consultado no dia 13/04/2023.

estudos foram efetuados durante um período de 5 dias, com 5 auto-administrações por dia das pastilhas anti-CA-GTF IgY (Chiba *et al.*, 2005, Nguyen *et al.*, 2011).

O NoDecayTM é um suplemento mastigável que contém IgY e é comercializado pela Inzpera na Índia. Este medicamento destina-se a crianças com mais de cinco anos e é tomado duas vezes por dia durante 15 dias. A dose da manhã é de 20 mg, enquanto a dose da noite é de 40 mg.

Foram encontrados e analisados três ensaios clínicos da goma de mascar NoDecayTM em crianças. Mary e Matthew, 2020 e Jain *et al.*, 2022, seguiram o protocolo acima explicado e recolheram amostras de saliva antes do tratamento e depois mensalmente (um estudo acrescentou uma amostra de saliva do 15.º dia, Jain *et al.*, 2022) durante três meses consecutivos. Ambos os estudos encontraram uma diferença significativa entre os resultados dos grupos de teste e de controlo. Mary e Matthews verificaram que a proteção durou dois meses completos e que não houve diferença significativa entre os grupos na terceira amostra mensal de saliva. No último estudo, Ramachandra e Gopinath (2022), utilizaram um protocolo diferente: as amostras de saliva foram recolhidas dos indivíduos antes dos 30 dias de tratamento e os resultados foram avaliados 30 dias após o tratamento. Foram encontrados resultados com uma diferença significativa entre o grupo de teste e o grupo de controlo, mas é importante notar que o grupo de controlo utilizou pastilhas elásticas de xilitol que têm um efeito inibidor no desenvolvimento de cárie dentária (Ramachandra e Gopinath, 2022).

No geral, os resultados são encorajadores para a IgY anti-CA-GTF, que pode ter potencial para reduzir o risco de cárie, indicando que o alvo é eficiente e dá esperança, apesar da necessidade de administração frequente.

d) Anticorpos que visam a molécula de sinalização de quorum sensing ComD

O quorum sensing é um mecanismo utilizado pelas bactérias para se adaptarem ao seu ambiente, coordenando o seu comportamento num estado dependente da densidade celular. Envolve a produção, libertação, identificação e resposta a moléculas como os auto-indutores para regular a expressão genética e a taxa de crescimento. O gene ComD, que codifica a proteína sensor histidina quinase do sistema de transdução de sinal de dois componentes, está envolvido no controlo de fatores de virulência como a formação de biofilme em *S. mutans* (Rezaei *et al.*, 2022).

Este estudo comparou a eficácia de dois elixires orais contra a formação de biofilme de *S. mutans*: um contendo IgY anti-ComD e quitosano, o outro contendo apenas IgY anti-ComD. Os resultados mostraram que o primeiro colutório pode não ser eficaz na redução da formação de biofilme, enquanto o colutório IgY anti-ComD mostrou algum potencial na redução da formação de biofilme, embora os resultados não fossem estatisticamente significativos. São necessários mais estudos para confirmar estes resultados (Bachtiar, 2019).

III- DISCUSSÃO

1) Resultados, benefícios e limitações da imunização passiva contra a cárie

Através dos artigos selecionados, é possível comprovar a imunização passiva contra *S. mutans*. Foi demonstrado que a população de *S. mutans* na saliva e na placa bacteriana podia ser reduzida, mas nunca foi provado que a incidência de cáries pudesse diminuir devido a estas substâncias ativas (Tabela 2a e 2b).

De facto, enquanto muitos estudos selecionaram indivíduos tendo em conta a sua saúde oral, apenas Weintraub *et al.* (2005) relataram um controlo de cáries ao longo dos 6 meses da sua investigação. Não se desenvolveram cáries no grupo de teste (Weintraub *et al.*, 2005). No entanto, a cárie é uma doença de progressão lenta. Detetar sinais precoces de desmineralização pode ser difícil e o artigo não especificou a técnica de deteção utilizada.

Alam *et al.* (2018) realizaram um estudo em ratos, imunizando-os contra *S. mutans* e *S. sobrinus* usando fragmentos de anticorpos (Fab). Dois grupos seguiram uma dieta cariogénica e foram imunizados durante 2 ou 4 semanas. No final do estudo, após o sacrifício, foi utilizada uma micro-CT para detetar lesões de cárie. Os resultados mostraram que 80% dos ratos do grupo de controlo desenvolveram cáries, enquanto nenhuma foi detetada em ambos os grupos de teste: a imunização foi eficaz após algumas semanas de utilização. Estes resultados aumentam a esperança de que esta técnica possa ser uma forma eficaz de prevenir a cárie dentária. Ainda que os modelos animais nem sempre sejam suficientes para prever o efeito nos seres humanos.

A eficiência é a primeira vantagem da técnica: a maioria dos estudos teve resultados positivos e a população de *S. mutans* foi bem controlada, provando que os diferentes alvos foram bem escolhidos.

A rapidez dos resultados obtidos é também uma vantagem notável. De facto, a inibição foi detetada a partir de 5 a 7 dias de tratamento (Hatta *et al.*, 1997, Shimazaki *et al.*, 2001, Chiba *et al.*, 2005, Nguyen *et al.*, 2011, Bachtiar *et al.*, 2019); outros estudos seguiram um protocolo que durou entre 14 e 21 dias; apenas Ramachandra e Gopinath (2022) tiveram um protocolo de 30 dias (Tabela 2b). Os resultados duraram meses após uma única ronda de tratamento (Ma *et al.*, 1998, Mary e Matthews, 2022, Jain *et al.*, 2022); Weintraub *et al.* (2005) avaliaram o seu sujeito até 6,8 meses e não foram detetadas cáries.

O custo é também uma vantagem em comparação com a vacinação ativa. Existem cinco fases no desenvolvimento de uma vacina: investigação pré-clínica (estudos laboratoriais em

modelos animais), fase 1 (pequeno número de voluntários para avaliar a segurança, a tolerabilidade e a imunogenicidade da vacina), fase 2 (envolvimento de um maior número de participantes da população-alvo), fase 3 (estudo em grande escala com participantes em diferentes localizações geográficas) e, finalmente, fase 4 (após a autorização de comercialização, destinada a monitorizar a utilização da vacina a longo prazo) (CDC, 2014). De acordo com Gouglas *et al.* (2018), o custo do desenvolvimento de uma vacina, incluindo o custo das tentativas falhadas, varia entre 270 e 397 milhões de euros. Em comparação, o custo da produção de anticorpos específicos, estimado entre 85 e 180 euros por grama (National Center for Immunization and Respiratory Diseases, 2023), é mais atrativo (Müller *et al.*, 2015, Parvathy, 2020).

A segurança de administração dos anticorpos é superior à da vacinação ativa: são injetados produtos naturais endógenos, não foi observada qualquer reação cruzada com o tecido cardíaco e não foram comunicados quaisquer efeitos adversos pelos sujeitos dos ensaios clínicos (Cherukuri *et al.*, 2021). Os anticorpos monoclonais e IgY são também considerados mais seguros do que os antibióticos: os riscos de resistência bacteriana são baixos. De facto, os anticorpos não atingem a circulação sistémica, reduzindo desta forma os riscos de adaptação bacteriana (Mary e Matthews, 2020, Rahman *et al.*, 2012). Além disso, foi estabelecido que os anticorpos exógenos têm propriedades imunomoduladoras: influenciam a resposta imunitária adaptativa do recetor (Robinette *et al.*, 2011).

As vias de administração são também mais vantajosas em comparação com as de uma vacina clássica; a imunização foi alcançada utilizando: elixir oral, líquido tópico para distribuir nas superfícies dos dentes e pastilhas para mascar (Tabelas 2a e 2b). Sendo a população-alvo crianças de 1 a 3 anos de idade (Taubman e Nash, 2006), uma via de administração fácil é importante para garantir a adesão adequada à terapêutica. Dada a necessidade de anticorpos na cavidade oral, os métodos preferidos de administração para crianças de 1-3 anos seriam provavelmente líquidos orais, comprimidos sólidos para reconstituição (medicamento a ser misturado com líquido antes da administração), bem como comprimidos mastigáveis e formulações orodispersíveis (Batchelor e Marriott, 2013).

Por último, as condições de armazenamento são mais fáceis de manter em comparação com as das vacinas ativas que podem exigir transporte refrigerado; os anticorpos podem ser secos e transformados em comprimidos. Este facto facilita o transporte global e o acesso ao medicamento por parte de populações remotas e desfavorecidas (Rahman *et al.*, 2012).

Apesar dos inúmeros benefícios da imunização passiva anteriormente expostos, é importante reconhecer que a técnica também tem limitações.

As dimensões limitadas das amostras dos ensaios clínicos suscitam preocupações quanto à representatividade dos resultados. Alguns envolverem menos de 10 indivíduos (Shimazaki et al., 2001), enquanto os maiores envolveram cerca de 100 (Chiba et al., 2005, Nguyen et al., 2011, Jain et al., 2022). Resultados fiáveis e sólidos são normalmente assegurados através de ensaios em grande escala que envolvem centenas ou milhares de indivíduos.

Apesar da ausência de efeitos adversos até à data, a falta de estudos a longo prazo é preocupante. Não temos conhecimento de efeitos adversos a longo prazo e também não se sabe se o *S. mutans* pode desenvolver resistência aos anticorpos ao longo do tempo. Além disso, é essencial compreender as mudanças na flora oral após a eliminação de *S. mutans*, as potenciais consequências para a cavidade oral e o aparecimento de cárie dentária. Como explicado acima, a comercialização de um medicamento ou vacina é altamente regulamentada por diferentes organismos dependentemente do país onde a comercialização é esperada (CDC, 2014). Qualquer comercialização de um produto que imunize passivamente contra a cárie dentária será precedida de estudos em grande escala, em voluntários saudáveis e depois em voluntários da população-alvo, apesar dos resultados promissores dos estudos anteriormente apresentados.

A confidencialidade no fabrico de produtos farmacêuticos dificulta o acesso a informações cruciais, como o alvo imunogénico escolhido. Por exemplo, durante a investigação para este trabalho, encontrar o alvo do produto NoDecay™ foi uma tarefa difícil e, até à data, nada é certo sobre o alvo exato do medicamento. Uma mensagem de correio eletrónico enviada à Inzpera Healthsciences Limited, em 12 de abril de 2023, pedindo esclarecimentos sobre o alvo do produto NoDecay™ ficou sem resposta. O alvo do medicamento poderia ser determinado pelas informações fornecidas por Jain *et al.* no seu artigo, bem como pelas informações descobertas na embalagem do produto. De facto, no verso da caixa está escrito que o produto é desenvolvido em colaboração tecnológica com uma empresa japonesa, o país de origem do Ovalgen®DC e de outros estudos sobre o assunto. Dado o papel crítico da escolha dos alvos imunogénicos, essa confidencialidade complica o trabalho do médico.

O custo era uma vantagem, mas também é uma limitação. De facto, existem muitos produtos preventivos da cárie dentária: pasta de dentes com flúor, elixir e verniz orais, elixir

com CHX, selantes dentários ou mesmo produtos com xilitol, todos eles facilmente acessíveis e mais económicos do que os produtos de imunização passiva (Patel, 2019, WHO, 2022).

A imunização passiva requer múltiplas aplicações para obter resultados a curto prazo em comparação com os da vacinação ativa (Patel, 2019). Chiba *et al.* (2005) e Nguyen *et al.* (2011) exigiram 5 aplicações por dia, outros estudos exigiram geralmente duas aplicações por dia ou algumas aplicações profissionais ao longo do estudo. Este facto pode complicar a adesão ao tratamento, especialmente tendo em conta a administração contínua necessária para obter resultados a longo prazo (Tello *et al.*, 2020). Segundo Tarquinio e Tarquinio (2007), mais de 50 variáveis, como a complexidade do tratamento, podem influenciar a adesão do paciente. Também é interessante notar que o Modelo de Prevenção Clínica considera as crenças e atitudes do paciente em relação à prevenção como um fator importante na escolha do tratamento pelo paciente (Tarquinia e Tarquinia, 2007). De acordo com Mosnier-Pudar (2012), a educação terapêutica é a solução para os problemas de adesão ao tratamento e é necessário que os profissionais construam uma relação de confiança com os seus pacientes: uma aliança terapêutica.

Simón-Soro e Mira (2015) propuseram uma nova perspetiva sobre a etiologia da cárie dentária na microbiologia oral. A doença é considerada polimicrobiana e dependente do tecido. *S. mutans* está escassamente presente na cavidade oral, representando apenas 0,1% da população bacteriana no biofilme dentário e 0,7-1,6% nas lesões de cárie. Portanto, questiona-se a eficácia da imunização passiva direcionada exclusivamente a essa única bactéria, na prevenção da cárie. Sugere-se intervir em funções relacionadas com o início e a progressão da doença, utilizando estratégias de imunização contra múltiplas espécies bacterianas. Embora o conhecimento da patogénese da cárie dentária tenha avançado, permanecem em abertas questões críticas. Assim, pesquisas abrangentes são necessárias para compreender as interações entre as bactérias orais e os fatores do hospedeiro, visando aprimorar a prevenção da cárie e alinhar a pesquisa com novas descobertas.

2) O papel da imunização passiva contra a cárie dentária na prática da Medicina

Dentária

a) A dimensão socioeconómica da cárie dentária

É impossível estudar a prevenção da cárie dentária sem ter em conta a vertente social da doença. De acordo com a OMS (2022), as doenças orais representam o maior problema global de doenças desde 1990, sendo a cárie dentária não tratada a doença mais prevalente em

crianças e adultos. Entre 1990 e 2019, o número de casos de doenças orais aumentou 50%, ultrapassando o crescimento da população em 45%, o que sublinha o crescimento preocupante deste problema.

As doenças orais, incluindo a cárie, têm causas múltiplas e complexas, dependendo de vários determinantes e fatores de risco. Entre estes, é fundamental salientar o papel crucial dos determinantes socioeconómicos, políticos e ambientais na saúde. Os comportamentos adotados pelos indivíduos, bem como as desigualdades em saúde, são influenciados por este contexto fundamental, que não pode ser ignorado quando se procura compreender as origens das doenças orais e da cárie (Peres *et al.*, 2019, OMS, 2022). Tendo em conta estes fatores, é possível constatar que as populações mais desfavorecidas são mais afetadas pelas doenças orais, incluindo a cárie dentária. De facto, apesar da diminuição mundial de 2,8% na prevalência da cárie dentária, os países de alto rendimento tiveram uma diminuição 10 vezes superior aos países de baixo rendimento (OMS, 2022).

Para além disso, a cárie pode ter um impacto duradouro na saúde geral e na qualidade de vida (Li *et al.*, 2010, Sedghi *et al.*, 2021, Ribeiro e Paster, 2023). De acordo com Peres *et al.* (2019), a cárie não tratada é um problema tanto para crianças como para adultos. De facto, as cáries não tratadas conduzem a dores dentárias e orofaciais persistentes que diminuem a qualidade de vida dos pacientes afetados. As crianças com cáries podem faltar à escola e ter um desempenho académico significativamente inferior ao das crianças com boa saúde oral, o que pode agravar as desigualdades sociais a longo prazo. A qualidade de vida das crianças é afetada, assim como a dos seus cuidadores (Peres *et al.*, 2019). No Canadá entre 2007 e 2009, Hayes *et al.* (2013) estimaram que aproximadamente 40 milhões de horas não puderam ser trabalhadas devido a complicações provocadas pelas cáries dentárias, resultando numa perda potencial de mil milhões de CAD. De acordo com a OMS, em 2019, a perda de produtividade devido a doenças orais resultou numa perda de quase 323 mil milhões de USD. O impacto da cárie dentária na produtividade foi comprovado em numerosas ocasiões em países de todo o mundo (Peres *et al.*, 2019). A saúde oral também pode influenciar o acesso ao emprego (Hyde, Satariano e Weintraub, 2006), bem como os salários, particularmente das mulheres, que ganham mais quando a sua saúde oral é boa (Glied e Neidell, 2010).

A imunização passiva poderá ter um impacto profundo na saúde pública e na justiça social. Ao promover o acesso equitativo a uma saúde oral ótima, este avanço poderia potencialmente garantir o direito a cuidados dentários de qualidade para todos, reduzindo assim as disparidades de saúde ligadas ao contexto socioeconómico (Taubman e Nash, 2006, Smith, 2010). É também importante notar que as cáries afetam particularmente as crianças, o que pode ter um impacto no seu bem-estar futuro. De acordo com Daniels (1985), o acesso a um sistema de saúde funcional e de elevada qualidade que promova o acesso das crianças aos cuidados de saúde é um aspeto essencial de uma sociedade justa. A igualdade de oportunidades é vista como um pré-requisito fundamental para a justiça. Na mesma linha, Taubman e Nash (2006) salientam que, de acordo com Kopelman e Palumbo (1997), os cuidados de saúde devem ser uma prioridade para as crianças no âmbito do sistema de saúde.

Do ponto de vista económico, a imunização passiva pode diminuir a necessidade de procedimentos dentários restauradores dispendiosos, o que pode ter um impacto positivo nas despesas globais de saúde pública. De facto, em 2019, as despesas com a saúde oral atingiram 319 mil milhões de dólares, representando 4,8 % das despesas totais com a saúde (OMS, 2022). O acesso à vacina poderia potencialmente reduzir esses custos, ao eliminar a necessidade de tratamentos caros decorrentes das complicações de uma cárie não tratada, como restaurações diretas ou indiretas, tratamentos endodônticos, exodontias ou reabilitações protéticas. Essas economias poderiam permitir a realocação dos recursos para outros setores do sistema de saúde.

b) A dimensão ecológica da cárie dentária

A dimensão ecológica da cárie dentária é abordada no contexto atual, que apela à mudança e a uma maior responsabilidade por parte da população. De acordo com um artigo publicado na STAT (uma revista dedicada à saúde), a saúde contribui com 4,5% das emissões globais de gases com efeito de estufa, o que realça a necessidade de empenho do setor da saúde na redução das emissões para aumentar a sua eficiência.

A profissão de médico dentista deve medir o impacto ambiental das suas atividades, nomeadamente em termos de produção de resíduos, deslocação dos pacientes aos consultórios, entregas de consumíveis ou dispositivos médicos e consumo de energia para o funcionamento dos consultórios e dos instrumentos de trabalho (Duane et al., 2020). Numa série de três estudos (Lyne et al., 2022, Ashley et al., 2022 e Duane et al., 2022), foi examinado o impacto ambiental de três tipos de intervenção comunitária para a prevenção da cárie dentária no Reino Unido: a

aplicação de verniz fluoretado, a distribuição de escovas de dentes e pastas dentífricas nas formações nas escolas e a fluoretação da água. Destes programas, o que teve menos impacto ambiental foi a fluoretação da água (Duane et al., 2022).

Por outro lado, de acordo com a Academia Internacional de Medicina Oral e Toxicologia (IAOMT, 2017), o flúor pode ter impactos negativos no ambiente ao poluir as fontes de água e os solos, levando à contaminação da flora e da fauna. As plantas são particularmente sensíveis ao flúor, levando a uma maior toxicidade do que outros poluentes atmosféricos (Yu, Tsunoda e Tsunoda, 2011). Estes dados sugerem a necessidade de considerar abordagens imunológicas preventivas da cárie antes de considerar a fluoretação da água. São necessários mais estudos para avaliar os benefícios e os riscos destas práticas preventivas.

Por último, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021), as alterações climáticas são a maior ameaça para a saúde que a humanidade enfrenta. Estima-se que, entre 2030 e 2050, cerca de 250.000 mortes adicionais serão atribuídas às alterações climáticas. Por conseguinte, é vital que os dentistas tenham em conta estes números preocupantes e adaptem as suas práticas para reduzir o seu impacto ambiental. De acordo com Martin e Mulligan (2021), ao adotar práticas preventivas eficazes e cuidados operatórios de elevada qualidade, é possível reduzir a necessidade de tratamentos dispendiosos, as deslocações dos pacientes e o fabrico e distribuição de materiais. Isto, por sua vez, reduz as emissões de CO₂ e os resíduos, contribuindo para um ambiente mais sustentável. Em última análise, a prestação de cuidados de saúde oral sustentáveis e de elevada qualidade pode ajudar a reduzir a pegada de carbono e a promover uma melhor saúde ambiental. Ao reduzir a necessidade de consultas dentárias, a vacina contra a cárie poderá ter um impacto significativo na pegada ambiental da prática dentária.

c) Prioridade à inovação

Na sua revisão narrativa, Cherukuri *et al.* (2020) concluíram que não foi desenvolvida, testada e demonstrada a eficácia de nenhuma vacina ativa contra a cárie dentária. Havia provas consideráveis de reatividade cruzada entre o tecido cardíaco humano, o tecido muscular esquelético humano e os antigénios gerados pela imunização ativa. De acordo com Taubman e Nash (2006), existe um imperativo moral para desenvolver uma vacina contra a cárie dentária,

considerando o impacto negativo que representa para a humanidade. Embora a imunização passiva não seja perfeitamente eficaz devido à ausência de formação de memória imunitária, continua a ser uma solução essencial, preenchendo certas lacunas. Por conseguinte, é essencial inovar para responder a este desafio.

Em 2010, o Instituto Nacional de Investigação Dentária e Craniofacial (EUA) estabeleceu a abordagem de imunização passiva para a vacinação contra a cárie dentária como uma prioridade (Cheruki *et al.*, 2020). Atualmente, continua a ser necessária uma quantidade significativa de investigação para abordar as questões acima mencionadas. Estão disponíveis potenciais resoluções e prevêem-se avanços significativos, independentemente dos resultados de estudos em grande escala e a longo prazo.

A imunização passiva contra a cárie dentária tem o potencial de ter um impacto significativo na Medicina Dentária pois tem como alvo principal o *S. mutans*, que se sabe estar envolvido no desenvolvimento da cárie dentária. A imunização passiva pode ajudar-nos a compreender melhor a etiologia desta doença comum. Isto pode levar a novas abordagens de prevenção e tratamento da cárie, melhorando, em última análise, a saúde oral.

d) Implicações para o médico dentista, o seu consultório e os seus pacientes

A prevenção imunológica da cárie dentária seria vantajosa para muitos pacientes especiais com maior risco de desenvolvimento da doença, como as crianças, nas quais a colonização de bactérias cariogénicas poderia mesmo ser evitada. Além disso, esta abordagem seria benéfica para os idosos, para os indivíduos que sofrem de doenças crónicas (como a diabetes, as doenças cardiovasculares ou as doenças imunitárias), bem como para os que sofrem de perturbações motoras ou de certas doenças psiquiátricas, entre outros. O seguimento de um protocolo de imunização passiva complementar as medidas de higiene oral, que podem ser insuficientes ou difíceis de implementar para estes pacientes.

De acordo com vários investigadores, a imunização passiva, por si só, não é uma solução suficiente para prevenir a cárie dentária. Em vez disso, recomendam uma abordagem que combine as duas técnicas num protocolo global para obter uma proteção mais eficaz e duradoura contra esta doença. Recentemente, registaram-se avanços promissores no

desenvolvimento de materiais de restauração capazes de conter anticorpos e outras proteínas antibacterianas. Os avanços no domínio das nanopartículas estão a abrir perspectivas promissoras para estes materiais inovadores. O trabalho de Chen *et al.* (2016) levou à criação de hidroxiapatite capaz de armazenar e libertar IgY diretamente na cavidade oral depois de ser colocada na boca. Este estudo demonstra assim a possibilidade de integrar anticorpos diretamente em materiais de restauração dentária, permitindo o controlo da população bacteriana após a colocação na boca e contribuindo potencialmente para uma prevenção mais eficaz e sustentável da reinfeção bacteriana. A integração bem-sucedida desta abordagem inovadora na prática dentária poderá ter muitos benefícios, incluindo a redução das complicações pós-operatórias, o aumento da vida útil das restaurações dentárias e a melhoria da saúde oral geral dos pacientes.

Como os vários estudos apresentados demonstraram, os protocolos de imunização passiva contra a cárie precisam de muitas aplicações. Esta modalidade de tratamento pode tornar o tratamento de acompanhamento completo, pelo que é essencial motivar o paciente a segui-lo. De acordo com Mosnier-Puder (2012), é desaconselhável adotar uma abordagem de prescritor na relação cuidador-paciente. A autora insiste que o doente não deve ser visto como um mero executor de ordens médicas, mas sim como um parceiro ativo no processo terapêutico. Para promover esta dinâmica de parceria, o conceito de aliança terapêutica é apresentado como uma solução relevante. A aliança terapêutica, promovida como uma solução relevante, encoraja a colaboração entre o doente e o prestador de cuidados, substituindo a autoridade tradicional pela troca de informação e compreensão mútua. Ao trabalharem em conjunto para um objetivo de saúde comum, o dentista e o doente fazem progressos no seu processo de tratamento. Desta forma, o objetivo de saúde é compreendido e integrado na vida quotidiana do paciente, e este desempenha um papel ativo no seu próprio processo de cura. Uma relação baseada na aliança terapêutica também encoraja a comunicação aberta e a toma de decisões partilhada, conduzindo a cuidados de saúde mais personalizados e adaptados às necessidades específicas do paciente.

Estes avanços médicos exigem que os médicos dentistas se adaptem, uma vez que o desenvolvimento da vacinação passiva contra a cárie dentária pode potencialmente levar a mudanças significativas na prática dentária tal como a conhecemos atualmente. De facto, o Código Deontológico da Ordem dos Médicos Dentistas afirma no artigo 8, parágrafo 8: "O médico dentista deve assegurar a atualização permanente dos seus conhecimentos científicos e

preparação técnica". Isto significa que, apesar da potencial perda de trabalho para os médicos dentistas, temos a obrigação moral utilizar a técnica mais eficaz e mais vantajosa para a saúde dos nossos pacientes. Até à data, nenhum produto desta natureza está disponível para compra ou prescrição na Europa. De acordo com um artigo por Smith em 2010, apesar de mais de 30 anos de investigação em pequena escala que demonstram a eficácia e a segurança da imunização contra *S. mutans*, nenhum produto foi comercializado para uso humano. Esta relutância por parte das entidades comerciais em investir em tais produtos pode ser atribuída a uma série de fatores. Entre eles, o contexto económico da época do artigo, caracterizado em particular pela crise do subprime nos Estados Unidos, pode ter tido influência. Além disso, os painéis de aprovação da vacinação pediátrica estavam relutantes em aceitar uma vacina para uma doença que não era mortal. Desde 2010, o sector da saúde tem sido fortemente afetado pela pandemia de COVID-19. O desenvolvimento de fundos de emergência para fazer face a eventuais pandemias futuras e a redução do custo dos cuidados dentários para os sistemas de saúde graças à imunização passiva contra a cárie dentária poderiam ser considerados medidas significativas.

V- CONCLUSÃO

As doenças orais são definidas como um dos principais problemas de saúde pela OMS, sendo que a patologia mais comum é a cárie dentária, que pode ser evitada. Atualmente, existe uma necessidade urgente de prevenir estas doenças, uma vez que as consequências são múltiplas e socialmente injustas, afetando desproporcionalmente as famílias com baixos rendimentos.

Graças aos avanços científicos e biotecnológicos das últimas três décadas, hoje é possível dizer que a vacinação contra *S. mutans* é possível. No entanto, continua a ser necessário realizar estudos a longo prazo e em grande escala, a fim de compreender melhor os desafios que enfrentamos. Para o efeito, é necessário incentivar financeiramente a investigação para o desenvolvimento e a posterior comercialização de produtos que imunizem passivamente contra a cárie dentária. Este desenvolvimento poderia potencialmente encorajar a indústria farmacêutica a investir mais no desenvolvimento de uma vacina convencional contra a cárie dentária.

Os produtos à base de anticorpos estão a ser investigados para prevenir a cárie dentária, bem como outras doenças orais, como a periodontite. A erradicação ou redução significativa da incidência da cárie dentária ou de outras doenças orais irá revolucionar a prática da Medicina Dentária. Assim, estamos a dar um passo em frente na área preventiva da Medicina Dentária conservadora.

Além disso, a introdução de um produto com um efeito imunizante passivo teria benefícios sociais, económicos e ecológicos. Contribuiria para a construção de uma sociedade mais justa, melhorando a saúde oral das camadas mais desfavorecidas da população. Esta inovação reduziria também consideravelmente a necessidade de consultas, as despesas de saúde oral e as deslocações dos pacientes aos consultórios dentários, o que teria um impacto positivo na pegada de carbono da Medicina Dentária.

Como profissionais de saúde, é nosso dever ético dar prioridade às opções mais eficazes e protetoras para os nossos pacientes, mesmo que para isso seja necessário alterar as nossas abordagens tradicionais. A imunização passiva contra *S. mutans* pode não ser o futuro único da

vacinação contra a cárie dentária, mas marca uma etapa na viagem emocionante em direção a uma nova era da Medicina Dentária e a um mundo mais saudável e mais equitativo.

BIBLIOGRAFIA

Abbas, A.K., *et al.* (2020). Capítulo 4. In *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. Issy-les-Moulineaux, France : Elsevier Masson.

Alam, M.K., *et al.* (2018). Synthetic Antigen-Binding Fragments (Fabs) against *S. Mutans* and *S. Sobrinus* Inhibit Caries Formation. *Scientific Reports*, 8(1). Disponível em <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28240-0>.

Aldred, M.J., *et al.* (1986). Class-specific antibodies to streptococcus mutans in human serum, saliva and breast milk. *Journal of Immunological Methods*, 87(1), 103-108. Disponível em [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90349-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90349-2).

Ashley, P., *et al.* (2022). The environmental impact of community caries prevention - part 2: toothbrushing programmes. *British Dental Journal*, 233(4), pp.295–302. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41415-022-4905-3>.

Bachtiar, E.W., *et al.* (2019). The effect of mouthwash combination of immunoglobulin-Y anti-ComD *Streptococcus mutans* and Chitosan on the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(1), 110-113. Disponível em <https://doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s1.ar170>.

Bahadir, H.S. (2021). Capítulo 6 - Dental caries vaccines. *In: C. Evereklioglu (Ed.), Research & Reviews in Health Sciences* (pp. 82-98). Ankara, Turkey: Gece Publishing.

Batchelor, H.K. e Marriott, J.F. (2015). Formulations for children: problems and solutions. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 79(3), pp.405–418. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/bcp.12268>.

Caufield, P.W., Li, Y., e Dasanayake, A. (2005). Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 26(Suppl 1), 10-16.

CDC (2014). Vaccine Testing and Approval Process. [em linha] Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <https://www.cdc.gov/vaccines/basics/test-approve.html>.

Chiba, I., *et al.*, (2005). Evaluation of the effect of egg yolk antibody product Ovalgen DC on oral dental plaque formation using volunteers. *Pediatric Dentistry Journal*, 43(2), 327. Disponível em https://doi.org/10.11411/jspd1963.43.2_327.

Chan, C.E.Z. *et al.*, (2009). The use of antibodies in the treatment of infectious diseases. *Singapore Medical Journal*, 50, 663–672.

Cherukuri, G., *et al.* (2020). Insight into status of dental caries vaccination: A review. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 23(6), 544-549. Disponível em https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_402_20.

Daniels, N. (1985). *Just Health Care*. Cambridge, UK: Cambridge University Press
Disponível em <https://doi.org/10.1017/CBO9780511624971>.

Duane, B., *et al.* (2020). Sustainability in Dentistry: A Multifaceted Approach Needed. *Journal of Dental Research*, 99(9), pp.998–1003. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034520919391>.

Duane, B., *et al.* (2022). The environmental impact of community caries prevention - part 3: water fluoridation. *British Dental Journal*, 233(4), pp.303–307. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41415-022-4251-5>.

Chen, X., *et al.* (2016). DNA-templated microwave-hydrothermal synthesis of nanostructured hydroxyapatite for storing and sustained release of an antibacterial protein. *Dalton Transactions*, 45(4), pp.1648–1656. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5dt03357h>.

Gouglas, D., *et al.* (2018). Estimating the cost of vaccine development against epidemic infectious diseases: a cost minimisation study. *The Lancet Global Health*, [em linha] 6(12), pp.1386–1396. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(18\)30346-2](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(18)30346-2).

Glied, S. e Neidell, M. (2010). The Economic Value of Teeth. *Journal of Human Resources*, 45(2), pp.468–496. Disponível em: <https://doi.org/10.1353/jhr.2010.0022>.

Hatta, H., *et al.* (1997). Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 31, 268-274. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1159/000262410>.

Hayes, A., *et al.* (2013). Time loss due to dental problems and treatment in the Canadian population: analysis of a nationwide cross-sectional survey. *BMC Oral Health*, 13(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6831-13-17>.

Hyde, S., Satariano, W.A. e Weintraub, J.A. (2006). Welfare Dental Intervention Improves Employment and Quality of Life. *Journal of Dental Research*, 85(1), pp.79–84. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/154405910608500114>.

International Academy of Oral Medicine and Toxicology. (2017). Fluoride and the Environment: A Fact Sheet from the IAOMT. Disponível em <https://files.iaomt.org/wp-content/uploads/IAOMT-Fact-Sheet-on-Fluoride-and-the-Environment.pdf>. Acedido no dia 14 de maio 2023.

Jain, R.L., *et al.* (2022) ‘A comparative evaluation of xylitol chewing gum and a combination of IgY + xylitol chewable tablet on Salivary *Streptococcus mutans* count in children: A double-blind randomized controlled trial’, *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 15(S2). Disponível em <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2162>.

Juarez, P., *et al.* (2016). Biomanufacturing of Protective Antibodies and Other Therapeutics in Edible Plant Tissues for Oral Applications. *Plant Biotechnology Journal*, 14(9), 1791-1799. Disponível em <https://doi.org/10.1111/pbi.12541>.

Krüger, C. (2004). Passive immunization against oral pathogens. Institutionen för laboratoriemedicin / Department of Laboratory Medicine. Disponível em <http://hdl.handle.net/10616/38648>

Kopelman, L.M. e Palumbo, M.G. (1997). The U.S. health delivery system: inefficient and unfair to children. *American Journal of Law & Medicine*, [em linha] 23(2-3), pp.317–337. Disponível em: [10.1017/S0098858800010741](https://doi.org/10.1017/S0098858800010741).

Krüger, C., *et al.* (2005). Passive immunization by *lactobacilli* expressing single-chain antibodies against *Streptococcus mutans*. *Molecular biotechnology*, 31(3), 221–231. Disponível em <https://doi.org/10.1385/MB:31:3:221>.

Larrick, J.W., *et al.* (1998). Production of Antibodies in Transgenic Plants. *Research in Immunology*, 149, 603-608. Disponível em [https://doi.org/10.1016/S0923-2494\(98\)80013-8](https://doi.org/10.1016/S0923-2494(98)80013-8).

Lehner, T. (1985). Immunization against Dental Caries. *Vaccine*, 3(1), 65-68. Disponível em [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(85\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0264-410x(85)90016-7).

Li, L., *et al.* (2010). Targeted Antimicrobial Therapy Against *Streptococcus mutans* Establishes Protective Non-Cariogenic Oral Biofilms and Reduces Subsequent Infection. *International Journal of Oral Science*, 2(2), 66–73. Disponível em: <https://doi.org/10.4248/ijos10024>

Lu, M., Xuan, S., e Wang, Z. (2019). Oral microbiota: A new view of body health. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 8-15. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.12.001>

Lyne, A., *et al.* (2022). The environmental impact of community caries prevention - part 1: fluoride varnish application. *British Dental Journal*, 233(4), pp.287–294. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41415-022-4901-7>.

Ma, J.K.C., Smith, R., e Lehner, T. (1987). Use of monoclonal antibodies in local passive immunization to prevent colonization of human teeth by *Streptococcus mutans*. *Infection and Immunity*, 55, 1274-1278.

Ma, J.K.-C., *et al.* (1989). Specificity of monoclonal antibodies in local passive immunization against *Streptococcus mutans*. *Clinical and Experimental Immunology*, 77, 331-337.

Ma, J.K.-C. e Lehner, T. (1990). Prevention of colonization of *Streptococcus mutans* by topical application of monoclonal antibodies in human subjects. *Archives of Oral Biology*, 35, 115S-122s.

Ma, J.K., *et al.* (1995). Generation and assembly of secretory antibodies in plants. *Science*, 268(5211), 716–719.

Ma, J.K., *et al.* (1998). Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans. *Nature Medicine*, 4, 601–606.

Marcotte, H. e Hammarström, L. (2015). Passive immunization. *Mucosal Immunology*, pp. 1403–1434. Disponível em <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-415847-4.00071-9>.

Martin, N. and Mulligan, S. (2021). Environmental Sustainability Through Good-Quality Oral Healthcare. *International Dental Journal*, 99(9), pp.998–1003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2021.06.005>.

Mary, D.J. e Mathew, M.G. (2020). Effect of Streptococcal IgY on Quantity of *Streptococcus Mutans* in High Caries Risk Children. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(16), pp. 6-11. Disponível em <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i1630643>.

Mosnier-Pudar, H. (2012). Pourquoi les patients ne suivent-ils pas nécessairement les conseils que nous leur donnons ? L'éducation thérapeutique est-elle une réponse au problème d'observance ? *Médecine des Maladies Métaboliques*, 6(1), pp.66–71. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1957-2557\(12\)70357-7](https://doi.org/10.1016/s1957-2557(12)70357-7).

Müller, S., *et al.* (2015). IgY Antibodies in Human Nutrition for Disease Prevention. *Nutrition Journal*, 14(1). Disponível em <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0067-3>.

National Center for Immunization and Respiratory Diseases (2023). Call for consultant on monoclonal antibodies for infectious diseases. [em linha] www.who.int. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/articles-detail/call-for-consultant-on-monoclonal-antibodies-for-infectious-diseases>.

Nishihara, T., *et al.* (2014). Effects of *Lactobacillus salivarius*-containing tablets on caries risk factors: a randomized open-label clinical trial. *BMC Oral Health*, 14(1), 1-7.

Nguyen, S.V., *et al.* (2011). Anti-cell-associated glucosyltransferase immunoglobulin y suppression of salivary *mutans streptococci* in healthy young adults. *The Journal of the American Dental Association*, 142(8), 943-949. Disponível em <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2011.0301>.

Ordem Dos Médicos Dentistas (2019). Código Deontológico Da Ordem Dos Médicos Dentistas. [em linha] Disponível em: https://www.omd.pt/content/uploads/2020/02/20200224_codigo_deontologico_2019.pdf.

Parvathy, S.T. (2020). Engineering Plants as Platforms for Production of Vaccines. *American Journal of Plant Sciences*, 11(5), 707-735. Disponível em <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.115052>.

Patel, M. (2019). Dental caries vaccine: Are we there yet? *Letters in Applied Microbiology*, 70(1), 2–12. Disponível em <https://doi.org/10.1111/lam.13218>.

Pennar, K. (2022). ‘*If I were a hospital, I’d be reading the tea leaves*’: Pressures grow on the health care industry to reduce its climate pollution. [em linha] STAT. Disponível em: <https://www.statnews.com/2022/10/27/health-care-hospitals-climate-pollution/> [Acedido no 22 de julho 2023].

Peres, M.A., *et al.* (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet*, [online] 394(10194), pp.249–260. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)31146-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)31146-8).

Rahman, S., *et al.* (2013). Oral Passive IgY-Based Immunotherapeutics. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 9(5), 1039-1048. [em linha]. Disponível em <https://doi.org/10.4161/hv.23383>.

Ramachandra, J. A., e Gopinath, G. (2022). Microbiological comparison of efficacy of two chewing gum on salivary levels of *Streptococcus mutans* count in caries active children – An in vivo study. *International Journal of Oral Health Sciences*, 12, 29-33.

Rezaei, T., *et al.* (2022). Factors associated with *Streptococcus mutans* pathogenicity in the oral cavity. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(4), 368-387. Disponível em <https://doi.org/10.33263/briac134.368>.

Ribeiro, A.A. e Paster, B.J. (2023). Dental caries and their microbiomes in children: what do we do now? *Journal of Oral Microbiology*, 15(1). Disponível em <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2198433>.

Robinette, R.A., *et al.* (2011). A Therapeutic Anti-*Streptococcus Mutans* Monoclonal Antibody Used in Human Passive Protection Trials Influences the Adaptive Immune Response. *Vaccine*, 29(37), 6292-6300 Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.027>.

Sahu, S., *et al.* (2021). Dental Caries Vaccines – An Emerging Viable Treatment for Modern Dentists. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(2), 3934-3937.

Schirrmann, T. *et al.* (2008). Production systems for recombinant antibodies. *Frontiers in Bioscience*, 13, 4576–4594.

Sedghi, L., *et al.* (2021). The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87(1), pp. 107–131. Disponível em <https://doi.org/10.1111/prd.12393>.

Shimazaki, Y., *et al.* (2001). Passive Immunization with Milk Produced from an Immunized Cow Prevents Oral Recolonization by *Streptococcus Mutans*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8(6), pp. 1136–1139. Disponível em <https://doi.org/10.1128/cdli.8.6.1136-1139.2001>.

Simón-Soro, A., e Mira, A. (2015). Solving the Etiology of Dental Caries. *Trends in Microbiology*, 23(2), pp. 76–82. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.10.010>.

Slifka, M.K., e Amanna, I.J. (2018). Passive Immunization. In *Plotkin's Vaccines* (pp. 84-95). Disponível em <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-35761-6.00008-0>.

Smith, D.J. (2010). Dental caries vaccines: prospects and concerns. *Expert Review of Vaccines*, 9(1), 1-3.

Smith, R. e Lehner, T. (1989). Characterisation of Monoclonal Antibodies to Common Protein Epitopes on the Cell Surface of *Streptococcus Mutans* and *Streptococcus Sobrinus*. *Oral Microbiology and Immunology*, 4(3), 153-158. Disponível em <https://doi.org/10.1111/j.1399-302x.1989.tb00243.x>.

Taubman, M.A. e Nash, D.A. (2006). The Scientific and Public-Health Imperative for a Vaccine against Dental Caries. *Nature Reviews Immunology*, 6(7), 555-563. Disponível em <https://doi.org/10.1038/nri1857>.

Tarquinio, C. e Tarquinio, M.-P. . (2007). L'observance thérapeutique : déterminants et modèles théoriques. *Pratiques Psychologiques*, 13(1), pp.1–19. Disponível em : <https://doi.org/10.1016/j.prps.2006.09.005>.

Tello, P.M.C., *et al.* (2020). Immunization strategies in dental caries: Scopes and limitations. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 8(1), 76-85. Disponível em <https://doi.org/10.30574/wjarr.2020.8.1.0361>.

Tilahun, H., Negash, G., e Fesseha, H. (2019). An Insight Review on Application of Plantibodies. *Indian Journal of Pure and Applied Biosciences*, 7(6), 29-41. Disponível em <http://dx.doi.org/10.18782/2582-2845.7900>.

Tilman, C.B. (2022). Perceção da população, dos profissionais de saúde e dos gestores sobre o programa nacional de imunização de timorleste [Tese de Doutoramento, Universidade Nova de Lisboa, Escola Nacional de Saúde Publica Lisboa, Portugal]. Disponível em: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/141759/1/RUN%20%20Tese%20de%20Doutoramento%20-%20Carlos%20Tilman.pdf>

Vermij, P. (2006). USDA Approves the First Plant-Based Vaccine. *Nature Biotechnology*, 24(3), pp. 233–234. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nbt0306-233>>. [Acedido no dia 12 de Abril 2023].

Weintraub, J.A. *et al.* (2005). Clinical Trial of a Plant-Derived Antibody on Recolonization of *Mutans Streptococci*. *Caries Research*, 39(3), pp. 241–250. Disponível em <https://doi.org/10.1159/000084805>

Wig, M. *et al.* (2021). Dental caries vaccine: An overview. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 7(2), pp. 461–465. Disponível em <https://doi.org/10.22271/oral.2021.v7.i2g.1249>

Winau, F. e Winau, R. (2002). Emil von Behring and serum therapy. *Microbes and Infection*, 4(2), pp. 185–188. Disponível em [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(01\)01526-x](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(01)01526-x).

World Health Organization. Infectious disease. World Health Organization. Disponível em: <<https://www.emro.who.int/health-topics/infectious-diseases/index.html>> (Acedido no dia 26 de Abril 2023).

World Health Organization (2021). Climate change and health. [online] World Health organization. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/climate-change-and-health>.

World Health Organization. (2022). Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030 [Relatório]. World Health Organization (WHO). Disponível: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240061484>> (Acedido no dia 18 de Abril 2023).

Yu, M.-H., Tsunoda, H. and Tsunoda, M. (2012). *Environmental toxicology : biological and health effects of pollutants*. Boca Raton, FL: Crc Press.

