

Atividade antimicrobiana e antibiofilme da imunoglobulina Y: uma revisão de literatura
Antimicrobial and antibiofilm activity of Immunoglobulin Y: a literature review
Actividad antimicrobiana y antibiofilm de la inmunoglobulina Y: revisión de la literatura

Recebido: 15/12/2020 | Revisado: 24/12/2020 | Aceito: 24/12//2020 | Publicado: 28/12/2020

Fernanda Haboski da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-2290>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: haboskifermanda@gmail.com

Gabriela da Luz Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0293-1012>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: gmc.gabrielamachado@gmail.com

Patricia Kolling Marquezan

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5061-6039>

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

E-mail: patimarquezan@hotmail.com

Resumo

A imunoglobulina Y (IgY), termo utilizado para referir-se ao principal anticorpo sérico em galinhas e presente em grande quantidade na gema do ovo, tem se mostrado altamente relevante no meio científico nas últimas décadas. Estudos recentes têm avançado ao estudar a relação da imunoglobulina com atuações antimicrobiana e antibiofilme. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é analisar aspectos estruturais e funcionais da imunoglobulina Y bem como sua atividade antimicrobiana e antibiofilme. Para isso, foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed/MEDLINE, Cochrane e EMBASE, utilizando os descritores MeSH/DeCS “Dental caries”, “IgY” e seus derivados, associados entre si pelo operador booleano “AND” e adaptados para cada base de dados. Além disso, foi feita uma busca complementar no Google Acadêmico e nas referências dos artigos selecionados. Após uma leitura crítica de títulos e resumos, 10 estudos foram selecionados. A revisão inclui estudos publicados nos últimos 20 anos. A imunoglobulina Y além de apresentar um potencial uso em tratamentos odontológicos, mostrou-se eficiente quanto à redução de patógenos como a

Salmonella spp e *Pseudomonas aeruginosa*. Na cavidade oral, a imunoglobulina apresentou atuação seletiva para com a bactéria *Streptococcus mutans*. Entretanto, não há um consenso na literatura sobre a ação da IgY na candidíase, doenças nutricionais e metabólicas, neoplasias, amigdalite e o resfriado comum. Assim sendo, a imunoglobulina Y apresenta uma boa atuação antimicrobiana *in vitro e in vivo* em bactérias do biofilme, porém são necessários mais estudos a fim de elucidar sua ação contra outras bactérias e a aplicabilidade clínica da mesma.

Palavras-chave: Anti-infecciosos; Imunoglobulinas; Odontologia.

Abstract

Immunoglobulin Y (IgY), a term used to refer to the main serum antibody in chickens and present in large quantities in egg yolks, has been shown to be highly relevant in scientific circles in recent decades. Recent studies have advanced when studying the relationship of immunoglobulin with antimicrobial and antibiofilm actions. Therefore, the aim of the present study is to analyze structural and functional aspects of immunoglobulin Y as well as its antimicrobial and antibiofilm activity. For this, a search was performed in the PubMed / MEDLINE, Cochrane and EMBASE databases, using the MeSH / DeCS descriptors “Dental caries”, “IgY” and their derivatives, associated with each other by the Boolean operator “AND” and adapted for each data base. In addition, a complementary search was made on Google Scholar and on the references of selected articles. After a critical reading of titles and abstracts, 10 studies were selected. The review includes studies published in the past 20 years. In addition to having a potential use in dental treatments, immunoglobulin Y was shown to be efficient in reducing pathogens such as *Salmonella spp* and *Pseudomonas aeruginosa*. In the oral cavity, immunoglobulin showed a selective action of bacteria *Streptococcus mutans*. However, there is no consensus in the literature about the action of IgY in candidiasis, nutritional and metabolic diseases. Therefore, immunoglobulin Y has a good antimicrobial action *in vitro and in vivo* in biofilm bacteria, but further studies are needed in order to elucidate its action against other bacteria and its clinical applicability.

Keywords: Anti-infective agents; Immunoglobulin; Dentistry.

Resumen

La inmunoglobulina Y (IgY), término utilizado para referirse al principal anticuerpo sérico de los pollos y presente en grandes cantidades en la yema de huevo, ha demostrado ser de gran relevancia en los círculos científicos en las últimas décadas. Estudios recientes han avanzado

en el estudio de la relación de las inmunoglobulinas con las acciones antimicrobianas y antibiofilm. Por tanto, el objetivo del presente estudio es analizar los aspectos estructurales y funcionales de la inmunoglobulina Y, así como su actividad antimicrobiana y antibiofilm. Para ello, se realizó una búsqueda en las bases de datos PubMed / MEDLINE, Cochrane y EMBASE, utilizando los descriptores MeSH / DeCS “Caries dental”, “IgY” y sus derivados, asociados entre sí por el operador booleano “AND” y adaptados para cada uno base de datos. Además, se realizó una búsqueda complementaria en Google Scholar y en las referencias de los artículos seleccionados. Luego de una lectura crítica de títulos y resúmenes, se seleccionaron 10 estudios. La revisión incluye estudios publicados en los últimos 20 años. Además de tener un uso potencial en tratamientos dentales, la inmunoglobulina Y demostró ser eficiente en la reducción de patógenos como *Salmonella spp* y *Pseudomonas aeruginosa*. En la cavidad oral, la inmunoglobulina mostró una acción selectiva hacia la bacteria *Streptococcus mutans*. Sin embargo, no existe consenso en la literatura sobre la acción de IgY en candidiasis, enfermedades nutricionales y metabólicas, neoplasias, amigdalitis y resfriado común. Por lo tanto, la inmunoglobulina Y tiene una buena acción antimicrobiana *in vitro e in vivo* en bacterias biofilm, pero se necesitan más estudios para dilucidar su acción contra otras bacterias y su aplicabilidad clínica.

Palabras clave: Antiinfecciosos; Inmunoglobulinas; Odontología.

1. Introdução

A imunoglobulina Y, também conhecida como IgY ou, simplesmente, anticorpos da gema de ovo, foi nomeada pela primeira vez em 1969 na Flórida, Estados Unidos (Leslie & Clem 1969; Leiva et al. 2020). O termo, utilizado para se referir a anticorpos produzidos por aves, foi proposto pelos autores a fim de corrigir o equívoco até então cometido pelos pesquisadores que a chamavam de IgG, mudança justificada pela significativa diferença estrutural quando comparada à sua contraparte mamífera (Leiva et al. 2020).

Também produzida por répteis, anfíbios (Zhang et al. 2017; Constantin et al. 2020) e ornitorrincos (Zhang et al. 2017), a IgY é o principal anticorpo sérico em galinhas (*Gallus gallus domesticus*), sendo produzida através da sensibilização do hospedeiro por bactérias específicas. Os anticorpos específicos resultantes no soro são passados ao embrião como parte da imunidade materna, podendo, então, ser coletados em grande quantidade (100-150 mg por ovo) (Mine & Kovacs-Nolan 2002) sem que haja sofrimento por parte do animal

(Leiva et al. 2020), uma vez que não há coleta de sangue. Assim, a imunoglobulina Y tem se mostrado um forte concorrente a tratamentos que utilizem a imunoterapia passiva.

A doença cárie é altamente prevalente em todo o mundo (Bernabe et al., 2020), e se apresenta como uma doença multifatorial (Fejerskov et al., 2017) cuja progressão normalmente se dá de forma lenta. A etiologia da cárie dentária se constitui na associação entre a formação e manutenção de um biofilme microbiano patogênico sobre a superfície dos dentes aliados a fatores intrínsecos e extrínsecos (Hofling & Gonçalves, 2007). Tais processos sofrem interferência de diversos mecanismos dos sistemas imunes inato e adaptativo, podendo-se destacar elementos como as glicoproteínas, proteínas, peptídeos e as imunoglobulinas (Spolidorio & Duque et al., 2013), sendo as últimas diferenciadas em várias classes conforme suas características estruturais e funcionais, constituindo, então, a expressão da imunidade adaptativa.

Segundo Nguyen e colaboradores (2011), a estratégia da imunização passiva, ou seja, aquela que se dá através da introdução de anticorpos exógenos na cavidade oral, apresenta riscos muito menores quando comparados àqueles que podem vir a ocorrer em um tratamento que utilize de mecanismos de imunização ativa. Apesar de terem se mostrado efetivas em modelo de desenvolvimento de lesões cáries em animais, as vacinas anticárie até então desenvolvidas e estudadas ainda não estão disponíveis para uso humano dado o grande investimento e regulação necessários para desenvolver este tipo de medicamento (Bachtiar, Imanina, et al. 2019). Portanto, o objetivo do presente estudo é, com base na literatura, analisar aspectos estruturais e funcionais da imunoglobulina Y, relacionando-os à sua atividade antimicrobiana e antibiofilme visando o tratamento da doença cárie.

2. Metodologia

A revisão de literatura seguiu os preceitos do estudo descritivo de caráter qualitativo por meio de uma pesquisa bibliográfica em livros e artigos científicos. O método qualitativo foi utilizado pelos pesquisadores pois possibilita a interpretação e emissão de suas opiniões sobre o que é estudado (Pereira et al., 2018). Buscou-se sintetizar o conhecimento sobre a atividade antimicrobiana e antibiofilme da imunoglobulina Y (IgY) por meio de um levantamento em três bases de dados distintas, sendo incluídos artigos dos últimos 20 anos e que abordassem propriedades antibiofilme e antimicrobiana da IgY. Foram excluídas revisões de literatura e relatos de caso, além de estudos que não contemplassem o espaço temporal

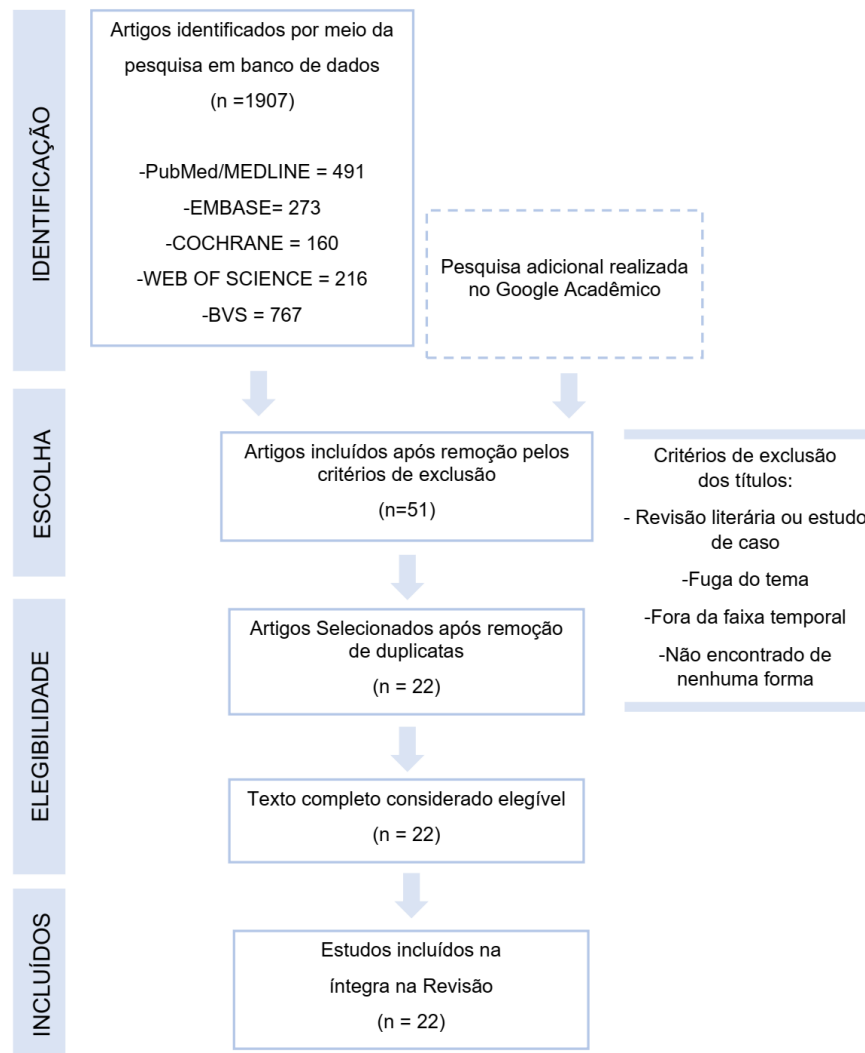
proposto nem a temática do presente trabalho. Todas as buscas foram realizadas no período de setembro de 2020.

Na base de dados PubMed/MEDLINE e Cochrane Library foram realizadas as primeiras pesquisas, sendo combinados os descritores cadastrados no MeSH “Dental caries”, “IgY” e seus derivados. Todas as palavras-chave foram unidas pelo operador booleano “AND”. No total foram encontrados 19 e 4 artigos, sendo selecionados apenas 11 da primeira base após leitura de títulos e resumo de acordo com os critérios estabelecidos.

Quanto à base EMBASE, foram buscadas as mesmas palavras-chaves sem restrição de idioma. Obteve-se, por fim, um total 28 resultados, sendo incluídos 20 dentre estes após a leitura de títulos e resumos. Por fim, a última busca complementar foi realizada no Google Acadêmico e referências dos artigos selecionados, encontrando outros artigos para complementação do estudo.

O fluxograma (Figura 1) apresentado, descreve o número de artigos encontrados, quantos excluídos pelos critérios de exclusão (fuga do tema, duplicata ou trabalhos com mais de 20 anos) até chegar aos artigos incluídos na revisão de literatura. A seleção segundo critérios foi fundamental para a melhor confiabilidade e poder de generalização das conclusões desse estudo.

Figura 1. Fluxograma do estudo.



Fonte: Autores (2020).

3. Resultados

Após uma leitura crítica de títulos e resumos, além da aplicação dos critérios de elegibilidade foram selecionados 10 artigos para a revisão de literatura. As características dos estudos selecionados são apresentadas no Quadro 1, que mostra um alto número de publicações nas Revistas Internacionais e dentre os títulos selecionados, quatro caracterizam-se como estudos em animais, quatro *in vivo* enquanto os dois restantes enquadram-se como estudos *in vitro*.

Quadro 1. Análise detalhada das publicações quanto ao autor, ano de publicação, título, revista publicada, tipo de estudo, metodologia e resultados.

Nº	Autor/Ano	Título	Tipo de estudo	Metodologia	Resultados
1	D. Carlander, H. Kollberg and A. Larsson (2002)	Retention of Specific Yolk IgY in the Human Oral Cavity	In vivo	Após escovar os dentes à noite e executar um enxágue bucal com dois ou três tubos de solução tampão e coletá-la no tubo "s1", os indivíduos foram instruídos a fazer um gargarejo com anticorpo. A amostra "s2" foi coletada no primeiro e segundo experimentos 8 horas após o bochecho, enquanto a amostra "s3" foi coletada no segundo experimento após 24 horas.	Um maior número de IgY específicos contra a <i>P. aeruginosa</i> pôde ser observado na amostra s2, quando comparada ao controle negativo, padrão que também foi observado na amostra s3, demonstrando que os anticorpos ainda estão presentes na cavidade oral após 24 horas.
2	C. Krüger et al (2004)	The Effects of Egg-Derived Antibodies to Glucosyltransferases on Dental Caries in Rats	Estudo em animais	Os animais foram infectados com <i>S. mutans</i> MT8148R e tratados com anticorpos provenientes de gema do ovo de galinha anti-CA-Gtf (IgY) ou pó de gema de ovo não imune.	Os animais que receberam IgY desenvolveram lesões de cárie menos extensas, demonstrando que os anticorpos anti-CA-Gtf não apenas preveniram o início de cáries, mas também reduziram o progresso da doença. A cárie de sulcos e fissuras também foi reduzida e de menor gravidade.
3	Sa V. Nguyen et al (2011)	Anti-cell-associated glucosyltransferase immunoglobulin Y suppression of salivary mutans streptococci in healthy young adults	In vivo	Após a produção da IgY anti-CA-gtf foi em forma de pastilhas. Foram realizados testes in vitro a fim de analisar a reatividade da IgY contra vários sorotipos de <i>S. mutans</i> bem como se a imunoglobulina poderia inibir a aderência bacteriana.	A IgY anti-CA-gtf reagiu com <i>S. mutans</i> , mas não com <i>S. cricetus</i> , <i>S. rattus</i> ou <i>S. downei</i> . Apesar de os valores médios de <i>S. mutans</i> antes do experimento não serem significativamente diferentes entre os três grupos, os escores diminuíram significativamente após o estudo no grupo de tratamento.
4	D.J.Smith; W.F. King; AND R. Godiska. (2011)	Passive Transfer of IgY Antibody to <i>Streptococcus mutans</i> Glucan Binding Protein B Can Confer Protection against Experimental Dental Caries	Estudo em animais	Uma dieta suplementada com a imunoglobulina Y pré-imune foi oferecida ao grupo controle durante 9 dias e 24 dias. Durante o estudo, amostras da microbiota estreptocócica dos ratos foram feitas, sendo posteriormente comparadas a fim de identificar a eficácia do tratamento.	A porcentagem média de <i>S. mutans</i> em relação à flora estreptocócica total mostrou-se maior no grupo controle. Os escores médios de cáries dos ratos alimentados com a GBP-IgY representaram um valor equivalente à metade dos observados dentro o grupo controle.
5	E.W.Bachiar; R.D.Soejoedono; B.M.Bachtiar; A.Henrietta N. Fahana; M.Yuniastuti (2015)	Effects of soybean milk, chitosan, and anti- <i>Streptococcus mutans</i> IgY in malnourished rats' dental biofilm and the IgY persistency in saliva	Estudo em animais	20 ratos experimentais foram desnutridos no período pré e pós-natal, e infectados com <i>S. mutans</i> . Após, foram divididos em 5 grupos. Após 15 dias de alimentação, foi avaliado o <i>S. mutans</i> no biofilme dentário, além do nível de persistência do IgY anti- <i>S. mutans</i> .	O grupo de ratos que recebeu leite de soja enriquecido com IgY anti- <i>S. mutans</i> e quitosana, apresentou a menor contagem de <i>S. mutans</i> no biofilme dentário sendo doze vezes menor que no grupo controle. IgY anti- <i>S. mutans</i> foi detectado na saliva dos grupos que receberam Igy com ou sem quitosana, após 15 dias de alimentação.
6	E.W. Bachtiar; B.M. Bachtiar; R.D. Soejoedono; I.W. Wibawan A. Afdhal (2016)	Biological and Immunogenicity Property of IgY Anti <i>S. mutans</i> ComD	In vitro	Após a produção da IgY através da imunização de galinhas com uma vacina contendo DNA do receptor ComD, o efeito do anticorpo na formação de biofilme por <i>S. mutans</i> isolados de indivíduos com ou sem cárie ativa foi avaliado.	IgY anti-ComD apresentou propriedades de imunorreatividade contra ambos os isolados de <i>S. mutans</i> de indivíduos com e sem cárie dentária, inibindo a formação de seu biofilme. Quanto ao perfil proteico, a expressão de algumas bandas de proteínas foi afetada após a exposição ao anticorpo.

7	E.W.Bachtiar; A.Afdhal; R.Meidyawati; R.D. Soejoedono; E.Poerwaningsih (2016)	Effect of topical anti- <i>Streptococcus mutans</i> IgY gel on quantity of <i>S. mutans</i> on rats' tooth surface	Estudos em animais	24 ratos tiveram a cavidade oral exposta ao <i>S. mutans</i> e a uma dieta cariogênica. Foram coletadas amostras de placa dos dentes anteriores e de saliva, a fim de quantificar a colônia de <i>S. mutans</i> e medir a imunorreatividade.	Redução mais significativa na contagem de <i>S. mutans</i> foi observada no grupo que apresentou o maior período de aplicação do gel. Esses resultados mostraram que a aplicação de gel nas superfícies dos dentes forneceu proteção ao biofilme, reduzindo a formação de colônias de <i>S. mutans</i> .
8	J. Handajani, D. H.Narissi, M. Azis and A. S. Rahmawati (2016)	Effects of immunoglobulin Y (IgY) serum against plaque bacteria	In vitro	Após a imunização das galinhas e coleta da IgY específica contra o <i>S. mutans</i> , foi realizado um teste de disco-difusão a fim de analisar a inibição da IgY contra o <i>S. mutans</i> , <i>S. alpha</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	A IgY específica contra a espécie somente apresentou atividade antibacteriana contra o <i>S. mutans</i> , não inibindo o <i>S. aureus</i> e <i>S. alpha</i> .
9	E.W.Bachtiar; D.Apritantia; A.T.Sarwono; B.M.Bachtiar; R.D.Soejoedono; I.W.T.Wibawan (2019)	The effect of mouthwash combination of immunoglobulin-Y anti-ComD <i>Streptococcus mutans</i> and chitosan on the formation of <i>Streptococcus mutans</i> biofilm	In vivo	Indivíduos, divididos em 2 grupos, o enxaguante contendo IgY anti-ComD foi administrado a pessoas com e sem cárie ativa, respectivamente - foram instruídos a fazer o bochecho com o enxaguante duas vezes ao dia, utilizando, durante o período de seis dias. Após a coleta de amostras de superfície, a formação de biofilme foi avaliada	Ao analisar os resultados da amostra dos indivíduos componentes do Grupo 4, concluiu-se que, após o tratamento, houve um aumento na formação de biofilme. Por outro lado, nos grupos 1 e 2, aos quais foi administrado o enxaguante contendo somente a IgY anti-ComD, apresentaram uma diminuição do biofilme, no entanto, não possuindo relevância estatística.
10	E.W. Bachtiar; A.N.Imanina; R.D Soejoedono; I.W.T. Wibawan; (2019)	Effect of mouthrinse containing immunoglobulin-y anti-comd <i>Streptococcus mutans</i> + chitosan on quantity of salivar <i>S. mutans</i> in caries and caries-free subjects	In vivo	24 alunos com e sem cárie foram divididos em dois grupos que receberam enxaguante bucal contendo IgY anti-ComD). Foram instruídos a enxaguar 2 vezes ao dia por 30 segundos, durante 6 dias. Após o período de tratamento, amostras de saliva foram coletadas novamente. Colônias bacterianas de <i>S. mutans</i> foram calculados manualmente.	A diminuição nas colônias de <i>S. mutans</i> ocorreu em ambos os grupos após o tratamento. Os resultados não mostraram nenhuma diferença significativa na diminuição do número de <i>S. mutans</i> em indivíduos que usaram enxaguatório bucal com e sem quitosana. Este estudo demonstrou que o enxaguatório bucal contendo IgY anti-ComD <i>S. mutans</i> + quitosana tem o potencial de diminuir a quantidade de <i>S. mutans</i> salivar, embora não significativamente.

Fonte: Autores (2020).

4. Discussão

A cavidade oral é colonizada por uma flora diversificada e complexa, composta por inúmeras espécies dentre as quais, aproximadamente 350 já foram identificadas (Juni et al. 2016). Os microrganismos constituintes da flora oral vivem em homeostase até que ocorra um desequilíbrio desta microbiota que, por sua vez, resulta no desenvolvimento de doenças como cárie, doença periodontal, candidíase oral entre outras (Marsh & Martin, 2005; Fejerskov, 2017). O sistema imune oral é insuficiente frente a disbiose microbiana bucal, pois fora desenvolvido para a manutenção da homeostasia entre membros comensais, sem a eliminação destes (Hofling & Gonçalves, 2007). Sendo assim, diversos tratamentos que auxiliem ou se relacionem com o sistema imunológico vêm sendo desenvolvidos para atuar no combate ou no controle do biofilme e outras bactérias patogênicas a fim de reduzir a prevalência de condições orais prejudiciais na população (Mercenes et al., 2013).

Segundo Rahman e colaboradores (2013), com o aumento da prevalência de bactérias resistentes a antibióticos, é importante que, a fim de tratar de doenças orais, sejam desenvolvidos novos fármacos como uma alternativa ao uso de antibióticos. Preliminarmente, os esforços dos pesquisadores que objetivavam a prevenção da cárie dentária, fez-se com base na imunização ativa, ou seja, através da inoculação de uma célula de *Streptococcus mutans* modificada. No entanto, além de exigir grande investimento, a técnica tem como consequência uma reação cruzada com o tecido do músculo cardíaco fazendo com que, portanto, o interesse de tais profissionais fosse realocado no campo da imunização passiva (Endang Winiati Bachtiar, Imanina, et al. 2019), ainda que a ação desta tenha curta duração no organismo (Rahman et al. 2013).

A imunoterapia oral, utilizando de anticorpos específicos como a IgG humana, anticorpos monoclonais e policlonais, colostro bovino e anticorpos da gema do ovo, tem sido buscada e testada efetivamente ao longo das últimas décadas (Carlander et al. 2000). No entanto, apesar da ampla gama de possibilidades a serem exploradas, recursos como os anticorpos policlonais mostraram-se inviáveis uma vez que estes não podem ser obtidos em grande escala por requerer coleta de sangue. Em contrapartida, anticorpos monoclonais podem ser produzidos em larga escala através de hibridomas, mas possuem alto custo, inviabilizando seu uso em tratamentos (Mine & Kovacs-Nolan 2002). Assim, para um possível recurso terapêutico imunológico, é necessário encontrar um método de produção que não somente possua um bom custo-benefício e permita que a imunoglobulina seja produzida em grande quantidade, mas que tal elemento, também, não leve a reações-cruzadas com o

organismo humano, podendo-se citar, portanto, como excepcional candidata, a imunoglobulina Y.

A imunoglobulina Y, a principal dentre as três diferentes classes de imunoglobulinas em pássaros – IgA, IgM e IgY (Mine & Kovacs-Nolan 2002), segundo Müller e colaboradores (2015), é um elemento que sustenta a imunidade passiva do filhote dado que, através da transferência dos anticorpos presentes no serum materno à corrente sanguínea embrionária, os pintos, ainda que imuno-incompetentes, podem resistir a várias doenças. Tal transferência é mediada por um receptor e se dá no decurso dos dias finais do desenvolvimento embrionário, de forma que a presença das IgY já pode ser observada na gema do ovo entre 4 e 6 dias após a inoculação do patógeno na galinha (Müller et al. 2015).

A IgY tem maior peso molecular quando comparado ao da IgG humana (Müller et al. 2015). Segundo Mine e Kovacs-Nolan (2002), o maior obstáculo quanto ao isolamento da IgY é separá-la das lipoproteínas que se encontram em emulsão na gema do ovo a fim de, então, purificá-la. Foram desenvolvidos, então, diversos métodos de purificação que se utilizam da estratégia da separação das lipoproteínas e da imunoglobulina alvo; podendo-se destacar a ultracentrifugação, a delipidação através de solventes orgânicos, bem como precipitação por polietilenoglicol, dextran de sulfato de sódio (DSS) e alginato de sódio e a ultrafiltração (Mine & Kovacs-Nolan 2002).

A diferença existente entre a IgY e IgG de mamíferos não se limita a pesos moleculares distintos, mas abarca diversos fatores que têm de ser considerados a fim de proporcionar condições ideais para um tratamento que se utilize da imunoglobulina do ovo. Apesar da estabilidade de ambas as moléculas se mostrarem semelhantes quando em um ambiente alcalino, quando estas são submetidas a um pH inferior, a atividade da IgY diminuiu consideravelmente a um pH de 3.5 e a perdeu completamente quando colocada em um meio de pH equivalente a 3.0, mostrando-se, portanto, mais propensa à desnaturação ácida (Mine & Kovacs-Nolan 2002). Quanto à sua atividade em condições alcalinas, esta manteve-se inalterada até que se atingisse um pH equivalente a 12 ou superior, tendo seu funcionamento, então, reduzido (Bachtiar et al. 2015). A sensibilidade à temperatura também é um importante elemento a ser considerado, uma vez que, as imunoterapias até então proposta, que possuem a IgY como princípio ativo são de uso tópico, fazendo, portanto, com que a molécula seja sujeita à temperatura corporal humana; e, deva suportar a energia necessária para que passe pelos processos de produção do fármaco (Mine & Kovacs-Nolan 2002)(Endang W. Bachtiar et al. 2015).

A imunoglobulina Y, graças às diferenças evolucionárias, também apresenta maior reatividade aos epítomos de um antígeno de um mamífero, levando, portanto, a um aumento de sinalização. Apesar de se fazer necessária a consideração quanto a uma possível alergia antes de se dar início ao uso de algum fármaco que tenha a IgY como princípio ativo, o risco associado a uma possível reação alérgica é consideravelmente menor quando a via de administração é a oral (Carlander et al. 2000).

Em vista de tais propriedades, a imunoglobulina Y fora estudada para diversos fins terapêuticos. IgY anti-*Pseudomonas aeruginosa* mostrou-se efetiva na redução da colonização do patógeno no ambiente pulmonar de pacientes com fibrose cística (Carlander et al. 2000; Kollberg et al. 2003; Thomsen et al. 2016); tal qual quando atuante como adjunto profilático ao antibiótico (Thomsen et al. 2016), uma vez que esse patógeno se encontra relacionado à resistência a antibióticos (Constantin et al. 2020).

A imunoglobulina também teve sua ação estudada quanto ao tratamento de patologias gastrointestinais, como gastrite (Rahman et al. 2013; Leiva et al. 2020), gastroenterite em bebês (Rahman et al. 2013) e doenças infecciosas entéricas e disbiose no ambiente gástrico (Leiva et al. 2020); apresentando também eficiência na redução de patógenos gastrointestinais tal como a *Salmonella typhimurium* e a *Salmonella enteritidis* (Constantin et al. 2020).

Bachtiar e colaboradores, em 2016, através de um estudo *in vitro*, estudaram a eficácia da IgY ao desservir o sistema de comunicação celular (*quorum sensing*), tendo, portanto, como finalidade reduzir a interação microbiana, fator essencial para a adesão, formação e manutenção do biofilme cariogênico. Assim, foi produzido IgY anti-ComD, moléculas pertencentes ao sistema de comunicação da bactéria *S. mutans*, um dos principais patógenos relacionados à doença cárie. Os resultados obtidos identificaram que a IgY reduziu o potencial do *S. mutans* em formar biofilme e minimizou a interação com outras bactérias comumente encontradas na superfície dentária, tal qual a *Actinomyces viscosus* e a *Lactobacillus spp.* (Bachtiar et al. 2016).

Outro estudo *in vitro* do mesmo ano, estudou a atuação da IgY anti-*S. mutans* (Juni et al. 2016), onde, após a obtenção do respectivo anticorpo, foi analisada a eficácia do IgY em inibir a colonização de *S. mutans*, *S. alpha* e *Staphylococcus aureus*. Ao final do estudo, os autores concluíram que houve uma efeito inibidor sobre *S. mutans*, sem haver, no entanto, reatividade com as demais bactérias, podendo-se explicar essa ocorrência pela capacidade do IgY específico em se ligar à bactéria patogênica e mudar a superfície desta, resultando em

enfraquecimento da capacidade de aderência, evitando, portanto, a replicação bacteriana (Bachtiar et al. 2016; Juni et al. 2016).

A imunoglobulina Y também apresenta como mecanismo de ação, a supressão das glicosiltransferases, enzimas que, através de vários sorotipos, sintetizam os glucanos essenciais à formação e manutenção do biofilme cariogênico. Essas proteínas enzimáticas estão relacionadas aos principais microrganismos relacionados à cárie dentária, com notoriedade ao *Streptococcus mutans* (Smith et al., 2001).

Em 2004, Krüger e colaboradores analisaram a atividade da imunoglobulina Y anti-CA-gtb (inibidora da glicosiltransferase), através de um estudo em animais, em que ratos foram infectados por *S. mutans* e tratados com anticorpos IgY anti-CA-gtb ou pó de gema de ovo não imune. Os resultados demonstraram que, pela exposição à respectiva IgY, tanto em solução como também na superfície de hidroxiapatita, houve redução nas atividades das glicosiltransferases do tipo B (GtbB) e C (GtbC), as quais sintetizam glucanos insolúveis em água a partir da sacarose, como também a GtbC sintetiza glucanos solúveis. Apesar das diferenças estatísticas não significativas, observou-se que a IgY anti-CA-gtb não somente preveniu apenas o surgimento da cárie, mas também reduziu o progresso da doença, uma vez que foi identificada uma redução na extensão e gravidade de lesões (Krüger et al. 2004).

Em 2001, Smith e colaboradores apresentaram um estudo realizado com animais, que, por sua vez, tiveram a dieta suplementada com IgY anti-GBP-B (proteínas de ligação ao glucano) a fim de analisar a possível redução na colonização de *S. mutans* e, conseqüentemente, redução da cárie dentária. No experimento 1, os animais foram suplementados durante 9 dias, e no experimento 2, a suplementação durou 24 dias. Apesar de a maioria dos ratos estarem fortemente infectados por *S. mutans* ao final do experimento (dia 78), a prevalência de lesões foi metade do que apresentou o grupo controle. Pelo menos seis dessas proteínas GBP, foram identificadas na bactéria *S. mutans*, no entanto, neste estudo, foi analisada apenas a GBP-B, demonstrando que a IgY anti-GBP-B parece ter o potencial de modular a patogenicidade do *S. Mutans* (Smith, et al. 2001).

Em outro estudo com animais, Bachtiar e colaboradores (2015), 20 ratos foram infectados com *S. mutans* e divididos em 5 grupos, (grupo 1- controle, 2- alimentado com leite de soja, 3- leite de soja enriquecido com quitosana, 4- IgY anti *S. mutans* , 5- IgY anti *S. mutans* e leite de soja com quitosana). Na análise do biofilme, realizada após 15 dias de alimentação, percebeu-se que houve maior número de achados bacterianos no grupo alimentado apenas por leite de soja. O grupo de ratos que recebeu leite de soja enriquecido

com IgY anti-*S. mutans* e quitosana, apresentou a menor contagem de *S. mutans* no biofilme dental (Bachtiar et al. 2015).

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Bachtiar e colaboradores, em 2016, realizaram um estudo, onde 24 ratos tiveram a cavidade oral exposta ao *S. mutans* e a uma dieta cariogênica, sendo estes também alocados em quatro grupos. As contagens de colônias de *S. mutans* diminuíram nos ratos dos grupos que receberam gel contendo IgY, com redução mais significativa no grupo que apresentou o maior período de aplicação do gel. Já nos ratos de outro grupo, o anticorpo apresentou, após uma semana de uso, efeito curativo das lesões presentes, uma vez que este grupo começou a receber o gel apenas quando manchas brancas começaram a aparecer. Quando analisadas as amostras salivares, observou-se que o IgY não foi detectado após o experimento, no entanto, percebeu-se também maiores volumes de saliva nos grupos com Igy, podendo-se inferir, portanto, que o gel contendo IgY tenha aumentado a produção de saliva, resultando em uma maior defesa química e imunológica, o que reduziu o risco da ocorrência da cárie. Este estudo também mostrou que menores concentrações de IgY, necessárias para reduzir as colônias de *S. mutans*, são empregues quando géis são usados, apresentando imunorreatividade tão estável quando a IgY pura (Bachtiar et al. 2016).

Além disso, estudos *in vivo* também foram desenvolvidos, sendo Carlander e colaboradores (2002), que analisaram a especificidade da imunoglobulina Y, utilizando como aparato um enxaguante bucal contendo IgY anti-*Pseudomonas. aeruginosa*. Primeiramente, os participantes foram instruídos que após escovar os dentes, realizassem um enxague bucal com solução saliva tamponada com fosfato e, posteriormente, coletar este bochecho no tubo denominado “s1”. Depois, foram instruídos a fazer um bochecho com solução contendo IgY anti-*P. aeruginosa*, por 1 ou 2 minutos, e após, a solução era então engolida. A amostra “s2”, foi obtida após 8 horas do bochecho com IgY, e a amostra “s3”, após 24 horas. Após análise dos achados coletados, percebeu-se que maiores concentrações do anticorpo, estavam nas amostras “s2” e “s3”, demonstrando a presença deste anticorpo na cavidade oral, mesmo sem repetir o uso do enxaguante contendo IgY (Carlander et al., 2002).

Nguyen e colaboradores, em 2011, realizaram um estudo *in vivo* através da produção de duas pastilhas orais, uma contendo IgY anti-CA-gtf (células associadas às glicosiltransferases) e a outra contendo placebo, a fim de analisar a ação da imunoglobulina e a possível capacidade desta de inibir a adesão bacteriana. Como resultado, identificou-se que as pastilhas contendo IgY inibiram a adesão de *S. mutans* em porcentagens muito maiores que no grupo placebo, todavia, a imunoglobulina não interagiu com outras espécies do grupo *Mutans*, como *S. cricetus*, *S. rattus* e *S. Downei* (Nguyen et al. 2011).

Os estudos mais recentes (2019) *in vivo* avaliaram o potencial da IgY anti-ComD, utilizando-se, entretanto, de enxaguantes bucais contendo quitosana (Bachtiar et al. 2019), um derivado da quitina com propriedades de conservante natural da imunoglobulina Y. Os resultados obtidos identificaram a redução do biofilme oral nos indivíduos que utilizaram o enxaguante contendo IgY anti-ComD sem quitosana, não apresentando diferenças estatisticamente significantes entre indivíduos com ou sem cárie ativa. Mediante os testes realizados, os autores puderam constatar o potencial do enxaguante quanto a sua atuação referente ao aumento do pH oral, prevenindo assim a desmineralização da superfície dentária (Bachtiar, et al. 2019). Levando em consideração tais resultados obtidos com as pesquisas, uma vacina contendo a região de codificação da molécula ComD de *S. mutans* foi desenvolvida por Endang Winiati Bachtiar (anúncio de patente número 0492779.7) (Bachtiar, et al. 2019).

Em suma, os estudos *in vitro* demonstraram uma ótima atividade da IgY contra a bactéria *S. mutans* através da desestruturação do *quorum sensing* e inibição da adesão da bactéria (Bachtiar et al. 2016; Juni et al. 2016). Estudos com animais demonstraram a atuação da Imunoglobulina Y quanto as glicosiltransferases (Smith, 2001; Krüger et al. 2004) e, ao pesquisarem influência da IgY em dietas controladas, percebeu-se a redução de *S. mutans* no biofilme dental e efeito curativo do gel de IgY, reduzindo lesões cáries instaladas (Bachtiar et al. 2015; Bachtiar et al. 2016). Nos estudos *in vivo* (Carlander, 2002; Nguyen et al. 2011, Bachtiar, et al. 2019), houve uma progressão no pensamento e evolução da ação da imunoglobulina, culminando na vacina criada por Endang Winiati Bachtiar (anúncio de patente número 0492779.7) (Bachtiar, et al. 2019).

5. Conclusão

Assim sendo, a IgY apresenta uma boa atuação antimicrobiana seletiva à bactéria *Streptococcus mutans*, atividade que, por sua vez, culmina na interferência do biofilme como um todo. Ademais, vários estudos recentes sugerem que a IgY tem ação no diagnóstico do vírus *influenza* (Constantin et al. 2020); candidíase (Rahman et al. 2013), doenças nutricionais e metabólicas, neoplasias, doenças crônicas (Leiva et al. 2020), amigdalite, resfriado comum (Carlander et al. 2000) e tratamento de patologias gastrointestinais (Rahman et al. 2013; Leiva et al. 2020); sendo necessárias, portanto, mais pesquisas que consigam avaliar a real atuação nessas doenças bem como em outras bactérias patogênicas da cavidade bucal, visando que, no futuro, a IgY possa ser usada para fins médicos e odontológicos.

Referências

- Bachtiar, E. W., Afdhal, A., Meidyawati, R., Soejoedono, R. D., Poerwaningsih, E. (2016). Effect of Topical Anti-Streptococcus Mutans IgY Gel on Quantity of S. Mutans on Rats' Tooth Surface. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 63 (2), 159–69. <https://doi.org/10.1556/030.63.2016.2.2>.
- Bachtiar, E. W., Soejoedono, R. D., Bachtiar, B. M., Henrietta, A., Farhana, N., Yuniastuti, M. (2015). Effects of Soybean Milk, Chitosan, and Anti-*Streptococcus Mutans* IgY in Malnourished Rats' Dental Biofilm and the IgY Persistency in Saliva. *Interventional Medicine and Applied Science* 7 (3): 118–23. <http://doi.org/10.1556/1646.7.2015.3.6>.
- Bachtiar, E. W., Apritiantia, D., Sarwono, A. T., Bachtiar, B. M., Soejoedono, R. D., Wibawan W. T. (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 (4): 110–13.
- Bachtiar, E. W., Imanina, A. N., Soejoedono, R. D., Wibawan, W. T. (2019). Effect of Mouthrinse Containing Immunoglobulin-y Anti-Comd *Streptococcus Mutans* + Chitosan on Quantity of Salivary *Streptococcus Mutans* in Caries and Caries-Free Subjects. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 11 (4): 120–22.
- Bernabe, B. (2020). Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *Journal of Dental Research*. 99(4) 258 362–373.
- Carlander, D., Kollberg, H., Larsson, A. (2002). Retention of Specific Yolk IgY in the Human Oral Cavity. *BioDrugs* 16 (6): 433–37.
- Carlander, D., Kollberg, H., Wejåker, P. E., Larsson, A. (2000). Peroral Immunotherapy with Yolk Antibodies for the Prevention and Treatment of Enteric Infections. *Immunologic Research* 21 (1): 1–6.
- Constantin, C., Neagu, M., Diana Supeanu, T., Chiurciu, V. A., Spandidos, D. (2020).

IgY - Turning the Page toward Passive Immunization in COVID-19 Infection (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine* 20 (1): 151–58.

Fejerskov., et al. Carie Dentária. A doença e seu tratamento clínico. 2011. (2a ed.), Rio de Janeiro, Elsevier

Hofling, J. F., Gonçalves, R. Imunologia para Odontologia. 1996. Porto Alegre: Artmed

Juni, H., Dhinintya, H. N., Mufidana, A., Aurita, S. R. (2016). Effects of Immunoglobulin Y (IgY) Serum against Plaque Bacteria. *African Journal of Microbiology Research* 10 (39): 1668–74.

Kollberg, H., Carlander, D., Olesen, H., Wejåker, P. E., Johannesson, M., Larsson, A. (2003). Oral Administration of Specific Yolk Antibodies (IgY) May Prevent *Pseudomonas Aeruginosa* Infections in Patients with Cystic Fibrosis: A Phase I Feasibility Study. *Pediatric Pulmonology* 35 (6): 433–40.

Krüger, C., Pearson, S. K., Kodama, Y., Vacca Smith, A., Bowen, W. H., Hammarström, L. (2004). The Effects of Egg-Derived Antibodies Glucosyltransferases on Dental Caries in Rats. *Caries Research* 38 (1): 9–14.

Leiva, C. L., Gallardo, M. J., Casanova, N., Terzolo, H., Chacana, P. (2020). IgY-Technology (Egg Yolk Antibodies) in Human Medicine: A Review of Patents and Clinical Trials. *International Immunopharmacology*. Elsevier B.V. 81:106269.

Leslie, G. A., Clem, L. W. (1969). Phylogen of Immunoglobulin Structure and Function. 3. Immunoglobulins of the Chicken. *The Journal of Experimental Medicine* 130 (6): 1337–52.

Marcenes, W., Kassebaum, N. J., Bernabe, E. (2013). Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *Journal of Dental Research*. 92(7), 592-597

Marsh, P., Martin, M. V.(2005). Microbiologia oral. São Paulo: Editora Santos.

Mine, Y., Kovacs-Nolan J. (2002). Chicken Egg Yolk Antibodies as Therapeutics in Enteric

Infectious Disease: A Review. *Journal of Medicinal Food*. Mary Ann Liebert Inc. 5(3):159-69.

Müller, S, Schubert, A., Zajac, J., Dyck, T., Oelkrug, C. (2015). IgY Antibodies in Human Nutrition for Disease Prevention. *Nutrition Journal*. BioMed Central Ltd. 20;14:109.

Nguyen, S. V., Icatlo, F. C. Jr., Nakano, T., Isogai, E., Hirose, K., Mizugai, H., Kobayashi-Sakamoto, M., Isogai, H., Chiba, I. (2011). Anti-Cell-Associated Glucosyltransferase Immunoglobulin Y Suppression of Salivary Mutans Streptococci in Healthy Young Adults. *Journal of the American Dental Association* 142 (8): 943–49.

Pereira, A. S. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM.

Rahman, S, Van Nguyen, S., Icatlo, F. C. Jr., Umeda, K., Kodama, Y. (2013). Oral Passive IgY-Based Immunotherapeutics: A Novel Solution for Prevention and Treatment of Alimentary Tract Diseases. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 9(5):1039-48

Smith, D. J., King, W. F., Godiska, R. (2001). Passive Transfer of Immunoglobulin Y Antibody to Streptococcus Mutans Glucan Binding Protein B Can Confer Protection against Experimental Dental Caries. *Infection and Immunity* 69 (5): 3135–42.

Spolidorio & Duque. Microbiologia e Imunologia Geral e Odontológica. 2017.Vol.2, Série Abeno

Thomsen, K., Christophersen, L., Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Moser, C., Høiby, N. (2016). Anti-Pseudomonas Aeruginosa IgY Antibodies Augment Bacterial Clearance in a Murine Pneumonia Model. *Journal of Cystic Fibrosis* 15 (2): 171–78.

Yokoyama, K., Sugano, N., Shimada, T., Shofiqur, R. A., Ibrahim, el-S. M., Isoda, R., Umeda, K., As, N. V., Kodama, Y., Ito, K.. (2007). Effects of Egg Yolk Antibody against Porphyromonas Gingivalis Gingipains in Periodontitis Patients. *Journal of Oral Science* 49 (3): 201–6.

Zhang, X., Rosaleen, A. Calvert, B. J. S., Katy, A. D. (2017). IgY: A Key Isotype in Antibody Evolution. *Biological Reviews* 92 (4): 2144–56.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Fernanda Haboski da Silva – 35%

Gabriela da Luz Machado – 35%

Patricia Kolling Marquezan – 30%