

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

3. APLICAÇÕES DE BACTERÍOFAGOS NO CONTEXTO ALIMENTAR E AMBIENTAL

DOI: 10.56041/9786599841873-3

ELOIS, Mariana Alves

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

<https://orcid.org/0000-0003-2986-6900>

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>

PILATI, Giulia Von Tönnemann

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

<https://orcid.org/0000-0001-9689-0279>

ZANCHETTA, Lucas

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

<https://orcid.org/0000-0002-4595-3871>

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, inicialmente explorados nas décadas de 1920 e 1930, caíram em desuso após a ascensão dos antibióticos, mas ressurgiram nas décadas seguintes devido ao aumento da resistência bacteriana. Eles atuam como controladores das populações bacterianas e podem transferir genes que aumentam a virulência, promovendo a diversidade genética das bactérias. Os fagos têm se mostrado uma ferramenta promissora no controle de doenças bacterianas em plantas, pecuária, aquicultura e alimentos, sendo eficazes contra patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Listeria*. Na agricultura, os fagos são usados para controlar fitopatógenos como *Xanthomonas* e *Pseudomonas*, substituindo biocidas convencionais. Na pecuária, ajudam a prevenir e tratar infecções bacterianas em animais de produção. Na aquicultura, fagos são aplicados contra patógenos marinhos, melhorando a saúde dos peixes e reduzindo a resistência a antibióticos. Em alimentos, são utilizados para controlar patógenos em superfícies de processamento e diretamente nos produtos. Exemplos incluem a redução de *Escherichia coli* na produção de queijo e a eliminação de *Salmonella* em carnes. Além disso, biofilmes de embalagens antimicrobianas com fagos aumentam a vida útil dos alimentos ao controlar o crescimento bacteriano. Os bacteriófagos também têm sido aplicados como biossensores para detectar patógenos em alimentos, oferecendo uma alternativa rápida e eficaz aos métodos tradicionais de cultura bacteriana. Diversos biossensores baseados em fagos foram desenvolvidos para detectar *Salmonella*, *Listeria* e outros patógenos, aumentando a sensibilidade e eficiência do diagnóstico.

Palavras-chave: biocontrole, desinfecção bacteriana, biossensores.

3.1 Reascensão dos bacteriófagos dentro da comunidade científica

Após a descoberta dos bacteriófagos, pesquisadores ao redor do mundo começaram a incorporar a ideia de fagos, principalmente aplicados para o tratamento de infecções bacterianas em humanos, ficando esta conhecida como terapia fágica, entre as décadas de 1920 até a década de 1930 (Abedon *et al.*, 2011).

O período de êxtase e expectativas ao redor da terapia fágica foi seguido por um período de declínio em grande parte do mundo ocidental. O interesse pelos bacteriófagos foi substituído pelo advento dos antibióticos durante a Segunda Guerra Mundial. Além disso, embora os estudos com fagos tenham gerado resultados satisfatórios, muitas publicações, escritas em russo, não alcançaram o mundo ocidental. E quando alguns desses resultados foram traduzidos, enfrentaram ceticismo devido à falta de conformidade com padrões internacionais de ensaios clínicos (Chanishvili, 2012). Assim, a pesquisa com bacteriófagos passou a focar em seu uso como modelos genéticos. No entanto, a terapia fágica continuou sendo aplicada na União Soviética e no leste europeu para tratar diversas doenças (Abedon *et al.*, 2011).

A terapia fágica reemergiu pela literatura de língua inglesa na década de 1980, amparada pelo trabalho de Smith e Huggins (Smith *et al.*, 1987). E ganhou ainda mais destaque na década de 1990, graças aos resultados promissores encontrados pelos pesquisadores soviéticos e poloneses. A pesquisa com fagos acompanhou o grande salto da genômica a partir do ano 2000 e foi impulsionada pelo rápido aumento de bactérias multirresistentes no mundo nos últimos anos, concomitante ao declínio no desenvolvimento de novos agentes antibacterianos eficazes (Perros, 2015). As dificuldades no tratamento de muitas infecções bacterianas, além das características, principalmente morfológicas, favoráveis dos fagos para aplicações moleculares levaram os cientistas a os reconsiderarem como uma promissora ferramenta biotecnológica (Abedon *et al.*, 2011)

3.2 Mecanismo dos bacteriófagos e interações com o ambiente

Devido à sua natureza viral, os bacteriófagos dependem do metabolismo de seus hospedeiros para realizar sua replicação. Tal característica confere aos fagos o papel de controladores populacionais, o qual realizam nos mais diversos ecossistemas. A magnitude do controle exercido por estas entidades biológicas ainda não foi completamente elucidada, devido principalmente à variedade de ciclos de replicação apresentados por estes vírus, e as diferenças entre os estudos *in vitro* e sua representatividade na natureza (Puxty & Millard, 2023). Assim, uma nova tendência aborda as estratégias de replicação viral de forma menos categorizada e mais contínua, variando entre infecções persistentes, e infecções virulentas com produção de novas partículas virais (Correa *et al.*, 2021).

Desse modo, os bacteriófagos exercem uma pressão evolutiva significativa sobre as comunidades microbianas. Por meio de mecanismos de transferência horizontal de genes, os fagos podem transportar genes que aumentam a virulência de bactérias, contribuindo para a adaptação e diversidade genética dessas populações. Além disso, a interação contínua entre fagos e bactérias impulsiona o desenvolvimento de mecanismos de defesa por parte do hospedeiro, como sistemas CRISPR-Cas, gerando uma pressão seletiva que favorece a evolução de cepas mais resistentes (Naureen *et al.*, 2020).

A coexistência das bactérias com seus parasitas virais se dá por meio de diferentes interações, dentre as quais a interação por adsorção entre o fago e seu hospedeiro é a mais conhecida (Elois *et al.*, 2023). Esta interação é mediada pelas proteínas de ligação ao receptor viral, as quais variam de acordo com a morfologia do bacteriófago em questão, e são conhecidas como proteínas da fibra da cauda ou espículas da cauda, em bacteriófagos com cauda (Dowah & Clokie, 2018).

3.3 Soluções biotecnológicas para controle da presença de bactérias em ambientes

3.3.1 Indicadores fecais ou bioindicadores de qualidade microbiana da água

A disseminação de patógenos entéricos impulsionada pelo mau gerenciamento de águas residuais e resíduos provenientes de diferentes matrizes exige a aplicação de métodos eficazes para detecção e monitoramento dos patógenos presentes na água. Os métodos de detecção de contaminação fecal utilizam bactérias indicadoras, como coliformes totais e fecais, *Escherichia coli*, *Streptococcus* e *Enterococcus* (Holcomb & Stewart, 2020). No entanto, esses métodos apresentam limitações, como a falta de informações sobre a fonte da contaminação e baixa correlação com vírus humanos ou patógenos parasitas em ambientes aquáticos e estações de tratamento de esgoto, que possuem comportamento e taxas de sobrevivência diferentes (Korajkic *et al.*, 2018).

Diante desse cenário, os bacteriófagos têm sido propostos como alternativos indicadores de poluição fecal e viral dada suas vantagens sobre os indicadores bacterianos. Os bacteriófagos são mais abundantes, persistentes no ambiente, e eliminados nas fezes sem replicação, a menos que o hospedeiro esteja presente e ativo. Além disso, os fagos, ao infectarem bactérias intestinais, apresentam padrões de dispersão e sobrevivência semelhantes aos dos patógenos virais entéricos, fornecendo informações mais precisas sobre a presença desses patógenos (McMinn *et al.*, 2017).

Dentre os fagos mais utilizados como indicadores de poluição fecal e viral destacam-se os colifagos somáticos e F-específicos, capazes de se ligarem aos receptores proteicos específicos presentes na membrana externa bacteriana e capazes de infectar a bactéria hospedeira por meio do *pili* bacteriano, respectivamente (Kott *et al.*, 1974). Os fagos capazes de infectar *Bacteroides* spp. e *Enterococcus* spp. também se destacam dada suas capacidades potenciais de rastreamento da fonte microbiana (Martín-Díaz *et al.*, 2020; Santiago-Rodriguez *et al.*, 2013; Venegas *et al.*, 2015).

3.3.2 Aplicação em processos de tratamento de águas residuais

Embora as estações de tratamento de esgoto (ETEs) desempenhem um papel essencial na eliminação de bactérias e outros contaminantes, o volume substancial de bactérias e outros microrganismos presentes nesse sistema estão atreladas à genes de resistência a antibióticos (AGRs) e transferência horizontal de genes entre os microrganismos (Ragab *et al.*, 2024).

Considerando esses aspectos, os fagos têm sido implementados em sistemas de tratamento tendo como alvo bactérias patogênicas e bactérias resistentes a antibióticos. Dentro desse processo, os fagos podem controlar população de bactérias patogênicas e/ou resistentes por meio da lise bacteriana, redução do fitness da população bacteriana, tornando-as mais sensíveis ou mais suscetíveis à exclusão competitiva ou aos biocidas, remoção de biofilmes, remoção da formação de espuma e volume de lodo ativado formado pelas bactérias alvo e substituição de antibióticos e biocidas para reduzir sua

descarga intencional ou não intencional no meio ambiente (Fernandes *et al.*, 2014).

Diversos estudos já relataram a utilização de bacteriófagos para o controle de diversas bactérias em estações de tratamento, incluindo *Escherichia coli* (Beheshti *et al.*, 2015), *Pseudomonas aeruginosa* (Zhang *et al.*, 2013) e *Salmonella* spp. (Turki *et al.*, 2012). Além do controle de *Aeromonas* spp. e *Escherichia coli* resistentes a antibióticos (Pallavali *et al.*, 2023) e controle de biofilmes (Zhang *et al.*, 2013). Além disso, eles podem ser aplicados para evitar a formação de espuma, promovida pela ação de bactérias filamentosas como *Haliscomenobacter hydrossis*, *Gordonia* e *Nocardia*, ao longo do sistema de lodo ativado (Li *et al.*, 2015; Petrovski *et al.*, 2022).

3.3.3 Aplicação em processos agrícolas

3.3.3.1 Controle de doenças bacterianas em plantas

Em plantas, os principais patógenos encontrados são parasitas e nematoides, fungos, vírus, bactérias e oomicetos. Dentre esses, os mais relevantes abrangem os gêneros *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Xylella*, *Pectobacterium* e *Dickeya* (Mansfield *et al.*, 2012).

Ao longo dos anos, o surgimento de pragas e patógenos resistentes a biocidas tem aumentado e despertou um interesse crescente no uso de bacteriófagos como agentes de biocontrole dentro do manejo integrado de pragas (Gill & Hyman, 2010).

Em 1924, Mallmann e Hemstreet descreveram a aplicação de “substâncias líticas e inibitórias” encontradas em associação a patógenos vegetais responsáveis pela “podridão mole do repolho” (Mallmann & Hemstreet, 1924). Em 1925, Kotila e Coons utilizaram bacteriófagos provenientes do solo para inibir o crescimento do agente associado à “doença da canela preta na batata”, nomeado *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (Coons & Kotila, 1925). Já em 1935, trataram sementes de milho afetadas pelo patógeno *Pantoea stewartii* fagos isolados de plantas doentes, com redução na incidência da doença de 18% (sem tratamento) para 1,4% (com fagos) (Civerolo & Keil, 1969). Desde então, os fagos são utilizados no controle de diversos fitopatógenos como *Xanthomonas* spp. (Balogh *et al.*, 2003), *Pseudomonas* spp. (Frampton *et al.*, 2014), *Erwinia* spp. (Gill & Hyman, 2010), *Ralstonia* spp. (Fujiwara *et al.*, 2011) e *Dickeya solani* (Adriaenssens *et al.*, 2012).

3.3.4 Aplicação na pecuária e aquicultura

3.3.4.1 Prevenção de doenças infecciosas/bactérias zoonóticas

A indústria agropecuária desempenha um papel crucial no surgimento de bactérias multirresistentes, visto que em países desenvolvidos, a pecuária é responsável por cerca de 50–80% do uso total de antibióticos (Gigante & Atterbury, 2019).

Para reduzir as consequências relacionadas a resistência a antimicrobianos, a terapia fágica mostra-se uma ferramenta promissora e tem sido aplicada frente a diversas bactérias patogênicas em animais de produção (Ferriol-González & Domingo-Calap, 2021).

Diversos estudos avaliaram a utilização de fagos ou coquetéis fágicos para o controle ou tratamento de *Salmonella* spp. em frangos de corte e postura (Ahmadi *et al.*, 2016) e em suínos (Saez *et al.*, 2011). Outros estudos utilizaram fagos ou coquetéis fágicos em diferentes formas de

administração visando a prevenção ou o tratamento de infecções causadas por *Escherichia coli* em frangos de corte, aves de postura, bezerros, leitões, cordeiros e suínos (Huff *et al.*, 2002; Huff *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2010; Smith & Huggins, 1983; Yan *et al.*, 2012).

A aplicação de bacteriófagos também foi descrita visando o controle de diversas bactérias em diferentes espécies animais como *Campylobacter* spp. (D'Angelantonio *et al.*, 2021), *Clostridium perfringens* (Miller *et al.*, 2010) e *Staphylococcus aureus* (Ngassam-Tchamba *et al.*, 2020).

Além da aplicação na pecuária, nos últimos anos os fagos têm sido avaliados quanto ao seu potencial uso na aquicultura (Nokhwal *et al.*, 2023). Hoai *et al.* (2019) caracterizou três fagos líticos contra *Lactococcus garvieae*, um patógeno que acomete peixes marinhos (Hoai *et al.*, 2019). Outros trabalhos têm avaliado a utilização de diferentes fagos frente a diferentes espécies de *Vibrio* spp. de importância na aquicultura (Hu *et al.*, 2021), além da aplicação de coquetéis fágicos (Chen *et al.*, 2019).

3.4 Soluções biotecnológicas para controle de bactérias em alimentos

3.4.1 Controle de patógenos em alimentos

A presença de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Bacillus* spp., *Yersinia* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Vibrio cholera* em ambientes de produção constitui uma preocupação permanente, uma vez que esses agentes podem comprometer tanto a segurança alimentar quanto a saúde pública (Elbehiry *et al.*, 2023). Dessa forma, os fagos podem ser aplicados tanto em superfícies de processamento quanto nos alimentos diretamente.

A aplicação de bacteriófagos em superfícies de processamento pode ser realizada por meio da incorporação de fagos em soluções desinfetantes aplicadas diretamente nas superfícies, incluindo mesas de corte, equipamentos e utensílios, para controlar diferentes bactérias patogênicas, incluindo *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* O145:H25 e *Listeria monocytogenes* (Arachchi *et al.*, 2013, Gvaladze *et al.*, 2024, Wang *et al.*, 2020).

O uso de bacteriófagos também pode visar diferentes alimentos, incluindo frutas, legumes, verduras, carnes ou produtos prontos para o consumo. A aplicação pode ser realizada tanto durante o processo de produção quanto no produto final diretamente em sua superfície. Tabla *et al.* (2022) avaliaram a eficácia de um coquetel fágico adicionando-o ao leite antes da produção do queijo. Os resultados demonstraram uma redução significativa na presença de *Escherichia coli* durante o período de fermentação. Além disso, a aplicação não ocasionou alterações nos aspectos sensoriais do produto final (Tabla *et al.*, 2022).

Já em carnes, estudos demonstram a eliminação de *Salmonella* utilizando bacteriófagos (Almutairi *et al.*, 2022; Volpi *et al.*, 2023). Além da eficácia de coquetéis fágicos combinados com agentes bacteriostáticos, como ácido propiônico e embalagem com atmosfera modificada, para controle bacteriano (Pelyuntha & Vongkamjan, 2023).

3.4.2 Biofilmes de embalagens antimicrobianas

Os biofilmes de embalagens antimicrobianas são embalagens poliméricas que incorporam

bacteriófagos como agentes antimicrobianos, desempenhando um papel na redução do crescimento de bactérias patogênicas e de microrganismos que contribuem para a deterioração dos alimentos. Esses materiais não apenas aumentam o tempo de prateleira dos produtos, mas também atuam como barreiras de proteção ativa (Chawla *et al.*, 2021).

Dado o contato direto com os alimentos, essas embalagens devem ser comestíveis e compostas por materiais seguros. Os polímeros utilizados podem incluir polissacarídeos, lipídios e proteínas como *whey*, gelatina, queratina, colágeno, glúten e proteína de soja, além de combinações entre diferentes moléculas para aprimorar suas propriedades funcionais (García-Anaya *et al.*, 2023).

Alguns estudos presentes na literatura já avaliaram a aplicação de bacteriófagos ou coquetéis fágicos em diferentes materiais de embalagem para produtos de origem animal, frutas e verduras, contra os principais patógenos alimentares como *Salmonella* spp. (Gouvêa *et al.*, 2016), *Escherichia coli* (Cui *et al.*, 2022; Lone *et al.*, 2016), *Listeria monocytogenes* (Lone *et al.*, 2016), *Vibrio parahemolítico* (Kalkan, 2018), *Pseudomonas fluorescens* (Alves *et al.*, 2019).

3.4.3 Biossensores para detecção de bactérias patogênicas

O método convencional de identificação de bactérias baseado em isolamento por cultura, apesar de altamente sensível, mostra-se laborioso. Dessa forma, os bacteriófagos representam uma alternativa para a detecção rápida de bactérias quando aplicados como biossensores.

Atualmente, diversos biossensores baseados em bacteriófagos foram desenvolvidos, incorporando uma variedade de transdutores, como por exemplo, eletroquímicos, microbalanças de cristal de quartzo (QCM), ressonância plasmônica de superfície (SPR) e magnetoelásticos. A maioria desses dispositivos utiliza fagos inteiros ou suas proteínas, além de marcadores citoplasmáticos liberados após a infecção viral.

Um estudo desenvolveu um sensor de bioluminescência com o fago repórter SPC32H-CDABE, capaz de detectar *Salmonella* em leite, alface e carne de porco (Kim *et al.*, 2014). Tolba *et al.* (2012) usaram um biossensor eletroquímico com hidrolases de parede celular de fagos para detectar *Listeria* no leite. Outros biossensores, como os micromecânicos, também foram aplicados para detectar *Salmonella Typhimurium* em frutas, verduras e carne de frango (Chen *et al.*, 2017; Mack *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017).

A Figura 1 sumariza as principais aplicações de bacteriófagos no ambiente e nos alimentos abordadas neste capítulo.

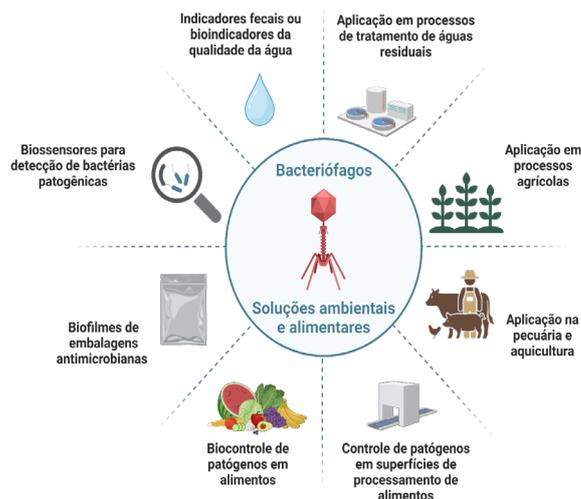


Figura 1. Potenciais aplicações dos bacteriófagos no ambiente e na cadeia produtiva de alimentos.

3.5 Diretrizes regulatórias existentes para uso dos bacteriófagos

Não há diretrizes regulatórias universais para todas as aplicações de bacteriófagos. Na terapia fágica, a regulamentação é mais avançada nos países que investem no desenvolvimento desses produtos (Ajose *et al.*, 2024). A Europa Oriental, que usa terapia fágica desde sua descoberta, possui regulamentações clínicas específicas, como as Diretivas 2005/28/CE e 2001/20/CE na Polônia, atualizadas pela nova legislação da Agência Europeia de Medicamentos (Yang *et al.*, 2023). Nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) autoriza o uso de fagos em infecções resistentes a antibióticos mediante uma *emergency Investigational New Drug* (eIND) e controla um centro de terapia fágica em San Diego (Karn *et al.*, 2023).

Na indústria alimentícia e na agricultura, a FDA aprovou produtos para controle de contaminação alimentar e prevenção de infecções, como *EcoShield™*, *Secure Shield E1*, *PhageGuard E.*, e *EcoShield PX™*, seguindo a lei *Federal Food, Drug, and Cosmetic Act* (FD&C) (Vikram *et al.*, 2021). Outros países, como Israel, Canadá, Austrália e Nova Zelândia, também aprovam bacteriófagos para segurança alimentar, enquanto a União Europeia, sem regulamentação específica, permite o uso de produtos como *Listex™* P100 para controlar *Listeria* em alimentos (Pinto *et al.*, 2020).

3.6 Principais limitações no uso dos bacteriófagos

Embora os bacteriófagos ofereçam aplicações promissoras em áreas alimentares e ambientais, existem limitações e desafios em seu uso. A aplicação no ambiente exige altas dosagens, e o uso de fagos polivalentes pode impactar negativamente bactérias benéficas (Jassim *et al.*, 2016). Além disso, a transdução mediada por fagos pode disseminar genes de resistência a antibióticos entre bactérias (Liao *et al.*, 2024), e adaptações bacterianas podem levar à resistência contra infecções fágicas (Watson *et al.*, 2021). Para mitigar essas limitações, estratégias como coquetéis fágicos ajudam a reduzir a adaptação bacteriana, e a caracterização molecular dos fagos evita a disseminação de genes de resistência e o impacto em bactérias benéficas (ver capítulo 2). Testes específicos, incluindo tempo de exposição e dosagem mínima, são essenciais para uma aplicação segura (Agboluaje & Sauvageau, 2018). Além disso, a engenharia molecular permite remover genes tóxicos, aumentar a estabilidade

viral e ajustar a gama de hospedeiros (Eghbalpoor *et al.*, 2024).

Apesar dos desafios, os bacteriófagos permanecem uma abordagem relevante para combater bactérias resistentes, controlar patógenos e equilibrar ecossistemas. Compreender bem as interações entre fagos e hospedeiros é crucial para minimizar impactos negativos em alimentos e no ambiente (Rogovski *et al.*, 2021).

3.7 Conclusão

Os bacteriófagos se apresentam como uma solução inovadora e multifacetada para o controle microbiano em diversos contextos, desde o tratamento de águas residuais até a segurança alimentar. Sua versatilidade e eficácia os posicionam como um campo de pesquisa promissor, com potencial para enfrentar desafios atuais em saúde pública e gestão ambiental. O futuro da pesquisa em bacteriófagos promete avanços significativos na compreensão e aplicação desses agentes em benefício da sociedade e do meio ambiente.

Referências

Abedon, S. T., Danis-Wlodarczyk, K. M. & Wozniak, D. J. (2021). Phage Cocktail Development for Bacteriophage Therapy: Toward Improving Spectrum of Activity Breadth and Depth. *Pharmaceuticals*, 14(10), 1019. <https://doi.org/10.3390/ph14101019>

Abedon, S. T., Kuhl, S. J., Blasdel, B. G. & Kutter, E. M. (2011). Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*, 1(2), 66. <https://doi.org/10.4161/BACT.1.2.15845>

Adriaenssens, E. M., Van Vaerenbergh, J., Vandenneuvel, D., Dunon, V., Ceysens, P.-J., De Proft, M., Kropinski, A. M., Noben, J.-P., Maes, M. & Lavigne, R. (2012). T4-Related Bacteriophage LIMEstone Isolates for the Control of Soft Rot on Potato Caused by ‘*Dickeya solani*’. *PLoS ONE*, 7(3), e33227. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033227>

Agboluaje, M. & Sauvageau, D. (2018). *Bacteriophage Production in Bioreactors* (p. 173–193). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7395-8_15

Ahmadi, M., Karimi Torshizi, M. A., Rahimi, S. & Dennehy, J. J. (2016). Prophylactic Bacteriophage Administration More Effective than Post-infection Administration in Reducing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis Shedding in Quail. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01253>

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>

Almutairi, M., Imam, M., Alammari, N., Hafiz, R., Patel, F. & Alajel, S. (2022). Using Phages to Reduce *Salmonella* Prevalence in Chicken Meat: A Systematic Review. *PHAGE*, 3(1), 15–27. <https://doi.org/10.1186/s42522-022-00115-7>

doi.org/10.1089/phage.2021.0017

Alves, D., Marques, A., Milho, C., Costa, M. J., Pastrana, L. M., Cerqueira, M. A. & Sillankorva, S. M. (2019). Bacteriophage ϕ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 291, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.026>

Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Obradovic, A., King, P. & Jackson, L. E. (2003). Improved Efficacy of Newly Formulated Bacteriophages for Management of Bacterial Spot on Tomato. *Plant Disease*, 87(8), 949–954. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.8.94>

Beheshti Maal, K., Delfan, A. S. & Salmanizadeh, S. (2015). Isolation and Identification of Two Novel *Escherichia coli* Bacteriophages and Their Application in Wastewater Treatment and Coliform's Phage Therapy. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(3), e14945. <https://doi.org/10.5812/JJM.14945>

Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., de Meester, E. D. & Loessner, M. J. (2005). Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 43(3), 301–312. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.08.005>

Chanishvili, N. (2012). Phage therapy--history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Advances in virus research*, 83, 3–40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00001-3>

Chawla, R., Sivakumar, S. & Kaur, H. (2021). Antimicrobial edible films in food packaging: Current scenario and recent nanotechnological advancements- a review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100024. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2020.100024>

Chen, I.-H., Horikawa, S., Bryant, K., Riggs, R., Chin, B. A. & Barbaree, J. M. (2017). Bacterial assessment of phage magnetoelastic sensors for *Salmonella enterica* Typhimurium detection in chicken meat. *Food Control*, 71, 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.003>

Chen, L., Fan, J., Yan, T., Liu, Q., Yuan, S., Zhang, H., Yang, J., Deng, D., Huang, S. & Ma, Y. (2019). Isolation and Characterization of Specific Phages to Prepare a Cocktail Preventing *Vibrio* sp. Va-F3 Infections in Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02337>

Civerolo, E. L. & Keil, H. L. (1969). Inhibition of bacterial spot of peach foliage by *Xanthomonas pruni* bacteriophage. *Phytopathology*, 59, 1966–1967.

Coons, G. H. & Kotila, J. E. (1925). The transmissible lytic principle (bacteriophage) in relation to

plant pathogens. . *Phytopathology*, 15, 357–370.

Correa, A. M. S., Howard-Varona, C., Coy, S. R., Buchan, A., Sullivan, M. B. & Weitz, J. S. (2021). Revisiting the rules of life for viruses of microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, 19(8), 501–513. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00530-x>

Cui, H., Yang, X., Li, C., Ye, Y., Chen, X. & Lin, L. (2022). Enhancing anti-*Escherichia coli* O157:H7 activity of composite phage nanofiber film by D-phenylalanine for food packaging. *International Journal of Food Microbiology*, 376, 109762. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109762>

D'Angelantonio, D., Scattolini, S., Boni, A., Neri, D., Di Serafino, G., Connerton, P., Connerton, I., Pomilio, F., Di Giannatale, E., Migliorati, G. & Aprea, G. (2021). Bacteriophage Therapy to Reduce Colonization of *Campylobacter jejuni* in Broiler Chickens before Slaughter. *Viruses*, 13(8), 1428. <https://doi.org/10.3390/v13081428>

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>

Eghbalpoor, F., Gorji, M., Alavigh, M. Z. & Moghadam, M. T. (2024). Genetically engineered phages and engineered phage-derived enzymes to destroy biofilms of antibiotics resistance bacteria. *Heliyon*, 10(15). <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E35666/ASSET/A607843B-07C7-4683-AED5-BE388BF0670E/MAIN.ASSETS/GR2.JPG>

Elbehiry, A., Abalkhail, A., Marzouk, E., Elmanssury, A. E., Almuzaini, A. M., Alfheaid, H., Alshahrani, M. T., Huraysh, N., Ibrahim, M., Alzaben, F., Alanazi, F., Alzaben, M., Anagreyah, S. A., Bayameen, A. M., Draz, A. & Abu-Okail, A. (2023). An Overview of the Public Health Challenges in Diagnosing and Controlling Human Foodborne Pathogens. *Vaccines*, 11(4), 725. <https://doi.org/10.3390/vaccines11040725>

Elois, M. A., Silva, R. da, Pilati, G. V. T., Rodríguez-Lázaro, D. & Fongaro, G. (2023). Bacteriophages as Biotechnological Tools. *Viruses*, 15(2), 349. <https://doi.org/10.3390/v15020349>

Fernandes, E., Martins, V. C., Nóbrega, C., Carvalho, C. M., Cardoso, F. A., Cardoso, S., Dias, J., Deng, D., Kluskens, L. D., Freitas, P. P. & Azeredo, J. (2014). A bacteriophage detection tool for viability assessment of *Salmonella* cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 239–246. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2013.08.053>

Ferriol-González, C. & Domingo-Calap, P. (2021). Phage Therapy in Livestock and Companion Animals. *Antibiotics*, 10(5), 559. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050559>

- Frampton, R. A., Taylor, C., Holguín Moreno, A. V., Visnovsky, S. B., Petty, N. K., Pitman, A. R. & Fineran, P. C. (2014). Identification of Bacteriophages for Biocontrol of the Kiwifruit Canker Phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(7), 2216–2228. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-14>
- Fujiwara, A., Fujisawa, M., Hamasaki, R., Kawasaki, T., Fujie, M. & Yamada, T. (2011). Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by Treatment with Lytic Bacteriophages. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(12), 4155–4162. <https://doi.org/10.1128/AEM.02847-10>
- Ganegama Arachchi, G. J., Cridge, A. G., Dias-Wanigasekera, B. M., Cruz, C. D., McIntyre, L., Liu, R., Flint, S. H. & Mutukumira, A. N. (2013). Effectiveness of phages in the decontamination of *Listeria monocytogenes* adhered to clean stainless steel, stainless steel coated with fish protein, and as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *40*(10), 1105–1116. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1313-3>
- García-Anaya, M. C., Sepulveda, D. R., Zamudio-Flores, P. B. & Acosta-Muñiz, C. H. (2023). Bacteriophages as additives in edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, *132*, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.01.008>
- Gigante, A. & Atterbury, R. J. (2019). Veterinary use of bacteriophage therapy in intensively-reared livestock. *Virology Journal*, *16*(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1260-3>
- Gill, J. & Hyman, P. (2010). Phage Choice, Isolation, and Preparation for Phage Therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *11*(1), 2–14. <https://doi.org/10.2174/138920110790725311>
- Gouvêa, D. M., Mendonça, R. C. S., Lopez, M. E. S. & Batalha, L. S. (2016). Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. *LWT - Food Science and Technology*, *67*, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.043>
- 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*, 583997. <https://doi.org/10.1101/583997>
- Gvaladze, T., Lehnerr, H. & Hertwig, S. (2024). A bacteriophage cocktail can efficiently reduce five important *Salmonella* serotypes both on chicken skin and stainless steel. *Frontiers in Microbiology*, *15*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1354696>
- Hoai, T. D., Nishiki, I., Fujiwara, A., Yoshida, T. & Nakai, T. (2019). Comparative genomic analysis of three lytic *Lactococcus garvieae* phages, novel phages with genome architecture linking the 936 phage species of *Lactococcus lactis*. *Marine Genomics*, *48*, 100696. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.100696>

- Holcomb, D. A. & Stewart, J. R. (2020). Microbial Indicators of Fecal Pollution: Recent Progress and Challenges in Assessing Water Quality. *Current Environmental Health Reports*, 7(3), 311. <https://doi.org/10.1007/S40572-020-00278-1>
- Hu, Z., Chen, X., Chen, W., Li, P., Bao, C., Zhu, L., Zhang, H., Dong, C. & Zhang, W. (2021). Siphoviridae phage PH669 capable of lysing some strains of O3 and O4 serotypes in *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 545, 737192. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737192>
- Huang, Z., Zhang, Z., Tong, J., Malakar, P. K., Chen, L., Liu, H., Pan, Y. & Zhao, Y. (2021). Phages and their lysins: Toolkits in the battle against foodborne pathogens in the postantibiotic era. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3319–3343. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12757>
- Huff, W. E., Huff, G. R., Rath, N. C., Balog, J. M., Xie, H., Moore, P. A. & Donoghue, A. M. (2002). Prevention of *Escherichia coli* Respiratory Infection in Broiler Chickens with Bacteriophage (SPR02). *Poultry Science*, 81(4), 437–441. <https://doi.org/10.1093/ps/81.4.437>
- Huff, W., Huff, G., Rath, N., Balog, J. & Donoghue, A. (2003). Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an *Escherichia coli* respiratory infection. *Poultry Science*, 82(7), 1108–1112. <https://doi.org/10.1093/ps/82.7.1108>
- Jassim, S. A. A., Limoges, R. G. & El-Cheikh, H. (2016). Bacteriophage biocontrol in wastewater treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(4), 70. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2028-1>
- JE, K. & GH, C. (1925). Investigations on the blackleg disease of potato. *Michigan Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*, 67, 3–29.
- Kalkan, S. (2018). *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 inactivation by using methylcellulose films containing encapsulated bacteriophages. *TURKISH JOURNAL OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES*, 42(5), 480–485. <https://doi.org/10.3906/vet-1804-10>
- Karn, S. L., Gangwar, M., Kumar, R., Bhartiya, S. K. & Nath, G. (2023). Phage therapy: a revolutionary shift in the management of bacterial infections, pioneering new horizons in clinical practice, and reimagining the arsenal against microbial pathogens. *Frontiers in Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1209782>
- Kim, S., Kim, M. & Ryu, S. (2014). Development of an Engineered Bioluminescent Reporter Phage for the Sensitive Detection of Viable *Salmonella typhimurium*. *Analytical Chemistry*, 86(12), 5858–5864. <https://doi.org/10.1021/ac500645c>

- Knecht, L. E., Veljkovic, M. & Fieseler, L. (2020). Diversity and Function of Phage Encoded Depolymerases. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 502215. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.02949/BIBTEX>
- Korajkic, A., McMinn, B. R. & Harwood, V. J. (2018). Relationships between Microbial Indicators and Pathogens in Recreational Water Settings. *International journal of environmental research and public health*, *15*(12). <https://doi.org/10.3390/IJERPH15122842>
- Kott, Y., Roze, N., Sperber, S. & Betzer, N. (1974). Bacteriophages as viral pollution indicators. *Water Research*, *8*(3), 165–171. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(74\)90039-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(74)90039-6)
- Li, B., Ju, F., Cai, L. & Zhang, T. (2015). Profile and Fate of Bacterial Pathogens in Sewage Treatment Plants Revealed by High-Throughput Metagenomic Approach. *Environmental Science and Technology*, *49*(17), 10492–10502. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.5B02345/ASSET/IMAGES/LARGE/ES-2015-02345F_0004.JPEG
- Liao, H., Liu, C., Zhou, S., Liu, C., Eldridge, D. J., Ai, C., Wilhelm, S. W., Singh, B. K., Liang, X., Radosevich, M., Yang, Q. E., Tang, X., Wei, Z., Friman, V. P., Gillings, M., Delgado-Baquerizo, M. & Zhu, Y. G. (2024). Prophage-encoded antibiotic resistance genes are enriched in human-impacted environments. *Nature Communications* *2024 15:1*, *15*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52450-y>
- Lone, A., Anany, H., Hakeem, M., Aguis, L., Avdjian, A.-C., Bouget, M., Atashi, A., Brovko, L., Rochefort, D. & Griffiths, M. W. (2016). Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods. *International Journal of Food Microbiology*, *217*, 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.011>
- Mack, J. D., Yehualaeshet, T., Park, M., Tameru, B., Samuel, T. & Chin, B. A. (2017). Phage-Based Biosensor and Optimization of Surface Blocking Agents to Detect *Salmonella Typhimurium* on Romaine Lettuce. *Journal of Food Safety*, *37*(2). <https://doi.org/10.1111/jfs.12299>
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A., Toth, I., Salmond, G. & Foster, G. D. (2012). Top 10 Plant Pathogenic Bacteria In Molecular Plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *13*(6), 614–629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
- Martín-Díaz, J., Lucena, F., Blanch, A. R. & Jofre, J. (2020). Review: Indicator bacteriophages in sludge, biosolids, sediments and soils. *Environmental Research*, *182*, 109133. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109133>

- McMinn, B. R., Ashbolt, N. J. & Korajkic, A. (2017). Bacteriophages as indicators of fecal pollution and enteric virus removal. *Letters in applied microbiology*, 65(1), 11. <https://doi.org/10.1111/LAM.12736>
- Miller, R. W., Skinner, J., Sulakvelidze, A., Mathis, G. F. & Hofacre, C. L. (2010). Bacteriophage Therapy for Control of Necrotic Enteritis of Broiler Chickens Experimentally Infected with *Clostridium perfringens*. *Avian Diseases*, 54(1), 33–40. <https://doi.org/10.1637/8953-060509-Reg.1>
- Moye, Z. D., Woolston, J. & Sulakvelidze, A. (2018). Bacteriophage Applications for Food Production and Processing. *Viruses*, 10(4), 205. <https://doi.org/10.3390/v10040205>
- Naureen, Z., Dautaj, A., Anpilogov, K., Camilleri, G., Dhuli, K., Tanzi, B., Maltese, P. E., Cristofoli, F., Antoni, L. De, Beccari, T., Dundar, M. & Bertelli, M. (2020). Bacteriophages presence in nature and their role in the natural selection of bacterial populations. *Acta Biomedica*, 91(13), 1–13.
- Ngassam-Tchamba, C., Duprez, J. N., Fergestad, M., De Visscher, A., L’Abee-Lund, T., De Vlieghe, S., Wasteson, Y., Touzain, F., Blanchard, Y., Lavigne, R., Chanishvili, N., Cassart, D., Mainil, J. & Thiry, D. (2020). In vitro and in vivo assessment of phage therapy against *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 762–770. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.06.020>
- Ngu, N., Phuong, L., Anh, L., Loc, H., Tam, N., Huan, P., Diep, T. & Kamei, K. (2022). The Efficiency of Bacteriophages Against *Salmonella typhimurium* Infection in Native Noi Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 24(3). <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2021-1561>
- Nokhwal, A., Anand, T., Ravikant & Vaid, R. K. (2023). Bacteriophage therapy: an emerging paradigm in fish disease management. *Aquaculture International*, 31(2), 777–805. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-01001-7>
- Oliveira, A., Sereno, R. & Azeredo, J. (2010). In vivo efficiency evaluation of a phage cocktail in controlling severe colibacillosis in confined conditions and experimental poultry houses. *Veterinary Microbiology*, 146(3–4), 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.015>
- Pallavali, R., Shin, D. & Choi, J. (2023). Phage-Based Biocontrol of Antibiotic-Resistant Bacterium Isolated from Livestock Wastewater Treatment Plant. *Water* 2023, Vol. 15, Page 1616, 15(8), 1616. <https://doi.org/10.3390/W15081616>
- Pelyuntha, W. & Vongkamjan, K. (2023). Control of *Salmonella* in Chicken Meat by a Phage Cocktail in Combination with Propionic Acid and Modified Atmosphere Packaging. *Foods*, 12(22), 4181. <https://doi.org/10.3390/foods12224181>

- Perros, M. (2015). A sustainable model for antibiotics. *Science*, 347(6226), 1062–1064. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAA3048/ASSET/C2CEE29B-61A6-45BF-8E3C-E04A201A6D50/ASSETS/GRAPHIC/347_1062_F3.JPEG
- Petrovski, S., Batinovic, S., Rose, J. J. A. & Seviour, R. J. (2022). Biological control of problematic bacterial populations causing foaming in activated sludge wastewater treatment plants—phage therapy and beyond. *Letters in Applied Microbiology*, 75(4), 776–784. <https://doi.org/10.1111/LAM.13742>
- Pinto, G., Almeida, C. & Azeredo, J. (2020). Bacteriophages to control Shiga toxin-producing *Escherichia coli* – safety and regulatory challenges. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(8), 1081–1097. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1805719>
- Puxty, R. J. & Millard, A. D. (2023). Functional ecology of bacteriophages in the environment. *Current Opinion in Microbiology*, 71, 102245. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102245>
- Ragab, S., Mustafa, M. K., Hassan, Y. Y., Nasr, A., Hady, B. H. A. El & El-Shibiny, A. (2024). Potential use of bacteriophages as biocontrol agents against multidrug-resistant pathogens in wastewater treatment: a review. *Environmental Sustainability 2024 7:3*, 7(3), 287–302. <https://doi.org/10.1007/S42398-024-00322-Y>
- Rogovski, P., Cadamuro, R. D., da Silva, R., de Souza, E. B., Bonatto, C., Viancelli, A., Michelon, W., Elmahdy, E. M., Treichel, H., Rodríguez-Lázaro, D. & Fongaro, G. (2021). Uses of Bacteriophages as Bacterial Control Tools and Environmental Safety Indicators. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.793135>
- Saez, A. C., Zhang, J., Rostagno, M. H. & Ebner, P. D. (2011). Direct Feeding of Microencapsulated Bacteriophages to Reduce *Salmonella* Colonization in Pigs. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(12), 1269–1274. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.0905>
- Santiago-Rodríguez, T. M., Marcos, P., Monteiro, S., Urdaneta, M., Santos, R. & Toranzos, G. A. (2013). Evaluation of Enterococcus-infecting phages as indices of fecal pollution. *Journal of water and health*, 11(1), 51–63. <https://doi.org/10.2166/WH.2012.100>
- Sarrami, Z., Sedghi, M., Mohammadi, I., Bedford, M., Miranzadeh, H. & Ghasemi, R. (2023). Effects of bacteriophage on *Salmonella enteritidis* infection in broilers. *Scientific Reports*, 13(1), 12198. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38791-6>
- Singh, A., Poshtiban, S. & Evoy, S. (2013). Recent Advances in Bacteriophage Based Biosensors for Food-Borne Pathogen Detection. *Sensors*, 13(2), 1763–1786. <https://doi.org/10.3390/s130201763>
- Sklar, I. B. & Joerger, R. D. (2001). Attempts to utilize bacteriophage to combat *Salmonella*

enterica serovar entemtidis infection in chickens. *Journal of Food Safety*, 21(1), 15–29. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2001.tb00305.x>

Smith, H. W. & Huggins, M. B. (1983). Effectiveness of Phages in Treating Experimental *Escherichia coli* Diarrhoea in Calves, Piglets and Lambs. *Microbiology*, 129(8), 2659–2675. <https://doi.org/10.1099/00221287-129-8-2659>

Smith, H., Huggins, M. B. & Shaw, K. M. (1987). Factors influencing the survival and multiplication of bacteriophages in calves and in their environment. *Journal of General Microbiology*, 133(5), 1127–1135. <https://doi.org/10.1099/00221287-133-5-1127/CITE/REFWORKS>

Tabla, R., Gómez, A., Rebollo, J. E., Molina, F. & Roa, I. (2022). Effectiveness of a bacteriophage cocktail in reducing cheese early blowing caused by *Escherichia coli*. *LWT*, 153, 112430. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112430>

Tolba, M., Ahmed, M. U., Tlili, C., Eichenseher, F., Loessner, M. J. & Zourob, M. (2012). A bacteriophage endolysin-based electrochemical impedance biosensor for the rapid detection of *Listeria* cells. *The Analyst*, 137(24), 5749. <https://doi.org/10.1039/c2an35988j>

Toro, H., Price, S. B., McKee, S., Hoerr, F. J., Krehling, J., Perdue, M. & Bauermeister, L. (2005). Use of Bacteriophages in Combination with Competitive Exclusion to Reduce *Salmonella* from Infected Chickens. *Avian Diseases*, 49(1), 118–124. <https://doi.org/10.1637/7286-100404R>

Turki, Y., Ouzari, H., Mehri, I., Ammar, A. Ben & Hassen, A. (2012). Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for the biocontrol of *Salmonella* of wastewater. *Food Research International*, 45(2), 1099–1105. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.05.041>

Venegas, C., Diez, H., Blanch, A. R., Jofre, J. & Campos, C. (2015). Microbial source markers assessment in the Bogotá River basin (Colombia). *Journal of water and health*, 13(3), 801–810. <https://doi.org/10.2166/WH.2015.240>

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>

Volpi, M., Gambino, M., Kirkeby, K., Elsser-Gravesen, A. & Brøndsted, L. (2023). Full-scale industrial phage trial targeting *Salmonella* on pork carcasses. *Food Microbiology*, 112, 104240. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104240>

Wang, C., Hang, H., Zhou, S., Niu, Y. D., Du, H., Stanford, K. & McAllister, T. A. (2020). Bacteriophage biocontrol of Shiga toxigenic *Escherichia coli* (STEC) O145 biofilms on stainless steel reduces the

contamination of beef. *Food Microbiology*, 92, 103572. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103572>

Wang, F., Horikawa, S., Hu, J., Wikle, H., Chen, I.-H., Du, S., Liu, Y. & Chin, B. (2017). Detection of *Salmonella typhimurium* on Spinach Using Phage-Based Magnetoelastic Biosensors. *Sensors*, 17(2), 386. <https://doi.org/10.3390/s17020386>

Watson, B. N. J., Steens, J. A., Staals, R. H. J., Westra, E. R. & van Houte, S. (2021). Coevolution between bacterial CRISPR-Cas systems and their bacteriophages. *Cell host & microbe*, 29(5), 715–725. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2021.03.018>

WL Mallmann & C. Hemstreet. (1924). Isolation of an inhibitory substance from plants. *Journal of Agricultural Research*, 28, 599–602.

Yan, L., Hong, S. M. & Kim, I. H. (2012). Effect of Bacteriophage Supplementation on the Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Characteristics, and Fecal Microbial Shedding in Growing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(10), 1451–1456. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12253>

Yang, Q., Le, S., Zhu, T. & Wu, N. (2023). Regulations of phage therapy across the world. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1250848>

Zhang, Y., Hunt, H. K. & Hu, Z. (2013). Application of bacteriophages to selectively remove *Pseudomonas aeruginosa* in water and wastewater filtration systems. *Water Research*, 47(13), 4507–4518. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2013.05.014>