

Vacinação: uma opção preventiva contra a cárie dental aprimorada pelos conhecimentos da imunologia e da biotecnologia

JOÃO LUIZ DE MIRANDA* ; EMANUEL SÁVIO DE SOUZA ANDRADE* ; GLEICY FÁTIMA MEDEIROS DE SOUZA* ; RUTHNÉIA DIÓGENES ALVES* ; DULCE ALMEIDA** ; LEÃO PEREIRA PINTO **

RESUMO

Neste trabalho, os autores revisam a literatura quanto aos meios de imunização ativa e passiva contra cárie dental; os mecanismos biomoleculares de identificação dos fatores de virulência dos *Streptococcus mutans* e a busca de uma vacina que seja efetiva na prevenção da cárie, atuando seletivamente contra as cepas cariogênicas do *S. mutans*.

UNITERMOS

Cárie dental; vacina, *Streptococcus mutans*; imunização.

MIRANDA, J.L. et al. Vaccination: a preventive option against dental caries improved by immunological and biotechnological knowledgements. *Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*, v.4, n.1, p. 68-77, jan./abr., 2001.

ABSTRACT

This review paper describes passive and active immunization methods against dental caries; biomolecular mechanisms of identification of *Streptococcus mutans* virulence factors. These virulence factors has been tried to create an effective vaccine in the caries prevention, selectively acting against cariogenic microorganisms of mutans group.

UNITERMS

Dental caries; vaccine, Streptococcus mutans; immunization.

INTRODUÇÃO

A cárie dental tem despertado o interesse de estudiosos e pesquisadores do mundo inteiro, devido seu caráter pandêmico. Os estudos desta doença tornaram-se mais efetivos a partir de 1889, quando Miller associou seu aparecimento à presença de microrganismos produtores de ácidos na superfície dental; nas últimas décadas alcançaram avanços significativos, os quais são derivados dos estudos imunológicos e biomoleculares dos eventos envolvidos no processo cariioso.

A importância do *Streptococcus mutans* na etiologia da cárie foi ignorada, até que em 1960, Fitzgerald & Keyes demonstraram o papel etiológico de certos estreptococos na cárie experimental em hamsters. A partir daí, esta bactéria tornou-se alvo em todas as experiências de imunização.

A descoberta de um sistema mucoso imune único em 1965 por Tomasi et al., sugeriu a possibilidade

* Alunos do Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – 59056-000.

** Professores Doutores do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da UFRN - 59056-000.

de de interferir na cárie, estimulando anticorpos salivares para antígenos específicos, resultando, assim, no desenvolvimento de trabalhos como os de Bowen (1969), Taubman & Smith (1974), Mc Ghee (1975), citados por Taubman & Smith¹⁶ (1995), que estudaram o desenvolvimento de vacinas anti-cárie em animais utilizando o *S. mutans*.

Os estudos baseados na criação de vacinas contra a cárie têm evoluído bastante, quando foi estabelecido ser o *S. mutans* seu principal agente etiológico. Segundo Hajishengallis & Michalek⁵ (1999), a evidência de uma bactéria específica causadora de cárie dental e da função das glândulas salivares como um local efetor do sistema imune mucoso, tem promovido um embasamento científico para o desenvolvimento de uma eficaz vacina contra essa doença.

MECANISMOS DE IMUNIZAÇÃO

IMUNIZAÇÃO ATIVA

É a forma de imunização pela qual se estimula o sistema imunológico, através do uso de vacinas, a formar anticorpos específicos, porém sem induzir os sintomas das doenças.

Estudos experimentais têm utilizado basicamente duas estratégias, a estimulação de IgA secretora e o estímulo de anticorpos do soro, que atingem a placa via sulco gengival. Estes experimentos utilizam as vias de imunização ativa e passiva.

IMUNIZAÇÃO ORAL

A mucosa intestinal é formada por enterócitos e células M, que são capazes de captar antígenos e microrganismos, apresentá-los a linfócitos, macrófagos e células dendríticas e desencadear o desenvolvimento de tolerância ou resposta imune (Costa, 1999). Portanto, os antígenos ingeridos utilizam as células M como porta de entrada atingindo o tecido linforeticular das placas de Peyer, desencadeando a formação de linfoblastos que migram através do canal linfático, linfonodos mesentéricos e ducto torácico atingindo a corrente sanguínea. Da corrente sanguínea estas células saem e se estabelecem na lâmina própria dos tecidos mucosos e tecidos glandulares, incluindo as glândulas mamárias, lacrimais e salivares (Newbrun¹², 1988;

Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995; Montgomery & Rafferty¹¹, 1998).

Segundo TAUBMAN e SMITH (1995), antígeno particulado administrado por intubação gástrica em roedores geram uma resposta de IgA salivar maior que a dose equivalente da forma solúvel do mesmo antígeno, o que pode ser atribuído a maior captação de material particulado por amostra de antígeno da células M nas placas de Peyer.

Childers et al¹. (1996) demonstraram que a imunização intra-gástrica de ratos gnotobióticos, utilizando lipossomos contendo glicosiltransferase de *S. mutans*, resultou em redução na colonização e nas lesões cariosas por este microrganismo, sugerindo que estes achados fornecem bases para estudos em humanos, com a finalidade de testar tais preparações para imunização oral. Montgomery & Rafferty¹¹ (1998) por sua vez, concluíram que micropartículas bioadesivas degradáveis de amido podem ser usadas como veículo e quando em combinação com um ampliador de penetração (L-a-lisofosfatidilcolina), pode induzir uma resposta de IgA salivar de longa duração.

IMUNIZAÇÃO PELA VIA NASAL

Childers et al². (1997) baseados em experimentos que observaram resposta imunológica com presença de anticorpos no soro e em secreções nasais, após imunização intra-nasal contra patógenos respiratórios, realizaram estudos para avaliar a indução de IgA salivar, utilizando-se de lipossomos desidratados contendo antígenos de *S. mutans*, por via nasal. Neste estudo, eles realizaram imunização nasal em cinco mulheres voluntárias utilizando glicosiltransferase (GTF) como antígeno em duas aplicações com intervalo de sete dias entre elas. Eles observaram aumento de IgA1 e IgA2 salivares anti-GTF, além de aumento de IgA e IgM do soro. Não observou-se aumento de IgG. Segundo os autores, estes resultados demonstram, pela primeira vez, evidência do uso efetivo de vacina pela via nasal.

IMUNIDADE LOCAL POR ESTIMULAÇÃO DIRETA DE IgA-S

Roedores imunizados por injeções repetidas com vacina a partir de *S. mutans* (células mortas

ou GTF) nas proximidades das glândulas parótidas e submandibulares produziram IgA salivar que aglutinava o *S. mutans* ou inibia a síntese de glicanos. Esses animais possuíam poucas colônias desses microrganismos em seus dentes e menor número de cárie do que os não imunizados. A redução de cárie foi maior nas superfícies lisas do que nas oclusais (Newbrun¹², 1988).

A aplicação local de GTF no lábio inferior de 23 indivíduos foi realizada, diariamente durante 5 dias em estudo de Smith & Taubman (1990). Os autores observaram retardo no reacúmulo de estreptococcus do grupo *mutans* da microbiota indígena associado às elevações dos níveis de anticorpo IgA da parótida de todos os indivíduos. Segundo os autores, esses resultados indicam que a aplicação labial de GTF pode modificar o ambiente salivar no que diz respeito à resposta imune para retardar o re-acúmulo destes microrganismos indígenas após profilaxia dental. Isto ocorre porque os tecidos salivares contêm os principais componentes celulares necessários para a resposta imune ao antígeno. O antígeno depositado pode ser capturado por fagócitos mononucleares residentes, após endocitose pelo epitélio ductal ou por outras células especializadas. O antígeno pode ser apresentado diretamente para as células imunologicamente competentes na glândula labial ou transportado para os linfáticos locais, resultando, em ambos os casos, na expansão da população de células precursoras de IgA recirculantes e migração para a glândula parótida (Taubman & Smith¹⁶, 1995).

Estudos em roedores e em macacos demonstraram que a injeção de células de *S. mutans* ou de GTF, purificada na glândula salivar, induz níveis elevados de anticorpos salivares IgA-S, resultando em redução da atividade de cárie e interferência na colonização (Taubman & Smith¹⁶, 1995; Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995). Porém, a maior desvantagem desta via de imunização é que a função da glândula geralmente fica perturbada (Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995).

IMUNIZAÇÃO SISTÊMICA

A imunização sistêmica utiliza principalmente a via subcutânea (via parenteral clássica de imunização), visando obter uma resposta imunológica

sistêmica, envolvendo predominantemente o anticorpo tipo IgG e, em menor extensão, IgM e IgA.

Após a imunização subcutânea com *S. mutans* observava-se aumento dos níveis de anticorpos dos níveis de anticorpos na saliva, predominantemente da classe IgG. Tais anticorpos atingem a cavidade bucal por meio de transudação, principalmente com o fluido gengival. Experimentos em macacos confirmaram a IgG sérica pode oferecer proteção contra a cárie, já que macacos que receberam transfusão de IgG com atividade contra o *S. mutans* purificada foram parcialmente protegidos contra a cárie (Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995). Ratos imunizados contra o *S. mutans* desenvolveram altos níveis de anticorpos sanguíneos e salivares, sendo protegidos parcialmente contra a cárie, porém em proporções variáveis. Ratos imunizados com GTF desenvolveram menos cárie do que animais falsamente imunizados. Porém, a proteção não foi uniforme (Newbrun¹², 1988).

Existem muitas discussões a respeito das vantagens de estimular anticorpos IgG para obter-se proteção à cárie, porém observou-se que o complemento e este anticorpo, obtido de macacos *rhesus* imunizados, resulta em fagocitose e morte do *S. mutans*.

Lenher e colaboradores concluíram que a opsonização e fagocitose do *S. mutans* pelos leucócitos pode ocorrer no exudato gengival e na placa. Esta atividade parece contribuir para a redução da cárie em animais imunizados. A concentração de IgG no fluido da placa de humanos é três vezes maior do que a de IgA, fato indicativo que a composição da placa é amplamente influenciada pelo exudato gengival (Newbrun¹², 1988).

A utilização da imunização por via parenteral tem gerado algumas preocupações referentes à segurança. Uma delas é a possibilidade de indução de doenças auto-imunes em humanos; a outra é inflamação, que é uma parte natural de uma reação mediada por IgG em tecidos. Quando ocorre em tecidos mucosos, pode resultar em maior permeabilidade aos antígenos, fato que poderia comprometer a barreira natural da gengiva aos antígenos da placa (Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995). No entanto, estes efeitos indesejáveis têm sido contornados com a criação de novas técnicas de vacina, como as vacinas de sub-unidade ou com o DNA do microrganismo (Taubman & Smith¹⁶, 1995).

IMUNIZAÇÃO PASSIVA

Diante da dificuldade de se obter imunização ativa contra a cárie em humanos, por meio de método seguro e prático, atualmente a imunização passiva tem recebido uma atenção especial, sendo cada vez mais estudados os métodos para transferência de anticorpos específicos, principalmente, contra o *S. mutans*.

Estudos em roedores usando leite bovino imune para quatro sorotipos de estreptococos do grupo *mutans* e usando amamentação em ratas localmente imunizadas, resultaram em redução do número destas bactérias, menos placa e diminuição da atividade cariiosa. A imunização de galinhas com GTF, purificação de IgG dos ovos destas e uso experimental desse anticorpo como aditivo dietético em estudos com roedores infectados com cepas homólogas de estreptococos do grupo *mutans*, resultou em diminuição da incidência de cárie em mais de 50% (Taubman & Smith¹⁶, 1995).

A aplicação de anticorpos monoclonais de ratos contra o antígeno I/II, em superfícies limpas dos dentes destes animais, inibiu a subsequente implantação de *S. mutans* ou a recolonização por estes microrganismos nativos, durante até dois anos após um tratamento de três semanas (Thylstrup & Fejerskov¹⁷, 1995).

Hatta et al⁶. (1997) realizaram estudos em humanos utilizando um rinse bucal contendo anticorpos originários de gema de ovo de galinhas imunizadas com *S. mutans* cultivados em meio contendo sacarose. A imunoglobulina derivada das gemas destes ovos foi isolada in vivo e in vitro em voluntários humanos. Testes de reatividade mostraram que esta imunoglobulina reagiu com cada sorotipo, exceto com o sorotipo *b* que perdeu sua antigenicidade quando a bactéria foi cultivada. Em teste de curto prazo usando um rinse contendo 10% de sacarose, a imunoglobulina reduziu o número total de estreptococos na saliva. No teste a longo prazo

com rinse bucal sem sacarose, esta redução não teve significância nos voluntários fazendo uso a imunoglobulina do ovo, devido ao amplo desvio padrão. Entretanto, comparando os níveis de estreptococos na placa, existiu uma tendência à redução nos voluntários recebendo o rinse bucal contendo a imunoglobulina do ovo. Segundo os autores, esses resultados suportam a efetividade da imunoglobulina do ovo com especificidade para *S. mutans*.

IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE VIRULÊNCIA DO *S. MUTANS* QUE PODEM SER CANDIDATOS À DESCOBERTA DA VACINA IDEAL

A engenharia genética vem sendo um meio útil no avanço dos estudos biomoleculares da virulência dos *S. mutans*, possibilitando o isolamento e caracterização dos genes responsáveis por seu potencial cariogênico (Jacques⁷, 1998).

O sequenciamento desses genes permite um conhecimento mais profundo destes microrganismos e cria a possibilidade de aplicação deles em estudos laboratoriais e clínicos, por meio dos quais tem-se demonstrado que estes genes conferem aos microrganismos seu potencial cariogênico, caracterizado por produção de ácido na placa; capacidade de sobrevivência em ambiente ácido; formação e utilização de polímeros intracelulares; formação de glicanos extracelulares insolúveis; síntese de dextranase; expressão de antígenos de ligação e produção de toxinas (Jacques⁷, 1998). Todos estes conhecimentos acumulados permitem entender porque o *S. mutans* é o mais cariogênico dentre os microrganismos da placa dental, facilitando a elaboração de novas estratégias para combater este microrganismo, ou neutralizá-lo.

O quadro 1 traz a relação dos genes envolvidos na virulência dos *S. mutans*, com seus respectivos produtos, função metabólica deles e sua função nos microrganismos.

Quadro 1. Relação dos genes envolvidos na virulência dos *S. mutans*, com seus respectivos produtos, função metabólica deles e sua função nos microrganismos.

Gene	Produto gênico	Função do produto gênico	Função no <i>mutans</i>
<i>ATPase</i>	subunidade beta da enzima ATPase	carreação de prótons hidrogênio (H ⁺) do interior da célula para o meio extracelular	aciduridade
<i>dex A</i>	dextranase extracelular	formação dos dextrans (polissacarídeo extracelular - PEC)	aderência e colonização
<i>dil</i>	desidrogenase láctica (LDH)	geração do ácido láctico na placa	acidogênese
<i>fruA</i>	frutanase	produção do frutano, utilizado como nutriente de reserva	nutrição
<i>ftf</i>	frutossiltransferase	formação dos polissacarídeos intracelulares (PIC)	nutrição
<i>gbp</i>	proteína ou lectina de ligação ao glicano (PLG ou LLG)	participação ativa no processo de colonização	aderência e colonização
<i>glg</i>	glicogênio	molécula de armazenamento intracelular e utilizada como fonte energética posteriormente	nutrição
<i>gtfB</i>	glicosiltransferase do tipo I (GTF-I)	metabolismo dos glicanos insolúveis em água	aderência e colonização
<i>gtfC</i>	glicosiltransferases dos tipos I e S (GTF-I e S)	metabolismo dos glicanos insolúveis em água	aderência e colonização
<i>gtfD</i>	glicosiltransferase do tipo S (GTF-S)	metabolismo dos glicanos solúveis em água	aderência e colonização
<i>recA</i>	proteína recA	recombinação do DNA nos estreptococos	adaptação
<i>spaA</i>	proteína spaA	constituente das fibrilas de adesão dos <i>mutans</i>	aderência e colonização
<i>spaP</i>	proteína P1 de superfície do <i>mutans</i>	funciona como uma adesina	aderência e colonização

Adaptado de KURAMITSU, H. K.; SMORAWINSKA, M.; YAMASHITA, Y. Biologia molecular de virulência do *Streptococcus mutans*. In: BOWEN, H. K.; TABAK, L. A. **Cariologia para a década de 90**. São Paulo: Santos, 1995, p.301-307.

A busca de novas estratégias de combate à cárie dental visando sua prevenção, tem sido uma constante tarefa executada por todos os pesquisadores que almejam a erradicação desta doença.

Os conhecimentos adquiridos pelos estudos biomoleculares da cárie dental, têm permitido contornar os efeitos insatisfatórios observados em alguns estudos de imunização e têm aberto novas perspectivas de se encontrar agentes imunogênicos efetivos no combate à cárie. Os estudos com imunização ativa e passiva realizados em modelos animais, associados à aplicabilidade dos frutos destes estudos aos seres humanos, têm acrescido o arsenal de mecanismos de defesa anticariogênicos (MA¹⁰, 1999).

Quando se fala na criação de uma vacina contra a cárie dental, tem-se que ter uma visão voltada para a criação de um mecanismo de imunização passiva capaz de atuar sobre os microrganismos cariogênicos e seus produtos metabólicos. Este pensamento baseia-se no fato que a maior concentração de imunoglobulinas geradas pela imunização ativa concentram-se no soro e não na secreção salivar, vindo a alcançar a placa dental numa proporção muito pequena. Estudos mais recentes detectando as imunoglobulinas no fluido da placa em concentrações satisfatórias, têm gerado uma nova perspectiva em relação à criação de um mecanismo de defesa ativa realmente efetivo; no entanto, devido os estudos nesta área estarem numa fase inicial de evolução, quando comparados com os

estudos de imunização passiva, estes últimos têm sido a modalidade mais viável de imunização.

Outra descoberta que tem criado boas expectativas futuras de criação de um sistema de imunização ativa com potencial protetor satisfatório, foi a constatação de que a saliva possui um possível anticorpo que atua inativando a ação das proteases produzidas pelos *S. mutans* (Smith *et al.*, 1998). Este fato abre novas portas para as pesquisas que visam aumentar a produção e secreção salivar de maior quantidade de IgA-secretora específica contra o *S. mutans*, pois o maior obstáculo à ação destas imunoglobulinas no interior da placa dental são as proteases bacterianas.

As proteínas fibrilares da superfície celular que medeiam a aderência à película adquirida e as glicosiltransferases que sintetizam os glicanos, auxiliando no acúmulo bacteriano, são os mais importantes componentes de virulência dos *S. mutans* e os principais candidatos para a criação de uma vacina contra a cárie (Hajishengallis & Michalek⁵, 1999). Estes e outros fatores de virulência do *S. mutans* têm sido identificados, clonados geneticamente e produzidos laboratorialmente em larga escala, utilizados em experimentos de imunização ativa e passiva em animais, obtendo respostas satisfatórias. A proteína PAc (antígeno I/II) quando utilizada na imunização ativa de ratos e macacos, tem mostrado resultados positivos na redução da cárie induzida experimentalmente nestes animais; da mesma forma que os anticorpos gerados contra este antígeno, tem surtido efeitos positivos na proteção contra a cárie, quando utilizados na forma de gel, em macacos e em humanos, conferindo-lhes imunização passiva eficiente (Senpuku *et al.*¹³, 1996).

Antes da tecnologia do DNA recombinante, existiam apenas dois tipos de vacinas, as inativadas e as atenuadas, que traziam riscos potenciais de uso em seres humanos, devido a possibilidade de desenvolvimento de muitos efeitos colaterais nos indivíduos imunizados. A biotecnologia aplicada à produção de vacinas tem explorado o fato de que para um indivíduo estar protegido contra um agente infeccioso, não é necessário que ele produza anticorpos contra todos os antígenos do microrganismo. A identificação de uma ou duas proteínas cruciais para a proteção imunológica é o suficiente para se criar uma vacina de subunidade, na qual

a resposta imune é induzida por um determinante antigênico isolado. Este processo depende do isolamento dos genes que codificam as proteínas antigênicas e de sua expressão em um sistema adequado. O fato deste tipo de vacina não apresentar o DNA do agente infeccioso, torna-a extremamente segura (Farah, 1997).

A TECNOLOGIA SO DNA RECOMBINANTE A SERVIÇO DA VACINAÇÃO

O primeiro passo para a criação da vacina de subunidade é extrair o DNA principal da bactéria (*S. mutans*) pela lise mecânica ou química, o qual contém o gene codificador da proteína antigênica. Esta molécula de DNA é cortada em vários fragmentos, pela ação de enzimas de restrição (enzimas naturalmente encontradas em bactérias e que lhes conferem proteção contra infecção viral), que reconhecem uma seqüência específica de bases no DNA e corta a molécula em um sítio de reconhecimento (sítio de restrição).

Cada um dos fragmentos que contém o gene de interesse, é ligado a uma outra molécula de DNA capaz de transportá-lo, separadamente, para dentro de uma célula hospedeira apropriada. Um vetor ideal para realizar este transporte é o plasmídeo. Plasmídios são pequenas moléculas de DNA circular encontradas em algumas bactérias, as quais possuem além deles, um DNA principal que controla suas funções e reprodução, denominado DNA cromossômico. Os plasmídios carregam genes que não são essenciais para a vida das bactérias e têm a capacidade de passar de uma bactéria para outra, transferindo características genéticas entre uma e outra. O plasmídeo contendo o fragmento de DNA cortado pela enzima de restrição é implantado em bactérias como a *E. coli* e as *salmonellas* e então, é duplicado no interior das bactérias, as quais se encarregam de produzir inúmeras cópias do plasmídeo recombinante. Além disso, o plasmídeo também possui capacidade de autoduplicação no interior da célula. Segundo Smorawinska & Kuramitsu (1995), a *E. coli* é muito utilizada devido a introdução dos genes dos estreptococos resultar em uma expressão eficiente dos produtos protéicos nela. Além do mais, os genes promotores da *E. coli* e dos estreptococos exibem seqüências com alta escala de similaridades.

As bactérias contendo o DNA recombinante se multiplicam rapidamente, gerando um clone genético idêntico e produzindo uma quantidade enorme do gene de interesse ao estudo. Da mesma

forma, o clone bacteriano obtido produz uma quantidade extremamente alta da proteína antigênica do *S. mutans*.

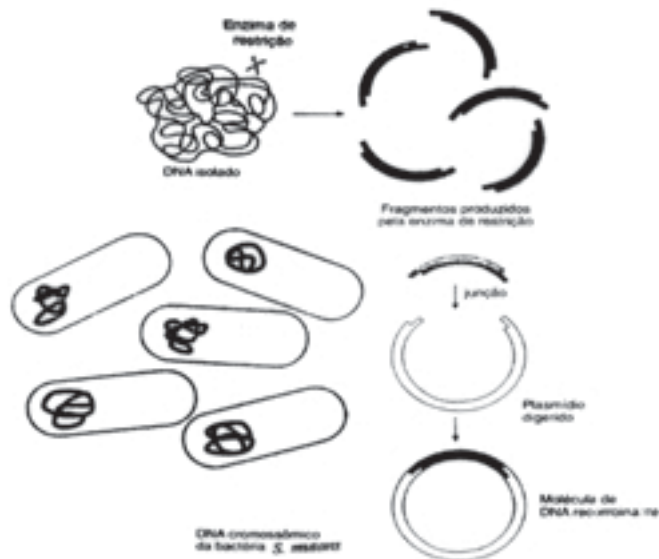


FIGURA 1 - Obtenção de fragmentos do DNA do *S. mutans*, utilizando-se uma mesma enzima de restrição para recortar o DNA e o plasmídeo, o qual se combina com os sítios homólogos do fragmento de DNA, gerando o DNA recombinante (adaptado de FARAH, S. B. **DNA: segredos e mistérios**. São Paulo: Sarvier, 1997).

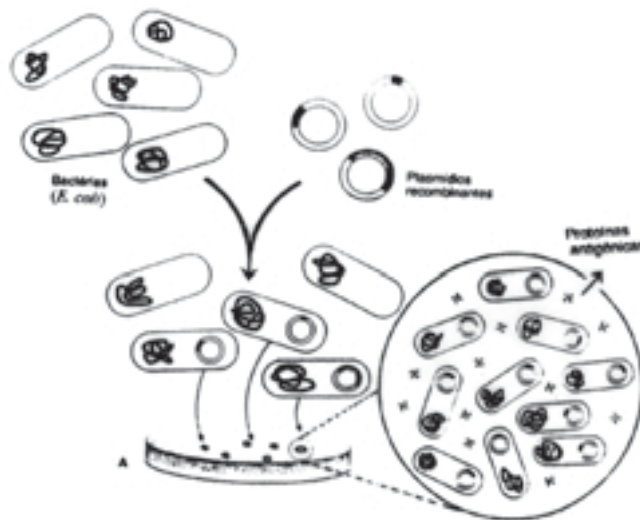


FIGURA 2 - Amplificação do plasmídeo (DNA recombinante) contendo o fragmento de DNA extraído do *S. mutans* e geração de um clone bacteriano (*E. coli*) produtor da proteína antigênica do *S. mutans* (adaptado de FARAH, S. B. **DNA: segredos e mistérios**. São Paulo: Sarvier, 1997).

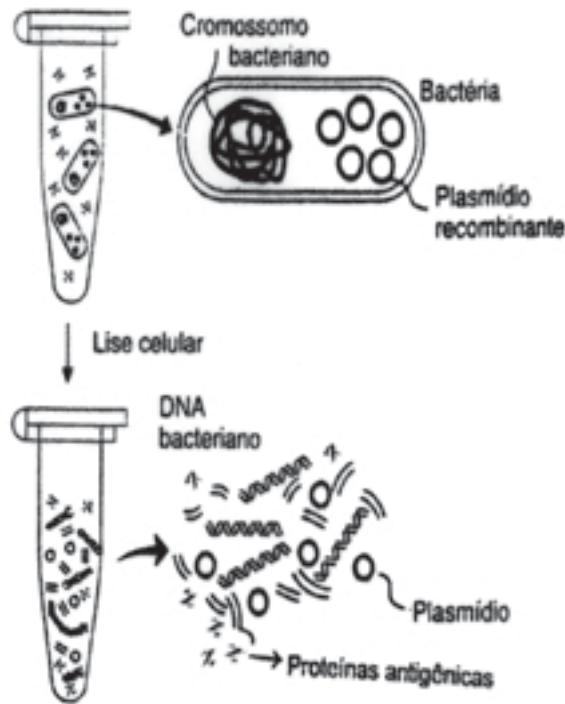


FIGURA 3 - Separação da proteína antigênica do *S. mutans* e dos plasmídios contendo o fragmento de DNA com o gene codificador dela, geralmente feito por ultracentrifugação (adaptado de FARAH, S. B. *DNA: segredos e mistérios*. São Paulo: Sarvier, 1997).

Outro sistema ideal para a produção em massa de anticorpos monoclonais altamente específicos, pelo processo de clonagem são os hibridomas, os quais formam é um modelo experimental extremamente útil na produção de imunoglobulinas direcionadas contra proteínas antigênicas específicas dos *S. mutans*, mecanismo importante na criação da imunização passiva contra a cárie (Smith et al¹⁵, 1998). Um dos aspectos mais intrigantes na obtenção das vacinas para uso tópico, as quais têm efetividade de até um ano, é o fato de poderem ser utilizadas algumas plantas para produzi-las (MA¹⁰, 1999).

Outros tipos de vacinas que têm sido desenvolvidas são as vacinas sintéticas, mecanismo baseado no princípio que uma pequena porção antigênica da proteína, conhecida como epítipo, pode ser suficiente para dar a proteção desejada. Tais peptídeos (epítipos) têm sido sintetizados artificialmente. Um dos desafios desta produção é determinar a sequência correta dos aminoácidos, a conformação e a forma final do peptídeo. Segundo Senpuku et al¹³. (1996), as sequências repetidas de aminoácidos ricas em alanina (região A da proteína *PAC* – antígeno I/II) e ricas em prolina (região P da pro-

teína *PAC* – antígeno I/II) do *S. mutans* são epítipos que apresentam forte antigenicidade que têm sido estudados na tentativa de criar uma vacina contra a cárie. A imunização com estes epítipos antigênicos clonados induz a formação de anticorpos específicos contra eles. Estes epítipos estão associados a interações entre a superfície da proteína antigênica e os componentes salivares.

Mais recentemente, tem-se tentado utilizar o próprio gene isolado de uma determinada cepa de bactéria para induzir uma resposta antigênica no hospedeiro, por um processo denominado vacinação pelo DNA. O gene é injetado na intimidade do tecido muscular do hospedeiro, induzindo estas células a produzirem a proteína antigênica da bactéria; então, como a proteína não é própria do organismo, o sistema imune deste indivíduo se encarrega de produzir os anticorpos contra ela (Farah, 1997).

A imunização realizada em modelos animais, para a obtenção de um grande número de anticorpos gerados contra uma proteína antigênica específica do *S. mutans*, permite isolá-los do soro ou do leite do animal e utilizá-lo em seres humanos na forma de gel ou bochecho (Loimaranta et al.⁹ 1998).

Em modelos utilizando aves, os anticorpos podem ser isolados do ovo. Esta metodologia aplicada a animais, para isolar-se anticorpos para uso em aplicações tópicas orais, pode ser utilizada para qualquer tipo de vacina (Taubman & Smith¹⁶, 1995) envolvendo as tecnologias mais anteriores ou as mais recentes como esta do DNA, porém esta última fornece a possibilidade de anticorpos mais específicos e produzidos em uma escala muito maior.

Os métodos de engenharia genética têm alterado sobremaneira as estratégias empregadas no desenvolvimento de novas vacinas e um progresso ainda maior é previsto para as próximas décadas. À medida que aumentamos nosso conhecimento sobre quais são os fatores que tornam um microrganismo virulento e capaz de desenvolver uma doença infecciosa, maiores são as possibilidades de se criar vacinas de um modo mais racional e que sejam mais eficientes e seguras para a população. Além disso, os métodos de DNA recombinante, aplicados na área das vacinas, devem diminuir os custos, bem como os riscos do pessoal envolvido na produção (Farah⁴, 1997). No entanto, segundo Silva¹⁴ (2000), as vacinas de DNA também apresentam riscos, devido não se saber se o segmento de DNA da bactéria é capaz de se incorporar ao cromossoma humano, interagindo-se com seus genes, o que poderia ter conseqüências imprevisíveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. CHILDERS, N. K. et al. Properties of practical oral liposome-*Streptococcus mutans* vaccines for effective induction of caries protection. **Oral Microbiol and Immunol**, v.11, p.172-180, 1996.
2. CHILDERS, N. K.; TONG, G.; MICHALEK, S. M. Nasal immunization of humans with dehydrated liposomes containing *Streptococcus mutans* antigen. **Oral Microbiol and Immunol**, v.12, p.329-335, 1997.
3. COSTA, S. M. R. **Análise da expressão de proteínas fusionadas ao fator de virulência yopH de *Yersinia enterocolitica*** Recife, 1999. Dissertação de Mestrado em Genética, Universidade Federal de Pernambuco, 1999.
4. FARAH, S. B. **DNA: segredos e mistérios**. São Paulo: Sarvier, 1997.
5. HAJISHENGALLIS, G.; MICHALEK, S. M. Current status of a mucosal vaccine against dental caries. **Oral Microbiol Immunol**, v.14, n.1, p.1-20, Feb.1999.
6. HATTA, H. et al. Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. **Caries Res**, v.31, n.4, p.268-274, 1997.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os avanços alcançados pelos conhecimentos gerados à luz da biologia molecular, tendo em vista sua aplicabilidade clínica, permitida pelas técnicas biomoleculares de engenharia genética, não têm o objetivo de quebrar os conceitos já estabelecidos sobre cárie dentária, nem almejam substituir as eficazes medidas adotadas no combate ao processo carioso; pelo contrário, vêm se somar a elas, fortalecendo o arsenal dos profissionais e pesquisadores que buscam a erradicação desta doença. As esperanças futuras são grandes, porque aliado ao avanço biotecnológico, caminha o desejo de melhoria da qualidade de vida para o ser humano.

Quando se buscam mecanismos preventivos para a cárie dentária, baseados nos processos passivos e/ou ativos de imunização, não se pode esquecer, que vai se estar intervindo em um ecossistema oral complexo, dentro do qual se inclui o *S. mutans*, o alvo de todos os estudos. O risco que se corre em intervir neste ecossistema, suprimindo as cepas de *mutans* cariogênicas ou minimizando-as numericamente, é facilitar a proliferação de cepas que mantinham-se ocultas, numa convivência harmônica junto ao *mutans*, as quais podem mostrar potencial tão cariogênico quanto ou mais virulento do que o do *mutans*; ou ainda, gerar problemas com conseqüências mais graves do que a cárie.

7. JAQUES, N. Molecular biological techniques and their use to study *streptococci* in dental caries. **Austr Dent J**, v.43, n.2, p.87-98, Apr.1998.
8. LOIMARANTA, V.; TENOVUO, J. Inhibition of glucosyltransferase activity of *S. mutans* and *S. sobrinus* by bovine colostrum anti-streptococcal immunoglobulins. **Caries Res**, v.30, n.4, p.285-286, Jul.1996.
9. LOIMARANTA, V.; TENOVUO, J.; KORHONEN, H. Combined inhibitory effect of bovine immune whey and peroxidase-generated hypothiocyanite against glucose uptake by *Streptococcus mutans*. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n.6, p.378-81, Dec. 1998.
10. MA, J. K. The caries vaccine: a growing prospect. **Dental Update**, v.26, n.9, p.374-380, Nov.1999.
11. MONTGOMERY, P. C.; RAFFERTY, D. E. Induction of secretory and serum antibody responses following oral administration of antigen with bioadhesive degradable starch microparticles. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n.6, p.139-49, Dec. 1998.
12. NEWBRUN, E. **Cariologia**. 2.ed. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 1988. 326p.
13. SENPUKU, T. et al. Identification of human antigenic epitopes in an alanine-rich repeating region using sera from hu-PBL-SCID

- mice immunized with a surface protein antigen of *S. mutans*. **Oral Microbiol Immunol**, v.11, n.5, p.343-9, Oct.1996.
14. SILVA, C. L. A vacina de DNA contra tuberculose. **J Ci**, p.7, 6 out. 2000.
15. SMITH, D. J. et al. Structural integrity of infant salivary immunoglobulin A (IgA) in IgA1 protease-rich environments. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n.2, p.89-96, Apr.1998.
16. TAUBMAN, M. A.; SMITSH, D. J. Vacinação: uma opção cariostática? In: BOWEN, H. W.; TABAK, L. A. **Cariologia para a década de 90**. São Paulo: Santos, 1995, p.309-317.
17. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2.ed. São Paulo: Ed Santos, 1995. 421p.