دراسة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة عن إسهال العجول

عاصم الباكير[1] ماهر صالح[2] أشرف الصالح[3]

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى عزل ودراسة انتشار عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية المعزولة عن اسهال العجول في البيئة.

حيث اجريت هذه الدراسة في مخابر كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2024/7/2 و 2024/12/23 ، وقد تم عينات روث عن طريق إجراء مسحات شرجية من 60عجل مصاب بالإسهال في محافظة حماة، كما تم اجراء عزل عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية من مصادر بيئة مختلفة وبواقع 60 عينة من كل من (ارضية الحظائر و المستنقعات والتربة القريبة من مواقع تربية الحيوانات).

أظهرت النتائج انتشار عاثيات جراثيم الاشريكية القولونية بنسبة 100% في أرضيات الحظائر وبنسبة 75% من المستنقعات وبنسبة 48.33 % في عينات التربة. كما أظهرت وجود جراثيم الأشريكية القولونية بنسبة 100% في أرضية حظائر الحيوانات وبنسبة 100% في المستنقعات التي تم أثبات وجود العاثي فيها وبنسبة 82.75% في التربة التي تم إثبات وجود العاثي فيها.كما تبين أن معظم البيئات التي تم إثبات وجود فيها عاثيات الإشريكية القولونية كانت ذات تفاعل قلوي حيث بلغت نسبة البيئات ذات التفاعل القلوي 80% في أرضية الحظائر و 60% في المستنقعات و 75.86% في التربة.

نستنتج من هذه الدراسة الأنتشار الواسع لعاثيات الإشريكية القولونية في البيئة إذ بلغ أعلى معدل انتشار في أرضية الحظائر يليه المستنقعات يليه التربة وأنتشار عاثيات الإشريكية القولونية بشكل أكبر في البيئات التي تحتوي العائل الجرثومي وأنتشار عاثيات الجراثيم في البيئات ذات التفاعل القلوي بشكل أكبر من البيئات ذات التفاعل الحمضي.

الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية، الإسهال، عاثيات الجراثيم، العجول

1) طالب دراسات عليا (دكتوراه) – قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

2) أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

3) مدرس في قسم الأحياء الدقيقة – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

A study on the prevalence of bacteriophages of Escherichia coli isolated from calf diarrhea

ASEEM AL-BAKER[1] MAHER SALEH[2] ASHRAF ALSALEH[3]

Abstract

This study aimed to isolate and investigate the prevalence of bacteriophages specific to Escherichia coli bacteria, which were isolated from calf diarrhea in the environment.

The study was conducted in the laboratories of the Faculty of Veterinary Medicine at Hama University during the period from July 2, 2024, to December 23, 2024. Fecal samples were collected by performing rectal swabs from 60 diarrheic calves in Hama province. Concurrently, bacteriophages targeting Escherichia coli were isolated from different environmental sources, with a total of 60 samples collected from each of the following: barn floors, swamps, and soil near animal rearing sites.

The results revealed the prevalence of Escherichia coli bacteriophages at a rate of 100% on barn floors, 75% in swamps, and 48.33% in soil samples. Furthermore, Escherichia coli bacteria were detected at a rate of 100% on barn floors, 100% in swamps where the phage was confirmed, and 82.75% in soil samples where the phage was confirmed. It was also demonstrated that most environments where Escherichia coli bacteriophages were detected had an alkaline reaction, with alkaline environments accounting for 80% of barn floors, 60% of swamps, and 75.86% of soil samples.We conclude from this study the widespread prevalence of Escherichia coli bacteriophages in the environment, with the highest frequency found on barn floors, followed by swamps, and then soil. The prevalence of Escherichia coli bacteriophages was higher in environments containing their bacterial host. Furthermore, the bacteriophages were more prevalent in alkaline environments than in acidic ones

Keywords: *Escherichia coli*, Diarrhea, Bacteriophages, calves

1) Postgraduate Student (P.H.D) – Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.
2) PHD in Public Health and Preventive Medicine – Department of Public Health and Preventive Medicine –College of Veterinary Medicine – University of Hama.
3) PHD in Microbiology –Department of microbiology – College of Veterinary Medicine –University of Hama

المقدمة:

تُعد إسـهال العجول حديثة الولادة أحد أهم الأمراض التي تصـيب العجول خلال الأسـابيع القليلة الأولى من عمرها (Abuelo et al.,2017)،أما الأنماط المرضـية الأكثر شـيوعاً لسـلالات الإشـريكية القولونية المرتبطة بإسـهال العجول حديثة الولادة فهي الإشـريكية القولونية المُفرزة للذيفان المعوي (ETEC) والإشـريكية القولونية الممرضـة المعوية(EPEC) ، والتي تشـير الدراسات إلى أنها مسؤولة عن معدلات مرضية ووفيات عالية (Mainil and Fairbrother, 2014).

تُعد الإشريكية القولونية مسبباً مرضياً مهماً أظهر مقاومة للمضادات الميكروبية (Abuelo et al.,2017). يمكن للعلاج بالمضادات الحيوية شائعة الاستخدام أن يساهم بشكل كبير في كبح المناعة لدى العجول، مما يزيد من قابليتها للعدوى. كما قد يزيد من مقاومة البكتيريا، مما يجعل القضاء الفعال على المسببات المرضية أكثر صعوبة (Umpiérrez et al., 2017). لذلك، بالإضـافة إلى العلاج بالمضـادات الحيوية التقليدية، ناقشـت العديد من الدراسـات طرقاً بديلة للعلاج باسـتخدام مواد طبيعية (O'Flaherty et al., 2009,; Urban-Chmiel et al.,2017).

يتم البحث عن طرق بديلة للقضـاء على مسـببات الأمراض، ويُعد علاج العجول المصـابة بالإسـهال باسـتخدام العاثيات بالاشـتراك مع البروبيوتيك التي تمتلك قدرة مضـادة للميكروبات أفضـل بديل للمضـادات الحيوية. وهذا يرجع إلى الفعل الكبير للعاثيات في تدمير بنية الغشـاء الحيوي البكتيري (Yu et al., 2019).

نظراً للسـلبيات العديدة المرتبطة باسـتخدام المضـادات الحيوية، اتخذ الاتحاد الأوروبي إجراءات حاسمة بحظر استخدامها كمحفزات للنمو وتقليل الاعتماد على أنواع معينة منها في قطاع الثروة الحيوانية(Millet et al., 2011) . وفي الصـين، تماشـياً مع خطة العمل الوطنية للحد من اسـتخدام المضـادات الحيوية البيطرية (2021–2025) التي أعلنتها وزارة الزراعة والشـؤون الريفية، تم تشديد الرقابة على استخدام هذه المضـادات. نتيجة لذلك، أصـبح اللجوء إلى الحلول

التقنية المبتكرة بديلاً متزايد الأهمية للتغلب على قيود المضادات الحيوية التقليدية. وقد شهدت السنوات الأخيرة دراسة عدد من العوامل المضادة للبكتيريا، مثل الببتيدات المضادة للميكروبات، والزيوت العطرية، والبروبيوتيك، والعاثيات (Jiang et al., 2021; Rinaldi et al., 2021).

تعد العاثيات فيروسات تتخصص في إصابة البكتيريا، تنتشر العاثيات (أو الفاجات) انتشاراً واسعاً في المحيط الحيوي، حيث يفوق عددها التقديري أعداد البكتيريا بعشرة أضعاف (Hatfull, 2008). يرتبط التوزيع البيئي للعاثيات ارتباطاً وثيقاً بوجود عوائلها البكتيرية المحددة (Zhan et al., 2015). على هذا الأساس، تُستخدم عاثيات محددة، مثل العاثيات القولونية، كأدوات حيوية لتتبع مصادر التلوث البرازي في المسطحات المائية المحيطة بالمناطق الزراعية المكثفة (Ravva et al., 2015).

في سياق آخر، أظهرت الدراسات انتشار العاثيات المتخصصة في تحلل الإشريكية القولونية O157:H7في قطعان الماشية، حيث سُجل معدل انتشار لها يقارب 20% في الحيوانات ذات الإفراز المنخفض، أي ضعف المعدل المسجل في الحيوانات ذات الإفراز الفائق، مما يشير إلى دور تكاملي محتمل للعاثيات في تثبيط سلالات الإشريكية القولونية O157:H7 (Hallewell et al., 2014).ونظراً للتخصص العائلي الضيق للعاثيات، تم عزل سلالات جديدة منها قادرة على تحلل مجموعات مصلية مختلفة من الإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيجا(STEC) ، مع تركيز الجهود البحثية على الحيوانات المجترة والبيئات المرتبطة بها، كحظائر التسمين(Wang et al., 2015,; Bumunang et al., 2019)

ونظراً لدور العاثيات التي تصيب البكتيريا المعوية كـ STEC كعناصر أساسية في ميكروبيوم أمعاء المجترات(Handley et al., 2012) ، فقد حظيت دراسة انتشارها في البيئات قليلة التلوث ببراز المجترات، مثل مزارع المحاصيل الزراعية، باهتمام أقل. في دراسة سابقة، تم جمع

عينات مياه سطحية من مواقع متعددة ضمن منطقة زراعية في وادي ساليناس بكاليفورنيا، وتم رصد انتشار العاثيات المحللة للمجموعات المصلية الأساسية لـ STEC مثل O45 و O145 و O157 وقد كشفت النتائج أن عوامل بيئية، مثل النشاط البشري ومستويات هطول الأمطار، أسهمت في ارتفاع معدلات انتشار العاثيات المتحللة لسلالات STEC المختلفة. أدى وجود هذه العاثيات إلى فشل في عزل العوائل البكتيرية المقابلة لـــ STEC من المواقع نفسها؛ ومع ذلك، لم يتم تحديد المصدر الأساسي لهذه العاثيات(Liao et al., 2018) .

الهدف من هذه الدراسة:

1) دراسة انتشار عاثيات جراثيم الأشريكية القولونية في مصادر بيئية مختلفة.
2) تأثير بعض خواص البيئة على وجود عاثيات الإشـــريكية القولونية (وجود جراثيم الإشريكية القولونية، حموضة البيئة)

المواد وطرائق العمل:

جمعت العينات لإجراء الدراســـة من مناطق مختلفة في محافظة حماة في الفترة ما بين 2024/7/2 إلى 2024/12/23 وبواقع 60 عينة على شكل مسحات من عجول مصابة بالإسهال تتراوح أعمارها من 1يوم إلى 6 أشهر ووضعت الماسحات في الإنبوب الخاص حيث يحتوي على ماء الببتون ثم تم نقل العينات إلى المختبر في نفس اليوم لإجراء الاختبارات.

العزل الجرثومي: زرعت العينات على وسط ماكونكي (HiMedia®) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة ثم اختيرت مستعمرات مخمرة للاكتوز وزرعت على وسط EMB (HiMedia®) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وأختيرت المستعمرات الخضراء ذات اللمعة المعدنية المسودة (Gibbons et al.,2014). وتم اجراء صبغة غرام و

الأختبارات الكيمياحيوية باستخدام (Hi25™ Enterobacteriaceae Identification Kit KB003). كما عزلت جراثيم الإشريكية القولونية من البيئة المختبرة.

عزل عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية: تم جمع 60 عينة لعزل فيروسات العاثيات الجرثومية من مصادر بيئية مختلفة (مستنقعات، أرضية الحظائر، تربة قريبة من مواقع تربية الحيوانات) ونقلت الى المختبر إذ تم مزج العينات الصلبة ب 100 مل من ماء الببتون ورشح المزيج باستخدام ورق ترشيح ثم تم إجراء طرد مركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة من أجل التعجيل في تجميع الأجزاء الكبيرة ومن ثم التخلص منها، ثم أخذ الرائق ويرشح بواسطة مرشحات جرثومية ذات مسام بحجم 0.8 ميكروميتر ، 0.45 ميكروميتر ، 0.22 ميكروميتر على التوالي (Beaudoin et al.,2007).

تم تنمية جراثيم الأشريكية القولونية المعزولة من حالات إسهال العجول على المرق المغذي (Nutrient Broth) وتم تحضين الأنابيب عند درجة حرارة 37 مْ في حاضنة مظلمة، وتم استخدام هذه الجراثيم كوسط غذائي مضيف لتكاثر الفيروسات ومن أجل عزل العاثيات الجرثومية (Alexyuk et al., 2022).

تم استخدام طريقة تقنية الآغار المزدوج لعزل عاثيات الجراثيم إذ تم تحضير اطباق من الآغار المغذي المضاف له نترات الكالسيوم كطبقة رقيقة أولى في اطباق بيتري عقيمة، ثم تم خلط 300 ميكرون من عينات رائق العاثيات و300 ميكرون من جراثيم الاشريكية القولونية كل على حدى، وتحفظ لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 37م مع التحريك المستمر، ثم أضيفت الى 3مل من الآغار ويصب كطبقة علوية فوق طبقة الآغار السفلي ويترك حتى التصلب ثم حضّن بدرجة حرارة 37 م لمدة 48 ساعة وعند انتهاء فترة الحضن تم ملاحظة مناطق تثبيط للنمو لويحات التحلل (Lytic zone or plaques) دلالة على وجود العاثي الجرثومي (Pallavali *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2009, Kobayashi and Palumbo, 2000).

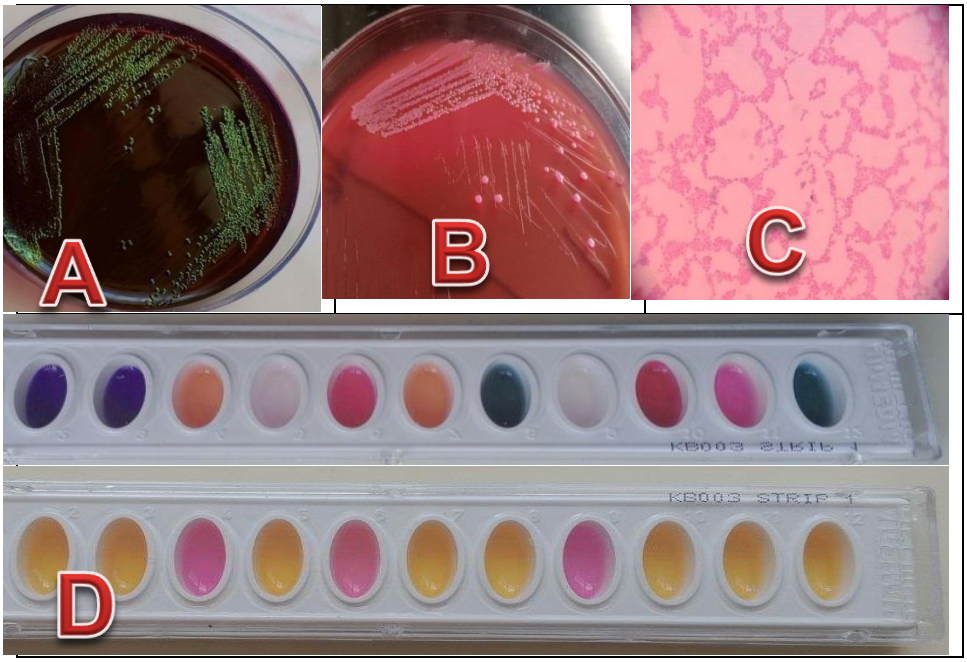
كما تم قياس درجة pH البيئة المدروسة باستخدام جهاز pHmeter.

التحليل الإحصائي:

تم اســـتخدام برنامج مايكروســـوفت اكســـل 2019 وبرنامج (vs,8.2.1) padgraph prism لمعالجة البيانات وتشكيل المخططات.

النتائج والمناقشة:

تم عزل جراثيم الإشـــريكية القولونية من عجول مصـــابة بالإســـهال وكانت نتائج الاختبارات الكيمياحيوية في الجدول (1). صورة (1).



صورة رقم (1):

A): الأشريكية القولونية على وسط EMB B): الأشريكية القولونية على وسط ماكونكي

C): الأشريكية القولونية بصبغة غرام D): الأختبارات الكيمياحيوية للإشريكية القولونية.

الجدول رقم (1): نتائج الاختبارات الكيمياحيوية للإشريكية القولونية المعزولة عن اسهال العجول

ONPG	Lysine utilization	Ornithine utilization	Urease	Phenylalanine Deamination	Nitrate reduction	H_2S production	Citrate utilization	Voges-Proskauer	Methyl red	Indole	Malonate utilization	Oxidase
+	+	+	+	−	+	−	−	−	+	+	−	
Escuin hydrolysis	Arabinose	Xylose	Adonitol	Rhamnose	Cellobiose	Melibiose	Saccharose	Raffinose	Trehalose	Glucose	Lactose	
−	+	+	−	+	−	+	d	d	+	+	+	−

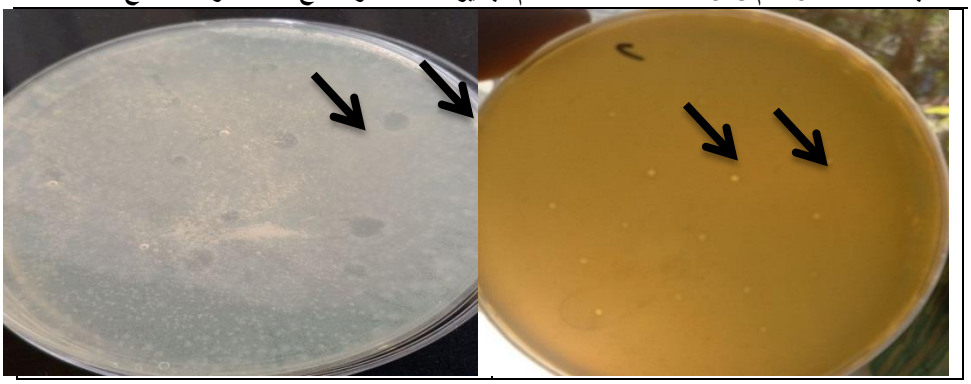
تنتشر جراثيم الإشريكية القولونية بشكل وبائي في حظائر تربية الأبقار، خاصة في الظروف التي لا تراعي أســـس الرعاية الصـــحية والوقائية. تبدأ المشـــكلة مع تلوث البيئة المحيطة بالعجول (كالفراش، والأعلاف، وأدوات الشـــرب) ببراز حيوانات حاملة للمرض، أو من الأمهات نفســـها. تنتقل الجرثومة إلى العجل حديث الولادة – الذي يعاني من جهاز مناعي غير مكتمل – عن طريق الفم أثناء الرضـاعة أو من خلال التعامل المباشـر مع الأسـطح الملوثة (Divers and peek,2018).

كما يظهر الجدول رقم (2) نتائج انتشـار نسـبة تواجد عاثيات الإشـريكية القولونية في البيئة حيث بلغت نسـبة انتشـار عاثيات جراثيم الإشـريكية القولونية في أرضـية حظائر الأبقار 100% بينما بلغت نسبتها في المستنقعات 75% أما في التربية فقد بلغت نسبتها 48.33% صورة رقم (2).

تحظى عاثيات الإشـريكية القولونية (Coliphages) بانتشـار واسـع ومثير للاهتمام في بيئات متنوعة، بما في ذلك أرضـية الحظائر، والمسـتنقعات، والتربة الزراعية. يعكس هذا الانتشـار الواسـع وجود مضـيفه الجرثومي بكثافة في هذه البيئات، حيث تفرز الإشـريكية القولونية بكميات كبيرة من خلال براز الحيوانات والإنسـان، مما يخلق خزانات طبيعية غنية بالعاثيات التي تتطور وتتكاثر فيها (Sulakvelidze et al., 2001). وبمقارنة نتائج هذه الدراسـة مع الدراسـات السـابقة نجد أنها متقاربة مع ما وجده (Niu et al.,2009) في أرضـية الحظائر حيث بلغت نسـبة عزل عاثيات الإشـريكية القولونية 94% ، وفي دراسـة (Kouadio et al.,2022) فقد تم عزل عاثيات الإشـريكية القولونية من مياه الصـرف الصـحي بنسـبة بلغت 90% كما وجد (Martak et al., 2020) أن 80 % من المستنقعات تحتوي على عاثيات الإشريكية القولونية، في حين وجد (Saeed et al., 2019) أن نسـبة انتشـار عاثيات الأشـريكية القولونية في تربة مزارع الفروج بلغت 58.3% أما في تربة مزارع البياض فقد بلغت 66.6%.

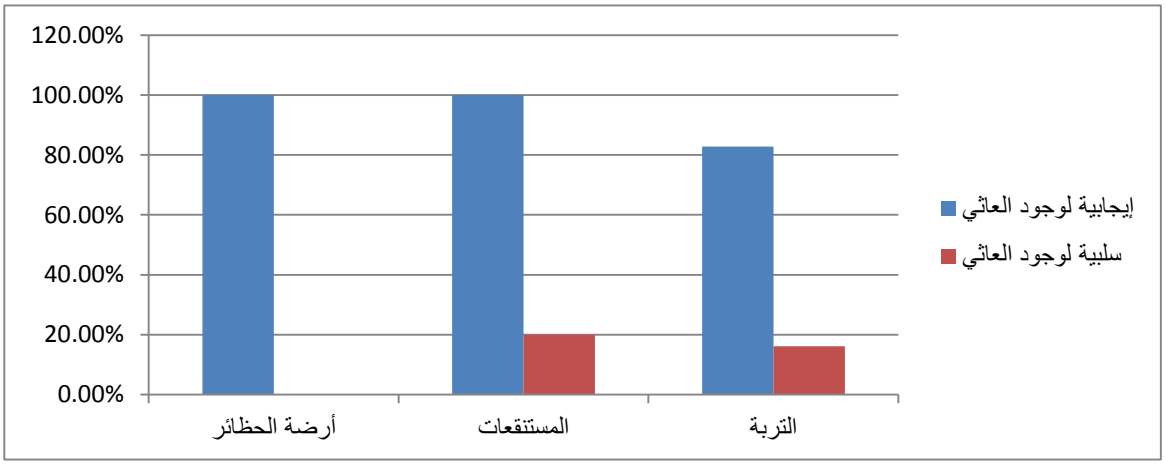
الجدول رقم (2): نسبة انتشار عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة

	أرضية الحظائر	المستنقعات	التربة
النسبة المئوية %	100	75	48.33



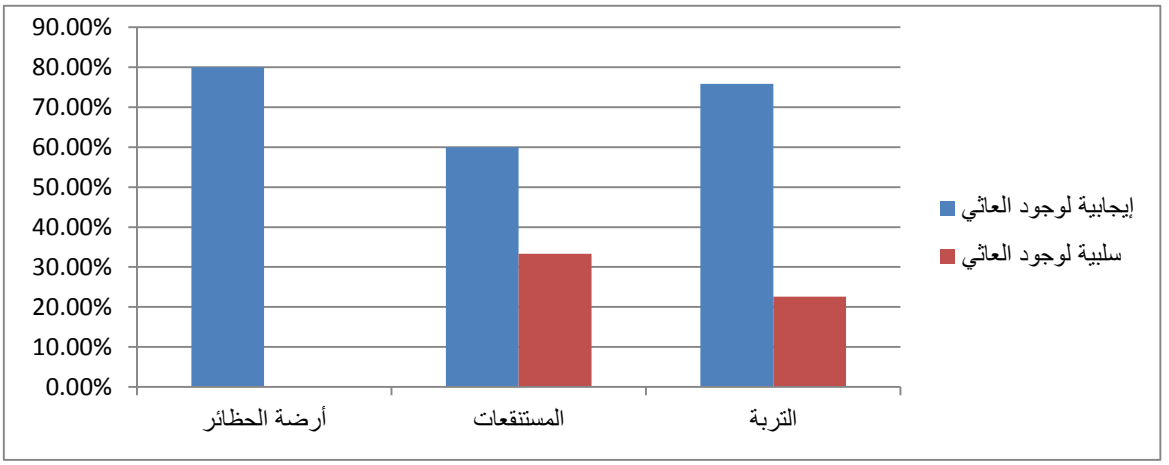
صورة رقم (2): تشير الأسهم إلى اللويحات على أطباق الآغار حيث مكان تواجد العاثيات

وبالكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة المدروسة تم الكشف عن وجودها بنسبة 100% في أرضية الحظائر و بنسبة 100% في المستنقعات التي تم إثبات وجود العاثي فيها، في حين تواجدت بنسبة 20% في المستنقعات التي لم يتم اثبات وجود العاثي فيها، كما أظهرت النتائج عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية بنسبة 82.75% في التربة التي تم إثبات وجود العاثي فيها، في حين تواجدت بنسبة 16.12% في التربة التي لم يتم إثبات وجود العاثي فيها مخطط رقم (1).



مخطط رقم 1: يشير إلى نتائج الكشف عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية في البيئة المدروسة

كما يظهر المخطط رقم (2) نسـبة البيئات التي أظهرت تفاعلاً قلوياً حيث وبدراسـة pH البيئة المدروسة تبين أن معظم البيئات التي تم إثبات وجود فيها عاثيات الإشريكية القولونية كانت ذات تفاعل قلوي حيث بلغت نسـبة البيئات ذات التفاعل القلوي 80% في أرضـية الحظائر و 60% في المستنقعات و 75.86% في التربة.



المخطط رقم (2) نسبة البيئات التي أظهرت تفاعلاً قلوياً

تُعد الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) من البكتيريا السائدة في أرضيات حظائر الحيوانات، ويرجع ذلك أساسًا إلى التلوث المستمر بفضلاتها، يشكل هذا التلوث بيئة مثالية لتكاثر العاثي وانتشاره (McMinn et al., 2020) ومع ذلك، فإن ديناميكية تفاعل العاثي مع العائل البكتيري في مثل هذه البيئات تتأثر بشدة بالظروف البيئية المحيطة.كما تلعب قلوية الوسط دورًا محوريًا في تعديل استقرار العاثي ونشاطه. أظهرت الدراسات أن العديد من العاثيات تظهر ثباتًا ملحوظًا في نطاق الأس الهيدروجيني القلوي. حيث وجد (Zhou et al., 2023) أن العاثيات القولونية احتفظت بقدرتها المعدية في ظل ظروف قلوية (بـــ pH يصل إلى 9) لفترات طويلة، مما يدل على قدرتها على البقاء في بيئات مثل التربة المسمدة أو الأسطح المُنَظَّفة بمواد قلوية. يُعزى هذا الثبات إلى الطبيعة الهيكلية القوية للقفيصة الفيروسية، والتي توفر حماية للحمض النووي من التحلل القلوي.

بالمقابل، يمكن أن يؤثر الرقم الهيدروجيني بشكل غير مباشر على فعالية العاثي من خلال تأثيره على حالة العائل البكتيري نفسه. حيث يمكن لظروف القلوية أن تعدل من التعبير عن مستقبلات البكتيريا التي يرتبط بها العاثي، مما قد يقلل من كفاءة عملية العدوى (Khan et al., 2021) علاوة على ذلك، فإن ديناميكية العاثي في التربة الزراعية تتأثر بعوامل معقدة أخرى مثل استخدام مياه الري الملوثة أو الأسمدة العضوية (مثل السماد الطبيعي)، وخصائص التربة (الرطوبة، المحتوى العضوي)، والتي تتفاعل بدورها مع درجة الحموضة لتُشَكِّل المحصلة النهائية لاستقرار الفيروس وقدرته على إصابة مضيفه البكتيري (Syngouna et al., 2013) .

الاستنتاجات:

1) الأنتشار الواسع لعاثيات الإشريكية القولونية في البيئة إذ بلغ أعلى معدل انتشار في أرضية الحظائر يليه المستنقعات يليه التربة.
2) أنتشار عاثيات الإشريكية القولونية بشكل أكبر في البيئات التي تحتوي العائل الجرثومي
3) أنتشار عاثيات الجراثيم في البيئات ذات التفاعل القلوي بشكل أكبر من البيئات ذات التفاعل الحمضي.

التوصيات:

1) دراسة عوامل الخطورة المرافقة لإسهال العجول
2) دراسة الظروف الفيزيائية والكيميائية في البيئة المعزول منها العاثيات.
3) دراسة امكانية استخدام العاثيات في علاج حالات الإسهال عند العجول

المراجع:

1. Abuelo, A. (2017) Investigation of an outbreak of neonatalcalf diarrhea in a dairy herd. Vet. Rec. Case Rep. 4, e000372.
2. Alexyuk, P., Bogoyavlenskiy, A., Alexyuk, M., Akanova, K., Moldakhanov, Y., & Berezin, V. (2022). Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages Active against Clinical Strains of E. coli and Development of a Phage Antimicrobial Cocktail. Viruses, 14 (11), 2381.
3. Beaudoin, R. ; DeCesaro, D. ; Durkee, D. and Barbaro, S. 2007. Isolation of a Bacteriophage From Sewage Sludge and characterization of its bacterial host cell. Rivier Academic Journal, 3(1),1-8.
4. Bumunang, E. W., McAllister, T. A., Stanford, K., Anany, H., Niu, Y. D., & Ateba, C. N. (2019). Characterization of Non-O157 STEC Infecting Bacteriophages Isolated from Cattle Faeces in North-West South Africa. Microorganisms, 7(12), pii: E615.
5. Divers, T. J., & Peek, S. F. (Eds.). (2018). *Diseases of dairy cattle* (3rd ed.). Elsevier.
6. Hallewell, J., Niu, Y. D., Munns, K., McAllister, T. A., Johnson, R. P., Ackermann, H. W., Stanford, K. (2014). Differing populations of endemic bacteriophages in cattle shedding high and low numbers of Escherichia coli O157:H7 bacteria in feces. Applied and Environmental Microbiology, 80(13), 3819-3825.

7. Handley, S. A., Thackray, L. B., Zhao, G., Presti, R., Miller, A. D., Droit, L. Virgin, H. W.(2012). Pathogenic simian immunodeficiency virus infection is associated with expansion of the enteric virome. Cell, 151(2), 253-266.
8. Hatfull, G. F. (2008). Bacteriophage genomics. Current Opinion in Microbiology, 11(5), 447- 453.
9. Jiang, Z., Li, W., Su, W., Wen, C., Gong, T., Zhang, Y., et al. (2021). Protective effects of bacillus amyloliquefaciens 40 against clostridium perfringens infection in mice. *Front. Nutr.* 8:733591.
10. Khan, M. A., Sathali, A. A. H., & Sabir, J. S. M. (2021). Bacterial surface receptor modulation by environmental pH and its impact on phage infectivity. Environmental Microbiology Reports, 13(4), 45–58.
11. Kobayashi, D.Y., and Palumbo, J.D. (2000).Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture. In ' Microbial Endophytes'. (Eds CW Bacon, JF White).Marcel Dekker, Inc., New York, USA .
12. Kouadio, K. K., Konan, K. M., Ouattara, D., & Traoré, O. (2022). Isolation and characterization of bacteriophages infecting Escherichia coli strains from sewage and lagoon waters in Côte d'Ivoire. Virology Journal, 19 (1), 77.
13. Liao, Y.-T., Liu, F., & Wu, V. C. H. (2018). Complete Genome Sequence of Escherichia Phage vB_EcoM-Pr121LW, Isolated from Soil in an Organic Farm. Microbiology ResourceAnnouncements, 7(20), e01236-01218.

14. Mainil, J. G., and Fairbrother, J. (2014) Pathogenic Escherichia coli in domestic mammals and birds. In Pathogenic Escherichia coli. Molecular and Cellular Microbiology, 1st ed. (Morabito, S., Ed.), pp 19– 44, Caister Academic Press, Norfolk.
15. Martak, D., Duperron, S., Boussekey, M., Le Bris, N., & Jacquet, S. (2020). High prevalence of human-associated Escherichia coli in low-anthropized wetlands: Sources and implications. Frontiers in Microbiology, 11, 552566.
16. McMinn, B. R., Korajkic, A., & Ashbolt, N. J. (2020). Bacteriophages as indicators of faecal pollution and viral water quality. In *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy* (pp. 1–39). Springer, Cham.
17. Millet, S., and Maertens, L. (2011). The european ban on antibiotic growth promoters in animal feed: from challenges to opportunities. *Vet. J.* 187, 143–144.
18. Niu, Y. D., Stanford, K., Kropinski, A. M., Ackermann, H. W., Johnson, R. P., She, Y. M., & McAllister, T. A. (2009). Prevalence and impact of bacteriophages on the presence of Escherichia coli O157:H7 in feedlot cattle and their environment. Applied and Environmental Microbiology, 75 (5), 1271–1278.
19. O'Flaherty, S., Ross, R. P., and Coffey, A. (2009) Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 33, 801–819.
20. Pallavali, R.R.; Degati, V.L.; Lomada, D.;Reddy, M.C. and Durbaka, V.R. P. (2017). Isolation and in vitro evaluation of

bacteriophages against MDRbacterial isolates from septic wound infections. PloS one., 12(7), 1-16.

21. Ravva, S. V., Sarreal, C. Z., & Cooley, M. B. (2015). Male-specific coliphages for source tracking fecal contamination in surface waters and prevalence of Shiga-toxigenic Escherichia coli in a major produce production region of the Central Coast of California. Environmental Science. Processes & Impacts, 17(7), 1249-1256.
22. Rinaldi, F., Maurizi, L., Conte, A. L., Marazzato, M., Maccelli, A., Crestoni, M. E., et al. (2021). Nanoemulsions of satureja Montana essential oil: antimicrobial and antibiofilm activity against avian escherichia coli strains. *Pharmaceutics.* 13. doi: 10.3390/pharmaceutics13020134
23. Saeed, F., Iqbal, M., & Riaz, M. (2019). Occurrence of bacteriophages against Escherichia coli in poultry farm soils. Journal of Animal and Plant Sciences, 29 (6), 1692-1699.
24. Santos, S.B.; Carvalho, C. M.; Sillankorva, S.; Nicolau, A.; Ferreira, E. C.; and Azeredo, J.(2009). The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. BMC microbiology, 9(1), 1-10.
25. Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 649-659.

26. Syngouna, V. I., & Chrysikopoulos, C. V. (2013). Cotransport of viruses and clay particles in saturated porous media. *Water Research*, 47(14), 4992-5000.

27. Umpiérrez, A., Bado, I., Oliver, M., Acquistapace, S., Etcheverría، A., Padola, N. L., Vignoli, R., and Zunino, P. (2017) Zoonotic Potential and Antibiotic Resistance of Escherichia coli in Neonatal Calves in Uruguay. Microb. Environ. 32, 275–282.

28. Urban-Chmiel, R., Puchalski, A., Dec, M., Nowaczek, A., and Wernicki, A. (2017) Alternatywne metody zwalczania biegunek u cieląt w pierwszych tygodniach życia. Weterynaria w Terenie 2, 22–40.

29. Wang, J., Niu, Y. D., Chen, J., Anany, H., Ackermann, H. W., Johnson, R. P., McAllister, T.A. (2015). Feces of feedlot cattle contain a diversity of bacteriophages that lyse non- O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli. Canadian Journal of Microbiology, 61(7),467-475.

30. Yu, P., Wang, Z., Marcos-Hernandez, M., Zuo, P., Zhang, D.، Powell, C., Pan, A. Y., Villagrán, D., Wong, M. S., and Alvarez, P. J. J. (2019).Bottom-up biofilm eradication using bacteriophage-loaded magnetic nanocomposites: a computational and experimental study. Environ. Sci.: Nano 6, 3539–3550.

31. Zhan, Y., Buchan, A., & Chen, F. (2015). Novel N4 Bacteriophages Prevail in the Cold Biosphere. Applied and Environmental Microbiology, 81(15), 5196-5202.

32. Zhou, Y., Zhou, X., & Wang, Z. (2023). Persistence of F-specific coliphages in alkaline environments: Implications for environmental tracking and risk assessment. *Science of The Total Environment, 858*(Part 2), 159987