

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

THAÍS MARCHAND RIBEIRO

UTILIZAÇÃO DE BACTERIÓFAGOS PARA DESINFECÇÃO DE CANAIS
RADICULARES: UMA REVISÃO DE LITERATURA NARRATIVA ILUSTRADA

Porto Alegre
2021

THAIS MARCHAND RIBEIRO

UTILIZAÇÃO DE BACTERIÓFAGOS PARA DESINFECÇÃO DE CANAIS
RADICULARES: UMA REVISÃO DE LITERATURA NARRATIVA ILUSTRADA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Odontologia da Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, como requisito parcial para
obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Poli de
Figueiredo

Porto Alegre
2021

Dados de catalogação na publicação:

CIP - Catalogação na Publicação

Ribeiro, Thais Marchand
Utilização de bacteriófagos para desinfecção de
canais radiculares: uma revisão de literatura
narrativa ilustrada / Thais Marchand Ribeiro. -- 2021.
40 f.
Orientador: José Antônio Poli de Figueiredo.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Bacteriófagos. 2. Biofilmes. 3. Endodontia. 4.
Infecção. 5. Resistência Bacteriana. I. Poli de
Figueiredo, José Antônio, orient. II. Título.

THAÍS MARCHAND RIBEIRO

UTILIZAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS PARA DESINFECÇÃO DE CANAIS
RADICULARES: UMA REVISÃO DE LITERATURA NARRATIVA ILUSTRADA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Odontologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como
requisito parcial para obtenção do título de
Cirurgiã-Dentista.

Porto Alegre, 18 de novembro de 2021.

Eduardo Silveira Ferreira – Doutor em Odontologia com ênfase em Ortodontia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Tathiane Larissa Lenzi – Doutora em Ciências Odontológicas com ênfase em Odontopediatria
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos começam a Deus, que sempre me proveu capacidade física, intelectual e espiritual para cumprir com quaisquer desafios em minha jornada acadêmica e pessoal, e que sempre iluminou meu caminho para que fizesse as escolhas corretas nos momentos adequados.

À minha amada mãe, Marisa Marchand e amado meu pai Antonio Ribeiro, que participaram – e participam - ativamente da minha formação como pessoa e profissional, me incentivaram constantemente a correr atrás dos meus sonhos e nunca mediram esforços para que eu pudesse me desenvolver em todos os aspectos possíveis. Com vocês aprendi a fé, o respeito, a determinação, o valor ao trabalho e, acima de tudo, o amor incondicional. Esta é a concretização de uma conquista totalmente nossa, e espero que ainda possamos festejar muitas outras. Amo vocês nesta e em todas as outras vidas.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Faculdade de Odontologia, que me oportunizaram uma formação gratuita e de qualidade, com intenso aprendizado e incontáveis momentos emocionantes desde o primeiro dia que ingressei na vida universitária.

Ao meu querido orientador, José Antônio Poli de Figueiredo, que é muito mais que um professor e que levo no coração para além da graduação. Fig, foste essencial na minha trajetória. Sou imensamente grata a todas as oportunidades que me deste intra e extra-muros da Universidade, aos momentos de conhecimento, de desabafos e conselhos compartilhados desde o primeiro semestre quando ainda estava no curso noturno. És um exemplo de profissional e ser humano, que contagia a todos com teu senso de inovação, alegria e tranquilidade. Que nossos caminhos ainda se cruzem pela profissão e pela vida, pois sempre te terei como referência e um grande amigo.

À Aleksandra Palatinska-Ulatowska, do Departamento de Endodontia da Universidade de Łódź na Polônia, e ao professor Liviu Steier, do departamento de Dentística da Universidade da Pensilvânia (EUA), pelas suas colaborações com os conhecimentos acerca dos bacteriófagos e suas aplicações na ciência. À professora Sílvia Dias de Oliveira, do Laboratório de Imunologia e Microbiologia da PUC-RS (Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul), que coordenou nossos trabalhos explorando bacteriófagos e diversas bactérias dentro de um ambiente universitário externo à UFRGS. Foi com quem muito aprendi sobre estudos laboratoriais e princípios da fagoterapia, e que sempre esteve disponível para sanar minhas dúvidas e me mostrar os caminhos de busca para a literatura referente à elaboração deste trabalho. Também agradeço às técnicas do Laboratório de Imunologia e Microbiologia da PUC-

RS Vanessa Fey e Maila Dias, que sempre nos ajudaram na dinâmica de trabalho e fluxo de rotina do laboratório mesmo nos momentos de correria.

Às minhas colegas e amigas de pesquisa Marieli Pradebon e Livia Alvariza, com quem compartilhei anseios, expectativas e aprendizados. Às meninas mais recentes do grupo Jordana Koch e Kellyn Souza por também compartilhar dúvidas e conhecimentos da rotina científica. Ainda que à distância neste período final da minha graduação, continuo tendo muita admiração por vocês, e sei que vão longe.

À minha melhor amiga Laura Bonzanini, que foi um dos meus grandes presentes de 2020 no CEO de Odontopediatria, com quem dividi infinitas alegrias, medos e esperanças sobre a vida acadêmica, em quem me espelho como profissional sensível e dedicada e que sei que posso contar para a vida toda. Também fazes parte deste trabalho com cada dica, palavra de incentivo e sugestões que me deste com tanta atenção e carinho.

Aos meus amigos de turma e faculdade Rafaela Cassaro, Luana Marques, Lucas Gonçalves, Bruno Abreu, Caroline Brasil, Débora Mendes e Emily Alves por tornarem essa trajetória tão mais leve e engraçada. Nossos intervalos com cafezinho no DAOS foram icônicos. Levo cada um deles no coração e com muita saudade. Que em breve possamos repetir esses momentos como cirurgiões-dentistas formados e que possamos contar um com o outro dentro da nossa rede profissional e pessoal.

A todos os professores que dedicam suas vidas à docência dentro da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Muito obrigada por transmitirem seus conhecimentos e por marcar a cada um de nós dentro da graduação. Gostaria de deixar um agradecimento especial aos professores Eduardo Silveira Ferreira e Tathiane Lenzi por gentilmente terem aceitado fazer parte da minha banca examinadora e compartilhar esse fechamento de ciclo tão especial. Tenho muito respeito e admiração por vocês, e estimo reproduzir o que cada um ensinou com semelhante dedicação e interesse pela excelência técnica e abordagem humanizada em nossas práticas.

Muito obrigada, de coração, a todos por fazerem parte desta história.

A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas sim em ter novos olhos.

Marcel Proust

RESUMO

Bacteriófagos, também conhecidos como fagos, são vírus capazes de infectar bactérias específicas, podendo direcionar seu metabolismo para a síntese de novas partículas virais e levar à lise celular. Estes têm sido investigados como alternativas adjuvantes ou substitutivas a protocolos tradicionais de desinfecção de canais, podendo contribuir para sucessos endodônticos e redução do uso de antibióticos. Esta revisão de literatura visou abordar os trabalhos científicos disponíveis até o momento acerca do uso de bacteriófagos como método complementar para a desinfecção dos sistemas de canais radiculares. Foi realizado levantamento bibliográfico em bases de dados PubMed/MEDLINE, Embase, Scopus e Lilacs com os descritores em ciências da saúde isolados e cruzados: Bacteriófagos, Endodontia; Biofilme; Anaerobiose, Farmacorresistência Bacteriana e Agrupamentos Regularmente Espaçados de Repetições Palindrômicas Curtas (CRISPR). Não houve restrições quanto a idiomas ou períodos de publicação. Referências duplicadas foram excluídas e artigos que não se encaixavam nos critérios de eleição foram desconsiderados. Fagos podem ser usados contra diversas bactérias como as que estão presentes no biofilme, na cárie, em periimplantites e abscessos. Sobre bactérias relacionadas a infecções endodônticas, o *E. faecalis* apresenta o maior número de estudos. Dentre as bactérias anaeróbias, *F. nucleatum* possui 2 fagos descobertos contra sua ação. Nenhum fago específico para *Porphyrromonas*, *Prevotella* e *Tannerella* foram reportados até o momento. Contudo, existem trabalhos que já exploraram mecanismos de resistência aos fagos (CRISPR), mostrando que o genoma bacteriano possui uma interessante resposta imune adaptativa. Dentre as que já tiveram esse mecanismo estudado estão *Porphyrromonas*, *Streptococcus* e *Lactobacillus*. Maiores aprofundamentos ainda são necessários.

Palavras-chave: Bacteriófagos; Biofilmes; Endodontia; Infecção; Resistência bacteriana.

ABSTRACT

Bacteriophages, also known as phages, are viruses capable of infecting specific bacteria and to direct their metabolism to the synthesis of new viral particles, leading to cell lysis. They have been investigated as adjuvant or substitutive alternatives to traditional root canal disinfection protocols, which may contribute to endodontic treatment success as well as a reduction in the use of antibiotics. This literature review aimed to discourse on the scientific production available until present date on the use of bacteriophages as a complementary method for disinfection of root canal systems. A bibliographical survey was carried out in databases PubMed/MEDLINE, Embase, Scopus and Lilacs with the descriptors in health sciences granted and crossed: Bacteriophages, Endodontics; Biofilm; Anaerobiosis, Bacterial Pharmaco-resistance, and Regularly Interspaced Clusters of Short Palindromic Repeats (CRISPR). There were no restrictions on languages or publication periods. Duplicate references were excluded and articles that did not fit the election criteria were disregarded. Phages can be used against various bacteria present in biofilm, caries, peri-implantitis and abscesses. Concerning to bacteria related to endodontic infections, *E. faecalis* has the largest number of published studies. Among the anaerobic bacteria, *F. nucleatum* has 2 phages discovered against its action. No specific phages for *Porphyromonas*, *Prevotella* and *Tannerella* were reported so far. However, there are scientific publications that have already explored phage resistance mechanisms (CRISPR), showing that the bacterial genome has an interesting adaptive immune response. Among those that have already had this mechanism investigated are *Porphyromonas*, *Streptococcus* and *Lactobacillus*. Further studies are still required.

Keywords: Bacteriophages; Biofilms; Endodontics; Infection; Bacterial Resistance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Manifestação de infecção endodôntica e seus desfechos nos tecidos periapicais.....	17
Figura 2 – Dinâmica de formação do biofilme.....	18
Figura 3 – Bacteriófago e suas estruturas.....	21
Figura 4 - Ciclo lítico de um bacteriófago e suas fases.....	22
Figura 5 - Comparativo de ação do antibiótico e bacteriófago contra o biofilme.....	24
Figura 6 - Alternativas para remoção do biofilme.....	25
Figura 7 - Funcionamento do mecanismo CRISPR-Cas.....	29

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CRISPR - Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas

CRISPR-Cas - Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas em associação com proteínas Cas

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DNase – Desoxirribonuclease

E. faecalis – *Enterococcus faecalis*

F. nucleatum – *Fusobacterium nucleatum*

L. casei – *Lactobacillus casei*

P. endodontalis – *Porphyromonas endodontalis*

P. gingivalis – *Porphyromonas gingivalis*

P. intermedia – *Prevotella intermedia*

P. nigrescens – *Prevotella nigrescens*

PUC-RS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

RNA – Ácido Ribonucleico

RNase – Ribonuclease

S. mutans – *Streptococcus mutans*

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
3. METODOLOGIA.....	15
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
4.1 Bactérias anaeróbias e sua relação com a Endodontia	16
4.2 Bacteriófagos - definições e histórico de evolução.....	20
4.3 Contribuições contra a farmacorresistência bacteriana.....	23
4.4 Aplicabilidades odontológicas alternativas no contexto atual	25
4.5 Combate a infecções endodônticas.....	27
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais propósitos do tratamento endodôntico é a desinfecção do sistema de canais radiculares e túbulos dentinários, de forma a reduzir ou eliminar bactérias que se encontram nessas regiões (Byström et al., 1995; Fukushima et al., 1990). De acordo com Lin e colaboradores (1991), grande parte das infecções endodônticas são mistas e polimicrobianas, com predominância de bactérias estritamente anaeróbias. Estas, por sua vez, são adaptáveis para sobrevivência em ambiente de polpa necrótica, o que acaba mantendo a infecção no canal radicular e nos túbulos dentinários, devido ao aporte limitado ou inexistente de sangue e oxigênio (Abdulkader et al., 1996; D’Arcangelo et al., 1999).

Fracassos da terapia endodôntica são associados a infecções anaeróbias persistentes, sendo que a organização das bactérias em biofilmes e sua composição com proteínas extracelulares e polissacarídeos acabam influenciando de forma determinante para a sobrevivência da célula, persistência microbiana e interação celular, limitando a capacidade de defesa do hospedeiro (Fukushima et al., 1990; Kumar et al., 2019). São exemplos de bactérias anaeróbias envolvidas nesse processo *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella melaninogenica*.

Na tentativa de erradicar as bactérias e dar fim ao processo infeccioso, uma prática comum na Odontologia é a prescrição indiscriminada de antibióticos, os quais, na maioria das vezes, são de amplo espectro. Contudo, este método terapêutico acabou dando origem aos “*superbugs*”, isto é, a seleção de bactérias multirresistentes, tornando a utilização desses medicamentos ineficaz para o reestabelecimento de saúde (World Health Organization, 2020).

Grande tem sido o interesse na literatura acerca de novas técnicas e instrumentos com objetivo de aprimorar a prática clínica visando a redução da carga microbiana (Bhardwaj, 2014). Possibilidades alternativas para esse problema têm sido estudadas e propostas, dentre as quais, o uso de bacteriófagos, vírus que são capazes de infectar bactérias específicas, podendo direcionar seu metabolismo para a síntese de novas partículas virais.

Existem os bacteriófagos líticos e lisogênicos, sendo que os líticos são os que se apresentam mais úteis aos propósitos odontológicos, uma vez que utilizam os recursos da célula para replicação, fazendo com que a célula lise e entre em colapso, ocasionando sua morte (Steier et al., 2019).

Os bacteriófagos caracterizam-se como um possível método adjuvante ou substitutivo aos métodos convencionais para combate de determinados grupos bacterianos, podendo atuar

de forma mais específica, reduzindo riscos de danos ao hospedeiro (McAdams et al., 2019; Liu et al., 2020)

Frente à realidade do insucesso de tratamentos endodônticos e a referida resistência bacteriana, bacteriófagos têm sido sugeridos como uma alternativa promissora para solucionar o problema, contudo, ainda existe certa limitação de publicações científicas relacionadas ao tema (Düzgünes, Sessevmez & Yildirim, 2021). Nessa perspectiva, esta revisão de literatura narrativa ilustrada se propôs a investigar os trabalhos publicados até o presente momento relacionados ao uso de fagos para o possível combate a infecções endodônticas provocadas por bactérias anaeróbias e demais grupos bacterianos, bem como viabilidades no contexto atual e futuro.

A fagoterapia e sua aplicabilidade odontológica são assuntos relativamente novos. Portanto, faz-se necessário o aprofundamento no tema e construção do conhecimento que possam contribuir para novas formas de atuação frente a microrganismos presentes nas patologias endodônticas, para que futuramente os bacteriófagos possam ser utilizados de forma eficaz, segura e satisfatória nas práticas clínicas do cirurgião-dentista e de profissionais da saúde de forma geral (Ross et al., 2016; Loganathan et al., 2021).

2. OBJETIVOS

A presente revisão de literatura narrativa se propõe a abordar o uso de bacteriófagos na Odontologia como potencial método adjuvante para desinfecção dos sistemas de canais radiculares. Para tal, focou nos seguintes aspectos:

- Bactérias anaeróbias e sua relação com a Endodontia;
- Bacteriófagos - definições e histórico de evolução;
- Contribuições contra a farmacorresistência bacteriana;
- Aplicabilidades odontológicas alternativas no contexto atual;
- Combate a infecções endodônticas.

3. METODOLOGIA

Para construção da revisão proposta, foram seguidas as etapas baseadas no trabalho de Cronin, Ryan & Coughlan (2008): seleção do tema; pesquisa na literatura em bases de dados (PubMed/MEDLINE, Embase, Scopus e Lilacs); seleção de trabalhos disponíveis; leitura e análise da literatura coletada; redação da revisão e elaboração de referências bibliográficas. Para a pesquisa nas bases de dados foram utilizadas as seguintes combinações de descritores em ciências da saúde, isolados e cruzados: Bacteriófagos, Endodontia; Biofilme; Anaerobiose, Farmacorresistência Bacteriana e Agrupamentos Regularmente Interespaçados de Repetições Palindrômicas Curtas (CRISPR). Os critérios de inclusão foram estudos que abordassem infecções endodônticas e seu processo de desenvolvimento; bacteriófagos e aplicações na área da saúde e especificamente na Odontologia. Os critérios de exclusão foram artigos envolvendo a aplicação de bacteriófagos contra fungos, vegetais e produção de alimentos bem como trabalhos envolvendo CRISPR-Cas não aplicados para fins odontológicos.

Não foram aplicadas restrições quanto a períodos ou idiomas de publicações atinentes ao tema específico. Referências duplicadas foram excluídas, e artigos que não se encaixavam nos critérios de eleição foram desconsiderados. Dos 135 artigos encontrados, 98 foram utilizados para compor o trabalho.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Bactérias anaeróbias e sua relação com a Endodontia

A endodontia é a área da Odontologia que estuda as causas, prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças da polpa dentária, assim como suas consequências nos tecidos periapicais (Abdulkader et al., 1996; Sundqvist et al., 1998). Um dos principais propósitos da terapêutica endodôntica consiste na desinfecção do sistema de canais radiculares, de forma que haja uma eficiente neutralização do conteúdo tóxico e redução do número de microrganismos que se encontram nessa região, sobretudo as bactérias (Byström et al., 1985).

Assim como nos canais radiculares, a proliferação e instalação desses microrganismos sob condição de biofilme também ocorrem nos túbulos dentinários. A proliferação e instalação desses microrganismos sob condição de biofilme reforça a necessidade de realização de uma correta sanificação, tendo em vista a complexidade anatômica e biológica nos tecidos dentários e persistência de alguns grupos de bactérias, mesmo após a realização do tratamento endodôntico (Fukushima et al., 1990; Love, 2001).

Grande parte das infecções endodônticas são mistas e polimicrobianas, com a predominância de bactérias estritamente anaeróbias (Lin et al., 1991). Bactérias anaeróbias apresentam boa adaptação para sobrevivência no ambiente da polpa necrótica e nos túbulos dentinários onde a fonte de sangue e oxigênio são limitados ou inexistentes.

Nota-se que, principalmente em infecções de longa duração, um número crescente de bactérias anaeróbias infectando canais radiculares tem sido reportado na literatura (Abdulkader et al., 1996; Sundqvist & Figdor, 2003; Barbosa-Ribeiro et al., 2020). Fracassos da terapia endodôntica foram associados a infecções anaeróbias persistentes (Fukushima et al., 1990; Sakko et al., 2016), sendo que os fatores que podem explicar a incapacidade da total eliminação das bactérias são sua organização em biofilme nas paredes do canal e/ou dentro dos túbulos dentinários, a sua capacidade de sobrevivência a um certo período de tempo de exposição ao ar atmosférico e a sua tolerância a altos valores de pH (Harper & Loesche, 1984; Thomas & Eleazer, 2003).

Em infecções primárias, isto é, quando os microrganismos colonizam o tecido pulpar necrótico, a microbiota varia de acordo com o tempo de estabelecimento da infecção. De forma geral, são mistas e anaeróbias em sua grande parte, sendo alguns exemplos os gêneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* e *Campylobacter*. Além disso, *Streptococci* facultativos ou microaerófilos são comumente encontrados em infecções primárias. (Siqueira, 2002).

As infecções endodônticas secundárias são caracterizadas por microrganismos que não estavam presentes na infecção primária, mas acabaram penetrando no sistema de canais radiculares durante o tratamento, entre consultas ou após a finalização da endodontia, as espécies mais predominantes são *E. faecalis* e *P. gingivalis* (Siqueira, 2002; Zargar et al., 2019; Barbosa-Ribeiro, 2021). A manifestação da infecção endodôntica e seu desfecho nos tecidos periapicais, caso não tratada, está evidenciada na **figura 1**.

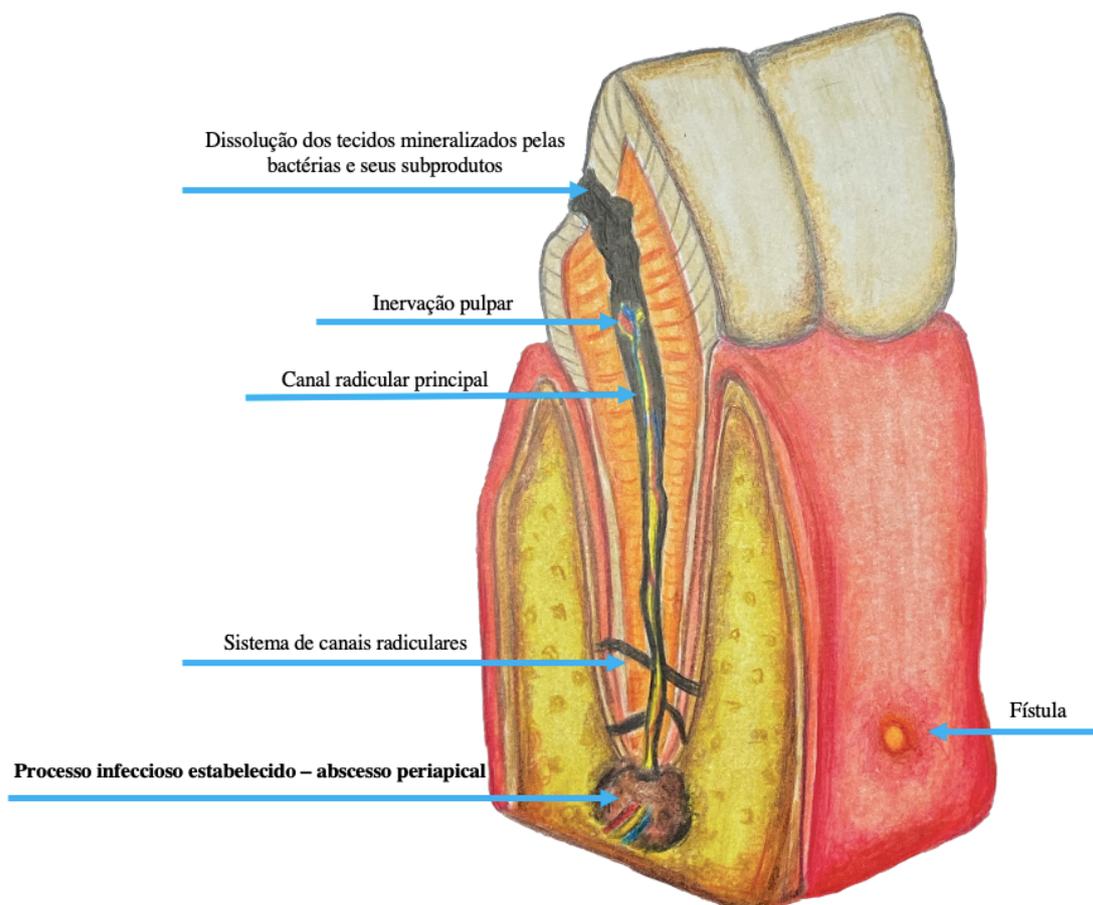
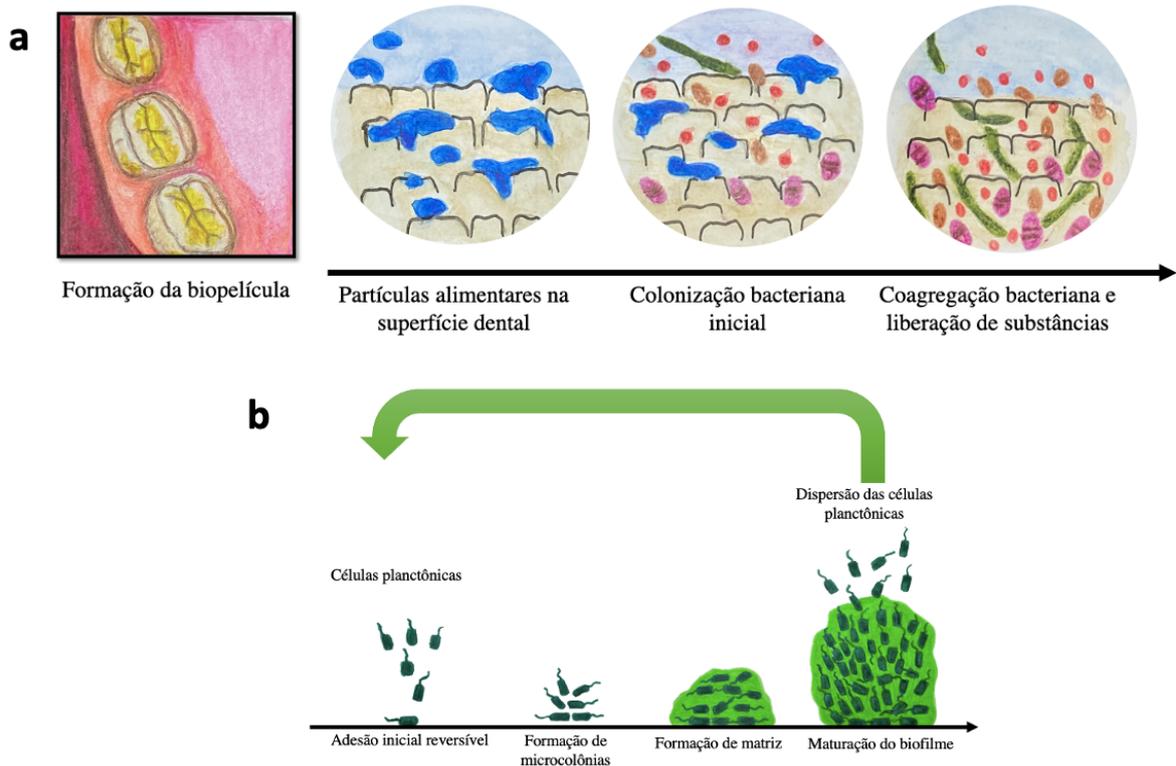


Figura 1 – Infecção endodôntica e seus desfechos nos tecidos periapicais. A partir da dissolução dos tecidos mineralizados por meio das bactérias e subprodutos (cárie dentária), pode existir o comprometimento do sistema de canais radiculares e da vitalidade pulpar, bem como o surgimento de um abscesso periapical e fístula nas proximidades do elemento afetado.

No momento em que os microrganismos se organizam em biofilmes, se tornam muito mais resistentes. Conforme relataram Jhajharia e colaboradores em 2015, essa maior resistência ocorre majoritariamente pela matriz extracelular, o que limita a capacidade de defesa do hospedeiro. Os biofilmes apresentam proteínas extracelulares e polissacarídeos, o que



contribuem de forma determinante para a sobrevivência da célula, persistência microbiana e interação celular. (Kumar et al., 2019). A dinâmica de formação do biofilme pode ser observada na **figura 2**.

Figura 2 – Dinâmica de formação do biofilme. a) Formação da biopelícula nos elementos dentários seguido da sequência de colonização e coagregação bacteriana na superfície dentária. b) Formação do biofilme propriamente dito – inicia-se com a adesão de células planctônicas ligando-se à superfície. As bactérias formam microcolônias e começam a produzir matriz extracelular. Na fase de maturação, o biofilme cresce em uma estrutura com formato de cogumelo devido à presença de polissacarídeos. Por fim, algumas bactérias se dispersam para outra região com objetivo de formar um novo biofilme.

F. nucleatum é uma bactéria Gram-negativa anaeróbia pertencente à família Bacteroidaceae (Jacinto et al., 2008), mas que pode crescer na presença de até 6% de oxigênio (Bolstad et al., 1996). São encontradas na cavidade oral humana e normalmente mais encontradas na placa dentária (Jacinto et al., 2008; Bolstad et al., 1996). É considerado como um patógeno oportunista devido ao seu frequente isolamento e identificação em amostras anaeróbias advindas de pacientes com diferentes infecções (Brennan & Garrett, 2019).

Múltiplas espécies, incluindo bactérias periodontopatógenas, assim como *F. nucleatum* apresentam importante papel na formação de biofilmes devido a sua interação com *P. gingivalis*. Ambas foram identificadas em biofilmes associados a lesões de periodontite apical,

a qual é uma condição inflamatória induzida por biofilmes decorrente da constante agressão tecidual (Saito et al., 2008; Figueiredo et al., 2018).

Já para Villanueva (2002), a combinação de *F. nucleatum*, *Prevotella* e *Porphyromonas* é um fator de risco para os surtos endodônticos. Quando em cooperação, esses organismos, apresentam capacidade de piorar uma lesão inflamatória periapical. As bactérias presentes nas infecções endodônticas não agem sozinhas e, quando em sinergia, podem elevar o seu potencial patogênico. *F. nucleatum* é uma bactéria frequente em amostras de canais radiculares, e é uma das várias bactérias Gram-negativas que podem ser um agente causador e/ou contribuinte em desequilíbrios na microbiota endodôntica (Jacinto et al., 2008; Bolstad et al., 1996).

P. gingivalis são bactérias anaeróbias gram-negativas e formadoras de pigmentação negra. As bactérias *Prevotella* spp. e *Porphyromonas* spp. estão envolvidas na etiologia e perpetuação de infecções endodônticas (Rôças et al 2001). Os mesmos autores também citam que os principais fatores de virulência de *P. gingivalis* incluem os lipopolissacarídeos, fímbrias, proteases, fosfolipases, fosfatases alcalinas e ácidas, DNase e RNase, hemolisinas e metabólitos citotóxicos, tais como sulfeto de hidrogênio, metilmercaptana, dissulfeto de dimetila, butirato, propionato, indol e amônia. Desta forma, tem-se sugerido que *P. gingivalis* é um patógeno importante nas infecções do canal radicular, ainda que seja menos prevalente do que *E. faecalis* em infecções endodônticas primárias (Stojanović et al., 2014).

Associações bacterianas foram observadas como *P. intermedia* com *P. gingivalis* ou *P. nigrescens*, *P. nigrescens* com *P. gingivalis* ou *P. endodontalis*, *P. endodontalis* com *P. gingivalis*, *P. intermedia* com *P. nigrescens* e *P. gingivalis* e *P. intermedia* com *P. nigrescens* e *P. endodontalis*, sugerindo que essas tais associações sejam constatadas em processos endodônticos. Muitos estudos mostraram o isolamento de *P. gingivalis* e *P. endodontalis* de lesões periapicais agudas, associadas a canais radiculares não tratados, sendo que sua alta virulência poderia explicar o envolvimento dos organismos na inflamação periapical purulenta e nas exacerbações periapicais agudas (Sundqvist et al., 1993). Além disso, de acordo com Kriebel et al. (2019), essas bactérias se associam com outras espécies anaeróbias, tais como *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, compondo o tradicional “complexo vermelho”, formando bolsas periodontais que resultam na progressiva degradação dos tecidos periodontais.

P. melaninogenica é uma bactéria produtora de pigmentação negra pertencente ao filo *Bacteroidetes*. É caracterizada por ser uma bactéria anaeróbica Gram-negativa comensal que reside na cavidade oral humana e é isolada como um patógeno de doenças supurativas tanto dentro como fora da boca. Se sabe pouco ainda a respeito dos fatores de virulência da *P. melaninogenica* (Kondo et al., 2018).

Tendo essas informações em perspectiva, é de suma importância o conhecimento acerca do envolvimento polimicrobiano em infecções endodônticas, sejam elas primárias ou secundárias, pois o conhecimento acerca da base estrutural do biofilme bacteriano é uma das maneiras de se obter sucesso no tratamento (Abusrewil et al., 2020).

4.2 Bacteriófagos - definições e histórico de evolução

O termo “bacteriófago”, ou simplesmente “fago” é a entidade biológica mais comum na Terra, sendo que há um estimado número de 10^{31} bacteriófagos na biosfera e apresenta a capacidade de se tornar predatório em organismos procariontes (Steier et al., 2019). Os primeiros relatos e documentações de sua existência surgiram em 1919, por Twort (Pelfrene et al., 2016) e D’Herelle (Duckworth, 1976), após a Primeira Guerra Mundial. Os fagos foram originalmente descritos como elementos terapêuticos para tratar infecções animais e humanas, tais como infecções por *Escherichia coli*, infecções dermatológicas e no trato urinário (Smith et al., 1987; Waldor et al., 2005; Abedon et al., 2011). Tais descobertas precedem o advento dos antibióticos, os quais foram difundidos mundialmente e, por este motivo, as pesquisas com os fagos foram desestimuladas e interrompidas (Paisano & Bombana., 2010).

No que diz respeito à anatomia, apresentam estruturas peculiares. Seu capsídeo, ou capa de proteína, onde localiza-se o material genético do vírus, possui forma variável, podendo ser icosaédrica, filamentosa ou caudada, sendo que esta última parece ser exclusiva dos fagos e a que apresenta mais utilidade aos propósitos odontológicos (Steier et al., 2019). Em 96% dos fagos são caudados e possuem dupla fita de DNA e o número de genes pode variar de 4 a muitas centenas. Os bacteriófagos do tipo *head-tail* (cabeça-cauda) são formados pela **cabeça** (onde o capsídeo ou capa de proteína se encontra, abrigando o genoma viral), **pescoço** (conector entre a cabeça e a cauda), **cauda** (estrutura tubular que permite a passagem do DNA quando em contato com a superfície da bactéria-alvo), **fibras da cauda** (proteínas com capacidade de se ligar à superfície da bactéria-alvo) e **placa final** (contendo pinos para penetrar na membrana e liberar o material genético do fago no interior da bactéria alvo) (Novik et al., 2017; Steier et al., 2019). Tais estruturas e suas especificações constam na **figura 3**.

De acordo com Steier et al. (2019), o ciclo de vida de um bacteriófago varia de acordo com seu efeito na bactéria alvo. Caso leve à morte da célula hospedeira, chama-se **lítico**. Estes completam o ciclo com altas taxas de replicação do seu material genético e acumulam grande quantidade de vírus e de proteínas expressas tardiamente (endolisinas, holinas ou inibidoras da síntese de mureína), o que provoca a lise da célula bacteriana e liberação desses bacteriófagos.

Em contrapartida, caso seu DNA seja copiado no DNA da célula hospedeira mediante recombinação com os cromossomos bacterianos cada vez que a célula divide, tornando-se integrado ao cromossomo como um prófago, chama-se **lisogênico**.

Os bacteriófagos caudados e líticos são os que se apresentam mais úteis aos propósitos odontológicos os quais se comportam como vírus típicos usando os recursos da célula para replicação, fazendo com que a célula lise e entre em colapso, ocasionando sua morte (Steier et al., 2019).

O ciclo lítico consiste nas seguintes fases: **(1) Fase de fixação:** ligação das proteínas de cauda com receptores de superfície na bactéria alvo; **(2) Fase de injeção do material genético:** Injeção do DNA do bacteriófago pela cauda dentro da bactéria; **(3) Fase de replicação do DNA do fago:** replicação do DNA, síntese de proteínas e formação de novos capsídeos; **(4) Fase de reunião e montagem:** preenchimento dos capsídeos com material genético e partículas fágicas; **(5): Fase de lise bacteriana:** ruptura da membrana plasmática da bactéria e de sua parede celular pelo aumento da permeabilidade com resultante passagem excessiva de líquidos e expansão até a ruptura da mesma, liberando os neoformados bacteriófagos, capazes de infectar as bactérias próximas (Steier et al., 2019). Este ciclo e suas respectivas fases encontram-se ilustrados na **figura 4**.

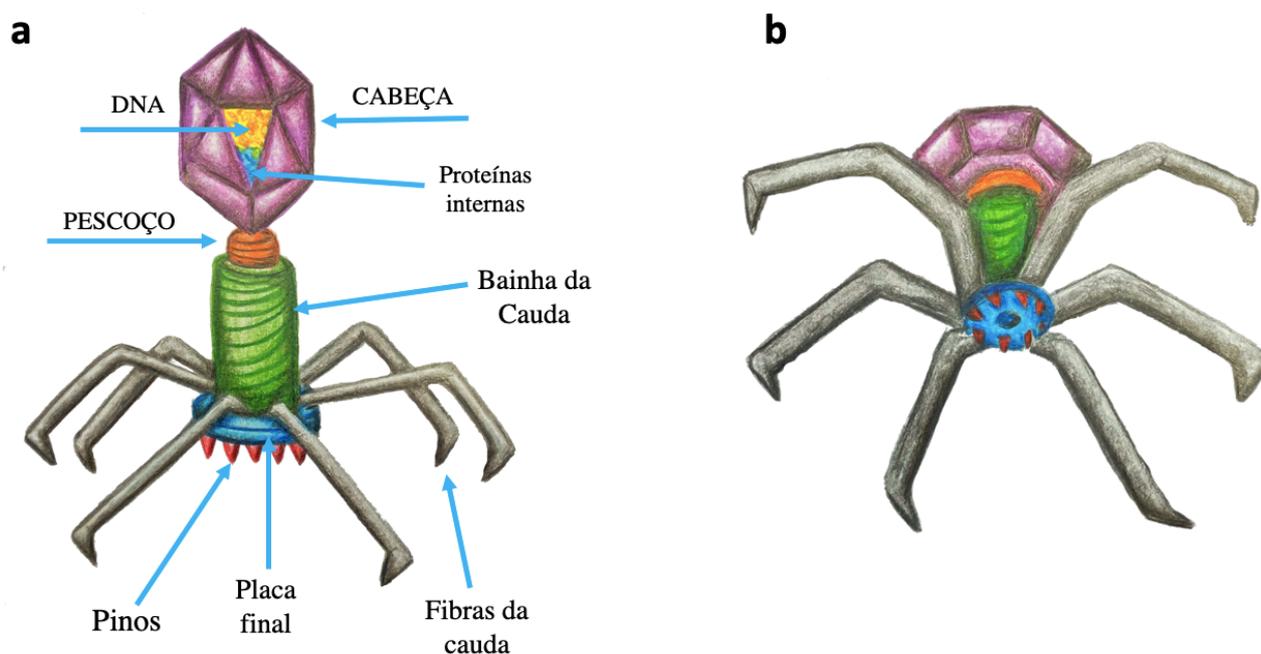


Figura 3 – Bacteriófagos e suas estruturas. **a)** Todas as estruturas em evidência; **b)** Perspectiva de um bacteriófago como se estivesse aderindo a uma superfície bacteriana.

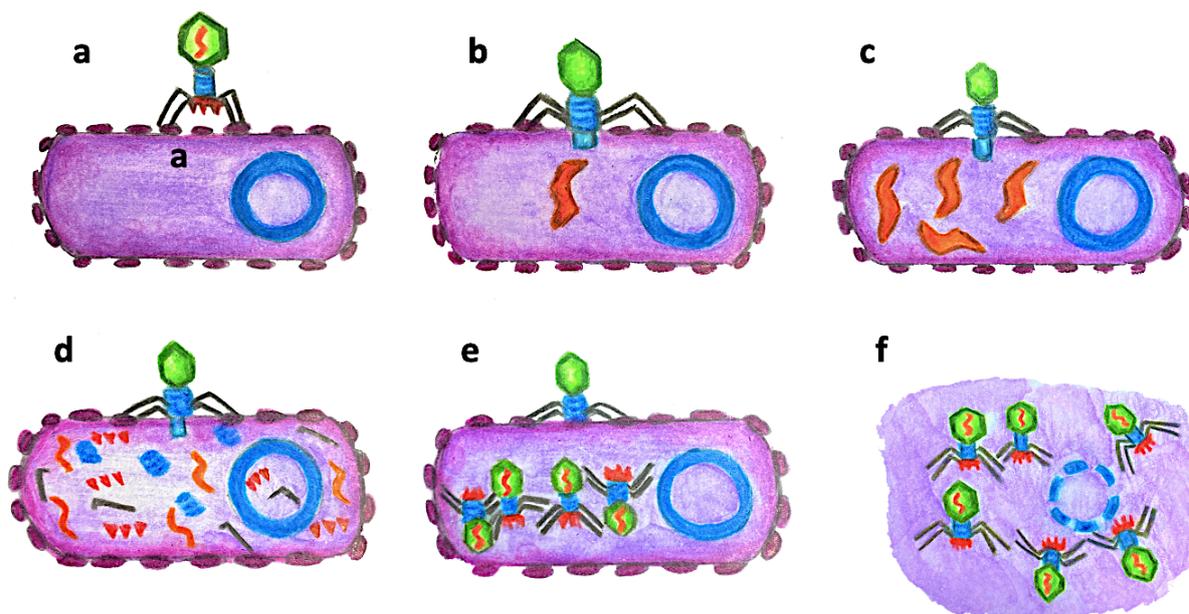


Figura 4 – Ciclo lítico de um bacteriófago e suas respectivas fases. **a)** Adesão ao hospedeiro receptor; **b)** Injeção do DNA do fago; **c)** replicação do DNA do bacteriófago; **d)** biossíntese das proteínas do bacteriófago; **e)** maturação – novas partículas de bacteriófagos são montadas; **f)** lise da célula bacteriana e liberação de novas partículas virais.

Existem algumas vantagens descritas na literatura relacionadas ao uso dos fagos. Dentre elas: **(a)** sua administração em dose única, **(b)** não apresentam efeitos adversos; **(c)** extrema especificidade à bactéria, não afetando outras células (o que se torna benéfico para pacientes alérgicos a antibióticos); e **(d)** apresentam custo de desenvolvimento menor do que o custo de desenvolvimento de um novo antibiótico (Carlton, 1999; Pirisi, 2000; Bradbury, 2004).

No entanto, existem desvantagens que precisam ser pontuadas e que ainda geram dúvidas quanto à sua utilização: o fato da necessidade de identificação prévia das bactérias que se deseja atingir para o isolamento de fagos específicos e a incerteza quanto à efetividade de sua ação mesmo quando determinado o seu alvo, como no caso de bacteriófagos temperados, uma vez que a penetração na bactéria-alvo não necessariamente está ligada à ruptura e destruição desta (Paisano & Bombana, 2010; Steier et al., 2019). Além disso, conforme relatam Rotman e colaboradores (2020), sua aplicabilidade em larga escala também acaba sendo prejudicada devido à perda de atividade em condições fisiológicas, o que significa que se faz necessária a administração por repetidas vezes.

O tempo de formação do biofilme também parece influenciar em sua ação fagocítica. Em 2020, González e colaboradores mostraram que o número de células com atividade metabólica reduzida em biofilmes pode aumentar com o passar do tempo e reduzir o efeito lítico

dos fagos reduzindo a capacidade de remoção de biofilme dos mesmos. Portanto, biofilmes mais maduros, são mais difíceis de serem removidos usando fagos do que biofilmes mais novos.

4.3 Contribuições contra a farmacorresistência bacteriana

Sabe-se que com a chegada da era dos antibióticos, em 1940, as pesquisas científicas envolvendo bacteriófagos foram interrompidas. Entretanto, com a evolução constante da resistência bacteriana a múltiplas drogas, o potencial da fagoterapia tem sido novamente avaliado e o interesse nos fagos novamente trazido à tona (Ghannad, Mohammadi, 2012; Bhardwaj, 2014; Steier et al., 2019). Com o passar do tempo, as bactérias foram sofrendo adaptações, as quais permitiram que se tornassem resistentes às drogas mais poderosas usadas na medicina moderna (Orlova, 2012).

O conhecimento acerca da antibioticoterapia e suas aplicações no meio odontológico já é bem estabelecido. Na Endodontia, a mesma pode ser utilizada de inúmeras formas: local, sistêmica e profilática (Abbott et al., 1990). Ainda de acordo com os mesmos autores, de maneira sistêmica, é indicada a pacientes que manifestem sinais locais de infecção, alta temperatura corporal e mal-estar. Os mesmos também ressaltam que, para que os medicamentos antibióticos continuem sendo eficazes em casos mais severos, o uso de medicamentos de amplo espectro deve ser limitado.

Os antibióticos, em sua grande parte, são medicamentos sistêmicos de via oral, os quais acabam sendo absorvidos pela corrente sanguínea. Eles são metabolizados e excretados, de forma a reduzir os seus níveis no sangue, o que faz com que múltiplas doses sejam administradas de forma sequencial para que o fármaco tenha a quantidade suficiente para desempenhar sua função no tratamento desejado (Hanlon, 2012). Em contrapartida, os bacteriófagos, após sua dose inicial, farão com que o número de vírus aumente no sistema conforme se replicam nos patógenos bacterianos infectantes, de forma que só pare quando todas as células hospedeiras estejam destruídas. Tal característica pode ser um facilitador na administração e controle no uso dos fagos em determinadas infecções, bastando uma dose única (Hanlon, 2012).

Assim sendo, diversas aplicabilidades da fagoterapia têm sido investigadas, como a complementação dos tratamentos tradicionais (antibioticoterapia) podendo contribuir para a redução de seu uso ou até mesmo sua substituição, ampliando o leque de perspectivas na área odontológica (Szafranski et al., 2017; McAdams et al., 2019).

Os bacteriófagos podem atuar na destruição de biofilmes maduros de maneira mais efetiva quando comparados com os antibióticos, uma vez que são capazes de infectar células bacterianas na camada mais externa do biofilme, se multiplicar e, a partir disso, ser capaz de penetrar em suas camadas mais profundas, resultando em uma erradicação completa do biofilme em uma única dose. Por outro lado, os antibióticos acabam não conseguindo penetrar o mesmo, matando as bactérias de maneira superficial e não eliminando o biofilme por completo (Khalifa et al., 2016). Tal dinâmica está evidenciada na **figura 5**.

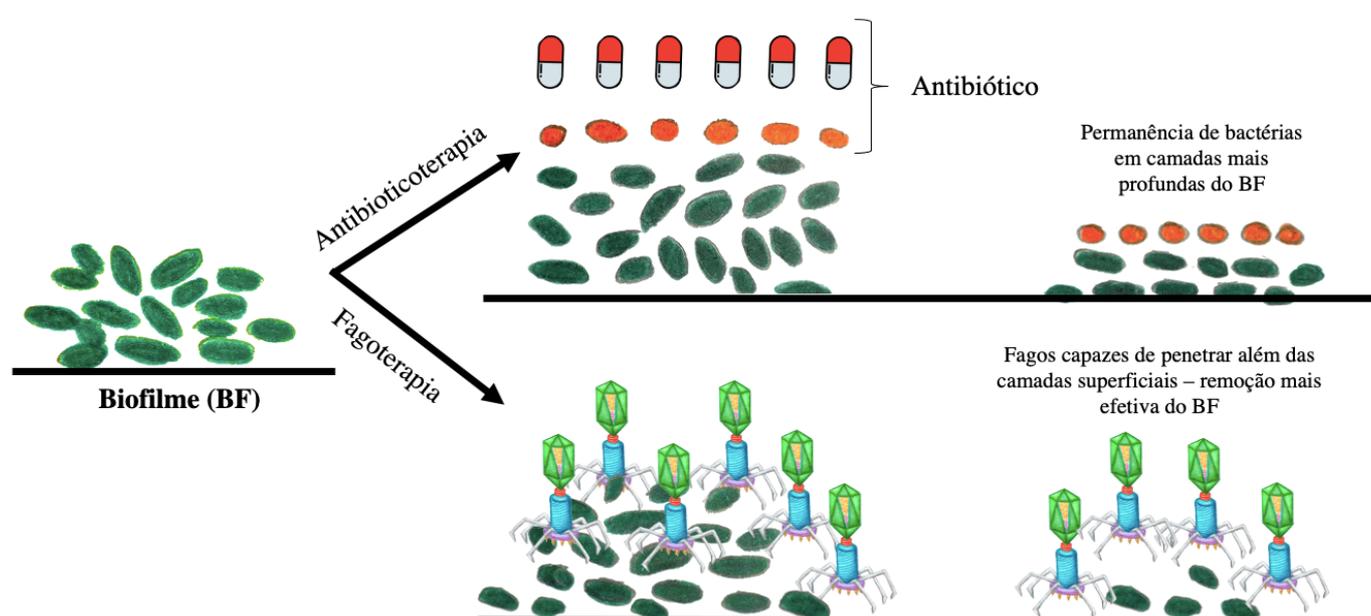


Figura 5 - Comparativo de ação do antibiótico e bacteriófago contra o biofilme maduro. Os antibióticos não conseguem penetrar no biofilme por completo, eliminando apenas as bactérias da camada superficial. Em contrapartida, os fagos conseguem atingir as bactérias das camadas mais internas a partir de sua multiplicação, erradicando o mesmo em dose única. Adaptado de Khalifa et al., 2016.

Uma vez que os antibióticos são considerados como padrão-ouro para o tratamento de infecções bacterianas, o uso dos bacteriófagos pode ser associado a três principais indicações: (1) Combater infecções causadas por bactérias já resistentes a antibióticos convencionais; (2) Combater infecções resistentes a antibióticos apesar da sensibilidade positiva em testes de cultura, devido à dificuldade de acesso dos antibióticos em regiões com circulação deficiente, como em casos de osteomielite, úlceras diabéticas ou no caso de formação de biofilme; e (3) Combater bactérias quando está contraindicado o uso de antibióticos devido a, por exemplo,

alergias do paciente, problemas no trato gastrointestinal ou risco de infecções por *Clostridium difficile* (Steier et al., 2019).

4.4 Aplicabilidades odontológicas alternativas no contexto atual

A usabilidade de bacteriófagos na odontologia ainda se caracteriza como um campo relativamente novo (Shlezinger et al., 2017). A literatura carece de publicações que abordem o isolamento de fagos na cavidade bucal (Paisano & Bombana., 2010).

Lin e colaboradores já relataram em 1991 que o biofilme oral é o responsável mais frequente por infecções polimicrobianas no corpo humano. Existem fatores ambientais ou fatores genéticos que podem alterar a relação simbiótica no hospedeiro, gerando um biofilme disbiótico, ou seja, que ocasiona uma patologia oral (cárie dentária, doença periodontal e periimplantite são alguns exemplos). Este deve ser removido de forma mecânica (através do uso de escova dental, ultrassom, curetas ou fio dental), com o uso de antissépticos ou com antibióticos. Os bacteriófagos têm sido propostos como uma alternativa interessante para o tratamento desse biofilme disbiótico (Szafranski et al., 2017). As alternativas de tratamento do biofilme estão ilustradas na **figura 6**.

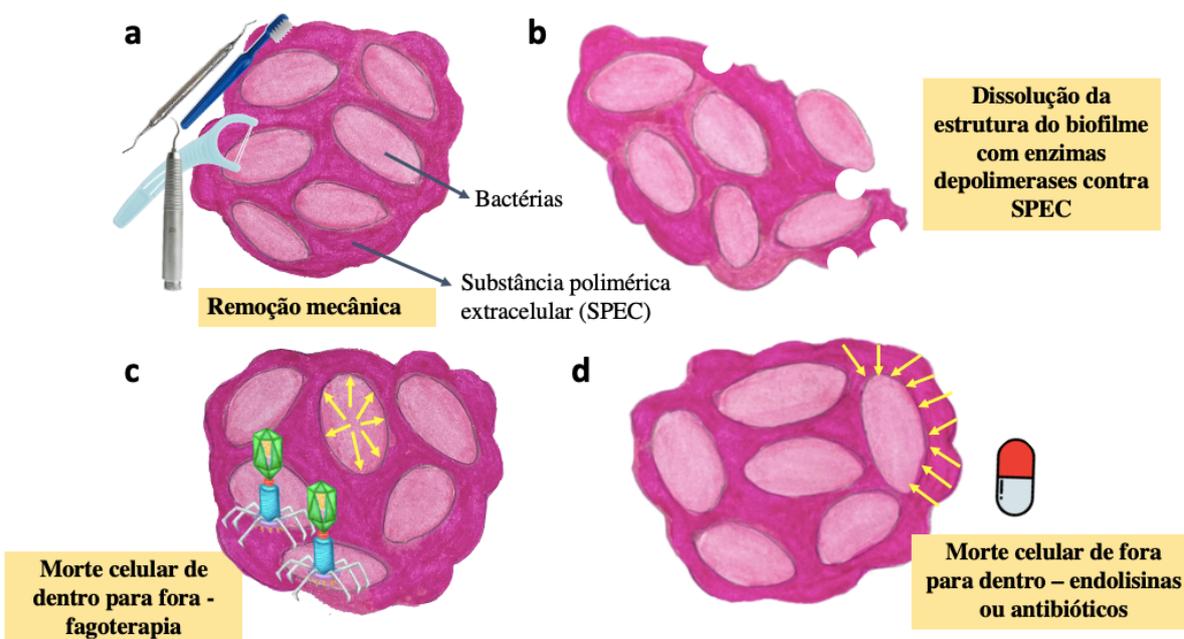


Figura 6 – Alternativas para remoção do biofilme. **a)** Remoção mecânica do biofilme fazendo uso de escova dental, fio dental, ultrassom ou curetas periodontais; **b)** Dissolução da matriz do biofilme a partir de enzimas depolimerases; **c)** Morte celular de dentro para fora como proposto

na fagoterapia; **d)** Morte celular de fora para dentro como mediada por endolisinas ou antibióticos direcionados à parede celular. Adaptado de Chan & Abedon, 2015.

Em 1977, Brady et al. observaram no biofilme dental, mediante uso de microscopia eletrônica de varredura, partículas semelhantes a vírus, demonstrando a possibilidade de isolar estes microrganismos e sua possível ação na cavidade oral. Fagos na saliva contra *E. faecalis* (Bachrach et al., 2003) foram identificados, seguidos pela identificação de fagos contra *F. nucleatum* (Machuca et al., 2010).

Para infecções de mucosa oral, Li e colaboradores em 2013 concluíram em seu estudo que peptídeos de bacteriófagos podem promover proliferação de células epiteliais na mucosa oral de humanos sem transformação tumoral. Algumas condições patológicas bucais, tais como periimplantite e lesões de cárie ainda não apresentam dados consistentes a respeito do uso da fagoterapia e ainda deve-se aguardar para a realização de testes clínicos, dada a pouca quantidade de informações a respeito do referido assunto (Delisle, 2004; Hashimoto et al., 2011).

Existem alguns tipos de bacteriófagos reportados na literatura contra bactérias específicas. Dentre eles, estão os contra *Actinomyces*, os quais atuam na formação do biofilme dental e estão presentes em abscessos (Szafranski et al., 2017); contra *Aggregatibacter*, que se encontra na periodontite, quando esta se manifesta de forma agressiva (Szafranski et al., 2017; Steier et al., 2019); contra *Enterococcus*, eventualmente presentes em infecções pulpares e em implantes (Szafranski et al., 2017); e contra *Streptococcus*, as quais atuam na formação de lesões de cárie, periodontites, abscessos e infecções cardíacas (Szafranski et al., 2017).

Os bacteriófagos também apresentam grande potencial para atuar contra as bactérias presentes nas condições de desequilíbrio de saúde periodontal, isto é, em quadros de gengivite e periodontite, sendo que existem prevalências diferentes de fagos na cavidade oral quando há saúde e doença: em indivíduos saudáveis normalmente predominam fagos líticos da família *Syphoviridae*, enquanto que em indivíduos com acúmulo exacerbado de placa são observados mais fagos líticos da família *Myoviridae* (Ly et al., 2014; Pinto et al., 2016).

A cárie sendo uma das doenças infecciosas mais prevalentes no mundo ocasionada pela desmineralização do esmalte e da dentina a partir de ácidos gerados pelo metabolismo de bactérias em um biofilme organizado (Featherstone, 2008), também acaba gerando interesse de pesquisadores para a resolução desse problema. Portanto, tem sido crescente o número de estudos nesta área.

A erradicação de dois grupos bacterianos envolvidos no processo de formação de biofilme e desenvolvimento da cárie dentária, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* também já foi estudada mediante isolamento de fagos virulentos (vB_SauM-EG-AE3 e vB_EfaP-EF01, respectivamente), mostrando que ambos podem ser efetivos na inibição do crescimento dessas bactérias resistentes a antibióticos (Nasr-Eldin et al., 2021). Outro grupo bacteriano comumente presente na cárie (*Streptococcus mutans*) também tem sido estudado. A caracterização de um fago específico para essas bactérias (SMHBZ8) pode ser um primeiro passo para o desenvolvimento da fagoterapia voltada à cárie, mostrando bons resultados de sua atividade lítica contra *Streptococcus mutans* e abrindo espaço para o desenvolvimento futuro de produtos de higiene como dentifrícios ou colutórios que explorem os fagos, ou que sejam complementares às alternativas de combate à cárie atualmente existentes (Ben-Zaken et al., 2021; Wolfviz-Zilberman et al., 2021).

4.5 Combate a infecções endodônticas

Na abordagem de lesões endodônticas, os fagos apresentam grande potencial, tendo em vista que uma de suas características peculiares é o seu tamanho. Por serem menores que as bactérias, podem penetrar com facilidade os túbulos dentinários em casos de infecções endodônticas (Paisano & Bombana 2010). Ainda carece de estudos mais abrangentes, pois as publicações existentes têm se concentrado no combate ao *E. faecalis* (Paisano et al., 2004; Tinoco et al., 2016; Khalifa et al., 2016). Esta bactéria gram-positiva anaeróbia facultativa é tida como um patógeno oportunista que está presente em falhas endodônticas e lesões periapicais, sendo, portanto, um problema terapêutico significativo (Molander et al., 1998; Wang et al., 2012).

De acordo com Szafranski e colaboradores (2017), fagos líticos contra *E. faecalis* têm sido reportados, tais como “ ϕ Ef11”, “EFDG1” e “EFLK1”, sendo efetivos na cavidade oral e capazes de se adaptar às mudanças bacterianas, o que pode contribuir para o combate contra bactérias multirresistentes. Mais recentemente, um fago definido como vB_ZEFP também foi evidenciado como um potencial agente de prevenção contra infecção após o tratamento endodôntico, uma vez que sua atividade lítica contra um biofilme de *E. faecalis* foi capaz de controlar o crescimento dessas bactérias *in vitro* e prevenir seu crescimento *ex-vivo* em canais radiculares (El-Telbany et al., 2021).

Estudos laboratoriais iniciais abordando a fagoterapia também têm sido conduzidos para *Pseudomonas aeruginosa*, um grupo de bactérias gram-negativas aeróbias frequentemente

encontrado em infecções endodônticas persistentes, mostrando que o uso dos fagos pode ser uma estratégia de redução da carga bacteriana, mas que ainda requer maiores aprofundamentos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* (Phee et al., 2013). Tais necessidades de continuidade de investigação são corroboradas na revisão de literatura publicada em 2020 por Chegini e colaboradores.

Para bactérias anaeróbias da cavidade oral ainda há limitações e necessidade de maiores descobertas (He et al., 2014). Dentre as espécies exploradas, já tem sido reportado na literatura o isolamento de dois bacteriófagos contra *Fusobacterium* (Szafranski et al., 2017). Trata-se de uma bactéria gram-negativa anaeróbia estrita, estando presente não só em canais radiculares, como em processos de desequilíbrio de saúde periodontal (Pinto et al., 2016; Kabwe et al., 2019).

O mais estudado, “Fn ϕ 02”, atua de forma discreta na lise bacteriana (Machuca et al., 2010). Em 2019, Kabwe e colaboradores (2019) isolaram outro fago para combate aos biofilmes de *F. nucleatum* denominado FNU1, sendo que este foi capaz de reduzir de forma significativa a massa do biofilme mediante lise das células bacterianas.

Nenhum fago específico para *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Tannerella* foi isolado e reportado na literatura até o presente momento. No entanto, estudos têm sido desenvolvidos abordando as propriedades genéticas bacterianas, as quais nos auxiliam na compreensão do seu funcionamento, mais especificamente seus mecanismos de resistência. Portanto, embora ainda não tenha sido possível isolar fagos para algumas bactérias específicas, os genomas bacterianos já apresentam um sistema de combate previamente estabelecido para fagos.

As bactérias têm adquirido defesas extremamente potentes em resposta à predação de fagos, de forma a proteger-se de ataques subsequentes do mesmo bacteriófago. O mecanismo pelo qual se realiza essa defesa é uma resposta imune adaptativa com base nas Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas em associação com as proteínas Cas (CRISPR-Cas), que integra pequenos fragmentos (proto-espaçadores) dos DNAs invasores (fagos ou plasmídeos) em genomas microbianos, os quais são transcritos em RNAs curtos, degradando as partes de DNA invasoras estranhas. De forma sintética, esse sistema anula sua ação sobre a bactéria rastreando e cortando a sequência complementar ao DNA encontrado no bacteriófago, adquirindo imunidade perante os elementos que transportam sequências correspondentes. Atualmente, esse sistema é dividido em duas classes e separados entre tipos e subtipos. A classe I funciona mediante o uso de diversas enzimas para que seja viável a clivagem do material genético invasor. Em contrapartida, a classe II tem apenas uma enzima responsável por essa clivagem, o que acaba atraindo maior interesse da comunidade

científica, tendo em vista a sua simplicidade quando comparada à classe I. (Szczepankowska, 2012; Bondy-Denomy et al., 2013; Makarova et al., 2020). O funcionamento do mecanismo CRISPR-Cas está ilustrado na **figura 7**.

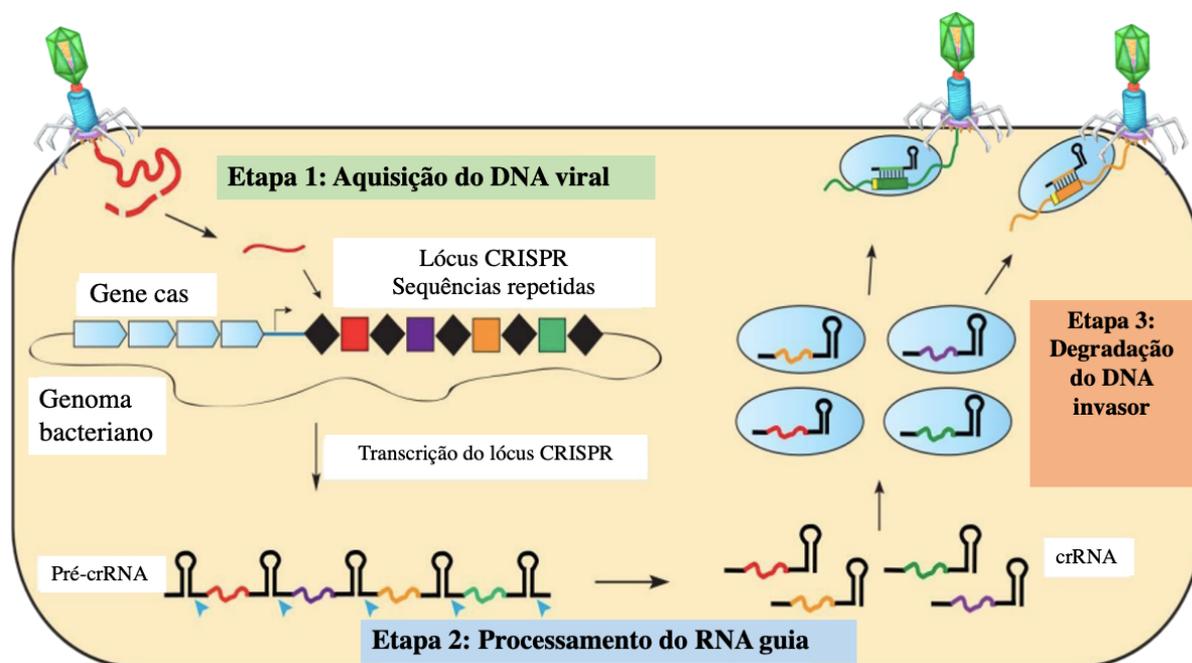


Figura 7 – Mecanismo de progressão do sistema CRISPR-Cas. Adaptado de Dias & Dias, 2016.

Explorando esse mecanismo direcionado a bactérias anaeróbias em cavidade bucal, temos o estudo de Chen & Olsen, de 2019, que se dedicou à espécie *P. gingivalis*. De acordo com os autores, o sistema CRISPR-Cas dessas bactérias parece ter um importante papel na defesa, sendo que parecem ter desenvolvido um sistema seletivo que auxilia na regulação da transferência genética. Ainda requer maiores estudos, pois, interessantemente, conseguem se proteger nas bolsas periodontais, áreas estas em que os fagos são abundantes e podem, inclusive, superar o número de bactérias (Watanabe et al., 2017; Chen & Olsen, 2019).

Fagos específicos para *Streptococcus*, bactéria anaeróbia facultativa, foram encontrados em modelo *in vivo* na publicação de Pride, Salzman & Relman, de 2012, a partir do estudo do mecanismo de defesa CRISPR-Cas. Os mesmos constataram que os espaçadores genéticos (componentes do mecanismo) coexistem com os fagos, sugerindo que o CRISPR-Cas estreptocócico fica em constante pressão contra os vírus presentes na saliva, isto é, em constante atividade antagônica.

Para *Lactobacillus*, bactérias anaeróbias envolvidas na cárie dentária, e subsequentemente em processos endodônticos, existem limitados e antigos relatos na literatura

de isolamento de fagos. No trabalho de Meyers, Walter & Green (1958), foram investigadas doze cepas de *Lactobacillus*. Como resultados, obtiveram atividade fágica lítica para quatorze das vinte e cinco amostras coletadas contra algumas subespécies de *Lactobacillus*, incluindo *L. casei*, a qual está intimamente relacionada com a progressão da doença cárie. De acordo com Sechaud et al. (1988), existem dois grupos de bacteriófagos capazes de agir contra *L. casei*: o PL-1, que apresenta atividade lítica contra *L. casei* ATCC 27092 e lisogênica contra *L. casei* ATCC 334; e Φ FSW, um fago temperado que age contra *L. casei* ATCC 27139, sendo que seu estado lisogênico pode ser alterado tanto por mutações pontuais ou pela inserção de um elemento móvel genético chamado ISL 1.

Ainda que seja uma área de conhecimento com grande potencial de evolução, cabe destacar a atual situação das pesquisas científicas na mesma, uma vez que tem se concentrado esforços para o aprimoramento de estudos laboratoriais. Os ensaios clínicos de terapia fágica contra infecções bacterianas ainda se encontram em estágio inicial e elementos importantes como condições ideais de uso, englobando concentração, tempo e sequência de administração, assim como possíveis combinações complementares aos antibióticos precisam ser trabalhadas, de modo a estabelecer cada vez mais a confiabilidade e efetividade deste método alternativo (Düzgünes, Sessevmez & Yildirim, 2021).

Para Ross et al. (2016), de forma geral, os fagos apresentam um interessante potencial, uma vez que evoluem com o passar do tempo, podendo apresentar inesperada plasticidade. O uso de coquetéis de fagos pode ser uma alternativa de manejo bacteriano, de forma a reduzir e controlar um maior número de bactérias, ampliando opções de tratamento (Tian et al., 2021). Dessa forma, o estudo desse grupo de vírus tem muito a contribuir para o reestabelecimento de saúde e combate à resistência a múltiplas drogas, explorando novos caminhos e reduzindo infecções, revolucionando a era de não-antibióticos. (Loganathan et al., 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fracassos na terapia endodôntica são observados na prática clínica devido à permanência de bactérias no sistema de canais radiculares, sendo estas, em grande parte, anaeróbias. Configurando-se como um significativo problema terapêutico e frente à resistência bacteriana adquirida a antibióticos, novas estratégias têm sido estudadas na tentativa de erradicar ou diminuir a carga destes microrganismos para restabelecer saúde.

Dessa forma, os bacteriófagos têm sido propostos como alternativas substitutivas ou complementares aos protocolos tradicionais de desinfecção e como forma de reduzir o uso indiscriminado de antibióticos, combatendo as bactérias multirresistentes (também conhecidas como “*superbugs*”). Tal estratégia pode ser interessante quando comparada aos antibióticos pois são capazes de penetrar o biofilme de maneira mais profunda, erradicando as bactérias presentes, enquanto que os antibióticos acabam atuando apenas em sua camada mais superficial (Khalifa et al., 2016). No que tange à antibioticoterapia, esta deve ser aplicada com grande prudência justamente devido aos mecanismos de adaptação e evolução das bactérias, o que pode dificultar a resolução de quadros infecciosos. Portanto, debruçar-se em métodos alternativos que possam ser mais específicos e eficazes contra as mesmas deve ser prioridade para a comunidade científica.

Ainda que a fagoterapia seja muito atrativa, para bactérias anaeróbias, a literatura tem se concentrado apenas em *F. nucleatum*, havendo necessidade de ampliação de investigações para outros grupos bacterianos, de forma a compreender suas interações que contribuem para o insucesso endodôntico e, simultaneamente, gerar estratégias direcionadas para o combate a determinadas espécies. Não obstante, os estudos ainda se encontram em fases laboratoriais e elementos significativos de uso dos fagos como concentração, tempo e sequência de administração ainda não foram bem estabelecidos com clareza para transpô-los à prática clínica (Düzgünes, Sessevmez & Yildirim, 2021).

Cabe destacar que o crescente interesse em bacteriófagos não se limita à Endodontia e deve ser encorajado e integrado nas pesquisas das mais diversas áreas da Odontologia, uma vez que a persistência e eliminação de biofilmes bacterianos são desafios compartilhados que interferem nos tratamentos e na qualidade de vida dos pacientes.

Com esta revisão de literatura, objetivou-se coletar e relatar os estudos publicados até o presente momento que explorassem a fagoterapia e suas perspectivas odontológicas, mais especificamente como método auxiliar no combate a infecções endodônticas, de modo a se opor à resistência bacteriana e compreender a interação dos fagos com os biofilmes. Ao identificar a situação atual da ciência nestes tópicos, suas limitações e potenciais continuidades no futuro,

espera-se um aprofundamento ainda maior em pesquisas translacionais para que essa terapia se torne uma realidade prática e segura para todos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT P.V.; HUME, W.R.; PEARMAN J.W. Antibiotics and endodontics. **Aus Dent J.**, Australia, v. 35, n. 1, p. 50-60, Fev. 1990.
- ABDULKADER, A.; DUGUID, R.; SAUNDERS, E. M. The antimicrobial activity of endodontic sealers to anaerobic bacteria. **Int Endod J.**, United Kingdom, v. 29, n. 4, p. 280–283, Jul. 1996.
- ABEDON, S.T. *et al.* Phage treatment of human infections. **Bacteriophage**, United States, v. 1, n. 2, p. 66-85, Mar. 2011.
- ABUSREWIL, S. *et al.* Detection, treatment and prevention of endodontic biofilm infections: what's new in 2020? **Crit Rev Microbol**, England, v. 46, n. 2, p. 194-212, Mar. 2020.
- BACHRACH, G. *et al.* Bacteriophage isolation from human saliva. **Lett. Appl. Microbiol.**, United Kingdom, v. 36, n. 1, p. 50–53, Jan. 2003.
- BALDASSO, F.E.R. *et al.* Microflora associated with primary endodontic infections: correlations among SEM evaluation, clinical features, and radiographic findings. **Microsc Res Tech.**, United States, v. 75, n. 11, p. 1557-1563, Nov. 2012.
- BARBOSA-RIBEIRO *et al.* Microbiological analysis of endodontically treated teeth with apical periodontitis before and after endodontic retreatment. **Clin Oral Investig.**, Germany, v. 25, n. 4, p. 2017-2025, Aug. 2020.
- BEN-ZAKEN, H. *et al.* Isolation and Characterization of *Streptococcus mutans* Phage as a Possible Treatment Agent for Caries. **Viruses**, Switzerland, v. 13, n. 5, p. 825, May 2021.
- BHARDWAJ, S.B. Bacteriophage Therapy: A possible new alternative for oral diseases. **Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, India, v. 3, n. 6, p. 437-442, Jun. 2014.
- BRADBURY, J. My enemy's enemy is my friend. Using phages to fight bacteria. **Lancet**, United Kingdom, v.363, n. 9409, p.624-625, Feb. 2004.
- BRADY, J.M; GRAY, W.A; CALDWELL, M.A. The electron microscopy of bacteriophage-like particles in dental plaque. **J. Dent. Res.**, United States, v. 56, n. 8, p. 991–993, Aug. 1977.
- BRENNAN, C & GARRETT, W. *Fusobacterium nucleatum* - symbiont, opportunist and oncobacterium. **Nat Rev Microbiol**, England, v. 17, n. 3, p. 156-166, Mar. 2019.
- BOLSTAD, A. I.; JENSEN, H. B.; BAKKEN, V. Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. **Clin Microbiol Rev.**, United States, v. 9, n. 1, p. 55-71, Jan. 1996.
- BONDY-DENOMY, J. *et al.* Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. **Nature**, England, v. 463, n. 7432, p. 429-432, Jan, 2013.
- BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int Endod J.**, United Kingdom, v. 18, n.1, p. 35-40, Jan. 1985.

CAMPOS, M.I.C; CAMPOS, C.S; VITRAL, R.W.F. The Use of Bovine Teeth as a Substitute for Human Teeth in Dentistry Research: A Review of the Literature. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, v. 8, n.1, p. 127-132, 2008.

CARLTON, R.M. Phage therapy: past history and future prospects. **Arch Immunol Ther Exp.**, Switzerland, v. 47, n.5, p. 267-274, Jan. 1999.

CHEGINI, Z. et al. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. **Ann Clin Microbiol Antimicrob**, England, v. 19, n. 1, p. 45, Sep. 2020.

CHAN, B.; ABEDON, S. Bacteriophages and their Enzymes in Biofilm Control. **Curr Pharm Des**, United Arab Emirates, v. 25, n. 1, p. 85-99, 2015.

CHEN, T. & OLSEN, I. *Porphyromonas gingivalis* and its CRISPR-Cas system. **J Oral Microbiol**, United States, v. 11, n, 1, p. 1638196, Jul. 2019.

CRONIN, P.; RYAN F. & COUGHLAN, M. Undertaking a literature review: a step-by-step approach. **Br J Nurs**, England, v. 17, n. 1, p. 38-43, Jan. 2008.

D'ARCANGELO, C., VARVARA, G.; DE FAZIO, P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. **J Endod.**, United States, v. 25, n. 5, p. 351–353, May 1999.

DELISLE, A. Bacteriophage-Encoded Enzymes for the Treatment and Prevention of Dental Caries and Periodontal Disease. U.S. Patent 20040234461 A1, 25 Nov. 2004.

DIAS, C; DIAS J. O Sistema CRISPR/Cas como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: aplicações e implicações. Available in <https://multivix.edu.br/wp-content/uploads/2018/08/o-sistema-crispr-cas-como-uma-nova-ferramenta-biotecnologica-na-edicao-de-genomas-aplicacoes-e-implicacoes.pdf>. Access in: Oct. 25, 2021.

DUCKWORTH, D.H. Who discovered bacteriophage? **Bacteriol Rev.**, United States, v. 40, n. 4, p. 793–802, Dec. 1976.

DÜZGÜNEŞ, N; SESSEVMEZ, M & YILDIRIM, M. Bacteriophage Therapy of Bacterial Infections: The Rediscovered Frontier. **Pharmaceuticals (Basel)**, Switzerland, v. 14, n. 1, p. 34, Jan. 2021.

EL-TEBANY, P. et al. Bacteriophages to Control Multi-Drug Resistant *Enterococcus faecalis* Infection of Dental Root Canals. **Microorganisms**. Switzerland, v. 9, n, 3, p. 517-536, Mar. 2021.

FARAC, R. V. *et al.* Ex-vivo Effect of Intracanal Medications Based on Ozone and Calcium Hydroxide in Root Canals Contaminated with *Enterococcus faecalis*. **Braz Dent J.**, Brazil, v. 24, n. 2, p. 103-106, Apr. 2013.

FEATHERSTONE, J. Dental caries: a dynamic disease process. **Aust Dent J**, v. 53, n. 3, p. 286-291, Sep. 2008.

FIGUEIREDO, J.A.P *et al* (2018). Dendritic cells and their relation to apical periodontitis. **Braz. Oral. Res.**, v. 32, supl. 1, e71, p. 119-125, Jun. 2018.

FIMPLE, J.L *et al*. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection In Vitro. **J Endod.** United States, v. 34, p. 728-734. Jun. 2008.

FUKUSHIMA, H. *et al*. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J Endod.**, United States, v. 16, n. 11, p. 534-538, Nov. 1990.

KABWE, M. *et al*. Genomic, morphological and functional characterisation of novel bacteriophage FNU1 capable of disrupting *Fusobacterium nucleatum* biofilms. **Sci Rep**, England, v. 9, n. 1, p. 9107, Jun. 2019.

KHALIFA, F. *et al*. Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. **J Oral Microbiol.** United Kingdom, v. 8, n. 1, p. 32157, Sep. 2016.

KRIEBEL, K. *et al*. Oral Biofilms from Symbiotic to Pathogenic Interactions and Associated Disease -Connection of Periodontitis and Rheumatic Arthritis by Peptidylarginine Deiminase. **Front. Microbiol.**, Switzerland, v. 9, n. 23 p. 1-14, Jan. 2018.

KONDO, Y. *et al*. Involvement of PorK, a component of the type IX secretion system, in *Prevotella melaninogenica* pathogenicity. **Microbiol Immunol**, Australia, v. 62, n. 9, p. 554-566, Sep. 2018.

GALHANO, G. *et al*. Comparison of resin push-out strength to root dentin of bovine- and human-teeth. **Indian J Dent Res.**, India, v. 20, n. 3, p. 332-336, Jul-Sep. 2009.

GHANNAD, M.; MOHAMMADI, A. 2012. Bacteriophage: Time to reevaluate the potential of phage therapy as a promising agent to control multidrug resistant bacteria. **Iran J Basic Med Sci.**, Iran, v. 15, n. 2, p. 693-701, Mar-Apr 2012.

GONZÁLEZ C.F.; DOMINGO-CALAP, P. Phages for Biofilm Removal. **Antibiotics**, Switzerland, v. 9, n. 5, p. 1-16, May 2020.

GRÜNDLING, G. L. *et al*. Effect of Ultrasonics on *Enterococcus faecalis* Biofilm in a Bovine Tooth Model. **J Endod.**, United States, v.37, n.8, p. 1128-1133, Aug. 2011.

HANLON, G. W. (2012). Applications of Bacteriophage Technology. *In*: FRAISE A.P; MAILLARD, J.; SATTAR, S.A. **Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization**, 5 ed. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2012. p. 565–575.

HARPER, D.S.; LOESCHE, W. Growth and acid tolerance of human dental plaque bacteria. **Arch Oral Biol**, United Kingdom, v. 29, n.10, p. 843-848, 1984.

HASHIMOTO, K. *et al*. Identification of peptide motif that binds to the surface of zirconia. **Dent. Mater. J.**, Japan, v. 30, n. 6, p. 935–940, Aug. 2011.

HE, X. *et al*. (2014). The social structure of microbial community involved in colonization resistance. **ISME J.**, United Kingdom, v. 8, n. 3, p. 564–574, Mar. 2014.

JACINTO, R. C. *et al.* Frequency, Microbial Interactions, and Antimicrobial Susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium necrophorum* Isolated from Primary Endodontic Infections. **J Endod.**, United States, v. 34, n. 12, p. 1451–1456. Dec. 2008.

JHAJHARIA, K., *et al.* Biofilm in endodontics: A review. **J. Int. Soc. Prev. Community Dent.**, India, v.5, n. 1, p. 1-12, Jan-Feb 2015.

KUMAR, L.; COX, C.; SARKAR, S. Matrix metalloprotease-1 inhibits and disrupts *Enterococcus faecalis* biofilms. **PLoS One**, United States, v.14, n.1, p.1-18, Jan. 2019.

LI, G-J *et al.* Keratinocyte growth factor phage model peptides can promote human oral mucosal epithelial cell proliferation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.**, United States, v. 116, n. 2, p. 92–97 Aug. 2013.

LIN, L.M. *et al.* Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, United States, v. 71, n. 5, p. 603-611, May 1991.

LIU, C.G, *et al.* Phage-Antibiotic Synergy Is Driven by a Unique Combination of Antibacterial Mechanism of Action and Stoichiometry. **mBio**, United States, v. 11, n. 4, p. 1-19, Aug. 2020.

LOGANATHAN, A. *et al.* Phage therapy as a revolutionary medicine against Gram-positive bacterial infections. **Beni Suef Univ J Basic Appl Sci.** v. 10. N. 1, p. 49, Aug. 2021.

LOVE, R.M. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. **Int Endod J.**, United Kingdom, v. 34, n. 5, p. 399-405, Jul. 2001.

LY, M. *et al.* Altered oral viral ecology in association with periodontal disease, **mBio**, United States, v. 5, n. 3, p. 1133-14, May 2014.

MACHUCA, P. *et al.*, Isolation of a novel bacteriophage specific for the periodontal pathogen *Fusobacterium nucleatum*. **Appl. Environ. Microbiol.**, United States, v. 76, n. 21, p. 7243–7250, Nov. 2010.

MAKAROVA, K. *et al.* Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. **Nat Rev Microbiol**, England, v. 18, n. 2, p. 67-83, Feb. 2020.

MCADAMS, D. *et al.* (2019). Resistance diagnostics as a public health tool to combat antibiotic resistance: A model-based evaluation. **PLoS Biol.**, United States, v. 17, n. 5, p. 1-18, May. 2019.

MEYERS, C; WALTER, E. & GREEN, L. Isolation of a bacteriophage specific for a *Lactobacillus casei* from human oral material. **J Dent Res**, United States, v. 37, n. 1, p. 175-178, Feb. 1958.

MOLANDER, A. *et al.* Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, United Kingdom, v.31, n.1, p.1-7, 1998.

NASR-ELDIN, M. *et al.* Isolation and Characterization of Two Virulent Phages to Combat *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* causing Dental Caries. **J Pure Appl Microbiol**, India, v. 15, n. 1, p. 320-334, Feb. 2021.

NOVIK, G.; LADUTSKA, A.; RAKHUBA, D. Bacteriophage taxonomy and classification. *In*: VILAS, A.M (ed). **Antimicrobial Research: Novel Bioknowledge and Educational Programs; Microbiology Book Series N° 6**; 1 ed. Spain: Formatex Research Center, 2017. p. 251–259.

ORLOVA, E.V. Bacteriophages and their structural organization. *In*: Kurtböke, I. (ed.) **Bacteriophages**. Croatia: InTech, 2012. p. 3-30.

PAISANO, A.F. *et al.* In vitro antimicrobial effect of bacteriophages on human dentin infected with *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Oral Microbiol. Immunol.**, United States, v. 19, n. 5, p. 327–330. Oct. 2004.

PAISANO, A.F, BOMBANA, A.C. Fagoterapia como alternativa no combate às infecções endodônticas. Porto Alegre, RGO, **Rev. gaúch. odontol.** (Online) vol. 58 n. 2, p. 243-252, abr-jun. 2010.

PATIERNO, J.M *et al.* Push-out strength and SEM evaluation of resin composite bonded to internal cervical dentin. **Endod Dent Traumatol.**, United Kingdom, v. 12, n. 5, p. 227–236, Oct. 1996.

PELFRENE, E. *et al.* Bacteriophage therapy: a regulatory perspective. **J Antimicrob Chemother.** United Kingdom, v.71, n.8, p. 2071-2074. Aug. 2016.

PHEE, A. *et al.* Efficacy of bacteriophage treatment on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **J Endod**, United States, v. 39, n. 3, p. 364-369. Mar. 2013.

PINTO, G. *et al.* The role of bacteriophages in periodontal health and disease. **Future Microbiol**, England, v. 11, p. 1359-1369, Oct. 2016.

PIRISI, A. Phage therapy- advantages over antibiotics? **Lancet**, United Kingdom, v. 356, n. 9239, p. 1418, Oct. 2000.

PRIDE, D., SALZMAN, J. & RELMAN, D. Comparisons of clustered regularly interspaced short palindromic repeats and viromes in human saliva reveal bacterial adaptations to salivary viruses. **Environ Microbiol**, England, v. 14, n. 9, p. 2564-2576, Sep. 2012.

PUCCI, C.R *et al.* Effects of surface treatment, hydration and application method on the bond strength of a silorane adhesive and resin system to dentine. **J Dent.**, Netherlands, v. 41, n. 3, p. 278–286, Mar. 2013.

RÔÇAS, I. N. *et al.* “Red complex” (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: A molecular approach. **Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, United States, v. 91, n. 4, p. 468–471, Apr. 2001.

ROSS, A., WARD, S., HYMAN, P. More Is Better: Selecting for Broad Host Range Bacteriophages. **Front Microbiol.**, Switzerland, v. 7, n. 1352, p. 1-6, Sep. 2016.

ROTMAN, S.G. *et al.* Local bacteriophage delivery for treatment and prevention of bacterial infections. **Front Microbiol.**, Switzerland, v. 11, n. 538060, p. 1-20, Sep. 2020.

- SAITO, Y, *et al.* Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. **Oral Microbiol Immunol**, United States, v. 23, n. 1, p. 1–6, Feb. 2008.
- SAKKO, M. *et al.* Microbiology of Root Canal Infections. **Prim Dent J.**, United Kingdom, v. 5, n. 2, p. 84-89, May 2016.
- SECHAUD, L. *et al.* Bacteriophages of lactobacilli. **Biochimie**, France, v. 70, n. 3, p. 401-410, Mar. 1988.
- SHLEZINGER, M. *et al.* Phage Therapy: A New Horizon in the Antibacterial Treatment of Oral Pathogens. **Curr. Top. Med. Chem.**, United Arab Emirates, v. 17, n. 10, p. 1199–1211, 2017.
- SIQUEIRA, J. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, United States, v. 94, n. 3, p. 281-293, Sep. 2002.
- SMITH, H.W; HUGGINS, M.B; SHAW, K.M. The Control of Experimental *Escherichia coli* Diarrhoea in Calves by Means of Bacteriophages. **J Gen Microbiol.**, United Kingdom, v. 133, n. 5, p. 1111–1126, May, 1987.
- SOARES, F. Z. M. *et al.* Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies. **Dent Mater.**, Netherlands, v. 32, n. 11, p. 1385-1393, Nov. 2016.
- STEIER, L.; DE OLIVEIRA, S.D; DE FIGUEIREDO J.A.P. Bacteriophages in Dentistry—State of the Art and Perspectives. **Dent J (Basel)**, Switzerland, v. 7, n. 1, p. 1-7, Jan. 2019.
- STOJANOVIĆ, N. *et al.* Prevalence of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis* in infected root canals and their susceptibility to endodontic treatment procedures: a molecular study, **Srp Arh Celok Lek.**, Serbia, v. 142, n. 9-10, p. 535-541, Sep-Oct. 2014.
- SUNDQVIST, G. *et al.* Pathogenicity and virulence of black-pigmented gram-negative anaerobes. **FEMS Immunol Med Microbiol.**, United Kingdom, v. 6, n. 2-3, p.125-137. Mar. 1993.
- SUNDQVIST, G. *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, United States, v. 85, n. 1, p. 86-93. Jan, 1998.
- SUNDDQVIST, G.; FIGDOR, D. Life as an endodontic pathogen - Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. **Endodontic Topics**, United States, v. 6, p. 3-28, 2004.
- SZCZEPANKOWSKA, A. Role of CRISPR/cas system in the development of bacteriophage resistance. **Adv Virus Res**, United States, v. 82, p. 289-338, 2012.
- SZAFRAŃSKI, S. P., WINKEL, A.; STIESCH, M. The use of bacteriophages to biocontrol oral biofilms. **J Biotechnol.**, Netherlands, v. 250, p. 29–44, May, 2017.

TIAN, F. et al. Bacteriophage – A Promising Alternative Measure for Bacterial Biofilm Control. **Infect Drug Resist**, New Zealand, v. 14, p. 205-217, Jan. 2021.

TINOCO, J.M. et al. Effect of a genetically engineered bacteriophage on *Enterococcus faecalis* biofilms. **Arch. Oral Biol.**, Netherlands, v. 71, p. 80–86, Nov. 2016.

THOMAS, S.J; ELEAZER, P.D. Aerotolerance of an endodontic pathogen. **J Endod.**, United States, v. 29, n. 10, p. 644-645, Oct. 2003.

VILLANUEVA, L. E. Fusobacterium nucleatum in endodontic flare-ups. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, United States, v. 93, n. 2; p.179–183, Feb. 2002.

ZANCHI, C.H. et al. Development of experimental HEMA-free three-step adhesive system. **J Dent.**, v. 38, n. 6, p. 503-508, Jun. 2010.

ZARGAR, N. et al. Identification of microorganisms in persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings: bacterial culture and molecular detection. **Iran J Microbiol**, Iran, v. 11, n. 2, p. 120-128, Apr. 2019.

WALDOR, M.K., FRIEDMAN, D.I.; ADHYA, S.L. **Phages, their role in bacterial pathogenesis and biotechnology**. Washington, DC: ASM Press, 2005.

WANG, Q. et al. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. **Int J Oral Sci**. China, v. 4, n. 3, p. 19-23, Mar. 2012.

WATANABE, T. et al. Investigation of potential targets of *Porphyromonas* CRISPRs among the genomes of *Porphyromonas* species. **PLoS One**, United States, v. 12, n. 8, p. 183752, Aug. 2017.

WOLFOVIZ-ZILBERMAN, A. et al. Phage Targeting *Streptococcus mutans* In Vitro and In Vivo as a Caries-Preventive Modality. **Antibiotics (Basel)**, Switzerland, v. 10, n. 8, p. 1015, Aug. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2020). **Antimicrobial resistance**. Available at <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>. Access in: 2 Apr. 2021.