

Editora Dra. Gislaine Fongaro

BACTERIÓFAGOS

INTRODUÇÃO ÀS SUAS CARACTERÍSTICAS,
CLASSIFICAÇÃO E APLICAÇÕES

APLICAÇÕES CLÍNICAS E ODONTOLÓGICAS

TENDÊNCIAS ALIMENTARES E AMBIENTAIS

DESAFIOS DA RESISTÊNCIA BACTERIANA
RELACIONADOS AOS BACTERIÓFAGOS

©Dos Organizadores, 2024

Editoração: GS4 Editora

Capa: MsC. Yasmin Ferreira Souza Hoffmann Jempierre (Biomédica - contato: yasminfshoffmann@gmail.com)

Revisão: MsC. Beatriz Pereira Savi (Biologia - contato: beatrizsavi2@gmail.com) e MsC. Isabella Dai Prá

(Farmacêutica - contato: isabelladaiprazuchi13@gmail.com)

Open access publication by GS4 Editora.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais

Esta obra é uma produção independente. A exatidão das informações, opiniões e conceitos emitidos, bem como da procedência das tabelas, quadros, mapas e fotografias é de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

Nota: Muito zelo e técnica foram empregados neste livro. No entanto, podem ocorrer erros de digitação ou dúvida conceitual. Em qualquer das hipóteses, solicitamos a comunicação ao nosso Serviço de Atendimento ao Cliente, para podermos esclarecer ou encaminhar a questão.

Serviço de Atendimento ao Cliente

(49) 98847-8760

editorial@gs4editora.com

ISBN: 978-65-998418-7-3

DOI: 10.56041/9786599841873

Todos os direitos reservados.

DADOS INTERNACIONAIS PARA CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

B131 Bacteriófagos - Volume 1 / Organizador/Editor:
Dra. Gislaine Fongaro. -- Concórdia, SC : GS4
Editora, 2024.
1 livro digital (2836kb) : il. color. ; PDF.

Requisitos do sistema: Adobe Acrobat Reader
Acesso: World Wide Web
ISBN 978-65-998418-7-3

1. Bacteriófagos. I. Fongaro, Gislane.

CDD 574
CDU 576.89

Elaborada por: Amanda Moura de Sousa CRB-7/5992

Índices para Catálogo Sistemático:

1. Bacteriófagos 574
2. Bacteriófagos 576.89

1. CARACTERÍSTICAS, CLASSIFICAÇÃO E APLICAÇÕES DE BACTERIÓFAGOS

DOI: 10.56041/9786599841873-1

ROGOVSKI, Paula

Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia,
CCB/UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0003-1541-3636>

PAVI, Catielen Paula

Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia,
CCB/UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0003-2506-3772>

BATISTA, Jéssica Sueli dos Santos

Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia,
CCB/UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0009-0008-5826-6211>

FONGARO, Gislaine

Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia,
CCB/UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0001-5596-3320>

Resumo

Os bacteriófagos, vírus que infectam exclusivamente bactérias, foram descobertos de forma independente por Frederick Twort (1915) e Félix d’Hérelle (1917). Esses vírus, parasitas intracelulares obrigatórios, possuem uma estrutura com capsídeo proteico que abriga material genético, podendo ser de DNA ou RNA. Sua abundância nos ecossistemas é notável, sendo responsáveis pelo controle populacional bacteriano, o que revela sua importância ecológica. Os fagos apresentam diferentes ciclos de replicação, com destaque para o ciclo lítico, devido à sua capacidade de destruir bactérias. A interação entre o fago e o hospedeiro ocorre por meio de proteínas específicas na superfície bacteriana, o que determina a especificidade de cada fago. A biotecnologia tem explorado cada vez mais os fagos, especialmente na terapia fágica, como uma alternativa aos antibióticos, oferecendo uma abordagem mais seletiva e com menos impacto sobre o microbioma do hospedeiro. A especificidade dos fagos permite agir contra patógenos sem afetar as bactérias benéficas. Além disso, técnicas como o encapsulamento de fagos têm sido utilizadas para melhorar sua estabilidade e eficácia, permitindo liberação controlada. Na agricultura, os fagos se apresentam como uma alternativa sustentável aos bactericidas convencionais, permitindo o controle de fitopatógenos sem induzir resistência bacteriana. Fagos também são usados no controle biológico de insetos, como pulgões e moscas. Na indústria alimentícia, os fagos têm sido empregados para combater patógenos como *Salmonella* e *Escherichia coli*, além de prolongar a vida útil dos alimentos, tornando-se uma ferramenta versátil e inovadora em diversas indústrias.

Palavras-chave: biocontrole bacteriano; terapia fágica; ferramenta biotecnológica.

1.1 Descoberta e histórico

Os bacteriófagos, popularmente conhecidos como fagos, são vírus capazes de infectar bactérias. Descritos como as entidades biológicas mais abundantes do globo, estima-se que existam cerca de 10^{31} (um nonilhão) de suas partículas espalhadas por todos os ecossistemas terrestres (Hendrix *et al.*, 1999; Mushegian, 2020). Sua descoberta aconteceu de modo independente, pelos cientistas Frederick Twort em 1915 na Inglaterra, e Félix d'Hérelle em 1917 na França (Clokier *et al.*, 2011). Após as promissoras pesquisas iniciais, os bacteriófagos caíram em desuso devido ao advento dos antibióticos. Suas pesquisas foram continuadas na Rússia, entretanto ao serem traduzidos para a língua inglesa, foram evidenciadas discrepâncias nos padrões de rigor científico exigidos no ocidente (Chanishvili *et al.*, 2012).

Assim como todo vírus, os fagos são parasitas intracelulares obrigatórios, dependendo do metabolismo de seus hospedeiros para realizar sua replicação. Apresentam estrutura em forma de capsídeo, composto por proteínas (60% de sua composição), podendo ser envelopados ou não, abrigando o material genético (40% de sua composição) (Paez-Espino *et al.*, 2016; Williamson *et al.*, 2017). O genoma pode se apresentar mais comumente na forma de DNA dupla fita, podendo ainda ser de DNA simples fita, RNA simples fita ou RNA dupla fita.

A abundância numérica dos fagos difere conforme o ambiente, variando entre 10^5 – 10^7 partículas por mililitro de água marinha, a 10^3 – 10^9 partículas por grama de solo, ou ainda 10^8 – 10^{10} partículas por grama de fezes, compondo a microbiota de mamíferos (Dion *et al.*, 2020; Graham *et al.*, 2019; Hoyles *et al.*, 2014). Os fagos são capazes de habitar os mais diversos ambientes, como por exemplo regiões polares, desertos e ambientes hipersalinos, tendo sido encontrados também em múmias (Santiago-Rodríguez *et al.*, 2016; Atanasova *et al.* 2012; Fancello *et al.*, 2013). Estima-se que nestes diferentes espaços, os bacteriófagos sejam responsáveis por pelo menos 20% da lise bacteriana, a depender das características do ambiente (Suttle, 2007).

Outra característica marcante deste grupo viral é a sua variação de hospedeiros. Enquanto alguns bacteriófagos apresentam características generalistas, outras espécies são específicas para algumas cepas bacterianas (de Jonge *et al.*, 2019). Dentre os fatores que determinam a especificidade destas infecções, o mecanismo de interação de adsorção fago-hospedeiro, mediado pela proteína de ligação ao receptor viral, é o mais elucidado (Elois *et al.*, 2023). Estas proteínas são conhecidas como proteínas da fibra da cauda ou espículas da cauda, e são capazes de se ligar com lipopolissacarídeos ou proteínas na superfície de seus hospedeiros bacterianos (Dowah *et al.*, 2018). Além disso, os bacteriófagos podem alterar seu espectro de infecção pela modulação das suas proteínas de ligação ao receptor, com o uso de enzimas de transcriptase reversa (Liu *et al.*, 2002).

Diversas são as possíveis aplicações destes parasitas bacterianos em decorrência de algumas de suas características, como a presença de enzimas capazes de lisar a parede celular de seus hospedeiros, bem como a capacidade de coevoluir com estes (Schmelcher *et al.*, 2012). Neste sentido, os bacteriófagos podem apresentar diferentes ciclos de replicação, sendo os ciclos lítico, lisogênico e crônico os mais conhecidos. No ciclo lisogênico ou temperado, o material genético dos bacteriófagos recebe o nome de profago, e é replicado junto com o genoma de seu hospedeiro, podendo estar integrado ao cromossoma bacteriano, ou ainda na forma de plasmídeo livre. Assim, o bacteriófago

pode coexistir com seu hospedeiro por longos períodos (Salmond & Fineran, 2015). O ciclo crônico pode ser caracterizado pela produção de novas partículas virais, e sua liberação sem causar a lise do hospedeiro, sendo que a prole liberada pode apresentar tanto o ciclo lisogênico quanto o lítico. O ciclo lítico, por sua vez, é caracterizado pela produção de partículas virais viáveis logo após a entrada do bacteriófago na célula, as quais são liberadas causando a lise bacteriana (Hobbs & Abedon, 2016).

Recentemente a comunidade científica passou a ver os ciclos de vida como diferentes estratégias de infecção, que podem variar com o ambiente e as pressões seletivas que este infere sobre as comunidades bacterianas (Correa *et al.*, 2021; Hobbs & Abedon, 2016; Weitz *et al.*, 2019). As estratégias de replicação tipicamente líticas são amplamente distribuídas entre os fagos e são favorecidas por altas densidades bacterianas, ou seja, ambientes com alta proliferação do hospedeiro (Chevallereau *et al.*, 2022). Para fins biotecnológicos, fagos com perfil lítico são mais desejados, visto que a lise das bactérias as impedem de continuar sua proliferação, controlando as populações. Desta forma, bacteriófagos líticos podem ser aplicados para o controle de agregações e formações complexas como biofilmes, em diferentes contextos, como por exemplo em alimentos e embalagens, no controle de processos fermentativos, controle de patógenos agrícolas e desinfecção de ambientes hospitalares (Elfadadny *et al.*, 2024; Gummadi, 2024; Rindhe *et al.*, 2024).

1.2 Classificação

Os avanços nas técnicas de sequenciamento de nova geração (NGS) transformaram a capacidade de análise de bacteriófagos, permitindo a rápida e precisa obtenção de grandes quantidades de dados genômicos. Isso possibilitou a descoberta de novas linhagens que antes eram invisíveis aos métodos convencionais de cultura e isolamento. A metagenômica, por sua vez, tornou-se uma ferramenta poderosa ao permitir o sequenciamento direto de amostras de ambientes complexos, como solo, oceanos e intestino humano, revelando uma diversidade oculta de fagos que ainda não foram cultivados em laboratório. Isso ampliou enormemente o conhecimento sobre a distribuição e as interações dos fagos nos diversos ecossistemas, bem como sua relação com a microbiota local (Neri *et al.*, 2022).

Classificar os fagos em grupos taxonômicos é um passo essencial após a sua descoberta, e este é um tema em constante mudança. O Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) é responsável por organizar todos os vírus, como classe, ordem, família, subfamília e gênero (Adams *et al.*, 2017; Murphy *et al.*, 1995). O Subcomitê de Vírus de Bactérias e Arqueas, faz parte do ICTV e atua especificamente na classificação dos bacteriófagos, utilizando uma variedade de características dos vírus, como a sua composição molecular genômica (ssDNA, dsDNA, ssRNA ou dsRNA), morfologia, estrutura do capsídeo e seus hospedeiros, análise genômica e análise filogenética. Isto permite a criação de novos táxons, que refletem melhor a diversidade e as relações genômicas destes vírus (Dion *et al.*, 2020; Turner *et al.*, 2023). O Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) tem revisado continuamente a classificação dos vírus à medida que novos genomas são sequenciados, ajustando a taxonomia para refletir essas descobertas e facilitando o estudo e a comparação das novas linhagens identificadas (Turner *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, o ICTV ampliou as classificações taxonômicas, incorporando 15 níveis hierárquicos com o objetivo de descrever relações de ordem superior entre diferentes grupos de vírus

(Gorbalenya *et al.*, 2020; Koonin *et al.*, 2020). Para os fagos com cauda, que representam a maioria dos vírus isolados, essa expansão resultou na criação da classe Caudoviricetes, que agrupa todos os vírus bacterianos e arqueanos com cauda, capsídeos icosaédricos e genomas de DNA de fita dupla (Turner *et al.*, 2023). Esses vírions possuem uma cauda especializada que se liga à célula hospedeira, facilitando assim a transferência do material genético (Casjens, 2005).

Dentro dessa classe, destaca-se a ordem recentemente estabelecida Crassvirales, que inclui bacteriófagos de DNA de fita dupla com genomas variando entre 83 e 106 kbp. A maior parte das espécies apresentando esta morfologia foram identificadas em ambientes como o intestino, o solo, ecossistemas marinhos e contextos industriais (Jang *et al.*, 2019; Aiewsakun, *et al.*, 2018; Andrade-Martínez, *et al.*, 2019). Estas morfologias contemplam diferentes famílias, cada uma caracterizada por particularidades como o tipo de cauda (contrátil, longa e flexível, ou curta e não contrátil), ausência de cauda e estrutura filamentosa, e o tamanho do capsídeo (Rakonjac, J., 2012 & Drulis-Kawa Z., 2012).

Além destas, existem outras morfologias menos comuns. Por exemplo, os fagos icosaédricos ou esféricos, os quais apresentam um capsídeo icosaédrico e podem ter características exclusivas, como um “núcleo interno” dentro do capsídeo, há outras famílias de fagos que têm morfologia esférica, mas possuem um capsídeo de membrana dupla, que protege seu genoma segmentado de RNA de dupla fita (Drulis-Kawa Z., 2012). Os fagos pleomórficos, apresentam morfologia variável e uma membrana lipídica externa que envolve seu genoma de DNA circular de cadeia dupla, sem uma parede rígida de proteínas. Esses fagos infectam principalmente bactérias do gênero *Acholeplasma* (Pietilä *et al.*, 2014). A Figura 1 destaca as principais morfologias apresentadas por bacteriófagos.

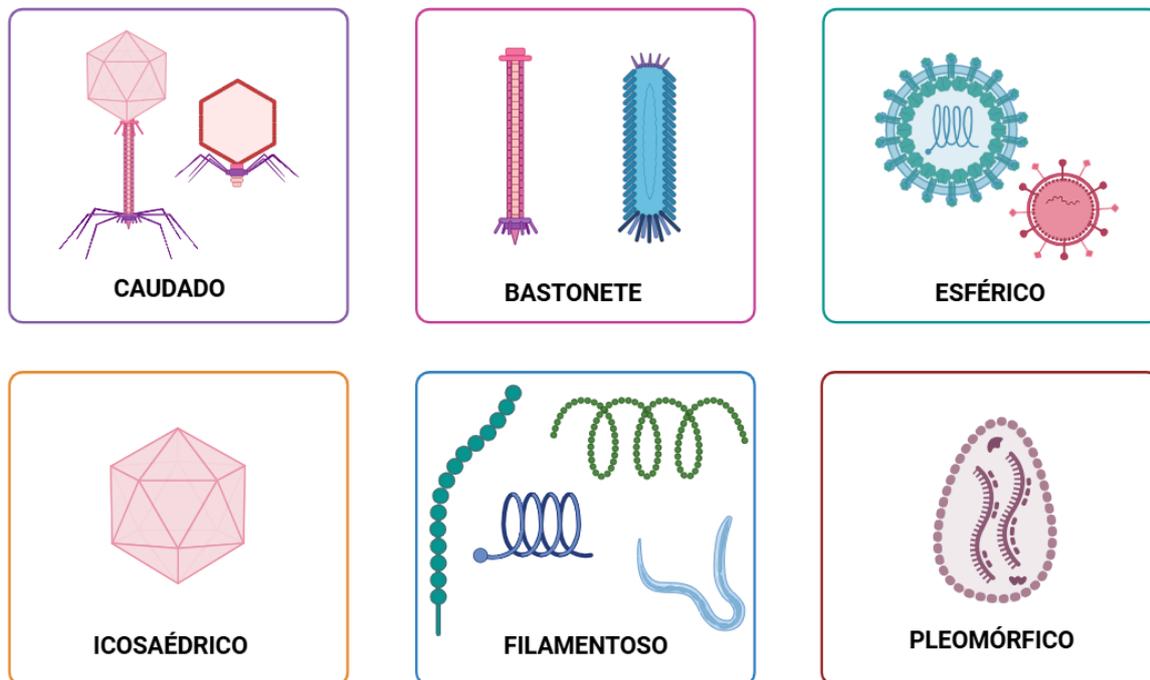


Figura 1. Principais morfologias dos bacteriófagos.

Estes avanços nas abordagens de classificação têm permitido uma compreensão mais profunda e organizada da diversidade dos bacteriófagos. Com isso, ampliou-se a capacidade de estudar suas complexas relações evolutivas e suas possíveis aplicações terapêuticas e biotecnológicas. A taxonomia mais refinada não apenas facilita o estudo de fagos conhecidos, mas também proporciona

insights valiosos sobre novos fagos e suas funções, destacando sua importância em diversos contextos ecológicos e médicos (Abril *et al.*, 2022; Neri *et al.*, 2022).

1.3 Aplicações biotecnológicas

1.3.1 Terapia fágica

Devido a sua capacidade intrínseca de infectar bactérias, os bacteriófagos são amplamente aplicados no controle do crescimento bacteriano. Sua utilização abrange desde o tratamento de infecções em humanos e outros animais, até o combate a patógenos que impactam a produção agrícola e a segurança alimentar. Essa versatilidade posiciona os fagos como ferramentas promissoras para impulsionar melhorias nos setores de saúde pública, agricultura e indústria alimentícia (Elois *et al.*, 2023).

A incidência de microrganismos resistentes aos antibióticos comumente utilizados têm aumentado significativamente ao longo dos anos, agravando este problema. Estima-se que as mortes por esses microrganismos tendem a superar aquelas ocasionadas por câncer até o ano de 2050 (Sawa *et al.*, 2024). Em pessoas com doenças crônicas, como a fibrose cística, a predisposição a infecções bacterianas pulmonares persistentes pode facilitar o desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Na fibrose cística, especificamente, infecções causadas por *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são frequentes, e o uso repetido de antibióticos promove resistência bacteriana em até 67% dos pacientes. Este cenário é ainda mais preocupante diante de infecções por bactérias oportunistas, como *Burkholderia cepacia*, que apresentam altas taxas de resistência e podem levar a casos de morte (Canning *et al.*, 2024).

Com isso, a aplicação de fagos na terapia antibacteriana, em pacientes com fibrose cística tem sido uma alternativa aos tratamentos usuais. A especificidade de infecção destes vírus tende a reduzir os danos colaterais ao microbioma, o que é vantajoso em comparação com os antibióticos tradicionais. Como exemplo, pode ser citado o fago JG068, que foi capaz de controlar infecções por *Burkholderia cenocepacia* em insetos (Canning *et al.*, 2024).

Os biofilmes, definidos como comunidades bacterianas envoltas por uma matriz extracelular de substâncias poliméricas, representam uma preocupação significativa em infecções crônicas. Essa estrutura protetora não apenas favorece a persistência bacteriana, mas também impede a ação eficaz do sistema imunológico do hospedeiro, contribuindo para o aumento da resistência aos agentes antibacterianos. Biofilmes são formados por diversas espécies bacterianas, podendo incluir *Pseudomonas aeruginosa*, que gera a formação de biofilmes nos pulmões de pacientes com fibrose cística, agravando o quadro clínico e dificultando o tratamento. Além disso, a formação de biofilmes pode envolver também espécies fúngicas, como *Candida albicans*, e bactérias como *Escherichia coli*, podendo agravar infecções do trato urinário. Na prática, os biofilmes são particularmente problemáticos em infecções de feridas, pois dificultam o processo de cicatrização, e em osteomielites, que podem ser desencadeadas pela implantação de dispositivos médicos infectados (Sahoo & Meshram, 2024).

Atualmente, estudos têm demonstrado que a personalização da terapia fágica pode melhorar significativamente os resultados no tratamento de infecções. A formulação de coquetéis fágicos específicos para casos individuais tem se mostrado eficaz, como evidenciado no estudo de Ferry

e colaboradores (2022). Nesse estudo, um coquetel contendo fagos purificados foi desenvolvido para combater uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, já resistente mesmo aos fagos comerciais. O tratamento, que incluiu a administração do coquetel tanto por via intravenosa quanto diretamente no local da infecção, resultou no controle efetivo da infecção.

Outra abordagem para a aplicação da terapia fágica é sua combinação com antibióticos frequentemente utilizados. Nessa estratégia, o objetivo é restaurar a sensibilidade bacteriana aos antibióticos por meio de mutações induzidas pelos fagos, o que permite que o antibiótico tenha efeito após a ação do fago. Essa combinação potencializa o combate a infecções causadas por bactérias multirresistentes, tornando o tratamento mais eficaz (Ahmad *et al.*, 2024). Tanto interações sinérgicas quanto antagônicas podem ocorrer quando fagos são combinados com antibióticos, dependendo do mecanismo de ação do antibiótico e da forma como ele interage com o fago. Quando há sinergia, o surgimento de bactérias resistentes pode ser suprimido, já que os antibióticos podem potencializar a produção de fagos, acelerando assim a destruição das células bacterianas (Anastassopoulou *et al.*, 2024).

Entretanto, devido a desafios como a instabilidade dos produtos fágicos, há uma crescente necessidade de aprimoramento das tecnologias existentes. Nesse contexto, as endolisinas, proteínas líticas codificadas por fagos, emergem como alternativas promissoras no tratamento de bactérias multirresistentes. Essas enzimas são produzidas durante o ciclo de replicação do fago e atuam degradando a camada de peptidoglicano das bactérias, promovendo a lise celular e a liberação de novos vírions. A engenharia genética das endolisinas permite o desenvolvimento de tratamentos mais específicos, como demonstrado no estudo de Lu e colaboradores (2022) no tratamento de *Klebsiella pneumoniae* com uma endolisina modificada, que reduziu significativamente a resposta inflamatória pulmonar em até 48 horas após a administração em camundongos, diminuindo a carga bacteriana e mostrando ausência de efeitos tóxicos nos animais.

Outras dificuldades no uso de terapias fágicas incluem a escassez de dados clínicos completos, a instabilidade térmica dos fagos e os desafios relacionados à formulação e liberação desses microrganismos. Além disso, a liberação de endotoxinas pode causar efeitos adversos, assim como a possível transmissão de genes de virulência. Diante desses desafios, surgem abordagens como a encapsulação dos fagos em polímeros ou lipossomas, com o objetivo de melhorar sua estabilidade e a eficácia na entrega terapêutica (Garvey, 2023).

Além de sua aplicação no desenvolvimento de antibacterianos, a terapia fágica também tem sido explorada como uma possibilidade promissora no tratamento de outras doenças, incluindo o câncer. Nesse contexto, destacam-se duas principais abordagens: o desenvolvimento de vacinas antitumorais e a utilização de bacteriófagos em tecnologias de diagnóstico e imagem. A alta especificidade dos fagos torna-os ferramentas para o desenvolvimento de vacinas direcionadas a tumores, devido à sua capacidade de reconhecer antígenos específicos presentes nas células tumorais. Os avanços na engenharia genética também permitem a modificação dos fagos para aumentar sua eficiência e precisão. No diagnóstico de câncer, os bacteriófagos podem ser utilizados como base para biossensores altamente específicos. Com isso, são capazes de diferenciar amostras cancerígenas de amostras benignas, identificando a expressão de proteínas características na superfície dos fagos, sendo uma tecnologia menos invasiva e mais precisa (Liping *et al.*, 2024). Mais informações acerca

deste assunto são abordadas no capítulo 4.

1.3.2 Desinfecções hospitalares

Como demonstrado no presente capítulo, biofilmes bacterianos desenvolvem-se em superfícies bióticas, como tecidos e órgãos. Para além disso, podem se desenvolver em superfícies abióticas, como dispositivos médicos e equipamentos industriais (Sahoo & Meshram, 2024). Dito isto, a utilização de terapia fágica possui potencial na descontaminação de ambientes hospitalares, onde superfícies contaminadas por bactérias podem causar infecções nos pacientes. As infecções associadas ao cuidado de saúde são complicações frequentes e graves, majoritariamente causadas por patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Nesse sentido, a constante contaminação de superfícies hospitalares gera dificuldade na eliminação desses patógenos, já que os desinfetantes usualmente recomendados tendem a ter um efeito temporário e também podem induzir resistência (D'Accolti *et al.*, 2021).

Na prática *in vitro*, já é observada a redução da carga bacteriana a partir de desinfetantes fágicos em diferentes superfícies, como plásticos, vidro e cerâmica. Essa redução é especialmente interessante quando consegue manter sua ação mesmo com uma baixa densidade bacteriana, já que os fagos precisam das bactérias para realizar sua replicação e consequente lise bacteriana. Outra forma de aplicação dos fagos nesse contexto diz respeito a uma desinfecção posterior aos desinfetantes químicos, onde já foi observada a redução de patógenos como *Acinetobacter* spp. e *Staphylococcus* spp. (D'Accolti *et al.*, 2021).

No contexto hospitalar, as infecções associadas ao uso de dispositivos médicos frequentemente empregados em procedimentos rotineiros contribuem significativamente para o aumento das taxas de morbidade e mortalidade. Dentre esses dispositivos, os cateteres urinários, fabricados com materiais como silicone, PVC, poliuretano ou látex, são responsáveis por mais de 75% dos casos de infecções urinárias hospitalares. Esse risco está relacionado à formação de biofilmes bacterianos nas superfícies dos cateteres, que pode ocorrer tanto durante a inserção do dispositivo quanto pela facilidade com que as bactérias atingem a bexiga, favorecendo o desenvolvimento da infecção (Dias *et al.*, 2022). Dessa forma, têm sido realizadas tentativas de desenvolver formulações de hidrogéis contendo fagos, as quais têm sido estudadas *in vitro* como pré-tratamento para cateteres, com o objetivo de prevenir infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas mirabilis*, indicando uma redução significativa da população bacteriana (Lehman *et al.*, 2015).

No entanto, o tratamento com fagos para desinfecção de biofilmes em ambientes hospitalares enfrenta várias dificuldades. A composição, estrutura e profundidade do biofilme podem dificultar a ação dos fagos no biocontrole. A presença de enzimas bacterianas pode inativar os fagos, enquanto as bactérias localizadas nas camadas mais profundas do biofilme tendem a ser mais resistentes à sua ação. Além disso, a diversidade de espécies presentes no biofilme cria uma variedade de polímeros, o que pode reduzir a eficácia dos fagos na remoção das bactérias (Ferriol-González & Domingo-Calap, 2020).

1.3.3 Controle bacteriológico na agricultura

Doenças em plantas causam perdas econômicas significativas na agricultura, e, assim como

ocorre em humanos, o uso inadequado de bactericidas têm contribuído para o desenvolvimento de resistência bacteriana em fitopatógenos. Nesse contexto, o uso de fagos tem se mostrado uma alternativa sustentável e promissora para o controle de patógenos vegetais, destacando-se pela sua especificidade, permitindo o direcionamento para bactérias específicas, mesmo em diferentes tipos de cultivo (Wang *et al.*, 2024).

Como nos demais setores, a aplicação dos fagos possui também algumas desvantagens. A sobrevivência dos bacteriófagos em solos hostis até o encontro da bactéria hospedeira pode ser difícil, e os patógenos evoluem continuamente frente aos tratamentos fágicos. Todo o ecossistema ao redor influencia na eficiência da terapia fágica, a partir de sinergias com a microbiota circundante. Com isso, aplicações profiláticas tendem a estabilizar e reestruturar positivamente os microbiomas da rizosfera ao impedir o estabelecimento de nicho pelos fitopatógenos (Federici *et al.*, 2021).

Assim, o planejamento adequado da aplicação de soluções fágicas, considerando aspectos como frequência, dosagem e combinações múltiplas que ampliem o espectro de infectividade, mostra-se como uma solução para otimizar a eficácia do tratamento com fagos e potencializar os resultados terapêuticos (Wang *et al.*, 2024).

Com isso, já existem bioprodutos como o *Agriphage*, desenvolvido pela empresa *Omnilytics*, o qual tem se mostrado eficaz no controle de doenças bacterianas em pimentões e tomates. Outros ensaios experimentais com o fago RSL1, que ataca a *Ralstonia solanacearum*, causadora da murcha bacteriana, mostraram que esse fago é resistente a altas temperaturas e foi eficaz na prevenção da murcha de plantas de tomate infectadas com essa bactéria (Elfadadny *et al.*, 2024).

Além de sua ação direta contra bactérias, o uso de coquetéis fágicos na agricultura pode ser direcionado ao controle de insetos que dependem de seu microbioma para funções fisiológicas essenciais, como é o caso dos pulgões. Esses insetos podem ser particularmente vulneráveis a essa abordagem. Um exemplo disso é o controle de *Pseudomonas aeruginosa* no intestino de *Musca domestica*, que resultou na modificação do microbioma do inseto e interrompeu seu desenvolvimento normal. Esse caso demonstra o potencial do biocontrole baseado em fagos, ampliando suas aplicações para além do setor agroindustrial. Isso inclui o controle de vetores de doenças virais de relevância para a saúde humana, como o *Aedes aegypti* (Elfadadny *et al.*, 2024).

1.3.4 Aplicações na indústria alimentícia

Apesar dos avanços no aumento da vida útil dos alimentos disponíveis atualmente, a preocupação com a incidência de doenças transmitidas por alimentos continua a impactar toda a cadeia alimentar, desde o processamento até a sua preservação (Chaudhary *et al.*, 2024). A aplicação de bacteriófagos nessa indústria, tanto no controle direto de bactérias nos alimentos quanto de forma indireta nas embalagens, surge como uma estratégia promissora para melhorar a segurança alimentar e ampliar a vida útil dos produtos (Ajose *et al.*, 2024).

A aplicação direta dos fagos nos alimentos envolve o tratamento da superfície externa destes para eliminar ou minimizar consideravelmente a quantidade de patógenos bacterianos específicos presentes nos alimentos e que afetam sua qualidade. Essa abordagem possui, inclusive, produtos aprovados e disponíveis no mercado para utilização, principalmente nos Estados Unidos, como o ListShield (para controle de *Listeria monocytogenes*), EcoShield (para controle de *Escherichia coli*

O157) e SALMONELEX (para controle de *Salmonella*) (Chaudhary *et al.*, 2024; Ranveer *et al.*, 2024).

Nesse sentido, a aplicação pode visar a busca por fagos de amplo espectro de infecção. Por exemplo, o fago PSt-H1, é capaz de realizar o controle de espécies de *Salmonella*, *Escherichia coli* e *K. pneumoniae*, permitindo a aplicação em diferentes alimentos, como carnes, ovos e leite. Além disso, os bacteriófagos têm sido cada vez mais aplicados no controle de qualidade de processos fermentativos alimentares. Sua utilização nesse setor contribui para a eliminação de organismos competidores que disputam o mesmo substrato que os microrganismos fermentadores, resultando em um aumento no rendimento do processo e na melhoria da qualidade do produto final (Gummadi, 2024).

A utilização de biopolímeros com compostos antibacterianos em embalagens alimentares tem se mostrado uma estratégia eficaz para combater microrganismos presentes nos alimentos, prolongando sua vida útil e contribuindo para a redução de perdas econômicas. No entanto, esses compostos antibacterianos podem apresentar riscos de toxicidade e alterar as propriedades sensoriais dos alimentos, além de contribuir para o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos, como já discutido anteriormente. Nesse contexto, os bacteriófagos ressurgem como uma solução segura e promissora para a aplicação em alimentos e embalagens. Com sua alta especificidade e sem alterar as características dos alimentos, os bacteriófagos oferecem uma alternativa eficaz que já vem sendo utilizada em produtos aprovados por autoridades de saúde, como a FDA (*Food and Drug Administration*) (Rindhe *et al.*, 2024).

No contexto dos alimentos, é essencial considerar fatores como pH e temperatura que os fagos podem suportar, pois esses fatores influenciam diretamente o mecanismo de adsorção do fago, impactando sua eficiência. De maneira geral, não existem padrões de resposta universais entre diferentes espécies de fagos para cada um desses fatores. Assim, é necessário realizar uma avaliação individualizada para selecionar o modelo fágico mais adequado a cada aplicação. Com isso, são aplicadas as tecnologias de encapsulamento para melhorar a estabilidade fágica ao proteger o capsídeo viral, conseqüentemente aumentando a entrega do produto (Rindhe *et al.*, 2024). Outras aplicações relacionadas à matrizes alimentares podem ser encontradas no capítulo 3.

O encapsulamento permite um sistema de entrega com liberação controlada, permitindo a estabilidade viral que mantém a boa viabilidade do fago, seja de forma direta, no alimento, ou indireta, na embalagem. Observando o tipo alimentar, são utilizados polissacarídeos, proteínas ou lipídios para o desenvolvimento da formulação fágica, para aumentar a compatibilidade com o fago desejado (Costa *et al.*, 2023).

O Quadro 1 sumariza diferentes produtos biotecnológicos derivados de bacteriófagos e utilizados para segurança alimentar, agricultura, saúde humana e animal.

Área de concentração	Produto/ Bacteriófago	Microrganismo alvo	Referência
Preservação de alimentos	Ecolicide® (Ecolicide PX™)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Vikram; <i>et al.</i> , 2021
	EcoShield PX™	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 e outras produtoras de toxina shiga	
	ListShield™	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	SalmoPro®	<i>Salmonella</i> spp.	
	ShigaShield™ (ShigActive™)	<i>Shigella</i> spp.	
Tratamento de infecções em humanos	AB-SA01/co-quetel de três miovírus líticos	<i>Staphylococcus aureus</i> multirresistente a antibióticos	Lehman <i>et al.</i> , 2019
	Lisina P128	<i>Staphylococcus</i> spp.	Hariharan <i>et al.</i> , 2024
	AP-PA02	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , principalmente em pacientes com fibrose cística	Huang <i>et al.</i> , 2022
	AP-PA03		
	Phagyo®spray	Tratamento e profilaxia de infecções bacterianas purulentas-inflamatórias (múltiplos microrganismos)	
Septa-phage®table			
Agricultura	AgriPhage™	<i>Clavibacter michiganensis</i>	
	Erwiphage PLUS	<i>Erwinia amylovora</i>	
Saúde animal	BAFACOL™	<i>Escherichia coli</i> em aves	Huang <i>et al.</i> , 2022
	Staphage Ly-sate(SPL)®	<i>Staphylococcus</i> em cães	
	Vetagin®	Bactérias causadoras de endometrite, abscesso e miosite em vacas leiteiras	

Quadro 1. Exemplos de produtos biotecnológicos desenvolvidos a partir de bacteriófagos.

1.4 Conclusão

Os Bacteriófagos têm demonstrado potencial para diferentes aplicações biotecnológicas. Sua natureza altamente variável os permite habitar os mais diversos ambientes terrestres, aquáticos e aéreos. Suas aplicações são tão vastas quanto sua distribuição, variando entre ferramentas de biologia molecular, indicadores de qualidade e também sanitizantes. Nestes âmbitos, a biologia única destes vírus permite o uso de alguns de seus produtos, como enzimas e proteínas estruturais, ou de sua ação bactericida, exercendo seu papel de controladores populacionais. Com os avanços da biotecnologia, as perspectivas de funcionalização de materiais, ou do uso de sistemas de entrega de fagos se mostram áreas promissoras para facilitar as aplicações destas ferramentas.

Referências

Abril, A. G., Carrera, M., Notario, V., Sánchez-Pérez, Á., & Villa, T. G. (2022). The Use of Bacteriophages in Biotechnology and Recent Insights into Proteomics. *Antibiotics*, *11*(5), 653. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050653>

Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M. Q., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J., ... & Davison, A. J. (2017). Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2017). *Archives of Virology*, *162*(8), 2505-2538. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3358-5>

Adriaenssens, E. M., Wittmann, J., Kuhn, J. H., Turner, D., Sullivan, M. B., Dutilh, B. E., & Lobočka, M. (2018). Taxonomy of prokaryotic viruses: 2017 update from the ICTV Bacterial and Archaeal Viruses Subcommittee. *Archives of Virology*, *163*, 1125–1129. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3723-z>

Aiewsakun, P., Adriaenssens, E. M., Lavigne, R., Kropinski, A. M., & Simmonds, P. (2018). Evaluation of the genomic diversity of viruses infecting bacteria, archaea and eukaryotes using a common bioinformatic platform: Steps towards a unified taxonomy. *Journal of General Virology*, *99*, 1331–1343. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001110>

Ahmad, T. A., Houjeiry, S. El, Kanj, S. S., Matar, G. M., & Saba, E. S. (2024). From Forgotten Cure to Modern Medicine: The Resurgence of Bacteriophage Therapy. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.10.259>

Aiewsakun, P., & Simmonds, P. (2018). The genomic underpinnings of eukaryotic virus taxonomy: Creating a sequence-based framework for family-level virus classification. *Microbiome*, *6*, 38. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0422-7>

Ajose, D. J., Adekanmbi, A. O., Kamaruzzaman, N. F., Ateba, C. N., & Saeed, S. I. (2024). Combating antibiotic resistance in a one health context: a plethora of frontiers. *One Health Outlook*, *6*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s42522-024-00115-7>

Andrade-Martínez, J. S., Moreno-Gallego, J. L., & Reyes, A. (2019). Defining a core genome for the Herpesvirales and exploring their evolutionary relationship with the Caudovirales. *Scientific Reports*, *9*, 11342. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47742-z>

Atanasova, N. S., Roine, E., Oren, A., Bamford, D. H., & Oksanen, H. M. (2012). Global network of specific virus-host interactions in hypersaline environments. *Environmental Microbiology*, *14*(2), 426-440. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02603.x>

- Borodovich, T., Shkoporov, A. N., Ross, R. P., & Hill, C. (2022). Phage-mediated horizontal gene transfer and its implications for the human gut microbiome. *Gastroenterology Reports*, *10*, goac012. <https://doi.org/10.1093/gastro/goac012>
- Canning, J. S., Laucirica, D. R., Ling, K. M., Nicol, M. P., Stick, S. M., Kicic, A. (2024). Phage therapy to treat cystic fibrosis Burkholderia cepacia complex lung infections: Perspectives and challenges. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1476041. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1476041>
- Casjens, S. R. (2005). Comparative genomics and evolution of the tailed-bacteriophages. *Current Opinion in Microbiology*, *8*(4), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.014>
- Chanishvili, N. (2012). Phage therapy—History from Twort and d’Herelle through Soviet experience to current approaches. In M. Łobocka & W. Szybalski (Eds.), *Advances in Virus Research*, *83*, 3–40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00001-3>
- Chaudhary, V., Kajla, P., Lather, D., Chaudhary, N., Dangi, P., Singh, P., & Pandiselvam, R. (2024). Bacteriophages: a potential game changer in food processing industry. *Critical Reviews in Biotechnology*, *44*(7), 1325–1349. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2299768>
- Chevallereau, A., Pons, B. G., Houte, S. V., & Westra, E. R. (2022). Interactions between bacterial and phage communities in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, *20*, 49-62. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00602-y>
- Choi, J., Kotay, S. M., & Goel, R. (2011). Bacteriophage-based biocontrol of biological sludge bulking in wastewater. *Bioengineering Bugs*, *2*, 214–217. <https://doi.org/10.4161/bbug.2.4.16211>
- Clokie, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., & Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, *1*(1), 31–45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>
- Correa, A. M. S., Howard-Varona, C., Coy, S. R., *et al.* (2021). Revisiting the rules of life for viruses of microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, *19*, 501–513. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00530-x>
- Costa, M. J., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., Sillankorva, S. M., & Cerqueira, M. A. (2023). Bacteriophage Delivery Systems for Food Applications: Opportunities and Perspectives. *Viruses*, *15*(6), 1271. <https://doi.org/10.3390/v15061271>
- De Jonge, P. A., Nobrega, F. L., Brouns, S. J. J., & Dutilh, B. E. (2019). Molecular and evolutionary determinants of bacteriophage host range. *Trends in Microbiology*, *27*(1), 51-63. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.08.006>

- Dion, M. B., Oechslin, F., & Moineau, S. (2020). Phage diversity, genomics, and phylogeny. *Nature Reviews Microbiology*, *18*(3), 125-138. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0311-5>
- Dowah, A. S. A., & Clokie, M. R. J. (2018). Review of the nature, diversity, and structure of bacteriophage receptor binding proteins that target Gram-positive bacteria. *Biophysical Reviews*, *10*(2), 535-542. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0382-3>
- Drulis-Kawa, Z., Majkowska-Skrobek, G., Maciejewska, B., Delattre, A.-S., & Lavigne, R. (2012). Learning from Bacteriophages - Advantages and Limitations of Phage and Phage-Encoded Protein Applications. *Current Protein and Peptide Science*, *13*(8), 699–722. <https://doi.org/10.2174/138920312804871193>
- E, S., & Gummadi, S. N. (2023). Advances in the applications of bacteriophages and phage products against food-contaminating bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, *50*(5), 702–727. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2271098>
- Elfadadny, A., Ragab, R. F., Abou Shehata, M. A., Elfadadny, M. R., Farag, A., Abd El-Aziz, A. H., & Khalifa, H. O. (2024). Exploring bacteriophage applications in medicine and beyond. *Acta Microbiologica Hellenica*, *69*, 167-179. <https://doi.org/10.3390/amh69030016>
- Elois, M. A., Silva, R. D., Pilati, G. V. T., Rodríguez-Lázaro, D., & Fongaro, G. (2023). Bacteriophages as biotechnological tools. *Viruses*, *15*(2), 349. <https://doi.org/10.3390/v15020349>
- Fancello, L., Trape, S., Robert, C., Boyer, M., Popgeorgiev, N., Raoult, D., & Desnues, C. (2013). Viruses in the desert: A metagenomic survey of viral communities in four perennial ponds of the Mauritanian Sahara. *ISME Journal*, *7*(2), 359-369. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.101>
- Ferry, T., Kolenda, C., Laurent, F., Leboucher, G., Merabischvilli, M., Djebara, S., Gustave, C. A. Perpoint, T., Barrey, C., Pirnay, J., Resch, G. (2022). Personalized bacteriophage therapy to treat pandrug-resistant spinal *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Nature Communications*, *13*, 4239. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31837-9>
- Gorbalenya, A. E., Krupovic, M., Mushegian, A., Kropinski, A. M., Siddell, S. G., Varsani, A., Adams, M. J., Davison, A. J., Dutilh, B. E., Harrach, B., *et al.* (2020). The new scope of virus taxonomy: Partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nature Microbiology*, *5*, 668–674. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x>
- Graham, E. B., Paez-Espino, D., Brislawn, C., Hofmockel, K. S., Wu, R., Kyrpides, N. C., Jansson, J. K., & McDermott, J. E. (2019). Untapped viral diversity in global soil metagenomes. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/583997>

- Gummadi, S. N., & E, S. (2024). Advances in the applications of Bacteriophages and phage products against food-contaminating bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, *50*(5), 702–727. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2271098>
- Hariharan, S., Keelara, S., Paul, V. D., Sriram, B., Vipra, A. A., & Balganes, T. (2020). Phage therapy—bacteriophage and phage-derived products as anti-infective drugs. In *Drug Discovery Targeting Drug-Resistant Bacteria* (pp. 301–359). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818480-6.00011-4>
- Hendrix, M. C. M., Smith, R. N., Burns, M. E., Ford, G. F., & Hatfull, M. (1999). Evolutionary relationships among diverse bacteriophages and prophages: All the world's a phage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(5), 2192–2197. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.5.2192>
- Hobbs, Z., & Abedon, S. T. (2016). Diversity of phage infection types and associated terminology: The problem with 'Lytic or lysogenic'. *FEMS Microbiology Letters*, *363*(7), fnw047. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw047>
- Hoyle, L., McCartney, A. L., Neve, H., Gibson, G. R., Sanderson, J. D., Heller, K. J., & van Sinderen, D. (2014). Characterization of virus-like particles associated with the human faecal and caecal microbiota. *Research in Microbiology*, *165*(10), 803–812. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.10.006>
- Huang, Y., Wang, W., Zhang, Z., Gu, Y., Huang, A., Wang, J., & Hao, H. (2022). Phage Products for Fighting Antimicrobial Resistance. *Microorganisms*, *10*(7), 1324. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071324>
- Jang, H. B., Bolduc, B., Zablocki, O., Kuhn, J. H., Roux, S., Adriaenssens, E. M., Brister, J. R., Kropinski, A. M., Krupovic, M., Lavigne, R., et al. (2019). Taxonomic assignment of uncultivated prokaryotic virus genomes is enabled by gene-sharing networks. *Nature Biotechnology*, *37*, 632–639. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0100-8>
- Koonin, E. V., Dolja, V. V., Krupovic, M., Varsani, A., Wolf, Y. I., Yutin, N., Zerbini, F. M., Kuhn, J. H. (2020). Global organization and proposed megataxonomy of the virus world. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *84*, e00061–19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00061-19>
- Lee, K. L., Hubbard, L. C., Hern, S., Yildiz, I., Gratzl, M., & Steinmetz, N. F. (2013). Shape matters: The diffusion rates of TMV rods and CPMV icosahedrons in a spheroid model of extracellular matrix are distinct. *Biomaterials Science*, *1*(6), 10. <https://doi.org/10.1039/C3BM00191A>
- Lehman, S. M., Mearns, G., Rankin, D., Cole, R. A., Smrekar, F., Branston, S. D., & Morales, S. (2019). Design and Preclinical Development of a Phage Product for the Treatment of Antibiotic-Resistant Staphylococcus aureus Infections. *Viruses*, *11*(1), 88. <https://doi.org/10.3390/v11010088>

- Low, S. J., Džunková, M., Chaumeil, P. A., Parks, D. H., & Hugenholtz, P. (2019). Evaluation of a concatenated protein phylogeny for classification of tailed double-stranded DNA viruses belonging to the order *Caudovirales*. *Nature Microbiology*, 4, 1306–1315. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0448-z>
- Liu, M., Deora, R., Doulatov, S. R., Gingery, M., Eiserling, F. A., Preston, A., Maskell, D. J., Simons, R. W., Cotter, P. A., & Miller, J. F. (2002). Reverse transcriptase-mediated tropism switching in *Bordetella* bacteriophage. *Science*, 295(5560), 2091-2094. <https://doi.org/10.1126/science.1067467>
- Murphy, F. A., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L. (Eds.). (1995). *Virus taxonomy: Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Springer.
- Mushegian, A. R. (2020). Are there 10^{31} virus particles on Earth, or more, or fewer? *Journal of Bacteriology*, 202(9), e00052-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00052-20>
- Neri, U., Wolf, Y. I., Roux, S., Camargo, A. P., Lee, B., Kazlauskas, D., Chen, I. M., Ivanova, N., Zeigler Allen, L., Paez-Espino, D., Bryant, D. A., Bhaya, D., Krupovic, M., Dolja, V. V., Kyrpides, N. C., Koonin, E. V., Gophna, U., Narrowe, A. B., Probst, A. J., ... Wang, Z. (2022). Expansion of the global RNA virome reveals diverse clades of bacteriophages. *Cell*, 185(21), 4023-4037.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.023>
- Pietilä, M. K., Demina, T. A., Atanasova, N. S., Oksanen, H. M., & Bamford, D. H. (2014). Archaeal viruses and bacteriophages: comparisons and contrasts. *Trends in Microbiology*, 22(6), 334–344. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.02.007>
- Paez-Espino, D., Eloë-Fadrosch, E. A., Pavlopoulos, G. A., Thomas, A. D., Huntemann, M., Mikhailova, N., Rubin, E., Ivanova, N. N., & Kyrpides, N. C. (2016). Uncovering Earth's virome. *Nature*, 536(7617), 425-430. <https://doi.org/10.1038/nature19094>
- Rakonjac, J. (2012). Filamentous Bacteriophages: Biology and Applications. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000777>
- Ranveer, S. A., Dasriya, V., Ahmad, M. F., Dhillon, H. S., Samtiya, M., Shama, E., Anand, T., Dhewa, T., Chaudhary, V., Chaudhary, P., Behare, P., Ram, C., Puniya, D. V., Khedkar, G. D., Raposo, A., Han, H., & Puniya, A. K. (2024). Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *Npj Science of Food*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00245-8>
- Rindhe, S., Khan, A., Priyadarshi, R., Chatli, M., Wagh, R., Kumbhar, V., Wankar, A., & Rhim, J.-W. (2024). Application of bacteriophages in biopolymer-based functional food packaging films. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23, e13333. <https://doi.org/10.1111/1541->

4337.13333

Sahoo, K., & Meshram, S. (2024). Biofilm formation in chronic infections: A comprehensive review of pathogenesis, clinical implications, and novel therapeutic approaches. *Cureus*, *16*(10), e70629. <https://doi.org/10.7759/cureus.70629>

Salmond, G. P., & Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: Past, present and future. *Nature Reviews Microbiology*, *13*(12), 777–786. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3564>

Saltzman, W. M., Radomsky, M. L., Whaley, K. J., & Cone, R. A. (1994). Diffusion of antibodies in human cervical mucus. *Biophysical Journal*, *66*, 508–515. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(94\)80802-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(94)80802-1)

Santiago-Rodriguez, T. M., Fornaciari, G., Luciani, S., Dowd, S. E., Toranzos, G. A., Marota, I., & Cano, R. J. (2016). Natural mummification of the human gut preserves bacteriophage DNA. *FEMS Microbiology Letters*, *363*(1), fnv219. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv219>

Sawa, T., Moriyama, K., & Kinoshita, M. (2024). Current status of bacteriophage therapy for severe bacterial infections. *Journal of Intensive Care*, *12*, 44. <https://doi.org/10.1186/s40560-024-00759-7>

Schmelcher, M., Donovan, D. M., & Loessner, M. J. (2012). Endolysins of bacteriophages as novel antimicrobials. *Future Microbiology*, *7*(10), 1147–1171. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.97>

Suttle, C. (2007). Marine viruses — Major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, *5*, 801–812. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1750>

Turner, D., Kropinski, A. M., & Adriaenssens, E. M. (2021). A Roadmap for Genome-Based Phage Taxonomy. *Viruses*, *13*(3), 506. <https://doi.org/10.3390/v13030506>

Turner, D., Shkoporov, A. N., Lood, C., *et al.* (2023). Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Archives of Virology*, *168*, 74. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05694-2>

Vikram, A., Woolston, J., & Sulakvelidze, A. (2021). Phage Biocontrol Applications in Food Production and Processing. *Current Issues in Molecular Biology*, 267–302. <https://doi.org/10.21775/cimb.040.267>

Weitz, J. S., Li, G., Gulbudak, H., Cortez, M. H., & Whitaker, R. J. (2019). Viral invasion fitness across a continuum from lysis to latency. *Virus Evolution*, *5*(1), vez006. <https://doi.org/10.1093/ve/vez006>

Williamson, K. E., Fuhrmann, J. J., Wommack, K. E., & Radosevich, M. (2017). Viruses in soil ecosystems: An unknown quantity within an unexplored territory. *Annual Review of Virology*, 4(1), 201-219. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-101416-041639>