O POTENCIAL USO DE BACTERIÓFAGOS NO CONTROLE DE BIOFILMES DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MULTIRRESISTENTE

Larissa Victória Alves Barbosa; Graziele de Morais Piffer.

RESUMO

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria oportunista associada a infecções de difícil tratamento, especialmente devido aos seus mecanismos de resistência aos antibióticos. A formação de biofilmes contribui para a persistência da infecção bacteriana e dificulta a eficácia dos tratamentos convencionais. Este trabalho teve como objetivo analisar o potencial dos bacteriófagos no controle de biofilmes previamente formados por *P. aeruginosa* multirresistente. Trata-se de uma revisão bibliográfica da literatura científica com coleta de dados realizada por meio de consultas às bases de dados PubMed, SciELO e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), utilizando os descritores em português e inglês: "*Pseudomonas aeruginosa*", "biofilme", "resistência antimicrobiana", "bacteriófagos", "fagoterapia", "phage therapy", "biofilm" e "antimicrobial resistance", combinados por meio dos operadores booleanos AND e OR. Os estudos analisados demonstraram que determinados bacteriófagos apresentam capacidade de reduzir células bacterianas suscetíveis e comprometer a estrutura de biofilmes previamente estabelecidos. Estratégias como coquetéis de bacteriófagos, associação com antibióticos e engenharia genética demonstraram potencial para aprimorar a atividade antibiofilme, embora os resultados variem conforme as condições experimentais. Entretanto, fatores como o espectro restrito de hospedeiros, as características estruturais dos biofilmes e a resistência bacteriana aos fagos representam limitações importantes para a eficácia do tratamento. Conclui-se que os bacteriófagos possuem potencial como estratégia alternativa ou complementar para o controle de biofilmes de *P. aeruginosa*, sendo necessárias investigações adicionais para ampliar sua segurança e aplicabilidade terapêutica.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*. Bacteriófagos. Biofilmes. Fagoterapia. Resistência bacteriana.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic bacterium associated with difficult-to-treat infections, particularly due to its antibiotic resistance mechanisms. Biofilm formation contributes to the persistence of bacterial infections and reduces the effectiveness of conventional treatments. This study aimed to analyze the potential of bacteriophages in controlling pre-established biofilms formed by multidrug-resistant *P. aeruginosa*. This study consists of a literature review based on scientific publications retrieved from the PubMed, SciELO, and Virtual Health Library (VHL) databases, using the following descriptors in Portuguese and English: "*Pseudomonas aeruginosa*", "biofilme", "resistência antimicrobiana", "bacteriófagos", "fagoterapia", "phage therapy", "biofilm", and "antimicrobial resistance", combined using the Boolean operators AND and OR. The reviewed studies demonstrated that certain bacteriophages can reduce susceptible bacterial cell populations and disrupt the structure of pre-established biofilms. Strategies such as bacteriophage cocktails, combination therapy with antibiotics, and genetic engineering have shown potential to enhance antibiofilm activity, although outcomes vary depending on experimental conditions. However, factors such as the narrow host range of bacteriophages, the structural characteristics of biofilms, and bacterial resistance to phages represent significant limitations to treatment efficacy. It is concluded that bacteriophages have potential as an alternative or complementary strategy for controlling *P. aeruginosa* biofilms, although further investigations are needed to improve their safety and therapeutic applicability.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*. Bacteriophages. Biofilms. Phage therapy. Bacterial resistance.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, os seres humanos convivem de forma comensal com grande número de diferentes bactérias. Apesar de muitas desempenharem papéis essenciais à saúde humana, como na digestão, outras representam uma ameaça constante devido ao seu potencial patogênico. Com a descoberta do primeiro antibiótico por Alexander Fleming, entre 1928 e 1929, foi obtido um marco revolucionário na medicina moderna, possibilitando o tratamento eficaz de infecções bacterianas (TORTORA et al., 2025; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2020).

No entanto, o consumo indiscriminado e prolongado de antimicrobianos ao longo das décadas levou esses microrganismos a desenvolverem resistência a medicamentos que outrora foram eficazes, através de alterações genéticas que promovem resistência aos antimicrobianos que anteriormente inibiria seu desenvolvimento com facilidade (CHÁVEZ-JACOBO, 2020).

Diante desse cenário preocupante, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou, em 2024, a Lista de Patógenos Bacterianos Prioritários (OMS BPPL), na qual caracterizou esses patógenos com base no risco global de resistência antimicrobiana em grupos de prioridade média, alta e crítica (OMS, 2024). Estima-se que, até 2050, aproximadamente 1,91 milhão de mortes anuais poderão ser diretamente atribuídas à resistência bacteriana aos antimicrobianos em todo o mundo, enquanto cerca de 8,22 milhões de óbitos poderão estar associados a essas infecções. Esses dados foram apresentados em um estudo publicado na revista The Lancet, que também estimou que, em 2021, aproximadamente 1,14 milhão de mortes foram diretamente atribuíveis à resistência antimicrobiana, evidenciando a gravidade desse problema e seu impacto crescente sobre a saúde pública mundial (GBD 2021 ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS, 2024).

Entre os patógenos classificados como de alta prioridade pela OMS em 2024, destaca-se a *Pseudomonas aeruginosa*, um bacilo gram-negativo, flagelado e não esporulado, frequentemente associada a infecções do trato respiratório, trato urinário e de feridas, podendo causar infecções graves, principalmente em pacientes hospitalizados e imunocomprometidos (OMS, 2024; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2020).

É uma bactéria oportunista que está presente em variados ambientes. A *Pseudomonas aeruginosa* possui diversos fatores de virulência que a torna eficaz na sua secreção de toxinas na célula hospedeira. Embora possua diversos fatores de virulência, estes devem atuar de forma sinérgica para o estabelecimento da infecção.

Dentre os mecanismos de resistência adaptativa, destaca-se a formação de biofilmes, comunidades bacterianas estruturadas. Essas comunidades podem apresentar suscetibilidade aos antimicrobianos até mil vezes menor quando comparadas às células bacterianas em estado planctônico. Além disso, o ambiente do biofilme pode favorecer a transferência horizontal de material genético entre as bactérias, contribuindo para a disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos (URUÉN et al., 2021).

Diante da dificuldade terapêutica de infecções causadas por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* associadas à formação de biofilme e resistência múltipla a antimicrobianos, torna-se necessária a investigação de novas abordagens e estratégias para tratamentos alternativos. Entre as abordagens estudadas, destaca-se a fagoterapia, baseada no uso de bacteriófagos, vírus que infectam especificamente bactérias e que podem apresentar atividade contra cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos convencionais. A fagoterapia apresenta vantagens devido à capacidade dos bacteriófagos de evoluir e se adaptar às bactérias-alvo. Os bacteriófagos podem ser utilizados de forma isolada ou em combinações (coquetéis), podendo ter uma eficácia contra até 90% das cepas de uma determinada espécie bacteriana. (CARVALHO et al., 2024)

Diante desse cenário, justifica-se a investigação do potencial dos bacteriófagos como uma estratégia alternativa para o controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, considerando as dificuldades de tratamento associadas à resistência aos antimicrobianos convencionais e à capacidade dessas comunidades bacterianas de dificultar a ação dos tratamentos.

Assim, estabelece-se como problema de pesquisa a seguinte questão: de que forma os bacteriófagos podem contribuir para o controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, e como as modificações genéticas podem potencializar sua eficácia?
Para responder a essa questão, o presente trabalho tem como objetivo investigar o potencial dos bacteriófagos no controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*, abordando seus mecanismos de ação e os avanços biotecnológicos relacionados à modificação genética desses vírus para potencializar sua eficácia contra cepas multirresistentes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar o potencial dos bacteriófagos no controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, abordando seus mecanismos de ação e as estratégias utilizadas para potencializar sua eficácia.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever os principais mecanismos de formação de biofilmes e de resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Investigar a ação dos bacteriófagos no controle de biofilmes bacterianos previamente estabelecidos.
- Analisar estratégias para potencializar a atividade antibiofilme dos bacteriófagos, incluindo coquetéis fágicos, associação com antibióticos e engenharia genética.
- Identificar as principais limitações e os desafios relacionados à aplicação clínica da fagoterapia.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho consiste em uma revisão bibliográfica, de abordagem qualitativa e caráter descritivo, com o objetivo de analisar o potencial uso de bacteriófagos no controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.
A pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de consultas às bases de dados PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), utilizando termos em português e inglês relacionados a *Pseudomonas aeruginosa*, biofilmes, bacteriófagos, fagoterapia e resistência antimicrobiana, combinados por meio dos operadores booleanos AND e OR.
Foi adotado o recorte temporal de 2000 a 2026, incluindo publicações selecionadas conforme sua pertinência ao tema e aos objetivos do estudo. Foram considerados trabalhos relacionados às características de *P. aeruginosa*, aos seus mecanismos de resistência e à formação de biofilmes, bem como pesquisas que abordassem a ação dos bacteriófagos sobre essas comunidades bacterianas. Foram excluídas publicações anteriores ao ano 2000 e trabalhos que não apresentassem relação com o tema proposto. Também foram utilizadas obras de referência publicadas dentro do período estabelecido para fundamentar os conceitos microbiológicos necessários à compreensão do tema.
As informações selecionadas foram analisadas qualitativamente e organizadas de acordo com os principais assuntos abordados no trabalho, considerando os mecanismos de formação e persistência dos biofilmes, a atividade dos bacteriófagos, as estratégias investigadas para potencializar sua eficácia e as limitações relacionadas à aplicação da fagoterapia.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1. *Pseudomonas aeruginosa*: características gerais

Descrita pela primeira vez em 1882 por Carle Gessard, a *Pseudomonas aeruginosa* é uma espécie de bactéria pertencente ao gênero Pseudomonas. Essa bactéria possui sua morfologia em formato bacilar e sua característica tintorial a define como Gram-negativa, possuindo uma membrana externa composta por lipopolissacarídeos (LPS), proteínas e porinas. Locomove-se através de um único flagelo polar monotríquio. As células são retas ou ligeiramente curvas, não esporuladas e normalmente dispostas em pares, de tal forma que constantemente se assemelham a uma única célula, mas também podendo ser visualizada como célula isolada ou em cadeias curtas. Apesar de descrita como aeróbia obrigatória, também pode crescer em condições anaeróbias, utilizando nitrato ou arginina como aceptores alternativos de elétrons (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015; TORTORA et al., 2025).

Essa espécie é considerada um patógeno oportunista, por conta de sua versatilidade nutricional e elevada capacidade de adaptação ambiental. É observada em todo ambiente hospitalar, seja em alimentos, flores cortadas, pias, banheiros, esfregão de chão, equipamentos médicos e até mesmo em soluções desinfetantes. Entre as características que favorecem sua sobrevivência estão a baixa exigência nutricional, a resistência a uma ampla gama de temperaturas, entre 4 e 42°C, também apresentando a habilidade de colonizar regiões úmidas da pele. A capacidade da *P. aeruginosa* de formar colônias a partir de quantidades mínimas de fontes de carbono incomuns, como resíduos de sabão, tem se tornado uma grande dificuldade a ser enfrentada (TORTORA et al., 2025).

Outra fonte de preocupação médica é a sua resistência à maioria dos antibióticos conhecidos. Essa resistência está diretamente relacionada a suas porinas, presentes na parede celular, que realizam o controle de entrada de moléculas através da membrana externa. Seu grande genoma também codifica vários sistemas de bomba de efluxo altamente eficientes, realizando a expulsão dos antibióticos antes mesmo que eles possam se ligar ao seu sítio de ação e atuar.

4.2. Fatores de virulência associados à colonização e formação do biofilme

A patogenicidade da *Pseudomonas aeruginosa* está diretamente relacionada a seus fatores de virulência, que atuam de forma conjunta durante o processo infeccioso. Para estabelecer uma infecção, é necessário que ocorra a aderência da bactéria na célula hospedeira, e a *P. aeruginosa* possui características estruturais e metabólicas que facilitam esse processo. Esses fatores contribuem para a adesão, invasão, evasão do sistema imunológico e a indução do dano celular no hospedeiro. Esse microrganismo possui numerosos fatores de virulência, que podem ser tanto componentes estruturais como toxinas e enzimas, além de moléculas relacionadas à formação de biofilme.

4.2.1. Adesão e motilidade

A adesão é uma etapa essencial para o estabelecimento da infecção e ocorre por meio de interações entre adesinas bacterianas e receptores presentes nas células humanas.

O flagelo é uma estrutura longa filamentosa que realiza a propulsão da bactéria, assim a permitindo que se movimente. Esta estrutura bacteriana é essencial para a motilidade, adesão às células hospedeiras e formação de biofilmes (BUCIOR; PIELAGE; ENGEL, 2012).

É formada por uma estrutura basal, um gancho e um longo filamento, sendo esse filamento composto por uma proteína chamada flagelina. A presença dessa proteína torna os flagelos altamente imunogênicos, atuando como um padrão molecular associado ao patógeno (PAMP), onde há a ativação de receptores tol like, que estimula a resposta imunológica inata gerando um processo inflamatório no hospedeiro (CAMPODÓNICO et al., 2010). Na *Pseudomonas aeruginosa*, o flagelo é polar, pois está situado em apenas uma extremidade da célula, e é monotríquio, ou seja, possui apenas um único flagelo em um lado do microrganismo.

Além da motilidade, o flagelo desempenha papel importante na adesão inicial às superfícies e na colonização do hospedeiro, contribuindo para o estabelecimento da infecção e para as etapas iniciais da formação do biofilme.
A *Pseudomonas aeruginosa* também apresenta apêndices filamentosos proteicos chamados de pili, são formados por inúmeras cópias de pequenas proteínas chamadas pilinas, menores, mais curtos e numerosos que os flagelos e não formam ondas regulares.
Nessa espécie, predominam os pili do tipo IV, considerados fatores de virulência relevantes. Ele auxilia na adesão celular em células epiteliais do hospedeiro, colonização, formação e maturação do biofilme, adesão em superfície, virulência e permite a motilidade por deslizamento em superfícies sólidas através da motilidade pulsante.
A motilidade pulsante também pode possivelmente auxiliar a localização de sítios específicos para adesão, assim permitindo o início do processo de doença, além de acreditarem na sua participação como mediador na transferência genética por meio do processo de transformação nas bactérias.

4.2.2. Componentes associados à persistência

O lipopolissacarídeo é o principal constituinte da membrana externa das bactérias gram-negativas. É uma molécula grande e complexa, também denominada endotoxina, formada por três componentes: um lipídio A, um cerne polissacarídeo e um polissacarídeo O.
O lipídio A é a porção do LPS responsável por sua ancoragem na membrana externa e por sua atividade endotóxica. A liberação do LPS pode ocorrer durante a morte e lise bacteriana, mas também através da liberação de componentes da membrana externa por bactérias viáveis. Quando reconhecido pelo sistema imunológico, o LPS atua como um padrão molecular associado ao patógeno (PAMP), estimulando a resposta imune inata e a liberação de mediadores inflamatórios, como interleucinas e fator de necrose tumoral. Embora essa resposta participe dos mecanismos de defesa do organismo, sua ativação excessiva pode contribuir para manifestações como febre, alterações circulatórias e, em situações graves, choque séptico (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2020; TORTORA et al., 2025).
O cerne polissacarídico está ligado ao lipídio A e contém açúcares comuns, possuindo um papel estrutural de fornecer estabilidade.
O polissacarídeo é composto por moléculas de açúcar e funciona como um antígeno, sendo útil para diferenciar sorovares de bactérias gram-negativas.
O alginato é um exopolissacarídeo mucoide composto pelos ácidos D-manurônico e L-gulurônico, importante para a sobrevivência da bactéria e contribuição na formação de biofilmes.
A produção desse polissacarídeo está sob complexa regulação e pode ser ativada em pacientes com fibrose cística ou outras doenças respiratórias crônicas, sendo a principal causa do fenótipo mucoide nessas infecções.

Essa estrutura forma uma cápsula proeminente na bactéria e a protege contra fagocitose, opsonização, morte e impede a difusão de microbianos e assim favorece a persistência desse patógeno no hospedeiro infectado.

4.3. Mecanismos de resistência bacteriana da *Pseudomonas aeruginosa*

A resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* representa um dos principais desafios de saúde pública mundial a ser combatido nos próximos anos, estando frequentemente associada a uma taxa crescente de morbidade, mortalidade, tempo de internação e custo terapêutico em pacientes nosocomiais. O tratamento da *P. aeruginosa* tem se tornado progressivamente mais complexo devido à elevada capacidade da bactéria de desenvolver mecanismos de resistência capazes de neutralizar diferentes classes de antibióticos.
Esses mecanismos podem ser classificados em resistência intrínseca, adquirida e adaptativa. A resistência intrínseca está relacionada, principalmente, à baixa permeabilidade da membrana externa, expressão de bombas de efluxo e produção de enzimas inativadoras de fármacos. A resistência adquirida

ocorre por meio de alterações mutacionais ou pela transferência horizontal de genes de resistência. Por sua vez, a resistência adaptativa envolve alterações fisiológicas e fenotípicas transitórias induzidas por condições ambientais adversas, incluindo aquelas associadas à formação de biofilme (PANG et al., 2019).

4.3.1. Bombas de efluxo

Ao longo da membrana citoplasmática das *Pseudomonas aeruginosa* existem proteínas que realizam a mediação do transporte ativo através dessa barreira conhecidas como bombas de efluxo. O seu principal papel é a expulsão de substâncias tóxicas como metabólitos secundários e antibióticos para fora da célula, reduzindo a concentração intracelular desses fármacos e contribuindo significativamente para a resistência antimicrobiana da bactéria (NEVES et al., 2011).

Esse sistema pode ser classificado em cinco famílias: a família de resistência-nodulação-divisão (RND), superfamília de facilitadores principais (MFS), superfamília de cassete de ligação de ATP (ABC), família de pequenas resistências a múltiplas drogas (SMR) e família de extrusão de compostos tóxicos e múltiplas drogas (MATE) (SOL; DENG; YAN, 2014).

Dentre as famílias de bombas de efluxo descritas, a superfamília RND (Resistance-Nodulation-Division) apresenta maior relevância clínica, sendo ela responsável pela extrusão de uma ampla variedade de antibióticos, como β-lactâmicos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, macrolídeos e cloranfenicol através das bombas de efluxo multidrogas MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ e MexEF-OprN. (LORUSSO et al., 2022).

Os sistemas MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ e MexEF-OprN desempenham papel fundamental na expulsão de moléculas tóxicas e na redução da suscetibilidade aos antimicrobianos. Ademais, a superexpressão desses sistemas está diretamente associada à resistência à maioria dos fármacos utilizados no combate a *Pseudomonas aeruginosa* e pode potencialmente reduzir a eficácia de novas classes de fármacos desenvolvidas.

4.4. Biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*

4.4.1. Formação do biofilme

Em ambiente natural, as bactérias podem viver livremente como células individuais ou se organizar em comunidades, conhecidas como biofilmes. Essas comunidades geralmente encontram-se fixadas em superfícies, como pedras de lagos, dentes de animais ou cateteres, podendo ser constituídas por uma única espécie ou por diferentes espécies bacterianas. Os biofilmes podem ser benéficos, como ao proteger determinadas superfícies biológicas contra microrganismos prejudiciais, ou nocivos, quando se desenvolvem sobre equipamentos médicos, podendo causar infecções. Durante sua formação, diferentes mecanismos de regulação permitem que as bactérias coordenem suas atividades, entre eles a comunicação química denominada *quorum sensing* (TORTORA et al., 2025).

O processo de formação de um biofilme geralmente começa com a fixação de uma bactéria planctônica a uma superfície. Conforme ocorre o crescimento da população bacteriana, moléculas sinalizadoras denominadas autoindutores são produzidas e podem se acumular no ambiente. Quando essas moléculas atingem concentrações suficientes, são reconhecidas pelas bactérias, ativando mecanismos de regulação conhecidos como *quorum sensing*. Esse processo permite a coordenação de determinadas atividades celulares, incluindo a expressão de genes relacionados à produção de fatores de virulência e de componentes da matriz extracelular, contribuindo para o desenvolvimento e a organização do biofilme (TORTORA et al., 2025; WEI; MA, 2013).

A formação dos biofilmes ocorre de maneira gradual e dinâmica, compreendendo diferentes etapas, que incluem adesão, produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), crescimento e desprendimento (MOREIRA, 2011). O desenvolvimento in vitro envolve etapas como a adesão reversível da bactéria à superfície, seguida pela adesão irreversível, formação de microcolônias e início da maturação do biofilme, desenvolvimento de um biofilme maduro constituído por canais pelos quais

circula água, nutrientes e produtos do metabolismo celular, e, por fim, o desprendimento e a dispersão das células (OLIVEIRA, 2011).

A adesão bacteriana pode ocorrer de maneira aleatória ou por meio de mecanismos relacionados à quimiotaxia e à mobilidade bacteriana (KASNOWSKI et al., 2010). Na primeira etapa, ocorre a adesão dos microrganismos em uma superfície biótica, mediada através de mecanismos moleculares do tipo receptor-ligante, ou a substratos abióticos, através de interações físico-químicas. Nessa fase, a ligação entre o microrganismo e o substrato é reversível, uma vez que os microrganismos podem ser facilmente removidos da superfície.

Após a adesão bacteriana, ocorre a multiplicação das células, levando à formação de microcolônias e à produção de uma matriz rica em EPS. Assim, tem-se início a segunda etapa da adesão bacteriana, a adesão irreversível entre o microrganismo e a superfície, associada à produção de EPS e ao estabelecimento de interações mais estáveis entre as células e o substrato. Conforme o EPS é sintetizado pelas microcolônias, a matriz passa a atuar como substrato para a adesão de outros microrganismos, os colonizadores secundários, que podem se ligar a células da mesma ou de diferente espécies, contribuindo para a formação de agregados firmes ligados à superfície (TRENTIN et al., 2013; KASNOWSKI et al., 2010).

Conforme ocorre o aumento da população bacteriana, a concentração de moléculas sinalizadoras produzidas pelas próprias células também se eleva. Quando essas moléculas atingem concentrações suficientes, o *quorum sensing* promove um processo regulatório que permite às bactérias coordenar seu comportamento de acordo com as condições ambientais, favorecendo a adaptabilidade, seja ela referente a nutrição ou defesa contra outros microrganismos ou agentes tóxicos, além de participar da formação de canais que assegurarão a entrada de nutrientes no biofilme (LAILA; SANTOS, 2016; MOREIRA, 2011; TRENTIN et al., 2013).

Com a adesão irreversível, o crescimento das microcolônias e o desenvolvimento de uma matriz de EPS altamente hidratada, ocorre a maturação do biofilme, caracterizada pela formação de uma estrutura organizada com canais pelos quais circula água e nutrientes. Com o estabelecimento de um biofilme maduro, ocorre a dispersão de células que retornam ao estado planctônico e podem colonizar novas superfícies, dando continuidade ao ciclo de formação de novos biofilmes.

4.4.2. Estrutura e composição do biofilme

Os biofilmes constituem comunidades de microrganismos organizados em estruturas tridimensionais, nas quais são estabelecidas interações complexas entre seus integrantes (BARBOSA, 2014). Essas estruturas são compostas majoritariamente por água, que corresponde a mais de 97% de sua composição, formando uma fina camada viscosa de substância capsular sobre as superfícies, sendo seu desenvolvimento favorecido pela disponibilidade excessiva de nutrientes (HAIDAR et al., 2024). A organização das bactérias em biofilmes constitui uma forma de proteção, favorecendo sua sobrevivência e desenvolvimento em ambientes hostis.

O biofilme é composto por proteínas, lipídios, ácidos nucleicos, sais minerais e vitaminas, todos envolvidos em uma matriz (LAILA; SANTOS, 2016). A água representa o maior componente da massa total do biofilme, conferindo-lhe características de um hidrogel, isto é, um polímero complexo capaz de reter grande quantidade de água (TORTORA et al., 2025). O EPS representa de 70% a 95% da massa orgânica do biofilme, sendo o restante constituído por outras substâncias poliméricas e, em menor quantidade, pelos microrganismos (LAILA; SANTOS, 2016).

As substâncias poliméricas extracelulares (EPS) são compostas por uma mistura de polissacarídeos, DNA extracelular, lipídios e proteínas, que atua como um alicerce, mantendo as células unidas (WEI; MA, 2013). A *Pseudomonas aeruginosa* possui a capacidade de produzir três principais exopolissacarídeos associados ao biofilme: alginato, Psl e Pel, que desempenham diferentes funções na formação e manutenção do biofilme (GHEORGHITA et al., 2023).

O alginato é um polímero acetilado com carga negativa, constituído por resíduos de ácido manurônico e ácido gulurônico. É predominantemente produzido por cepas mucoides de *Pseudomonas aeruginosa*, especialmente aquelas que apresentam a mutação mucA22, frequentemente encontrada em isolados provenientes de pacientes com fibrose cística. O alginato contribui para a maturação e estabilidade do biofilme, além de participar da proteção das células bacterianas contra mecanismos de defesa do hospedeiro e da redução da ação de determinados antimicrobianos. É necessário para a retenção de água e nutrientes nos biofilmes. Também possui a capacidade de eliminar radicais livres liberados pelos neutrófilos e ativar macrófagos in vitro. A proporção entre o ácido manurônico e o ácido gulurônico influencia as propriedades do alginato e, consequentemente, as características físicas do biofilme, afetando sua consistência e capacidade de deformação, o que dificulta sua eliminação pela tosse nos pulmões de pacientes com fibrose cística infectados por *P. aeruginosa*. (GHEORGHITA et al., 2023; TRAN THI; WIBOWO; REHM, 2020; WEI; MA, 2013)

Psl é um pentassacarídeo neutro tipicamente composto por porções de d-glicose, d-manose e l-ramnose. Esse exopolissacarídeo é importante para a adesão de células sésseis às superfícies e para as interações entre as células durante o início da formação do biofilme, tanto em cepas mucoides quanto não mucoides. Desempenha funções importantes para a formação e manutenção do biofilme. A sua presença favorece o crescimento e a sobrevivência das comunidades bacterianas aderidas. Além disso, o Psl atua na sinalização celular, estimulando a produção de c-di-GMP, cuja concentração elevada está associada à formação de biofilmes mais espessos e resistentes. O Psl também contribui para a proteção das bactérias contra antimicrobianos e contra a fagocitose realizada por neutrófilos, favorecendo a persistência da infecção (TRAN THI; WIBOWO; REHM, 2020).

Assim como o Psl, o Pel é um exopolissacarídeo importante da matriz do biofilme em cepas não mucoides, participando na iniciação da adesão à superfície e manutenção da integridade do biofilme. É importante para a formação de biofilmes na interface entre o ar e o líquido e para o desenvolvimento do aspecto enrugado das colônias (RAZVI et al., 2023). Em ambientes com pouca disponibilidade de oxigênio, a produção de Pel proporciona à *P. aeruginosa* uma vantagem de crescimento quando compete, em biofilmes formados na interface ar-líquido, com cepas que não produzem esse exopolissacarídeo (MADSEN et al., 2015). Entretanto, essa vantagem não é observada em biofilmes formados em colônias.

4.4.3. Biofilme e resistência/tolerância aos antimicrobianos

4.4.3.1. Tolerância aos antimicrobianos

Apesar de a matriz do biofilme contribuir para sua arquitetura e organização, ela também desempenha um papel importante na redução da suscetibilidade aos antimicrobianos (WEI; MA, 2013). Uma das características mais importantes dos biofilmes é a capacidade das bactérias sobreviverem ao tratamento com antibióticos. Essa sobrevivência está relacionada a uma ampla variedade de fatores ambientais, físicos e fisiológicos, que proporcionam uma proteção temporária às células bacterianas, permitindo que sobrevivam a doses letais de antibióticos durante o crescimento em biofilme, embora permaneçam suscetíveis aos mesmos antimicrobianos quando não estão nessa condição (FERNÁNDEZ-BILLÓN et al., 2023).

O conceito de tolerância é utilizado para diferenciar a capacidade de sobrevivência aos antibióticos apresentada por bactérias que estão presentes em biofilmes da resistência, que está associada ao aumento da concentração inibitória mínima (CIM) e à presença de algum fenótipo resistente mesmo em células planctônicas. A tolerância característica das células presentes em biofilmes depende do estado associado a essa estrutura, permitindo sua sobrevivência mesmo diante de concentrações elevadas de antibióticos. Assim, embora resistência e tolerância apresentem mecanismos distintos, ambas contribuem para a dificuldade de erradicação dos biofilmes durante o tratamento antimicrobiano (LEBEAUX et al., 2014).

A capacidade dos biofilmes de tolerar um antibiótico e os mecanismos de defesa do hospedeiro contribui significativamente para a persistência e a dificuldade de tratamento das infecções associadas a essas estruturas. Apesar dos antimicrobianos permitirem a diminuição de bactérias nos biofilmes, eles não são capazes de erradicá-las totalmente, possibilitando que as recidivas de infecções se tornem frequentes (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2019).

Segundo Allison et al. (2011), mesmo os biofilmes constituídos por uma única espécie bacteriana apresentam uma organização heterogênea, sendo formados por diferentes subpopulações de células que podem apresentar características distintas entre si. Conforme as diferentes camadas do biofilme são desenvolvidos, um gradiente de nutrientes leva à diversidade metabólica e fenotípica, proporcionando diferentes populações bacterianas quase independentes, exibindo fenótipos divergentes (células suscetíveis, resistentes e tolerantes) a coevoluir em biofilmes (SOARES et al., 2020).

Essa heterogeneidade também se apresenta nos níveis de atividade metabólica nas células presentes no biofilme. Na região periférica, há maior acesso aos nutrientes, consequentemente, maior atividade fisiológica, enquanto as subpopulações que se encontram no interior da matriz do biofilme encontram menos recursos e, assim, apresentam baixa atividade fisiológica e de crescimento, podendo até se encontrar em estado dormente (PAMP et al., 2008; STEWART et al., 2016). A redução da atividade metabólica pode, consequentemente, afetar a ação de determinados antimicrobianos, através da inativação dos principais alvos do antibiótico. Por exemplo, a redução da síntese proteica pode comprometer a ação de aminoglicosídeos, enquanto a menor produção de peptidoglicano pode reduzir a eficácia de β-lactâmicos (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2019; SOARES et al., 2020).

Entre essas subpopulações metabolicamente menos ativas, destacam-se as células persistentes, localizadas no interior do biofilme. As células persistentes são bactérias que apresentam divisão lenta ou ausente e são menos vulneráveis a antibióticos devido a um fenótipo transitório e reversível. O fenótipo persistente pode estar relacionado à organização do biofilme, no qual o estresse do ambiente do biofilme pode revelar uma subpopulação de células persistentes que já estavam presentes. O metabolismo reduzido exibido pelas células persistentes aparentemente permite que elas escapem da ação de antibióticos que possuem processos celulares fundamentais como alvo, o que lhes permite sobreviver sem que isso necessariamente represente aquisição de resistência. Após a interrupção do tratamento, essas células podem se transformar em um estado vegetativo e retomar o crescimento, contribuindo para a reconstituição da população bacteriana e para a recorrência das infecções (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2019; SOARES et al., 2020).

4.4.3.2. Mecanismos de resistência associados ao biofilme

Embora a tolerância possibilite a sobrevivência temporária das células durante a exposição aos antimicrobianos, a resistência caracteriza-se pela capacidade bacteriana de sobreviver e se multiplicar na presença desses agentes em decorrência de alterações estáveis que comprometem sua atividade. Os mecanismos de resistência a antibióticos podem ser divididos em três grupos: intrínsecos, adaptativos e adquiridos. Os mecanismos intrínsecos são aqueles geneticamente codificados no genoma central, os adaptativos são aqueles induzidos por estímulos ambientais e os adquiridos surgem através do ganho de genes de resistência de outros organismos ou como consequência de seleção de mutações que conferem resistência. No contexto dos biofilmes, a exposição prolongada aos antimicrobianos e as condições ambientais presentes nessa estrutura podem favorecer a seleção de subpopulações bacterianas mais resistentes. Cada grupo possui mecanismo característicos, e entre os principais mecanismos envolvidos estão a redução da permeabilidade da membrana, a alteração ou perda de proteínas de membrana, a ação de bombas de efluxo, a produção de enzimas capazes de inativar antimicrobianos e alterações nos alvos desses agentes (LANGENDONK; NEILL; FOTHERGILL, 2021).

A baixa permeabilidade da membrana celular é uma característica que contribui para a resistência intrínseca, que limita a entrada de determinados antimicrobianos na célula. Essa característica está relacionada à expressão de porinas, responsáveis pelo transporte de nutrientes e outras moléculas através

da membrana, além de participarem da sinalização, adesão e estabilidade da membrana. A *Pseudomonas aeruginosa* possui diferentes tipos de porinas, dentre as quais se destaca a OprD, que participa da entrada de antibióticos carbapenêmicos, especialmente o imipenem. A perda ou redução da expressão dessa porina diminui a entrada desses antibióticos na célula, contribuindo para o desenvolvimento da resistência bacteriana (CHEVALIER et al., 2017; GLEN; LAMONT, 2021)

Além da redução da entrada dos antibióticos, a *P. aeruginosa* também possui a capacidade de apresentar resistência através da inativação dessas substâncias. Entre as diversas enzimas que podem ser apresentadas, destacam-se as β-lactamases, enzimas que conseguem hidrolisar o anel β-lactâmico presente em todos os antibióticos β-lactâmicos, comprometendo a sua eficiência (SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016). A bactéria pode produzir diferentes β-lactamases, em destaque a AmpC, uma β-lactamase de classe C codificada cromossomicamente que apresenta uma alta atividade contra penicilinas e cefalosporinas (GLEN; LAMONT, 2021), além de adquirir enzimas capazes de conferir resistência a diferentes β-lactâmicos. A aquisição de β-lactamases por transferência horizontal de genes pode ampliar o espectro de resistência apresentado pela bactéria.

Além dos mecanismos intrínsecos, a resistência de *Pseudomonas aeruginosa* pode ser adquirida por meio de mutações ou pela aquisição de genes de resistência através da transferência horizontal de genes. No ambiente do biofilme, a elevada densidade e proximidade entre as células bacterianas, juntamente com a presença de elementos genéticos na matriz, podem favorecer a transferência horizontal de genes e contribuir para a disseminação de determinantes de resistência entre as bactérias presentes nessa estrutura (FERNÁNDEZ-BILLÓN et al., 2023). Dessa forma, a tolerância característica do estado de biofilme pode permitir que células sobrevivam à exposição aos antimicrobianos, enquanto a seleção de mutações ou a aquisição de genes de resistência pode favorecer a manutenção de fenótipos resistentes na população bacteriana (FERNÁNDEZ-BILLÓN et al., 2023). A coexistência desses mecanismos contribui para a capacidade de *P. aeruginosa* de persistir diante da terapia antimicrobiana, dificultando a erradicação das infecções associadas aos biofilmes (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2019).

4.4.4. Importância do biofilme nas infecções por *P. aeruginosa*

A capacidade da *Pseudomonas aeruginosa* formar biofilme possui uma forte relação com a persistência das infecções causadas por essa bactéria. A consolidação do biofilme permite que as bactérias permaneçam associadas aos tecidos ou superfícies do hospedeiro por longos períodos, algumas podendo permanecer protegidas do impacto da resposta imune do hospedeiro, podendo haver recorrência da infecção. Como ocorre na fibrose cística (FC), porque os locais extrapulmonares, os seios respiratórios superiores, são considerados um microambiente mais protegido da terapia antimicrobiana, a partir do qual a recolonização do trato respiratório inferior pode ocorrer repetidamente após os ciclos de tratamento com antibióticos (FOLKESSON et al., 2012)

Além de dificultar a ação dos antibióticos, a formação do biofilme também interfere na resposta do hospedeiro à infecção. O biofilme da *Pseudomonas aeruginosa* prejudica essa resposta imunológica por meio de diversas ações, como o uso de um mecanismo mediado por ramnolipídios na matriz extracelular, que são citotóxicos para os neutrófilos e prejudicam sua quimiotaxia e a perda de flagelos, resultando em resistência a fagocitose por neutrófilos e macrófagos (MAURICE; BEDI; SADIKOT, 2018). Essa dificuldade na eliminação do biofilme pode acarretar na manutenção de uma resposta inflamatória prolongada. A inflamação persistente, ao induzir um estado hiperinflamatório, pode contribuir para danos aos tecidos do hospedeiro e para a progressão da doença (MOSER et al., 2021). Desse modo, a formação de biofilmes contribui para a manutenção de infecções causadas por *P. aeruginosa* e dificulta sua erradicação. A dificuldade de eliminar essas comunidades bacterianas representa um desafio para o tratamento das infecções associadas a biofilmes. Nesse contexto, torna-se importante a busca por estratégias terapêuticas capazes de atingir as bactérias presentes no biofilme e contribuir para sua erradicação (TOLKER-NIELSEN, 2014; CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2019).

4.5. Bacteriófagos

Nesse contexto, os bacteriófagos surgem como uma alternativa promissora para o controle de infecções bacterianas. Os bacteriófagos são vírus capazes de infectar células bacterianas e utilizar a maquinaria do hospedeiro para sua replicação. Dessa forma, os bacteriófagos não estão sujeitos aos mesmos mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias contra os antibióticos e, diferentemente de muitos desses agentes, podem alcançar bactérias presentes no interior de biofilmes (HARPER et al., 2014).

A infecção por bacteriófagos ocorre através de diferentes etapas, iniciando-se pela ligação da partícula do fago à célula bacteriana e pela injeção do seu material genético. Em seguida, ocorre a tomada do controle da célula hospedeira, permitindo a replicação do material genético e a produção de novas partículas de fago.

O resultado da infecção pode variar de acordo com as condições ambientais e com as características presentes no genoma do fago. Os fagos temperados podem integrar seu material genético ao genoma da bactéria hospedeira, estabelecendo uma infecção latente denominada lisogenia. Já os fagos líticos seguem um ciclo que resulta na replicação do vírus e, posteriormente, na lise da célula bacteriana hospedeira. Nos fagos temperados, as condições ambientais, como a disponibilidade de células hospedeiras, podem influenciar a ocorrência de uma infecção lisogênica ou a realização do ciclo lítico (KOHM; HERTEL, 2021; LEÓN-FÉLIX; VILLICAÑA, 2021).

Uma característica importante dos bacteriófagos líticos é a capacidade de utilizar as próprias células bacterianas como locais de replicação. Após a infecção, o fago se replica no interior da célula hospedeira e, ao final do ciclo lítico, a lise bacteriana libera novas partículas virais capazes de infectar outras células suscetíveis. Dessa forma, uma única infecção pode resultar na produção de uma nova geração de bacteriófagos e promover uma amplificação localizada da quantidade de partículas virais. Esse processo pode favorecer a disseminação da infecção pelo fago enquanto houver células hospedeiras em quantidade suficiente para sustentar novos ciclos de infecção e replicação. Por outro lado, quando a disponibilidade de bactérias suscetíveis é reduzida, a continuidade desse processo pode ser limitada (HARPER et al., 2014).

4.6. Bacteriófagos no controle de biofilme previamente estabelecidos

A utilização dos bacteriófagos contra biofilmes, entretanto, depende da capacidade desses vírus de alcançar as células bacterianas presentes no interior dessa estrutura. A matriz extracelular do biofilme possui componentes que podem dificultar o acesso dos fagos às células bacterianas, interferindo na sua difusão e no contato dos vírus com os receptores presentes na superfície bacteriana. Alguns bacteriófagos apresentam mecanismos que podem favorecer sua penetração no biofilme, incluindo a produção de enzimas capazes de degradar componentes da matriz extracelular. Dentre essas enzimas, destacam-se as depolimerases, que atuam sobre polissacarídeos presentes na matriz do biofilme, contribuindo para a degradação desses componentes e facilitando o acesso dos fagos às células bacterianas (CHEGINI et al., 2020). Essa capacidade de penetração foi observada por Hanlon et al. (2001), que demonstraram que bacteriófagos foram capazes de atravessar o alginato presente na matriz de biofilmes de *P. aeruginosa*, resultando em uma redução de aproximadamente 99% na quantidade de células bacterianas em biofilmes com 20 dias de formação. Os autores também observaram uma redução na viscosidade do alginato após a exposição aos fagos, sugerindo que a degradação enzimática desse exopolissacarídeo pode favorecer a penetração dos bacteriófagos no biofilme.

Resultados promissores também foram observados em estudos in vivo. Basu et al. (2015) avaliaram a ação de um coquetel de bacteriófagos contra biofilmes de *P. aeruginosa* multirresistente, formados em segmentos de cateter e implantados no tecido subcutâneo de camundongos. Após dez dias de tratamento, os autores observaram uma redução significativa da carga bacteriana em comparação ao grupo não tratado, além de um aumento na quantidade de partículas virais, indicando a replicação dos

bacteriófagos durante o experimento. Esses resultados demonstram o potencial da fagoterapia no controle de biofilmes bacterianos em modelos experimentais.

Uma vez que o bacteriófago alcança uma célula suscetível dentro do biofilme, ele pode iniciar seu ciclo de replicação. Durante o ciclo lítico, a replicação do bacteriófago no interior da célula hospedeira resulta na produção de novas partículas virais, que são liberadas após a lise bacteriana (MADIGAN et al., 2016). As novas partículas que são disponibilizadas podem infectar outras bactérias suscetíveis, resultando na amplificação localizada de bacteriófagos, o que pode levar a infecções autossustentáveis, com disseminação localizada e amplificação contínua, em que as bactérias hospedeiras estão presentes em níveis suficientemente altos para sustentar isso. Dessa forma, a presença de uma população bacteriana densa no biofilme pode favorecer a continuidade de sucessivos ciclos de infecção, permitindo que os bacteriófagos se disseminem pela comunidade bacteriana. No entanto, a amplificação depende diretamente da disponibilidade de células hospedeiras suscetíveis em níveis suficientemente altos para sustentar isso (HARPER et al., 2014).

Apesar de a capacidade de replicação dos bacteriófagos favorecer sua disseminação pelo biofilme, a heterogeneidade metabólica dessas comunidades pode limitar a eficácia da infecção. Na seção interior do biofilme, existem células que apresentam baixa atividade metabólica ou que estão em estado de dormência, tornando-se alvos menos favoráveis à replicação de determinados bacteriófagos.

4.7. Estratégias para potencializar a fagoterapia

Apesar de os bacteriófagos apresentarem potencial para o controle de biofilmes de *P. aeruginosa*, fica evidente que sua eficácia pode variar de acordo com as características das bactérias hospedeiras e as condições em que ocorre a infecção. Obstáculos como a gama limitada de hospedeiros, alta densidade do biofilme, resistência de subpopulações bacterianas aos fagos e efeitos variáveis do *quorum sensing* sobre a infecção fágica podem limitar o tratamento em determinadas condições (CHEGINI et al., 2020). Diante de tais limitações, diferentes estratégias têm sido investigadas para melhorar a atividade antibacteriana dos fagos, tais como coquetéis de fagos, associação de fagos com antibióticos e o uso da engenharia genética.

Entre as estratégias investigadas para potencializar a fagoterapia, destaca-se a utilização de coquetéis de bacteriófagos, que consistem na combinação de mais de um fago, diferentes entre si, na mesma formulação, buscando ampliar o espectro de ação contra bactérias suscetíveis com o objetivo de controlar o crescimento bacteriano e a formação de biofilme. Múltiplos fagos dentro de um mesmo coquetel apresentam diferentes espectros de hospedeiros e podem atuar de forma complementar. Além de aumentar a gama de hospedeiros, também podem suprimir a evolução da resistência, uma vez que o mutante resistente gerado contra um fago pode ser afetado por outro fago presente no coquetel. Nesse contexto, Vashisth et al. (2023) investigaram, em um estudo in vitro, a ação de diferentes combinações de bacteriófagos contra uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antibióticos, analisando 22 combinações a partir de 5 fagos selecionados. Os pesquisadores observaram que um coquetel composto por 4 bacteriófagos mostrou um maior desempenho, inibindo significativamente o crescimento bacteriano quando comparado a um coquetel de 3 fagos. Também demonstraram a capacidade de um coquetel de quatro fagos de eliminar células viáveis detectáveis em biofilmes previamente formados sobre cateteres urinários, nas condições experimentais avaliadas. Esses resultados reforçam o potencial dos coquetéis de bacteriófagos como estratégia para melhorar o controle de biofilmes de *P. aeruginosa*, destacando a importância da seleção adequada dos fagos utilizados.

Outra ideia investigada para potencializar a fagoterapia consiste na associação de bacteriófagos com antibióticos convencionais. Essa ação, diferentemente dos coquetéis, reúne agentes que irão atuar por mecanismos de ação distintos, uma vez que os bacteriófagos infectam células bacterianas suscetíveis, enquanto os antibióticos interferem em processos celulares essenciais para a sobrevivência ou multiplicação bacteriana. Em condições específicas, a associação de um bacteriófago com um medicamento, pode resultar em um fenômeno conhecido como sinergismo fago-antibióticos (PAS),

caracterizado por um efeito onde ocorrem ações antimicrobianas sinérgicas, apresentando um efeito antibacteriano superior ao esperado a partir da ação individual dos agentes utilizados (LIU et al., 2022). Em um estudo in vitro publicado em 2023, Akturk et al. avaliaram a associação de bacteriófagos com gentamicina no tratamento de biofilmes mistos formados por *P. aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, utilizando um modelo experimental de ferida. Nessa pesquisa, os autores indicaram que a associação entre os agentes em uma aplicação simultânea e em doses múltiplas da gentamicina com os fagos, apresentaram maior atividade antibiofilme, além de poder levar a um efeito complementar, no qual os fagos têm alvo preferencial a bactérias resistentes a antibióticos e os antibióticos a células resistentes aos fagos. Em contrapartida, os pesquisadores também relatam a importância da ordem de administração de cada agente, pois observaram que quando a gentamicina é aplicada como tratamento de primeira dose e logo após os fagos, levou a baixa redução das bactérias, pois os fagos dependem da utilização da maquinaria da célula bacteriana para completar seu ciclo lítico e isso não é possível quando o antibiótico utilizado possui como alvo a síntese de proteínas, resultando em uma interação antagonista ao fago. Esses resultados indicam que a associação entre bacteriófagos e antibióticos pode representar uma estratégia promissora para melhorar o controle de biofilmes bacterianos, embora sua eficácia dependa dos agentes utilizados e das condições de tratamento.

Além da utilização de coquetéis e da associação com antibióticos, a engenharia genética também tem sido investigada como uma estratégia para potencializar a atividade dos bacteriófagos contra biofilmes bacterianos. Embora os bacteriófagos naturais apresentem potencial antibacteriano, suas características nem sempre são suficientes para superar as barreiras presentes nos biofilmes. Nesse contexto, a engenharia genética permite modificar o material genético dos fagos, introduzindo genes que conferem funções adicionais, como a produção de enzimas capazes de degradar componentes da matriz extracelular ou interferir em mecanismos de comunicação bacteriana (LU; COLLINS, 2007; LUO et al., 2026). Dessa forma, os bacteriófagos modificados podem associar sua atividade lítica a mecanismos adicionais que contribuem para a desestruturação dos biofilmes, ampliando suas possibilidades de aplicação. Nesse contexto, Luo et al. (2026) utilizaram a técnica de edição genética CRISPR-Cas9 para modificar o bacteriófago PaGZ-1, com o objetivo de aprimorar sua atividade contra biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*. Para isso, os pesquisadores desenvolveram duas versões modificadas do bacteriófago: PaGZ-1-Aiia, contendo um gene que codifica uma enzima capaz de interferir no *quorum sensing* bacteriano, e PaGZ-1-DP, contendo um gene responsável pela produção de uma depolimerase que atua sobre componentes da matriz extracelular. Ao avaliar biofilmes previamente formados da linhagem laboratorial PAO1 de *P. aeruginosa*, os autores observaram que o fago modificado PaGZ-1-Aiia promoveu uma redução significativa da biomassa e da espessura do biofilme, enquanto PaGZ-1-DP não apresentou melhora significativa na redução da biomassa quando comparado ao fago original. O estudo demonstra que a engenharia genética pode aprimorar a atividade de determinados fagos contra biofilmes estabelecidos, mas que nem toda modificação gera o mesmo benefício.

4.8. Limitações e desafios da fagoterapia

Apesar dos resultados promissores, a aplicação da fagoterapia ainda enfrenta limitações biológicas que podem comprometer sua eficácia, especialmente quando se trata do controle de biofilmes bacterianos já estabelecidos. Uma das limitações a ser apontada é o espectro restrito de hospedeiros de alguns bacteriófagos, que dependem do reconhecimento dos sítios de ligação presentes na superfície bacteriana. Desta forma, um espectro de hospedeiro restrito pode ser problemático pois um fago que é eficaz contra determinada cepa de *P. aeruginosa* pode não ser eficiente contra outros isolados, tornando necessária a seleção de fagos compatíveis com a bactéria-alvo. Essa dificuldade pode ser ainda maior quando se trata de biofilmes polimicrobianos, nos quais ocorre a coexistência de diferentes espécies bacterianas e podem apresentar suscetibilidades distintas aos fagos utilizados, dificultando a eliminação com terapia fágica (CHEGINI et al., 2020).

A estrutura de biofilmes já estabelecidos também representa um obstáculo para a fagoterapia, uma vez que a sua organização pode dificultar a difusão dos bacteriófagos até determinadas regiões da comunidade bacteriana dentro do biofilme. A penetração do fago depende tanto da morfologia do fago quanto da densidade do biofilme, em biofilmes mais densos, a difusão dos fagos torna-se mais difícil, limitando seu contato com bactérias localizadas nas regiões mais profundas dessas estruturas. Além disso, a disponibilidade desigual de nutrientes e oxigênio no interior dos biofilmes favorece a presença de células bacterianas com diferentes níveis de atividade metabólica, incluindo populações de crescimento lento. Como a replicação dos bacteriófagos depende da maquinaria celular do hospedeiro, a redução da atividade metabólica dessas bactérias pode comprometer a produção de novas partículas virais e diminuir a eficácia do tratamento (CHEGINI et al., 2020).

Outro desafio a ser considerado é a resistência bacteriana aos bacteriófagos, uma vez que a exposição aos fagos pode selecionar células resistentes, que continuam sobrevivendo. Em um estudo experimental com biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*, Pires et al. (2017) identificaram variantes bacterianas resistentes a bacteriófagos após uma exposição prévia, possuindo também alterações genéticas relacionadas a componentes da superfície celular, como produção defeituosa de LPS e perda de pili do tipo IV. Essa resistência pode ocorrer por meio do *quorum sensing*, que pode utilizar métodos diferentes para inibir o efeito do fago no biofilme, como alterações nas estruturas da superfície bacteriana utilizadas como receptores pelos fagos, dificultando sua adsorção e o início da infecção, e a redução da atividade metabólica e a otimização de recursos no biofilme, o que leva à diminuição da eficiência da infecção por fago. Entretanto, a influência do *quorum sensing* pode variar conforme a interação fago-bactéria, tendo em vista que Xuan et al. (2022) demonstraram que o QS mediado por las favoreceu a atividade de infecção de bacteriófagos específicos em *P. aeruginosa*. Dessa forma, a capacidade de adaptação bacteriana e as diferenças na suscetibilidade aos fagos podem comprometer a previsibilidade e a eficácia do tratamento.

Além das limitações biológicas abordadas, a aplicação clínica da fagoterapia também enfrenta desafios relacionados à produção, padronização e avaliação da segurança dos preparados contendo bacteriófagos. A produção de fagos terapêuticos exige procedimentos de controle de qualidade que garantam a identidade, a pureza e a atividade dos fagos utilizados, além do controle de contaminantes potencialmente prejudiciais, como as endotoxinas bacterianas. Outros fatores, como a estabilidade das preparações e a via de administração, também podem influenciar a quantidade de bacteriófagos que alcança o local da infecção, interferindo nos resultados do tratamento.

Nesse contexto, é importante diferenciar a segurança e a eficácia da fagoterapia. A segurança está relacionada à qualidade dos preparados, ao controle de possíveis contaminantes e à avaliação dos efeitos adversos que podem ocorrer no organismo. Por outro lado, a eficácia corresponde à capacidade dos bacteriófagos de controlar a população bacteriana e contribuir para a melhora da infecção. Dessa forma, resultados positivos em estudos experimentais não garantem, necessariamente, a segurança e a eficácia da fagoterapia em seres humanos. Embora os estudos disponíveis apresentem resultados promissores, ainda são necessários ensaios clínicos controlados, suficientemente amplos e bem delineados, para avaliar esses aspectos de maneira mais consistente e ampliar as possibilidades de aplicação clínica dos bacteriófagos (FUERST-WILMES et al., 2025).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão bibliográfica permitiu analisar o potencial dos bacteriófagos como uma terapia alternativa para o controle de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*, considerando os mecanismos responsáveis pela persistência dessas comunidades bacterianas e as dificuldades associadas aos tratamentos convencionais. Os estudos analisados demonstraram que bacteriófagos específicos podem reduzir populações bacterianas suscetíveis e comprometer a integridade de biofilmes previamente estabelecidos.Essa atividade pode ocorrer tanto pela lise das células bacterianas quanto, em

determinados casos, pela ação de enzimas capazes de degradar componentes da matriz extracelular, favorecendo o acesso dos fagos às bactérias presentes no biofilme.

Os resultados apresentados na literatura indicam que a fagoterapia possui potencial como estratégia alternativa ou complementar aos tratamentos convencionais. Entretanto, observa-se que grande parte das evidências discutidas ainda está relacionada a estudos in vitro, realizados em condições experimentais controladas. Embora pesquisas in vivo também tenham demonstrado resultados favoráveis, esses modelos não reproduzem integralmente a complexidade das infecções humanas. Dessa forma, a redução da carga bacteriana ou da estrutura do biofilme em condições experimentais, apesar de representar um resultado promissor, não garante a mesma eficácia durante a aplicação clínica.

A análise das estratégias utilizadas para potencializar a fagoterapia também demonstrou que seus resultados dependem das características dos bacteriófagos, das bactérias hospedeiras e das condições experimentais. A utilização de coquetéis pode ampliar o espectro de ação dos fagos, enquanto a associação com antibióticos pode favorecer a atividade antibacteriana em determinadas condições. Além disso, a engenharia genética apresenta possibilidades para o aprimoramento dos bacteriófagos, permitindo a introdução de mecanismos adicionais de ação sobre o biofilme. Entretanto, os resultados observados demonstram que nem todas as modificações genéticas ou combinações terapêuticas apresentam os mesmos benefícios, evidenciando a necessidade de avaliar individualmente as estratégias utilizadas.

Apesar dos avanços observados, a eficácia dos bacteriófagos ainda pode ser limitada pela especificidade de seus hospedeiros, pela heterogeneidade metabólica das células presentes nos biofilmes e pela capacidade bacteriana de desenvolver resistência aos fagos. Além disso, os desafios relacionados à padronização, segurança e eficácia das preparações terapêuticas demonstram a necessidade de investigações adicionais, especialmente em modelos in vivo e ensaios clínicos controlados. Portanto, conclui-se que os bacteriófagos representam uma abordagem promissora para o controle de biofilmes previamente estabelecidos de *Pseudomonas aeruginosa*, mas que seu potencial terapêutico depende da compreensão de suas limitações e do desenvolvimento de estratégias capazes de proporcionar resultados seguros e eficazes.

REFERÊNCIAS

ALLISON, K. R.; BRYNILDSEN, M. P.; COLLINS, J. J. Heterogeneous bacterial persisters and engineering approaches to eliminate them. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, p. 593–598, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.09.002.

AMANKWAH, S.; ADISU, M.; GOREMS, K.; ABDELLA, K.; KASSA, T. Assessment of phage-mediated inhibition and removal of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on medical implants. **Infection and Drug Resistance**, v. 15, p. 2797-2811, 2022. DOI: https://doi.org/10.2147/IDR.S367460.

AKTURK, E.; MELO, L. D. R.; OLIVEIRA, H.; CRABBÉ, A.; COENYE, T.; AZEREDO, J. Combining phages and antibiotic to enhance antibiofilm efficacy against an in vitro dual species wound biofilm. **Biofilm**, v. 6, artigo 100147, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100147

BARBOSA, J. O. **Avaliação dos efeitos de Streptococcus mutans sobre formação de biofilme e morfogênese de Candida albicans in vitro e estudo experimental em Galleria mellonella.** 2014. 84 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, Área de Microbiologia/Imunologia, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2014.

BASU, S. et al. An in vivo wound model utilizing bacteriophage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Ostomy Wound Management**, v. 61, n. 8, p. 16-23, 2015.

BUCIOR, I.; PIELAGE, J. F.; ENGEL, J. N. *Pseudomonas aeruginosa* pili and flagella mediate distinct binding and signaling events at the apical and basolateral surface of airway epithelium. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 4, e1002616, 2012. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002616.

CAMPODÓNICO, V. L. et al. Evaluation of flagella and flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* as vaccines. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 2, p. 746–755, 2010. DOI: https://doi.org/10.1128/IAI.00875-09.

CARVALHO, M. L.; ESPÍNDOLA, C. S.; NASCIMENTO, C. B.; SANTOS, P. B. Terapia fágica: o uso de bacteriófagos como alternativa ao tratamento de infecções bacterianas resistentes a antibióticos. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação (REASE), São Paulo**, v. 10, n. 11, nov. 2024. DOI: https://doi.org/10.51891/rease.v10i11.16566

CHÁVEZ-JACOBO, V. M. A batalha contra as superbactérias: sem antimicrobianos, sem escape. **TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, Cidade do México**, v. 23, e20200202, 2020. DOI: https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.202.

CHEGINI, Z.; KHOSHBAYAN, A.; TAATI MOGHADAM, M.; FARAHANI, I.; JAZIREIAN, P.; SHARIATI, A. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 19, n. 1, p. 45, 2020. DOI: https://doi.org/10.1186/s12941-020-00389-5.

CHEVALIER, S. et al. Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 5, p. 698–722, 2017. DOI: https://doi.org/10.1093/femsre/fux020.

CIOFU, O.; TOLKER-NIELSEN, T. Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents—how *P. aeruginosa* can escape antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 913, 2019. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00913.

FERNÁNDEZ-BILLÓN, M.; LLAMBÍAS-CABOT, A. E.; JORDANA-LLUCH, E.; OLIVER, A.; MACIÀ, M. D. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Biofilm**, v. 5, artigo 100129, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100129

FOLKESSON, A. et al. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 12, p. 841–851, 2012. DOI: https://doi.org/10.1038/nrmicro2907.

FUERST-WILMES, M. et al. Regulation of phage therapy medicinal products: developments, challenges, and opportunities. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, artigo 1631359, 2025. DOI: https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1631359.

GBD 2021 ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199–1226, 2024. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1

GHEORGHITA, A. A.; WOZNIAK, D. J.; PARSEK, M. R.; HOWELL, P. L. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm exopolysaccharides: assembly, function, and degradation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 47, n. 6, fuad060, 2023. DOI: https://doi.org/10.1093/femsre/fuad060.

GLEN, K. A.; LAMONT, I. L. β-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: current status, future prospects. **Pathogens**, v. 10, n. 12, 1638, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/pathogens10121638.

HAIDAR, A. et al. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **The Microbe**, v. 3, 100078, 2024. DOI: https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100078.

HANLON, G. W.; DENYER, S. P.; OLLIFF, C. J.; IBRAHIM, L. J. Reduction in exopolysaccharide viscosity as an aid to bacteriophage penetration through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 6, p. 2746–2753, 2001. DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2746-2753.2001.

HARPER, D. R.; PARRACHO, H. M. R. T.; WALKER, J.; SHARP, R.; HUGHES, G.; WERTHÉN, M.; LEHMAN, S.; MORALES, S. Bacteriophages and biofilms. **Antibiotics**, v. 3, n. 3, p. 270–284, 2014. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270.

HOLTAPPELS, D.; ALFENAS-ZERBINI, P.; KOSKELLA, B. Drivers and consequences of bacteriophage host range. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 47, n. 4, fuad038, 2023. DOI: https://doi.org/10.1093/femsre/fuad038.

LAILA, H. J. E. A.; SANTOS, R. C. V. Aspectos gerais e mecanismos moleculares envolvidos na formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria**, v. 17, n. 1, p. 125–144, 2016. DOI: https://doi.org/10.37777/1914

LUO, X.; WANG, S.; YANG, Y.; GAO, R.; YUAN, S.; YU, J.; LIU, D.; TAN, X. Engineered *Pseudomonas aeruginosa* phages with quorum-quenching enzyme or depolymerase for inhibition of biofilm formation. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, artigo 1752980, 2026. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1752980

KASNOWSKI, M. C. et al. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, p. 1–23, 2010.

KOHM, K.; HERTEL, R. The life cycle of SPβ and related phages. **Archives of Virology**, v. 166, p. 2119–2130, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/s00705-021-05116-9.

LANGENDONK, R. F.; NEILL, D. R.; FOTHERGILL, J. L. The building blocks of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: implications for current resistance-breaking therapies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, 665759, 2021. DOI: https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.665759.

LEBEAUX, D.; GHIGO, J.-M.; BELOIN, C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 78, n. 4, p. 510–543, 2014.

LEÓN-FÉLIX, J.; VILLICAÑA, C. The impact of *quorum sensing* on the modulation of phage-host interactions. **Journal of Bacteriology**, v. 203, n. 11, p. 1–19, 2021. DOI: https://doi.org/10.1128/JB.00687-20.

LIU, C. et al. Phage-antibiotic therapy as a promising strategy to combat multidrug-resistant infections and to enhance antimicrobial efficiency. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, artigo 570, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics11050570.

LORUSSO, A. B.; CARRARA, J. A.; BARROSO, C. D. N.; TUON, F. F.; FAORO, H. Role of efflux pumps on antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 24, 15779, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms232415779.

LU, T. K.; COLLINS, J. J. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 27, p. 11197-11202, 2007. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0704624104

MADIGAN, M. T. et al. **Brock biology of microorganisms**. 14. ed. Boston: Pearson, 2016.

MADSEN, J. S.; LIN, Y.-C.; SQUYRES, G. R. et al. Facultative control of matrix production optimizes competitive fitness in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilm models. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, p. 8414–8426, 2015.

MAURICE, N. M.; BEDI, B.; SADIKOT, R. T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 58, n. 4, p. 428–439, 2018. DOI: https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0321TR.

MOREIRA, C. A. **Atividade in vitro de agentes antimicrobianos contra biofilmes de Staphylococcus spp. de otite canina.** 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MOSER, C. et al. Immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 625597, 2021. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.625597.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; Guanabara Koogan, 2020.

NEVES, P. R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 409–420, 2011.

OLIVEIRA, M. M. M. de. **Óleos essenciais no controle de biofilmes bacterianos: Listeria monocytogenes e Escherichia coli enteropatogênica**. 2011. 138 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

OLIVEIRA, V. C. et al. Identification and characterization of new bacteriophages to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on endotracheal tubes. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, artigo 580779, 2020. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580779.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance.** Geneva: World Health Organization, 2024. Disponível em: https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461. Acesso em: 10 jan. 2026.

PAMP, S. J.; GJERMANSEN, M.; JOHANSEN, H. K.; TOLKER-NIELSEN, T. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. **Molecular Microbiology**, v. 68, p. 223–240, 2008. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06152.x.

PAMP, S. J.; GJERMANSEN, M.; TOLKER-NIELSEN, T. The biofilm matrix: a sticky framework. In: KJELLEBERG, S.; GIVSKOV, M. (ed.). **The biofilm mode of life: mechanisms and adaptations. Norfolk: Horizon Bioscience**, 2007. p. 37–69.

PAMP, S. J.; STERNBERG, C.; TOLKER-NIELSEN, T. Insight into the microbial multicellular lifestyle via flow-cell technology and confocal microscopy. **Cytometry Part A**, v. 75, p. 90–103, 2009. DOI: https://doi.org/10.1002/cyto.a.20685.

PAMP, S. J.; TOLKER-NIELSEN, T. Multiple roles of biosurfactants in structural biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 189, p. 2531–2539, 2007. DOI: https://doi.org/10.1128/JB.01515-06.

PANG, Z.; RAUDONIS, R.; GLICK, B. R.; LIN, T.-J.; CHENG, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 1, p. 177–192, 2019.

PIRES, D. P. et al. A genotypic analysis of five *Pseudomonas aeruginosa* strains after biofilm infection by phages targeting different cell surface receptors. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, artigo 1229, 2017. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01229.

RAZVI, E.; WHITFIELD, G. B.; REICHARDT, C. et al. Glycoside hydrolase processing of the Pel polysaccharide alters biofilm biomechanics and *Pseudomonas aeruginosa* virulence. **NPJ Biofilms and Microbiomes**, v. 9, 2023. DOI: https://doi.org/10.1038/s41522-023-00375-7.

ROCHA, A. J. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: fatores de virulência e genes de resistência a antibióticos. **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia**, v. 62, e19180503, 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180503.

SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **BioMed Research International**, v. 2016, 2475067, 2016. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/2475067.

SOARES, A.; ALEXANDRE, K.; ETIENNE, M. Tolerance and persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms exposed to antibiotics: molecular mechanisms, antibiotic strategies and therapeutic perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2057, 2020. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02057.

SOL, J.; DENG, Z.; YAN, A. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological explorations. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 453, n. 2, p. 254–267, 2014.

STEWART, P. S. Antimicrobial tolerance in biofilms. **Microbiology Spectrum**, v. 3, n. 3, 2015. DOI: https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0010-2014.

STEWART, P. S.; FRANKLIN, M. J.; WILLIAMSON, K. S.; FOLSOM, J. P.; BOEGLI, L.; JAMES, G. A. Contribution of stress responses to antibiotic tolerance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, p. 3838–3847, 2015. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.00433-15.

STEWART, P. S. et al. Reaction-diffusion theory explains hypoxia and heterogeneous growth within microbial biofilms associated with chronic infections. **NPJ Biofilms and Microbiomes**, v. 2, 16012, 2016. DOI: https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.12.

TOLKER-NIELSEN, T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: from molecular biofilm biology to new treatment possibilities. **APMIS, Supplementum**, n. 138, p. 1–51, 2014. DOI: https://doi.org/10.1111/apm.12335.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; BAIR III, W. B.; WEBER, D.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2025.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (ed.). **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. E-book. Disponível em: https://plataforma.bvirtual.com.br. Acesso em: 10 fev. 2026.

TRAN THI, M. T.; WIBOWO, D.; REHM, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, artigo 8671, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms21228671

TRENTIN, D. da S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 213–238, 2013.

URUÉN, C.; CHOPO-ESCUIN, G.; TOMMASSEN, J.; MAINAR-JAIME, R. C.; ARENAS, J. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, artigo 3, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics10010003

VASHISTH, M. et al. Development and evaluation of bacteriophage cocktail to eradicate biofilms formed by an extensively drug-resistant (XDR) *Pseudomonas aeruginosa*. **Viruses**, v. 15, n. 2, artigo 427, 2023.

VISNAPUU, A.; VAN DER GUCHT, M.; WAGEMANS, J.; LAVIGNE, R. Deconstructing the phage-bacterial biofilm interaction as a basis to establish new antibiofilm strategies. **Viruses**, v. 14, n. 5, artigo 1057, 2022.

XUAN, G.; LIN, H.; TAN, L.; ZHAO, G.; WANG, J. *Quorum sensing* promotes phage infection in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **mBio**, v. 13, n. 1, artigo e03174-21, 2022. DOI: https://doi.org/10.1128/mbio.03174-21

WEI, Q.; MA, L. Z. Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Molecular Sciences,** v. 14, n. 10, p. 20983-21005, 2013. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms141020983.