

Caracterização de genes relacionados a bacteriófagos em *Enterobacter aerogenes* proveniente de infecção em paciente de hospital de Recife-PE, Brasil

Characterization of genes related to bacteriophages in *Enterobacter aerogenes* from infection in hospital patient in Recife-PE, Brazil

Caracterización de genes relacionados con bacteriofagos en *Enterobacter aerogenes* de infección en paciente del hospital de Recife-PE, Brasil

Recebido: 06/09/2022 | Revisado: 16/09/2022 | Aceitado: 18/09/2022 | Publicado: 25/09/2022

Júlio Ricardo Macedo Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7688-3191>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
E-mail: julioricardopj@gmail.com

Ellen Carolyna Silva Bezerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8168-2733>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
E-mail: ellencarolyna.silva@gmail.com

Jefferson Cavalcante de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5494-0570>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
E-mail: jeffersoncmed@gmail.com

Matheus dos Santos do Nascimento Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4907-1750>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
E-mail: matheus2029mpc@gmail.com

Antônio Mauro Rezende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4775-1779>
Instituto Aggeu Magalhães-FIOCRUZ, Brasil
E-mail: antonio.rezende@fiocruz.br

Thiago José Matos Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5153-6583>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
Centro Universitário Cesmac, Brasil
E-mail: thiago.matos@uncisal.edu.br

Juliane Cabral Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3098-1885>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
Centro Universitário Cesmac, Brasil
E-mail: juliane.cabral@uncisal.edu.br

Ana Catarina Souza Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0277-108X>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: ana.lopes.ufpe@gmail.com

Adriane Borges Cabral

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4417-7559>
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil
E-mail: adriane.cabral@uncisal.edu.br

Resumo

Os bacteriófagos (fagos) são vírus que infectam procariotos, a sua aplicabilidade e reconhecimento como mecanismo contra espécies bacterianas estão cada vez mais ganhando importância na área médica. O presente estudo teve como objetivo reconhecer genes relacionados a bacteriófagos em amostras de *Enterobacter aerogenes*, como possível recurso para controle desse patógeno. O genoma utilizado foi obtido a partir de isolado de infecção de *E. aerogenes* oriundo da Unidade de Tratamento Intensivo de um Hospital Público de Recife-PE e submetido a sequenciamento genômico, que após predição e anotação gênica, houve a identificação dos genes relacionados a bacteriófagos através de análise manual e precisa e comparação com os genes do isolado de colonização. Referente aos resultados obtidos, foram encontrados diversos genes no isolado de infecção (DNA cromossômico e plasmidial) com propriedades importantes. Quando comparados com os genes do isolado de colonização, foi possível observar uma proximidade e

semelhança entre ambos os isolados, diferindo em apenas um gene exclusivo no DNA cromossômico do isolado de infecção. Dessa forma, foi possível destacar uma variedade de genes relacionados a bacteriófagos no isolado analisado, o que reforça a importância da fagoterapia como alternativa para controle de bactérias patogênicas.

Palavras-chave: Fago; Genoma; Controle; Enterobactéria.

Abstract

Bacteriophages (phages) are viruses which infect prokaryotes, their applicability and recognition as a mechanism against bacterial species are getting importance in the medical science. The present study aimed to recognize genes related to bacteriophages in samples of *Enterobacter aerogenes*, as a possible resource for controlling this pathogen. The used genome belonged to an *E. aerogenes* infection isolated from the Intensive Care Unit of a Public Hospital in Recife-PE and submitted to genomic sequencing. After prediction and gene annotation, there was the identification of two genes related to bacteriophages, through manual and precise analysis and comparison with the genes of the colonization isolated. Regarding the results obtained, several genes were found in the infection isolated (chromosomal and plasmid DNA) with important properties. When compared with the genes of the colonization isolated, it was possible to observe a proximity and similarity between them, differing in only one single and exclusive gene in the chromosomal DNA from infection isolated. Therefore, it was possible to show a variety of genes related to bacteriophages in the analyzed isolated, which exposes the importance of phage therapy as an alternative to control pathogenic bacteria.

Keywords: Phage; Genome; Control; Enterobacteria.

Resumen

Los bacteriófagos (fagos) son virus que infectan a los procariotas, su aplicabilidad y reconocimiento como mecanismo contra las especies bacterianas está cobrando cada vez más importancia en el campo médico. El presente estudio tuvo como objetivo reconocer genes relacionados con bacteriófagos en muestras de *Enterobacter aerogenes*, como un posible recurso para el control de este patógeno. El genoma utilizado fue obtenido de un aislado de infección por *E. aerogenes* de la Unidad de Cuidados Intensivos de un Hospital Público de Recife-PE y sometido a secuenciación genómica, que, después de la predicción y anotación de genes, identificó los genes relacionados con los bacteriófagos a través de métodos manuales y precisos. análisis y comparación con los genes del aislado de colonización. En cuanto a los resultados obtenidos, se encontraron varios genes en el aislado de infección (ADN cromosómico y plasmídico) con importantes propiedades. Al compararlos con los genes del aislado de colonización, se pudo observar una proximidad y similitud entre ambos aislados, difiriendo en un único gen en el ADN cromosómico del aislado de infección. Así, fue posible destacar una variedad de genes relacionados con bacteriófagos en el aislado analizado, lo que refuerza la importancia de la terapia con fagos como alternativa para el control de bacterias patógenas.

Palabras clave: Fago; Genoma; Control; Enterobacteria.

1. Introdução

Classificados como vírus, os bacteriófagos ou fagos são responsáveis pelo processo de infectar bactérias, que mediante a sua reprodução ocasionam a destruição da célula bacteriana hospedeira, o que denominamos de ciclo lítico, logo essa característica lhes garante um potencial interessante de ser investigado na busca por outras formas de prevenções e tratamentos de doenças de origem bacteriana, principalmente de controle de patógenos transmitidos através de alimentos. Os estudos com bacteriófagos ganharam destaque em função do aumento do aparecimento de infecções resistentes aos antimicrobianos tradicionais (Jofre & Muniesa, 2020; Sen, et al., 2020; Ling, et al., 2022).

Uma das principais relevâncias da ferramenta de biocontrole de bactérias patogênicas por bacteriófagos é a especificidade por um hospedeiro particular. Especificidade essa gerada por uma afinidade bem-sucedida de um bacteriófago para com o seu hospedeiro, no qual exige um vínculo entre receptores específicos na superfície celular e antirreceptores presentes no fago (Hudson, 2005). Dentro desta esfera de raciocínio Parmar, et al., (2018) e Jurac, et al., (2019), fundamentam que os bacteriófagos são capazes de apresentar funcionalidades que caracterizam os mesmos como agentes de biocontrole eficaz, no qual possibilita lisar de forma seletiva as bactérias patogênicas sem causar danos a microbiota.

É interessante ainda destacar a aplicação de bacteriófagos como mecanismo antimicrobiano para o reconhecimento de patógenos que se configura na área de ciência de alimentos, como outro potencial de pesquisa que vem aumentando em várias análises ao redor do mundo. Os campos de aplicação compreendem desde a segurança da água e alimentos, ao emprego na

agricultura e saúde animal (Sillankorva, et al., 2012; Moye, et al., 2018). Outra forma de utilidade dos bacteriófagos importante é pertinente ao seu potencial como estratégia de biologia molecular, sendo os mesmos utilizados como vetores de clonagem para inserir DNA em bactérias (Tlapak, et al., 2018).

A diversidade dos fagos torna-se bastante interessante após estudos genômicos que revelam uma constituição ou forma de organização em mosaico e processos de recombinação, assim como um potente pool gênico inexplorado, possivelmente o maior do mundo em recursos de informações pertinentes para o controle de patógenos (Jofre & Muniesa, 2020). Outro fator que vale elucidar sobre os fagos é referente a sua capacidade de codificarem uma variedade de substâncias conhecidas no geral como enzimas líticas, as mesmas configuram um novo cenário de estratégia e alternativas antimicrobianas no campo da saúde pública no enfrentamento das infecções (Li, et al., 2016; Krilov, et al., 2019; Sen, et al., 2020; Ling, *et al.*, 2022). Esse panorama é reforçado na pesquisa de Maciejewska et al. (2016), que identificaram um novo fago com especificidade enzimática de endopeptidase, melhor estabilidade e com ausência de toxicidade para células epiteliais humanas.

É de extrema valia destacar que por meio da análise e identificação dos bacteriófagos será possível reconhecer e compreender os mecanismos dos vírus patogênicos para *Enterobacter aerogenes*, esse conhecimento é valioso uma vez que, pode ser aplicado para a elaboração de novas formas de enfrentamento contra essa espécie bacteriana (Li, et al., 2016). Cabe também ressaltar que existe ainda uma reduzida difusão de conhecimentos e estudos que identificam bacteriófagos para Enterobactérias, porém dados de Wirjon, et al. (2017) e Maszewska e Różalski, (2019) comprovam sua eficácia, que discute o achado que reconheceu novos fagos altamente líticos e específicos para *Proteus mirabilis*, um dos principais agentes envolvido em infecção urinária em humanos.

Em virtude dos aspectos apresentados a presente pesquisa tem como objetivo caracterizar isolado de *E. aerogenes* proveniente de infecção quanto a genes relacionados a bacteriófagos. A aplicabilidade dos bacteriófagos como ferramenta de tipagem possibilitará confrontar os resultados encontrados com a origem do isolado bacteriano, local e momento do isolamento. O reconhecimento desses agentes virais permite conhecer o panorama atual da infecção por vírus nessa amostra e confrontar com resultado de isolados de colonização, sendo útil para o desenvolvimento de estratégias contra essa espécie bacteriana no âmbito da saúde.

2. Metodologia

A pesquisa foi realizada através de análise *in silico* do genoma predito e anotado depositado no genbank sob código de acesso SAMN04461809. O genoma analisado foi inicialmente obtido a partir de isolado de *E. aerogenes*, resultante de infecção de uma UTI do município de Recife, Pernambuco. As anotações do genoma foram analisadas manual e minuciosamente para detecção de genes relacionados a bacteriófagos.

O uso de banco de dados tem sido constante na vida de pesquisadores e profissionais de diversas áreas. Conceitualmente, um banco de dados deve ser capaz de fornecer acesso fácil a resultados experimentais de pesquisas, facilitando a procura por novas correlações nos dados e evitando redundância e duplicação desnecessária de dados (Resende, et al., 2009). A bioinformática é uma parte essencial deste processo, principalmente o uso de sistemas de gestão e bancos de dados relacionais aplicados a dados biológicos. Os dados biológicos residem em bases de dados que representam diferentes estágios de interpretação de dados ou diferentes facetas de fenômenos biológicos (Markowitz, 2006).

Para o desenvolver da pesquisa foi utilizado bancos de dados MySQL (<https://www.mysql.com/>) e ferramentas de leitura e edição de planilhas (Microsoft Office Excel), ainda como instrumentos de apoio foram consultados bancos de dados públicos como o Genbank, Uniprot e ExPasy. Nessa perspectiva também foram consultados artigos científicos para colaborar na elucidação e identificação dos genes relacionados a bacteriófagos e fortalecer o conhecimento teórico sobre as possíveis

formas de controle das Enterobactérias em isolado de infecção e comparado com o isolado de colonização (código de acesso de depósito do genebank: SAMN04461808).

3. Resultados e Discussão

Em relação aos resultados obtidos, foram analisados um total de 5726 genes no isolado de infecção, enquanto no de colonização foram analisados um total de 5845 genes, sendo identificados dentre esses 35 genes relacionados a bacteriófagos (DNA Cromossômico) no isolado de infecção, com detecção de um gene exclusivo (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Genes exclusivos relacionados a bacteriófagos identificados no DNA Cromossômico do isolado de infecção de *E. aerogenes*.

Anotação Gênica	Quantidade	Propriedades
<i>Putative stability/partitioning protein encoded within prophage</i>	1	Proteína

Fonte: Dados da Pesquisa.

Tabela 2 – Genes cromossômicos relacionados a bacteriófagos compartilhados entre os isolados provenientes de infecção e colonização.

Anotação gênica	Cópias do isolado proveniente de infecção	Cópias do isolado proveniente de colonização
<i>Hypothetical protein; some similarities with phage structural protein P5</i>	1	1
<i>Phage protein</i>	21	21
<i>Putative bacteriophage protein</i>	13	12
<i>Putative regulator; Regulation (Phage or Prophage Related)</i>	12	2
<i>Phage tail fiber protein</i>	5	3
<i>Maltoporin (maltose/maltodextrin high-affinity receptor, phage lambda receptor protein)</i>	4	2
<i>IS, phage, Tn; Transposon-related functions</i>	4	2
<i>Phage integrase</i>	2	2
<i>Phage tail fibers protein</i>	3	5
<i>Phage terminase, small subunit</i>	2	2
<i>Phage terminase, large subunit</i>	3	1
<i>Phage holin</i>	2	2
<i>Phage EaA protein</i>	2	1
<i>Phage-related protein</i>	2	2
<i>Phage integrase, Phage P4-associated</i>	2	1
<i>Gifsy-2 prophage protein</i>	2	2
<i>Terminase large subunit</i>	1	1
<i>Bacteriophage encoded homolog of DNA replication protein DnaC</i>	1	1
<i>Partition protein, phage-associated</i>	1	1
<i>Co-activator of prophage gene expression IbrA</i>	1	1
<i>Co-activator of prophage gene expression IbrB</i>	1	1

<i>Phage eae protein</i>	1	1
<i>Phage EaD protein</i>	1	2
<i>Putative tail fiber</i>	1	1
<i>Phage outer membrane lytic protein Rz, Endopeptidase (EC 3.4.-.-)</i>	1	1
<i>Phage endopeptidase Rz</i>	1	2
<i>Lytic enzyme</i>	1	1
<i>Phage antitermination protein</i>	1	1
<i>Phage antitermination protein Q</i>	1	1
<i>Probable bacteriophage integrase</i>	1	1
<i>probable bacteriophage protein STY1063</i>	1	1
<i>Putative phage protein</i>	1	1
<i>Prophage integrase CP4-57</i>	1	1
<i>Putative prophage repressor protein</i>	1	1
<i>Phage lysin # Phage lysozyme or muramidase</i>	1	1
Total de cópias	99	82

Fonte: Dados da Pesquisa.

Conforme visualizado na tabela anterior, houve detecção de 35 genes relacionados a bacteriófagos compartilhados entre os isolados, entretanto percebe-se um maior número de cópias destes genes no isolado proveniente de infecção, exceto para os genes *Phage tail fibers protein*, *Phage EaD protein* e *Phage endopeptidase Rz*, que foram detectados em maior número de cópias no isolado proveniente de colonização.

Em relação aos genes no DNA plasmidial no isolado de infecção foram analisados 631 genes, e identificados 8 relacionados a bacteriófagos, já em relação ao isolado de colonização foram analisados um total de 439 genes, detectando os mesmos genes do isolado de infecção (Tabela 3).

Tabela 3: Genes plasmidiais relacionados a bacteriófagos compartilhados entre os isolados provenientes de infecção e colonização.

Anotação gênica	Cópias do isolado proveniente de infecção	Cópias do isolado proveniente de colonização
<i>Phage protein</i>	3	3
<i>Phage major capsid protein</i>	3	3
<i>Phage major spike protein</i>	1	1
<i>Phage minor capsid protein - DNA pilot protein</i>	1	1
<i>Phage external scaffolding protein #Protein D</i>	1	1
<i>FIG035595: Phage protein</i>	1	1
<i>Putative stability/partitioning protein encoded within prophage CP-933T</i>	2	2
<i>Phage DNA binding protein</i>	1	1
Total de cópias	13	13

Fonte: Dados da Pesquisa.

Conforme pode ser observado na tabela anterior, genes relacionados a bacteriófagos presentes no DNA plasmidial foram detectados em igual número de cópias nos isolados de *E. aerogenes* independente da condição clínica (infecção ou colonização).

Durante a análise dos genes relacionados a bacteriófagos compartilhados nos isolados de infecção e colonização (Tabela 2 - DNA Cromossômico) foi possível notar que muitos genes identificados ainda não possuem propriedades e mecanismos elucidados nos bancos de dados disponíveis, alguns deles estão apenas sinalizados como proteínas, enzimas ou estruturas relacionadas a bacteriófagos, pois suas propriedades e interação ainda não foram descobertas ou publicadas.

Porém nesse mesmo contexto foi percebido que outros genes já constam propriedades descritas e compreendidas, por exemplo a *Phage integrase*, *Phage P4-associated* e a *Prophage integrase CP4-57* presentes em ambos isolados (infecção e colonização - DNA Cromossômico), atuam na inserção e excisão do fago por meio do mecanismo de recombinação específica do local a partir do genoma do hospedeiro (Biswas, et al., 2005; Duyne, 2005).

Já outras enzimas presentes como as *Phage terminase*, *small subunit* e *large subunit* estão envolvidas em processos de endonuclease, clivando o genoma viral para iniciar e para finalizar uma reação de empacotamento, e atuando como um motor molecular impulsionado por ATP, sendo a mesma necessária para a translocação do DNA (Sun, et al., 2008; Alam, et al., 2008). Enquanto *Phage holin* desempenha a ruptura da membrana celular, determinando o momento preciso da lise da célula hospedeira e atuando em eventos sequenciais como a liberação das partículas virais maduras (Moussa, et al., 2012). Crispim, et al., (2018), observaram que mais da metade dos profagos identificados em *Desulfovibrio* possuem genes que codificam substâncias como *lysozyme* e *holin*.

Observa-se ainda que em relação aos processos de lise celular, outros genes analisados e comparados nos isolados de infecção e colonização (DNA cromossômico) expressam importantes ações, por exemplo, a *Terminase large subunit* que reconhece o Dna Viral e possui atividades endonucleolíticas, a *Phage outer membrane lytic*, que é uma proteína lítica, e a *Phage endopeptidase Rz* que é uma outra proteína de lise celular da célula hospedeira, que cliva a ligação cruzada de amino-carboxilo no componente de mureína da parede celular bacteriana, por último e não menos importante a *Lytic enzyme* que são substâncias enzimáticas produzidas durante a infecção por bacteriófagos, responsáveis pela capacidade desses vírus de causar lise em células bacterianas (Mitchell, et al., 2002).

Ainda nesse contexto de comparação de ambos isolados, foi identificado apenas um gene exclusivo relacionado a bacteriófago no isolado de colonização (DNA Cromossômico) como apresenta a Tabela 1, porém nos bancos de dados consta apenas como proteína, sem maiores detalhes ainda das suas propriedades de ações.

Em relação a Tabela 3 que apresenta os resultados dos genes plasmidial compartilhados entre os isolados provenientes de colonização e infecção, observa-se que foram identificados 8 tipos de genes em ambos isolados, não possuindo nenhum exclusivo, sendo que entre as buscas apenas dois genes apresentaram propriedades conhecidas e descritas, como por exemplo, a *Phage major spike protein*, responsável por ligar a partícula viral circulante aos lipopolissacarídeos bacterianos que servem como receptor para o vírus (Inagaki, et al., 2003). E a *Phage external scaffolding protein D*, que são as proteínas de suporte, que estão envolvidas na montagem do bacteriófago, e produção de RNA de fita simples viral (Uchiyama & Fane, 2005).

Dentro desta esfera de utilização de bacteriófagos como possível estratégias para o controle de patógenos, é de extrema valia destacar que já existem diversos estudos em diferentes áreas de aplicações demonstrando resultados motivadores, como por exemplo, na indústria de produção de alimentos, a “Food and Drug Administration” (FDA) aprovou no ano de 2006 a utilização de um “pool de bacteriófagos”, nomeado de bacteriófago P100, com a finalidade de controlar *Listeria monocytogenes* em queijos e carnes (Rossi, et al., 2010).

Outro exemplo é o referente a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, que faz o uso do produto comercial denominado de “Agriphage” para o controle de bactérias patogênicas em ambientes, visto que é uma solução viável aos produtos químicos elaborados sinteticamente que podem deixar alguns resíduos desfavoráveis (Garcia, et al., 2008).

Em revisão de literatura realizada por Jamal et al., (2019), fica evidente a importância dos bacteriófagos como estratégia de controle desde 1921 e atualmente já verificada frente a diferentes microrganismos causadores de infecções em humanos e animais (*Pseudomonas*, *E. coli*), além de estratégia para controlar a contaminação por *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* e *Listeria* em alimentos.

Vale elucidar também que a utilização de misturas de bacteriófagos de distintas famílias pode vir a ajudar a resolver os problemas relacionados com a resistência bacteriana, conforme apresentou outros estudos (Moye, et al., 2018; Jurač, et al., 2019). Seguindo esta abordagem, Jofre e Muniesa, (2020), desenvolveram um estudo do processo de resistência de *E. coli* a bacteriófago e constataram que o uso de coquetéis de fagos como método de controle de patógenos pode ser promissor, visto que quando usados receptores celulares diferentes foi possível conter o surgimento da resistência. Resultados promissores sobre o uso de bacteriófagos para combate de bactérias resistentes na era pós-antibióticos também vêm sendo relatados por diversos autores (Chang, et al., 2020; Sen, et al., 2020; Ling, et al., 2022).

Percebe-se que apesar das vantagens, alguns pesquisadores também têm questionado a eficácia de bacteriófagos como método antimicrobianos, já que é considerável ainda que o processo de transdução dos bacteriófagos pode transferir algumas características indesejadas, tais como a mudança lisogênica que poderia criar células bacterianas que não são mais suscetíveis a ataques de genes virulentos, que esses também poderiam ser transferidos de um organismo para o outro (Jamal, et al., 2019; Jurač, et al., 2019; Jofre & Muniesa, 2020).

Em estudo realizado por Bruttin e Brüßow (2005), com voluntários humanos que receberam o bacteriófago T4, foi verificado que o mesmo é seguro para utilização e administração por via oral, e nesse mesmo aspecto nenhum bacteriófago ou anticorpo foram encontrados. Entretanto revisão de literatura realizada por Gogokhia e Round (2021), destaca que essas partículas virais podem afetar o sistema imunológico dos mamíferos.

Nestes termos, um outro estudo referente ao potencial agente de biocontrole para combater bactérias patogênicas entéricas [*Escherichia* fago (KNP1), fago de *Klebsiella* (KNP2), fago de *Enterobacter* (KNP3), fago de *Serratia* (KNP4)] por meio da fagoterapia em águas residuais naturais, conseguiu identificar por meio da observação do genoma a presença de enzimas com ações líticas, como a endolisina em fago KNP2, a holing e lisozima em fago KNP1 e endopeptidase com holina em fago KNP3 como possíveis candidatos para a elaboração de coquetéis com fagos (Parmar, et al., 2018). Essas enzimas também foram identificadas no presente estudo, o que reforça que, por mais que os bacteriófagos estejam em ciclo lisogênico nos isolados, nada impede que possam entrar em ciclo lítico e assim se tornarem patogênicos para a bactéria.

É importante destacar um outro estudo que discutiu sobre o uso de fagos para a redução de infecções por *Salmonella Typhimurium* Africana, identificando diversos genes de bacteriófagos entre eles os *Gifsy 1-2 phages* também identificados na presente pesquisa, os autores fazem apontamentos sobre os potenciais custos de adaptação e benefícios de novos profagos na epidemia que afeta toda a região da África (Owen, et al., 2017).

Por fim, foi encontrado um estudo que realizou fagoterapia. O tratamento foi administrado em uma adolescente de 15 anos de idade com fibrose cística e infecção disseminada por *Mycobacterium abscessos*, onde a mesma recebeu um coquetel de três fagos, cuja atividade lítica foi previamente testada in vitro (Dedrick, et al. 2019). O tratamento foi eficaz, representando assim um novo caminho para tratamento de humanos.

4. Conclusão

Tendo em vista os resultados apresentados, conclui-se que as análises realizadas no cromossomo e no DNA plasmidial no isolado de infecção possibilitaram observar a presença de inúmeros genes compartilhados com diferentes propriedades importantes que podem ser no futuro adequadas estratégias para o combate de patógenos, de forma segura, aplicável e de baixo custo na prática. Adicionalmente, em virtude que muitos genes identificados ainda não possuem propriedades e mecanismos elucidados nos bancos de dados disponíveis, fazem-se necessários estudos futuros que ampliem este conhecimento.

Referências

- Alam, T. I., Alam, T. I., Draper, B., Kondabagil, K., Rentas, F. J., Ghosh-Kumar, M., Sun, S., Rossmann, M. G., & Rao, V. B. (2008). The headful packaging nuclease of bacteriophage T4. *Molecular Microbiology*, 69, (5) 1180-1190.
- Biswas, T., Aihara, H., Radman-Livaja, M., Filman, D., Landy, A., & Ellenberger, T. (2005). A structural basis for allosteric control of DNA recombination by λ integrase. *Nature*, 435, 1059-1066.
- Bruttin, A., & Brussow, H. A. (2005). Human volunteers receiving Escherichia coli phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, (7) 2874-2878.
- Chang, R. Y. K., Morales, S., Okamoto, Y., & Chan, H-K. (2020). Topical application of bacteriophages for treatment of wound infections. *Transl Res*, 220, 153e66.
- Crispim, J. S., Dias, R. S., Vidigal, P. M. P., de Sousa, M. P., da Silva, C. C., Santana, M. F., & de Paula, S. O. (2018). Screening and characterization of prophages in *Desulfovibrio* genomes. *Scientific Reports*, 8, (1) 1-10.
- Dedrick, R. M., Guerrero-Bustamante, C. A., Garlena, R. A., Russell, D. A., Ford, K., Harris, K., Gilmour, K.C., Soothill, J., Jacobs-Sera, D., Schooley, R. T., Hatfull, G. F., & Spencer, H. (2019). Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus. *Nature Medicine*, 25, 730-733.
- Duyn, G. D. V. (2005). Lambda Integrase: Armed for Recombination. *Current Biology*, 15, (17) 1-3.
- García, P. A., Martínez, B., J. M. Obeso, J. M., & Rodríguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Lett Appl Microbiol*, 47, 479-485.
- Gogokhia, L., & Round JL. (2021). Immune-bacteriophage interactions in inflammatory bowel diseases. *Curr Opin Virol*, 49, 30-35.
- Hudson, J. A., Billington, C., Carey-Smith, G., & Greening, G. (2005). Bacteriophages as biocontrol agents in food. *J Food Prot*, 68, 426-437.
- Inagaki, M. (2003). Different contributions of the outer and inner R-core residues of lipopolysaccharide to the recognition by spike H and G proteins of bacteriophage ϕ X174. *FEMS Microbiology Letters*, 226, 221-227.
- Jamal, M., Bukhari, S.M.A.U.S., Andleeb, S., Ali, M., Raza, S., Nawaz, M.A., Hussain, T., Rahman, S. U., & Shah, S. S. A. (2019). Bacteriophages: an overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. *J Basic Microbiol*, 59, (2) 123-133. Erratum in: *J Basic Microbiol*, 2019 59, (9) 960.
- Jofre, J., & Muniesa, M. (2020). Bacteriophage Isolation and Characterization: Phages of Escherichia coli. *Methods Mol Biol*, 2075, 61-79.
- Jurač, K., Nabergoj, D., & Podgornik, A. (2019). Bacteriophage production processes. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103, (2) 685-694.
- Krylov, V. N., Bourkaltseva, M. V., & Pleteneva, E. A. (2019). Bacteriophage's Dualism in Therapy. *Trends Microbiol*, 27, (7) 566-567.
- Li, E., Wei, X., Ma, Y., Yin, Z., Li, H., Lin, W., Wang, X., Li, C., Shen, Z., Zhao, R., Yang, H., Jiang, A., Yang, W., Yuan, J., & Zhao, X. (2016). Isolation and characterization of a bacteriophage phiEap-2 infecting multidrug resistant Enterobacter aerogenes. *Sci Rep*, 6, (28338) 1-9.
- Ling, H., Lou, X., Luo, Q., He, Z., Sun, M., & Sun, J. (2022). Recent advances in bacteriophage-based therapeutics: Insight into the post-antibiotic era, *Acta Pharmaceutica Sinica B*.
- Maciejewska, B., Roszniewski, B., Espaillet, A., Kęsik-Szeloch, A., Majkowska-Skrobek, G., Kropinski, A. M., Briers, Y., Cava, F., Lavigne, R., & Drulis-Kawa, Z. (2016). Klebsiella phages representing a novel clade of viruses with na unknown DNA modification and biotechnologically interesting enzymes. *Appl Microbiol Biotechnol*, 101, (2) 673-684.
- Markowitz V M: Biological data management in a dataspace framework: biological data management and technology center. Philadelphia: Lawrence Berkeley National Laboratory, 2006.
- Maszewska, A., & Różalski, A. (2019). Isolation and Purification of Proteus mirabilis Bacteriophage. *Methods Mol Biol*, 2021, 231-240.
- Mitchell, M. S. (2002). Sequence analysis of bacteriophage T4 DNA packaging/terminase genes 16 and 17 reveals a common ATPase center in the large subunit of viral terminases. *Nucleic Acids Research*, 30, 4009-4021.
- Moussa, S. H., Kuznetsov, V., Tran, T. A., Sacchetti, J. C., & Young, R. (2012). Protein determinants of phage T4 lysis inhibition. *Protein Science*, 21, 571-582.

- Moye, Z. D., Woolston, J., & Sulakvelidze, A. (2018). Bacteriophage Applications for Food Production and Processing. *Viruses*, 19, 10(4) 205.
- Owen, S. V., Wenner, N., Canals, R., Makumi, A., Hammarlöf, D. L., Gordon, M. A., Aertsen, A., Feasey, N. A., & Hinton, J. C. (2017). Characterization of the Prophage Repertoire of African Salmonella Typhimurium ST313 Reveals High Levels of Spontaneous Induction of Novel Phage BTP1. *Front. Microbiol.* 23, (8) 235.
- Parmar, K. M., Dafale, N. A., Tikariha, H., & Purohit, H. J. (2018). Genomic characterization of key bacteriophages to formulate the potential biocontrol agent to combat enteric pathogenic bacteria. *Arch Microbiol.* 200, (4) 611-622.
- Resende, D. M., Rezende, A. M., Oliveira, N. J. Batista, I. C. A., Corrêa-Oliveira, R., Reis, A. B., & Ruiz, J. C. (2012). An assessment on epitope prediction methods for protozoa genomes. *BMC Bioinformatics* 13, 309.
- Rossi, L. P. R., & Almeida, R. C. C. (2010). Bacteriófagos para controle de bactérias patogênicas em alimentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. São Paulo, 69, (2) 151-156.
- Sen, K. D., Ercan, U. K., Bakay, E., Topaloğlu N., & Rosenholm, J. M. (2020). Evolving technologies and strategies for combating antibacterial resistance in the advent of the postantibiotic Era. *Adv Funct Mater.* 30, 1908783.
- Sillankorva, S. M., Oliveira, H., & Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and Their Role in Food Safety. *Journal of Microbiology*. 201, 1-13.
- Sun, S., Kondabagil, K., Draper, B., Alam, T. I., Bowman, V. D., Zhang, Z., Hegde, S., Fokine, A., Rossmann, M. G., & Rao, V. B. (2008). The Structure of the Phage T4 DNA Packaging Motor Suggests a Mechanism Dependent on Electrostatic Forces. *Cell*. 135, 1251-1262.
- Tlapák, H., Köppen, K., Rydzewski, K., Grunow, R., & Heuner, K. (2018). *Front Cell Infect Microbiol.* 14, (8) 75.
- Uchiyama, A., & Fane, B. A. (2005). Identification of an Interacting Coat-External Scaffolding Protein Domain Required for both the Initiation of ϕ X174 Procapsid Morphogenesis and the Completion of DNA Packaging. *J. Virol.* 79, (11) 6751-6756.
- Wirjon, I. A., Lau, N. S., & Arip, Y. M. (2017). Complete Genome Sequence of Proteus mirabilis Phage pPM_01 Isolated from Raw Sewage. *Intervirology*. 59, (5-6) 243-253.