
Fagoterapia na prevenção de doenças crônicas orais relacionadas a biofilmes: uma revisão de literatura

Phage therapy for the prevention of chronic oral diseases associated with biofilms: a literature review

Fagoterapia para la prevención de enfermedades crónicas orales relacionadas con biofilms: una revisión de literatura

Rodrigo de Castro Mendes

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7579-5632>

Aluno de especialização em Periodontia

Faculdade FACSETE

Sérgio Lobo

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5901-076X>

Centro Universitário de Volta Redonda, Brasil

E-mail: sergio.lobo@foa.org.br

Sérgio Barbosa

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0527-3967>

Centro Universitário de Volta Redonda, Brasil

E-mail: sergio.ribeiro@foa.org.br

Fernando dos Reis Cury

ORCID: <http://orcid.org/0009-0000-94782127>

Centro Universitário de Volta Redonda, Brasil

E-mail: fernando.cury@foa.org.br

Luis Fernando Castro Valle

ORCID: <http://orcid.org/0009-0002-2792-5081>

Centro Universitário de Volta Redonda, Brasil

E-mail: luis.valle@foa.org.br

Resumo

A fagoterapia é uma terapia que utiliza bacteriófagos – vírus especializados em infectar bactérias específicas – para combater infecções bacterianas e tem demonstrado potencial promissor na periodontia. Os periodontopatógenos, como o *Porphyromonas gingivalis*, frequentemente associados a doenças periodontais, são caracterizados pela inflamação destrutiva nos tecidos de sustentação dos dentes. Os bacteriófagos podem ser uma alternativa eficaz aos tratamentos convencionais, como os antibióticos, por conta de sua especificidade ao destruir bactérias, tendo a vantagem de não impactar a microbiota saudável do hospedeiro, além de se apresentar como uma solução viável para o combate de biofilmes bacterianos, que são resistentes à maioria dos antibióticos.

Na periodontia, estudos sugerem que os bacteriófagos podem ser inseridos nas práticas odontológicas para tratar e prevenir infecções crônicas relacionadas aos biofilmes orais. A sua aplicação pode ser utilizada para equilibrar os microrganismos na cavidade oral, promovendo saúde periodontal a longo prazo. No entanto, ainda existem desafios na seleção de fagos específicos e o desenvolvimento de métodos de administração eficientes. A pesquisa contínua sobre a fagoterapia é importante para validar sua eficácia clínica e determinar protocolos de tratamento e prevenção adequados para a população.

Palavras-chave: Fagoterapia; Bacteriófagos; Periodontia; Biofilme Oral; Antibióticos.

Abstract

Phage therapy is a treatment that uses bacteriophages – viruses specialized in infecting specific bacteria – to combat bacterial infections and has demonstrated promising potential in periodontics. Periodontopathogens, such as *Porphyromonas gingivalis*, frequently associated with periodontal diseases, are characterized by destructive inflammation in the supporting tissues of the teeth. Bacteriophages can be an effective alternative to conventional treatments such as antibiotics due to their specificity in destroying bacteria. They have the added advantage of not impacting the host's healthy microbiota, in addition to presenting themselves as a viable solution for combating bacterial biofilms, which are resistant to most antibiotics.

In periodontics, studies suggest that bacteriophages can be integrated into dental practices to treat and prevent chronic infections related to oral biofilms. Their application can help balance the microorganisms in the oral cavity, thereby promoting long-term periodontal health. However, challenges still exist in selecting specific phages and developing efficient administration methods. Ongoing research on phage therapy is important to validate its clinical efficacy and to establish appropriate treatment and prevention protocols for the population.

Keywords: Phage therapy; Bacteriophages; Periodontics; Oral biofilm; Antibiotics.

Resumen

La fagoterapia es una terapia que utiliza bacteriófagos – virus especializados en infectar bacterias específicas – para combatir infecciones bacterianas y ha demostrado un potencial prometedor en la periodoncia. Los periodontopatógenos, como *Porphyromonas gingivalis*, frecuentemente asociados a enfermedades periodontales, se caracterizan por la inflamación destructiva en los tejidos de sostén de los dientes. Los bacteriófagos pueden ser una alternativa eficaz a los tratamientos convencionales, como los antibióticos, debido a su especificidad en la destrucción de bacterias. Tienen la ventaja de no impactar la microbiota saludable del huésped, además de presentarse como una solución viable para combatir los biofilms bacterianos, los cuales son resistentes a la mayoría de los antibióticos.

En la periodoncia, estudios sugieren que los bacteriófagos pueden integrarse en las prácticas odontológicas para tratar y prevenir infecciones crónicas relacionadas con los biofilms orales. Su aplicación puede utilizarse para equilibrar los microorganismos en la cavidad oral, promoviendo una salud periodontal a largo plazo. No obstante, aún existen desafíos en la selección de fagos específicos y en el desarrollo de métodos de administración eficientes. La investigación continua sobre la fagoterapia es importante para validar su eficacia clínica y establecer protocolos de tratamiento y prevención adecuados para la población.

Palabras clave: Fagoterapia; Bacteriófagos; Periodoncia; Biofilm oral; Antibiotics.

1. Introdução

Bacteriófagos são consideradas as entidades mais letais do planeta, além disso, em números, existem mais fagos do que todos os outros organismos somados, incluindo bactérias. São vírus que infectam bactérias, incapazes de infectar células eucariontes. (Clokje & Kropinski, 2009). Estima-se que até 40% de todas as bactérias do oceano são eliminadas por eles todos os dias (Suttle, C.A. 2007). Apesar disso, são vírus muito especializados, portanto cada tipo de fago infecta um tipo bacteriano. Essa característica pode ser uma vantagem em relação aos antibióticos, visto que eles podem ser utilizados para tratar a infecção sem causar danos colaterais ao eliminar nossa microbiota natural intestinal, por exemplo (Sulakvelidze et al., 2001).

As bactérias também podem desenvolver resistência aos fagos, assim como fazem com os antibióticos, mas por se tratar de um vírus, existe a coevolução entre essas duas espécies, e o vírus pode contornar essas resistências (Buckling & Rainey, 2002).

Mesmo que ocorra a resistência aos fagos, as bactérias renunciam à sua resistência ao antibiótico, de forma a termos novas possibilidades ao tratar da resistência bacteriana (Chan et al., 2016).

O biofilme é um dos principais precursores da periodontite e outras doenças orais. Trata-se de um aglomerado de bactérias organizadas, resistentes a antibióticos, que são controlados, principalmente de forma mecânica com a utilização da escova de dentes, fio dental e outros, a fim de desorganizar o biofilme.

O estudo de bacteriófagos ocorre em diversas áreas da medicina e agora na odontologia, principalmente na endodontia, mas já encontramos estudos voltados para o uso do bacteriófago no tratamento de biofilme oral, que pode ser uma forma de prevenção de doenças orais causadas pela placa bacteriana.

2. Metodologia

Este artigo se baseia na revisão da literatura, a respeito da utilização de bacteriófagos na odontologia, e mais especificamente na periodontia. Pesquisas feitas em bases de dados como Scielo e PubMed.

3. Revisão de Literatura

A microbiota oral é extremamente diversa, com mais de 700 espécies bacterianas, distribuídas entre os filos *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes* e *Spirochaetes* e os gêneros mais comuns incluem *Streptococcus* e *Veillonella*. Algumas espécies têm relação direta com doenças específicas, como *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*

(cárie), além de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, pertencentes ao “Complexo Vermelho” de Socransky (doença periodontal). Quando ocorre o desequilíbrio dessa microbiota, inclusive entre os organismos comensais, instala-se a chamada disbiose oral, um processo que favorece a proliferação de patógenos e está associado tanto a manifestações clínicas locais quanto a impactos sistêmicos. (VERMA et al., 2018)

O biofilme é uma comunidade de microrganismos, predominantemente bactérias, que aderem a superfícies biológicas e abióticas. Estes microrganismos estão envolvidos na patogênese de doenças crônicas, como, por exemplo, infecções associadas ao uso de catéteres, drenos e colocação de implantes (Akanda et al., 2018; Maszewska et al., 2018; Morris et al., 2019; Taha et al., 2018).

Trata-se de uma estrutura complexa que protege seus habitantes de diversos desafios ambientais como a fagocitose, antibióticos e agentes antimicrobianos. Além disso é capaz de nutrir e criar um ambiente favorável para bactérias anaeróbias nas camadas mais profundas, onde há menos oxigênio, que são mais frequentemente mais patogênicas para os tecidos de sustentação do dente, contribuindo assim para o desenvolvimento da doença periodontal (Flemmig & Beikler, 2011).

O biofilme é um abrigo para uma comunidade dinâmica de micróbios que interagem entre si. Os membros dessa comunidade se beneficiam de interações sinérgicas, como a co-agregação, o que permite a colonização, o compartilhamento de enzimas extracelulares, a alimentação cruzada e a proteção cruzada. A competição entre os microrganismos controla a sucessão ecológica e provoca segregação. Graças a proximidade entre células, há uma comunicação microbiana (quorum sensing) facilitada, o que corrobora com uma resposta sincronizada e abrangente da população do biofilme a uma mudança no ambiente (Sztajer et al., 2014).

Os periodontopatógenos, como o *Porphyromonas gingivalis*, desarmam de forma sinérgica os sistemas imunológicos do hospedeiro e induzem uma inflamação destrutiva nos tecidos ao redor de um dente. Fatores genéticos ou ambientais podem induzir um desequilíbrio microbiano, que prejudica o corpo do hospedeiro. O desenvolvimento dessa disbiose pode ocorrer de forma gradual ou rápida, frequentemente levando a uma inflamação crônica e destrutiva (Lamont e Hajishengallis, 2015).

O biofilme é caracterizado por uma atividade metabólica menor, de crescimento lento e com maior oportunidade de troca de genes de resistência a antibióticos (Akanda et al., 2018).

No biofilme, a comunidade de células bacterianas está incorporada em uma matriz autossintetizada de substâncias poliméricas extracelulares, composta por polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, que são estruturas caracterizadas por uma baixa suscetibilidade a antibióticos (Pires et al., 2017). Outra causa para o crescimento da resistência bacteriana do biofilme contra antibióticos pode ser o crescimento da densidade celular e mudanças fisiológicas que ocorrem ao longo do tempo (Mah e O'Toole, 2001).

Uma das barreiras para a destruição do biofilme é o EPS (exopolissacarídeo), um polímero que mantém as bactérias do biofilme unidas. As enzimas associadas aos bacteriófagos que são responsáveis pela degradação da matriz extracelular são principalmente as depolimerases, que podem ser separadas em hidrolases (utilizam a água, através da hidrólise para a quebra do EPS) e liases (através de um processo químico específico chamado reação de eliminação, que consiste na quebra através da reorganização da estrutura molecular do EPS) (Ferriol-González & Domingo-Calap, 2021).

Outras enzimas associadas aos fagos que participam do processo de destruição do biofilme são as endolisinas e lisinas, que hidrolisam os peptidoglicanos da parede, rompendo a integridade bacteriana após penetração, que podem ser usadas isoladamente ou combinada com depolimerases para uma ação sinérgica (Ferriol-González & Domingo-Calap, 2021).

As estratégias utilizadas pelos fagos para penetrar as camadas do biofilme consistem principalmente na própria estratégia de replicação do vírus, que ocorre ao infectar as bactérias mais externas, liberando as prógenies que alcançam camadas mais profundas. Além disso, outra estratégia é a utilização das depolimerases associadas a tail-spikes. Tail-spike é a estrutura proteica caudal dos bacteriófagos, que frequentemente possuem forte atividade enzimática (Harper et al., 2014; Liu et al., 2022).

A ação dos bacteriófagos é influenciada pela maturidade do biofilme, sendo distinta em fases iniciais e em biofilmes

consolidados. Em biofilmes em formação, as depolimerases evitam uma estruturação excessiva ao remover o EPS ainda incipiente (Amankwah et al., 2021). Nos biofilmes maduros, os bacteriófagos combinam enzimas e replicação para ativamente penetrar matrizes densas e infectar células posicionadas mais internamente. Os fagos líticos podem atingir inclusive as *persister cells*, células que se inativam e se tornam muito resistentes a ações antimicrobianas como antibióticos, reativando-as e provocando lise celular (Harper et al., 2014).

A utilização de bacteriófagos tem resultados promissores no combate de bactérias orais tanto em sua forma planctônica (livres, não aderida a um grupo na saliva) como no biofilme. No entanto, apenas uma fração pequena dos fagos disponíveis foi isolada e caracterizada. Bacteriófagos capazes de infectar células do biofilme oral (*Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus* spp., e *P. aeruginosa*), foram relatados e são relevantes para novos estudos acerca de estratégias para o enfrentamento de biofilmes e infecções na cavidade oral (SZAFRAŃSKI, WINKEL, STIESCH, 2017).

Baseado em descobertas recentes, a opção de aplicação dos fagos, bem como lisinas derivadas de fagos, para prevenção e eliminação de infecções relacionadas a biofilmes é promissora. Um ponto importante a se enfatizar é que o uso de um coquetel de fagos, em vez de fagos únicos, aumenta a destruição do biofilme e reduz o desenvolvimento de bactérias resistentes a fagos, especialmente em infecções do trato urinário relacionado a biofilmes. A associação da antibioticoterapia com a fagoterapia melhora a propriedade antibiofilme, e alguns desses antibióticos se demonstraram mais eficazes em doses mais baixas, nessa combinação. A sequência de uso dos antibióticos e fagos também é relevante, tendo a fagoterapia com primeira terapia para potencializar a destruição do biofilme. Foi observada uma maior destruição de células de biofilme na utilização das lisinas contra bactérias Gram-negativas em um estudo *in vivo* em comparação com um estudo *in vitro*. Essa combinação de lisinas e antibiótico aumenta a eliminação do biofilme. A antibioticoterapia antecedendo a terapia com a utilização de lisinas também aumenta essa destruição das células do biofilme. Mais estudos são necessários para determinar qual associação, e forma de administração mais eficaz na eliminação do biofilme (Łusiak-Szelachowska et al., 2020). Estudos *ex vivo* do tratamento do biofilme oral com um único fago demonstram uma redução maior do biofilme do que em estudos *in vitro* (Khalifa et al., 2015).

Os fagos de interesse na odontologia devem apresentar um ciclo de vida lítico, e não lisogênico. Ou seja: ao infectar a bactéria, rapidamente produz novos fagos e provoca a lise celular, sendo este um ciclo de vida mais favorável para o tratamento da infecção em comparação ao ciclo lisogênico, que é mais passivo, que não destrói a bactéria de forma imediata (STEIER et al. 2019).

Os bacteriófagos, por conta dos mecanismos de adsorção, funcionam de forma guiada e específica para o patógeno alvo, sem atuar nos microrganismos comensais, sendo assim uma vantagem em relação à antibioticoterapia que elimina grande parte da flora natural e não patogênica. A flora intestinal, por exemplo, é responsável pela produção de vitaminas essenciais como B12, B7 (biotina) e K, compete com bactérias prejudiciais a nossa saúde, ajuda na digestão de alimentos complexos, e uma vez que é eliminada, ocorre o risco de disbiose, dando espaço para infecções oportunistas. Contudo, bacteriófagos que apresentam o ciclo de vida lisogênico, denominados temperados, são preocupantes por conta da transmissão horizontal de diferentes genes, que podem conferir aos patógenos bacterianos aquisições de fatores de virulência e/ou resistência antimicrobiana, visto que este ciclo de vida se baseia na integração de seu material genético ao cromossomo bacteriano, propagado a cada divisão celular (DION et al. 2020). Bactérias capazes de colonizar a orofaringe que apresentam profagos em seu genoma estão associadas ao aumento da virulência (INGMER et al. 2019).

Estudos com fagos de *Acinetobacter baumannii* demonstram desafios da fagoterapia preventiva na cavidade oral. Os fagos são altamente dependentes do pH para se manterem estáveis, perdendo atividade de forma significativa em meios mais ácidos (pH3–4), enquanto, em pH entre 5 e 9, a maioria dos fagos mantém cerca de 80% de sua infectividade após 2 horas de incubação. Achados como esse sugerem que, especificamente em locais de cárie ou em pacientes com distúrbios salivares, pode haver comprometimento da eficácia da terapia fágica (Bagińska et al., 2023).

Uma vez que fatores ambientais como o pH, temperatura e fluidos corporais influenciam a eficácia da fagoterapia em biofilmes, revisões sugerem encapsulação em nanopartículas, géis ou lipossomas como estratégia promissora para contornar estes desafios (Soboh et al., 2023).

Outra adversidade que podemos citar para a fagoterapia é a evolução bacteriana para mecanismos de defesa contra os bacteriófagos, como mutações de receptor, sistema CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) e exclusão superinfeciosa, que impedem a infecção viral — efeito já observado em biofilmes. O sistema CRISPR-Cas é uma memória imune da bactéria, que ao ser infectada, pode capturar um pedaço do DNA viral e armazená-lo em seu genoma nas regiões CRISPR. Posteriormente, em uma nova infecção, as proteínas Cas — como a Cas9, por exemplo — podem cortar o DNA invasor e destruí-lo. A exclusão superinfeciosa (SIE) é um processo que ocorre em algumas bactérias previamente infectadas por fagos (geralmente lisogênicos), que a partir de uma modificação estrutural de superfície ou alterações em processos internos, impede a infecção fágica de outros bacteriófagos (Bleriot et al., 2023).

Bactérias frequentemente desenvolvem mutações em receptores de superfície, bloqueando a ligação do fago. Como contramedida, o uso de cocktails de fagos que reconhecem diferentes receptores, ou a engenharia genética de fagos para direcionar mutações específicas, tem se mostrado eficaz em evitar resistência. Sobre o sistema CRISPR-Cas, abordagens promissoras incluem o uso de fagos que carregam genes anti-CRISPR (Acr) para desativar a defesa, e a edição dos binder ou blocos de DNA do fago que escapam ao reconhecimento do sistema CRISPR, impedindo sua atividade de corte (Bleriot et al., 2023).

Um estudo de metagenômica, que consiste em uma análise genética para compreender a composição microbiológica oral, demonstrou que a microbiota oral apresenta diferenças significativas entre indivíduos, enquanto a variação intraindividual ao longo do dia é relativamente pequena. Esses achados reforçam a possibilidade da necessidade de uma fagoterapia personalizada (Sato et al., 2015).

A engenharia genética pode ser uma aliada para o aumento do potencial de infecção dos fagos nos biofilmes. Um estudo que utilizou fagos T7 modificados para produzir dispersina B, uma enzima que degrada polissacarídeos, e como resultado, houve um aumento significativo da dispersão do biofilme bacteriano *in vitro* (Lu & Collins, 2007).

O desenvolvimento de uma lisina quimérica combinando domínios catalíticos e de ligação de duas lisinas parentais em um estudo experimental *in vitro* com biofilmes de *S. mutans* sobre hidroxiapatita, simulando a superfície dentária, revelou que houve uma alta atividade na prevenção e remoção de biofilmes sob condições fisiológicas e cariogênicas, mostrando uma penetração eficaz da matriz extracelular e causando lise bacteriana (Yang et al., 2016).

Em um estudo *in vitro* com endolisinas geneticamente modificadas (NC5), projetadas para aumentar a penetração e ação contra biofilmes de estreptococos, foi observada uma redução de até 4 log (99,99% de redução) na viabilidade de *S. uberis* em suspensão. Foi demonstrado um aumento na penetração da matriz e eficácia em matar células em profundidade (Eghbalpoor et al., 2024).

4. Resultados e Discussão

Os autores são unânimes em afirmar que o uso protocolar da fagoterapia pode ser uma via de tratamento, principalmente utilizada de forma sinérgica à antibioticoterapia.

As principais vantagens incluem a viabilidade do seu uso em casos de resistência bacteriana e especificidade ao eliminar os patógenos sem interferir na microbiota natural do hospedeiro.

Resalta-se a importância do uso exclusivo de fagos com ciclo de vida lítico, visto que os fagos temperados são preocupantes por poder agravar a doença, ao adicionar material genético que possivelmente aumenta a virulência das bactérias.

O uso da terapia pode ser utilizado como preventivo em doenças relacionada ao biofilme oral, mas ainda existem desafios para a seleção de fagos específicos e o desenvolvimento de métodos de administração eficientes.

5. Considerações Finais

A literatura concorda ao afirmar que a fagoterapia é promissora para uso odontológico, seja na prevenção ou tratamento de doenças derivadas do biofilme oral.

A fagoterapia é uma alternativa terapêutica estratégica diante da crescente resistência bacteriana aos antibióticos — um fenômeno que representa uma ameaça real e iminente à eficácia dos tratamentos médicos convencionais e à segurança dos pacientes.

Além disso, os fagos funcionam como agentes teleguiados, atuando exclusivamente contra bactérias específicas, o que reduz impactos sobre a microbiota benéfica e reforça sua segurança terapêutica.

Nesse contexto, a fagoterapia não apenas representa uma solução promissora diante dos desafios atuais, como também abre caminho para o desenvolvimento de terapias personalizadas e menos invasivas, alinhadas às demandas da odontologia.

Embora ainda haja barreiras quanto à regulamentação e padronização clínica, os avanços na biotecnologia e na compreensão dos fagos reforçam o potencial dessa abordagem como parte integrante das práticas odontológicas futuras.

O uso exclusivo de bacteriófagos no tratamento de infecções pode não ser uma abordagem realista, sendo necessárias terapias complementares, como a antibioticoterapia, por conta da resistência bacteriana aos fagos.

Por conta do surgimento de variantes resistentes, novos estudos envolvendo a aplicação de bacteriófagos no controle de infecções devem ser conduzidos.

Referências

- Akanda, Z. Z., Taha, M., Abdelbary, H. (2018). Current review—the rise of bacteriophage as a unique therapeutic platform in treating peri-prosthetic joint infections. *J. Orthop. Res.*, 36(4), 1051-1060.
- Amankwah, S., Abdella, K., Kassa, T. (2021). Bacterial Biofilm Destruction: A Focused Review On The Recent Use of Phage-Based Strategies With Other Antibiofilm Agents. *Nanotechnology, Science and Applications*, 14, 161–177.
- Ardila, C. M., Granada, M. I., Guzmán, I. C. (2010). Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J. Periodontal Res.*, 45(4), 557-563.
- Bagińska, N., Grygiel, I., Orwat, F., Harhala, M. A., Jędrusiak, A., Gębarowska, E., Letkiewicz, S., Górski, A., & Jończyk-Matysiak, E. (2023). Stability study in selected conditions and biofilm-reducing activity of phages active against drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Scientific Reports*, 13, Article 11864.
- Bleriot, I., Pacios, O., Blasco, L., Fernández-García, L., López, M., Ortiz-Cartagena, C., Barrio-Pujante, A., García-Contreras, R., Pirnay, J.-P., Wood, T. K., & Tomás, M. (2023). Improving phage therapy by evasion of phage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology*, 21(1), 49–64.
- Buckling, A., & Rainey, P. B. (2002). Antagonistic coevolution between a bacterium and a bacteriophage. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1493), 931-936.
- Castillo-Ruiz, M., Vinés, E. D., Montt, C., Fernández, J., Delgado, J. M., Hormazábal, J. C., Bittner, M. (2011). Isolation of a novel *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype b bacteriophage capable of lysing bacteria within a biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(9), 3157-3159.
- Chan, B. K., et al. (2016). Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 6, 26717.
- Clokier, M. R. J., & Kropinski, A. M. (2009). *Bacteriophages: Biology and Applications*. Caister Academic Press.
- Dion, M. B., Oechslin, F., & Moineau, S. (2020). Phage diversity, genomics and phylogeny. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 125–138.

-
- Eghbalpoor F, Gorji M, Zamani Alavigh M, Taati Moghadam M. Genetically engineered phages and engineered phage-derived enzymes to destroy biofilms of antibiotic-resistant bacteria. *Heliyon*. 2024 Aug 3;10(15):e35666.
- Ferriol-González, C., Domingo-Calap, P. (2021). Phages for Biofilm Removal. *Viruses*, 13(4), 596.
- Flemmig, T. F., Beikler, T. (2011). Control of oral biofilms. *Periodontol 2000*, 55(1), 9-15.
- Harper, D. R., Parracho, H. M. R. T., Walker, J., Sharp, R., Hughes, G., Werthén, M., Lehman, S., Morales, S. (2014). Bacteriophages and Biofilms. *Antibiotics*, 3(3), 270-284.
- Ingmer, H., Gerlach, D., & Wolz, C. (2019). Temperate Phages of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum*, 7(5), eGPP3-0058-2018.
- Khalifa, L., Brosh, Y., Gelman, D., Copenhagen-Glazer, S., Beyth, S., Poradosu-Cohen, R., Que, Y. A., Beyth, N., & Hazan, R. (2015). Targeting *Enterococcus faecalis* biofilms with phage therapy. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(8), 2696–2705.
- Lamont, R. J., Hajishengallis, G. (2015). Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med.*, 21(3), 172-183.
- Liu, S., Lu, H., Zhang, S., Shi, Y., & Chen, Q. (2022). Phages against Pathogenic Bacterial Biofilms and Biofilm-Based Infections: A Review. *Pharmaceutics*, 14(2), 427.
- Lu, T. K., & Collins, J. J. (2007). Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(27), 11197–11202.
- Luskiak-Szelachowska, M., Weber-Dąbrowska, B., Górski, A. (2020). Bacteriophages and lysins in biofilm control. *Virologica Sinica*, 35(2), 125-133.
- Mah, T. F., O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.*, 9(1), 34-39.
- Maszevska, A., Zygmunt, M., Grzejdzia, I., Różalski, A. (2018). Use of polyvalent bacteriophages to combat biofilm of *Proteus mirabilis* causing catheter-associated urinary tract infections. *J. Appl. Microbiol.*, 125(5), 1253-1265.
- Morris, J., Kelly, N., Elliott, L., Grant, A., Wilkinson, M., Hazratwala, K., McEwen, P. (2019). Evaluation of bacteriophage anti-biofilm activity for potential control of orthopedic implant-related infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Surg. Infect. (Larchmt)*, 20(1), 16-24.
- Pires, D. P., Melo, L., Vilas Boas, D., Sillankorva, S., Azeredo, J. (2017). Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections. *Curr. Opin. Microbiol.*, 39, 48-56.
- Sato, Y., Yamagishi, J., Yamashita, R., Shinozaki, N., Ye, B., Yamada, T., Yamamoto, M., Nagasaki, M., & Tsuboi, A. (2015). Inter-individual differences in the oral bacteriome are greater than intra-day fluctuations in individuals. *Scientific Reports*, 5, 14656.
- Soboh, F., Bayramoglu, G., Ahmad, S., Salman, J., & Yuceer, M. (2023). Bacteriophage-mediated approaches for biofilm control. *Biotechnology Advances*, 62, 108105.
- Steier, L., Oliveira, S. D., & Figueiredo, J. A. P. (2019). Bacteriophages in Dentistry—State of the Art and Perspectives. *Dentistry Journal*, 7(1), 6.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 649-659.
- Suttle, C. A. (2007). Marine viruses — major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*.
- Szafrański, S. P., Winkel, A., Stiesch, M. (2017). The use of bacteriophages to biocontrol oral biofilms. *J. Biotechnol.*, 250, 29-44.
- Sztajer, H., Szafrański, S. P., Tomasch, J., Reck, M., Nimtz, M., Rohde, M., Wagner-Döbler, I. (2014). Cross-feeding and interkingdom communication in dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *ISME J.*, 8(11), 2256-2271.
- Taha, M., Abdelbary, H., Ross, F. P., Carli, A. V. (2018). New innovations in the treatment of PJI and biofilms—clinical and preclinical topics. *Curr. Rev. Musculoskelet. Med.*, 11(3), 380-388.

Verma, D., Garg, P. K., Dubey, A. K. (2018). Insights into the human oral microbiome. *Archives of Microbiology*, 200(4), 525–540.

Yang H, Bi Y, Shang X, Wang M, Linden SB, Li Y, Li Y, Nelson DC, Wei H. Antibiofilm activities of a novel chimeolysin against *Streptococcus mutans* under physiological and cariogenic conditions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Nov 21;60(12):7436–7443.