تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية على سلامة عاثيات الإشريكية القولونية

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

(الإيداع: 17 كانون الأول 2025، القبول: 26 كانون 2026)

الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم قدرة عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية على الإحتفاظ بفاعليتها في تحلل جراثيم الإشريكية القولونية بعد حفظها بالتبريد والتجميد و بعد إجهادها بالتسخين والتعرض للأشعة فوق البنفسجية وتعريضها لدرجات حموضة مختلفة، حيث أجريت هذه الدراسة في مخبر الأحياء الدقيقة كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة بين 2025/2/5 و 1 /9/ 2025. حيث تم عزل عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية النزفية المعوية من أرضية حظائر الأبقار وتم حفظها بالتبريد بدرجة حرارة 4 مْ لمدة (7أيام، 1 شهر، 3 أشهر، 6 أشهر) وحفظها بالتجميد لمدة (1 شهر، 3 شهر، 6 أشهر) كما عرضت العاثيات لإجهاد حراري بالتسخين بدرجات حرارة مختلفة (45، 55، 65، 100)مْ وعرضت للأشعة فوق البنفسجية لمدة (30 ثا، 1 دقيقة، 1.5 دقيقة، 2 دقيقة) كما عرضت لدرجات pH (3، 5، 7، 8، 10) وحسب تعداد عاثيات الجراثيم ومدى ثباتيتها.

حيث أظهرت النتائج ثبات معيار عاثيات الإشريكية القولونية بالتبريد بدرجة حرارة 4 مْ لمدة تصل إلى 6 أشهر في حين أظهر معيار العاثيات بعد الحفظ بالتجميد ثبات لمدة 3 أشهر وانخفض بشكل معنوي عند 6 أشهر، وقد أظهر تقييم تعريض العاثيات للأجهاد الحراري بالتسخين ثبات معيارها عند درجة حرارة 45مْ وانخفض بدرجة حرارة 55مْ وتم تعطيل العاثيات بشكل كامل عند درجة حرارة 100مْ لمدة 5 دقائق، وتفاوت تأثير تعريض عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية لأشعة UV لفترات مختلفة حيث انخفض أعداد عاثيات الإشريكية القولونية بازدياد فترة التعرض وتم تعطيل العاثيات بعد دقيقتين من تعرضها لأشعة UV، وأشارت نتائج تقييم حساسية عاثيات الإشريكية القولونية للتغير في قيم pH إلى انخفاضاً ملحوظاً في الظروف الحامضية والقلوية المتطرفة وأبدت ثباتاً في درجة الحموضة المتراوحة بين (5 – 7).

يستنتج من هذه الدراسة أن أفضل طريقة لحفظ العاثيات هي التبريد بدرجة حرارة 4 مْ وأن الإجهاد الحراري بالتسخين بدرجات حرارة أعلى من 45مْ يؤثر على فعاليتها، كما أن عاثيات الجراثيم تتعطل بالتعرض لأشعة UV و بدرجات الحموضة الحامضية والقلوية المتطرفة.

الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية، عاثيات، الحرارة، درجة pH

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

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

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

The Impact of Physical and Chemical Factors on the Safety of Escherichia coli Bacteriophages

ASEEM ALBAKER[1] MAHER SALEH[1] ASHRAF ALSALEH[2]

(Received:17 December 2025, Accepted: 26 January 2026)

Abstract:

This study aimed to evaluate the ability of Escherichia coli bacteriophages to retain their efficacy in lysing E. coli bacteria after refrigeration and freezing storage, and after being subjected to thermal stress by heating, exposure to ultraviolet (UV) radiation, and exposure to different pH levels. The study was conducted in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine at Hama University between February 5, 2025, and September 1, 2025. Intestinal hemorrhagic E. coli bacteriophages were isolated from cattle barn floors. They were preserved by refrigeration at 4°C for periods of (7 days, 1 month, 3 months, 6 months) and by freezing for (1 month, 3 months, 6 months). The phages were also subjected to thermal stress by heating at different temperatures (45°C, 55°C, 65°C, 100°C) and exposed to UV radiation for (30 seconds, 1 minute, 1.5 minutes, 2 minutes). Furthermore, they were exposed to pH levels of (3, 5, 7, 8, 10). Bacteriophage titer and stability were assessed accordingly.

The results demonstrated the stability of the E. coli bacteriophage titer when refrigerated at 4°C for up to 6 months. In contrast, the phage titer after frozen storage remained stable for 3 months but decreased significantly at 6 months. Evaluation of thermal stress by heating showed phage titer stability at 45°C, a decrease at 55°C, and complete inactivation of the phages at 100°C for 5 minutes. The effect of exposing E. coli bacteriophages to UV radiation for varying periods differed; the number of E. coli phages decreased with increasing exposure time, and the phages were inactivated after two minutes of UV exposure. The results of assessing the sensitivity of E. coli phages to changes in pH values indicated a notable decline under extreme acidic and alkaline conditions, while stability was maintained within a pH range of 5 to 7.It is concluded from this study that the optimal method for preserving the phages is refrigeration at 4°C, and that thermal stress by heating at temperatures above 45°C affects their efficacy. Furthermore, the bacteriophages are inactivated by exposure to UV radiation and by extreme acidic and alkaline pH levels.

Keywords: ***Escherichia coli***, bacteriophages, temperature, pH.

1Department of Public Health and Preventive Medicine -College of Veterinary Medicine - University of Hama- Hama- Syria

2Department of microbiology - College of Veterinary Medicine -University of Hama- Hama-Syria

1) المقدمة:

تُعد الإشريكية القولونية في معظم الدول النامية سبباً لحوالي ثلث حالات الإسهال بين الأطفال(Gomez–Duarte *et al.,* 2013) ، وترتبط الإشريكية القولونية أيضاً بالإسهال في الحيوانات والطيور المستأنسة وأحد أهم العوامل المسببة للإسهال في العجول، مما يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة في قطاع تربية الأبقار حيث وتمتلك الإشريكية القولونية طيفاً أوسع من الأمراض مقارنة بأي نوع بكتيري آخر (Kaper *et al.,* 2004)، ومع تزايد مشكلة مقاومة المضادات الحيوية، تبرز الحاجة إلى بدائل علاجية فعالة وآمنة. وفي هذا السياق، تستقطب العلاج بالعاثيات (Phage Therapy) اهتماماً متزايداً كاستراتيجية واعدة لمكافحة الالتهابات البكتيرية، نظراً لفعاليتها النوعية وقلة آثارها الجانبية وقابليتها للتطور لمجابهة المقاومة البكتيرية (Ackermann, 2007).

العاثيات، أو الفاجات، هي فيروسات تصيب البكتيريا بشكل خاص، وقد استخدمها Félix d'Hérelle لأول مرة في أوائل القرن العشرين لعلاج الأطفال المصابين بالزحار البكتيري، سبقت هذه النجاحات الأولية فترة من الاهتمام الكبير بالعلاج بالعاثيات في فرنسا وحول العالم (Abedon *et al.,* 2011).

هناك خلفية تاريخية جيدة للنظر في العلاج بالعاثيات كوسيلة لعلاج عدوى الإشريكية القولونية، ولا تُعد فكرة العلاج بالعاثيات فكرة حديثة، إذ استُخدمت العاثيات كعوامل مضادة للميكروبات لمدة قرن تقريبا(Monk *et al.,* 2010)، ففي عام 1921، دُعم استخدام العاثيات كعلاج للإسهال الجرثومي(Summers, 2001)، وقد أنتجت شركات الأدوية العديد من العلاجات القائمة على العاثيات (Housby and Mann, 2009) وخلال الحرب العالمية الثانية، استخدمت الجيوش العاثيات لمكافحة الديسنتاريا، كما أن هناك تقارير بحثية حول استخدام ناجح بالعاثيات ضد الإشريكية القولونية في الطب البيطري(Brussow, 2005) ، من المهم للغاية الإشارة إلى أن العاثيات باتت أداة حيوية لفهم علم الأحياء الجزيئي، إلى جانب كونها عوامل علاجية محتملة لمكافحة العدوى البكتيرية. ومن الجوانب الهامة الأخرى التي دفعت لدراسة العاثيات في هذا البحث، هو وجودها بكثرة في المحيط الحيوي. وامكانية استخدامها كعلاج ضد الجراثيم (Ackermann, 2007).

من الضروري فهم سلوك العاثيات واستقرارها تحت ظروف التخزين والمعالجة المختلفة. حيث تلعب الظروف الفيزيائية دوراً حاسماً في الحفاظ على حيويتها وفعاليتها، حيث تعتبر درجة الحرارة من العوامل الحرجة التي تحدد النشاط الأيضي للعاثية، قدرتها على الالتصاق بالخلية البكتيرية، ودورة حياتها (التكاثر والتحلل) (Jończyk *et al.*,2011) ولذلك فإن التعرّض لدرجات حرارة مرتفعة قد يؤدي إلى تلف البروتينات البنيوية مثل القفيصة وفقدان الحمض النووي للعاثية ، مما يسبب تعطيلها الدائم. ومن ناحية أخرى، فإن درجات الحرارة المنخفضة تبطئ النشاط الأيضي وقد تؤخر دورة التحلل دون أن تعطل العاثية بالضرورة ،(Łobocka *et al.,* 2021) و يعد التخزين بالتبريد عند 4مْ أو التجميد من الوسائل الشائعة لحفظ العاثيات. ومع ذلك، يمكن أن تسبب هذه العمليات إجهاداً للعاثية أثناء عملية التجميد البطيء، قد يؤدي تكون بلورات الجليد إلى إلحاق ضرر ميكانيكي بالقفيصة الفيروسية. كما أن لزيادة تركيز الأملاح والمواد المذابة في الوسط المحيط أثناء التبلور تأثير على ثبات العاثية .وتعتمد درجة التحمل على نوع العاثية وتركيبها الجزيئي (Müller–Merbach *et al.,* 2005).

وتعد العاثيات بروتينات بنيوية، وبالتالي فهي عرضة لعوامل إفساد الطبيعة البروتينية، والتي تشمل التعرض للمذيبات العضوية ودرجات الحرارة المرتفعة ودرجة الحموضة والقوة الأيونية وتأثيرات التداخل (Malik *et al.,* 2017). وقد تم تطبيق حفظ العاثيات الجرثومية في درجات حرارة منخفضة للحفاظ عليها لفترات طويلة على نطاق واسع (Ackermann *et al.,* 2004). وأظهرت دراسة (Novik *et al.,* 2009) أن التبريد باستخدام 10% جليسرول و5% ثنائي ميثيل سلفوكسيد مع معدل تجميد عالٍ يضمن بقاءً عالياً وقدرة تحللية للعاثية ضد بكتيريا الزائفة. بالإضافة إلى ذلك، وجدت (Bonilla *et al.,* 2016) أيضاً أن المحلول المنظم SM Suspension Medium buffer فعال للغاية في حفظ العاثية T4، حيث يمكن تخزين العاثيات بسهولة عند 4°م في هذا المحلول المنظم مع الحفاظ على فعاليتها لمدة 96 يوماً. وأظهرت دراسة (Golec *et al .,* 2016) أن حفظ العاثية الذيلية في شكل DNA داخل الخلايا المصابة حديثاً كان أسلوباً أكثر موثوقية لتخزين العاثية مقارنة بالحفاظ على العاثيات الناضجة. علاوة على ذلك، وفقاً لدراسة (Alvi *et al .,* 2018)، كانت درجة حرارة 4°م هي الدرجة المثلى لحفظ العاثيات. وأظهرت الدراسات أن كل نوع من العاثيات لها ظروف تخزين مختلفة. وقد ذكر (Ackermann *et al .,* 2004) أنه لا توجد طريقة ثابتة لحفظ العاثيات بسبب

الاختلافات في حساسية كل عاثية على حدة تجاه الظروف الفيزيائية والبيئية للتخزين. وبالتالي، فإن اتباع نهج خاص بكل عاثية أو استخدام أساليب حفظ متعددة من المتوقع أن يضمن استعادة العاثية لاحقاً. وقد يكون الجمع بين بيئة التخزين ودرجة الحرارة المستخدمة لحفظ العاثيات مفيداً.

2) **اهداف الدراسة:**

1- دراسة أمكانية تخزين عاثيات جراثيم الأشريكية القولونية

2- دراسة تأثير تعرض عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية لدرجات حرارة مختلفة.

3- دراسة تأثير تعرض عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية للأشعة فوق البنفسجية.

4- دراسة تأثير درجات الحموضة المختلفة على سلامة عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية .

3) مواد وطرق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري التابعة لجامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2025/2/5 و 1 /9/ 2025.

3-1) جراثيم الإشريكية القولونية:

استخدم في هذه التجربة جراثيم الإشريكية القولونية النزفية المعوية (EHEC) معزولة من حالات إسهال العجول مشخصة باستخدام تقنية الـ PCR وتحمل جينات الضراوة (Stx_1, eae) كثوي مضيف للعاثيات (Albaker *et al.,* 2025).

3-2) عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية :

تم تجهيز قوارير زجاجية سعة 250 مل تحتوي على 100 مل من وسط المرق المغذي المدعم بكلوريد الكالسيوم 0.5% وتم تعقيمها باستخدام الموصدة حيث إن إيونات الكالسيوم (Ca++) تزيد من التصاق العاثيات بالخلايا الجرثومية مما يقلل عدد العاثيات الحرة كما يزيد من نفاذية غشاء الخلية الجرثومية مما يسهل عملية حقن الـDNA (Bonhivers and Letellier.,1995) .

تم أخذ 1 مل عالق جراثيم (الأشريكية القولونية) في طور نموها اللوغاريتمي (18 ساعة) وخلطت مع 25 مل من عينات العاثي ، وتم تحضينها بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة مع التحريك المستمر للقوارير وبعد انتهاء التحضين تم تثفيلها بسرعة 12000 دورة بالدقيقة لمدة 10 دقائق وتم ترشيح الرائق الطافي ثلاث مرات من خلال مرشحات غشائية ذات مسام بحجم 0.45 ميكروميتر ، 0.22 ميكروميتر على التوالي .

وتم تجميع السائل في أنابيب معقمة لدراسة أمكانية تواجد الفيروسات العاثية (Bonilla et al.,2016). حيث تم استخدام تقنية الآغار المزدوج لعزل عاثيات الجراثيم من أرضية حظائر الأبقار 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 بكتريا الاشريكية القولونية ، 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 (Kobayashi and Palumbo, 2000).

3-3) معايرة عاثيات الجراثيم:

تمت معايرة العاثيات باستخدام طريقة تقنية الآغار المزدوج حيث أجريت سلسلة من التخفيفات العشرية وذلك بنقل 100 ميكروليتر من محلول العاثيات الى 900 ميكروليتر من PYCA ثم تم نقل 100 ميكروليتر من الأنبوب الثاني إلى الأنبوب الثالث الحاوي على 900 ميكروليتر من PYCA وتكررت العملية حتى الحصول على عدة تخفيفات عشرية ، ثم تم مزج 300 ميكروليتر من كل محلول تخفيف مع 300 ميكروليتر من محلول جراثيم الأشريكية القولونية في الطور

اللوغاريتمي (بعمر 18 ساعة) وتم التحريك لمدة 10 دقائق ثم أضيفت إلى 3 مل من الآغار المغذي الذي يصب فوق طبقة الآغار الأولى وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة ، وتم اختيار الأطباق التي تراوح فيها عدد اللويحات بين 100 – 200 لويحة وتم حساب معيار العاثي الجرثومي بواحدة plaque forming unit (PFU) (Pallavali *et al.,* 2017, Khawaja *et al.,* 2016)

3-4) دراسة حساسية العاثي للتغير في درجات الحرارة:

3-4-1) تبريد العاثيات:

تم تخزين الفيروسات بوضعا في انابيب ابندروف بوسط BPS عند 4 درجات مئوية لمدة (7 يومًا، 30 يومًا، و90 يومًا، 6 أشهر). (Alvi *et al .,* 2018)

3-4-2) تجميد الفيروسات عاثيات الجراثيم:

تم تجميد الفيروسات بتجميدها بدرجة حرارة −20 في وسط BPS وتم اختبار حفظها لفترات مختلفة (1 شهر، 3 أشهر، 6 أشهر).

(Aşıhoğlu & Ayaz, 2023)

3-4-3) تسخين الفيروسات:

تم حساب فعالية عاثيات البكتيريا عند 45 درجة مئوية (لمدة 1 ساعة) وعند 55 درجة مئوية (لمدة 1 ساعة) وعند 65 درجة مئوية (لمدة 1 ساعة) و عند 100 درجة مئوية لمدة (5 دقائق). (El-Tarabily *et al.,* 2019)

3-4-4) دراسة حساسية العاثي للأشعة فوق البنفسجية (UV):

تم تعريض فيروسات العاثيات للأشعة فوق البنفسجية وذلك بوضع محلول العاثيات في طبق بيتري على مسافة 30 سم من مصباح الأشعة فوق البنفسجية لمدة (30 ثانية، 60 ثانية، 90 ثانية، 120 ثانية). (Endersen *et al.,*2014)

3-4-5) دراسة حساسية العاثي للتغير بقيم الـPh:

تم تقييم استقرار العاثية (البكتيريوفاج) عند مستويات حموضة مختلفة باستخدام تقنيات قياسية وفقًا للخطوات التالية:

تم تحضير سلسلة من محاليل الماء وضبطها عند قيم 3، 5، 7، 8، 10 (±0.05) باستخدام حمض كلور الماء أو هيدروكسيد الصوديوم.

أُضيفت معلق العاثية المنقاة إلى محلول الأختبار و حُضنت العينات عند 37 C° لمدة ساعة واحدة وتم إجراء تعداد للعاثيات باستخدام طريقة صب الآغار المزدوج (Bagiriska *et al.,* 2024).

3-5) التحليل الإحصائي:

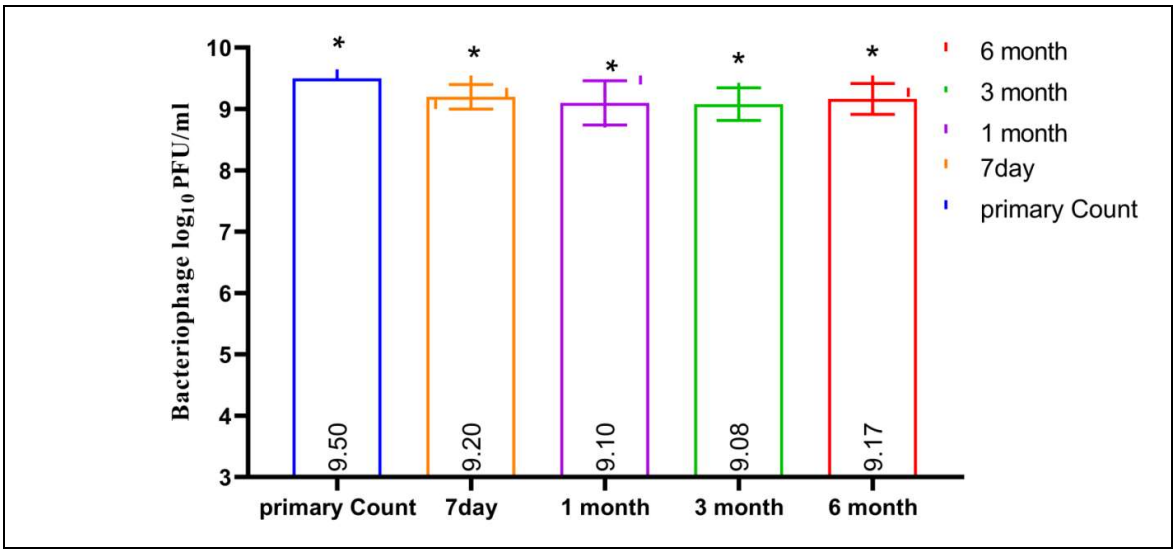
تم استخدام برنامج مايكروسوفت اكسل 2019 وبرنامج padgraph prism لمعالجة البيانات وتشكيل المخططات وكما تم استخدام برنامج spss لحساب الفروق المعنوية بين المجموعات .

4) النتائج:

4-1) حساسية العاثي للتغير في درجات الحرارة:

4-1-1) تأثير التبريد:

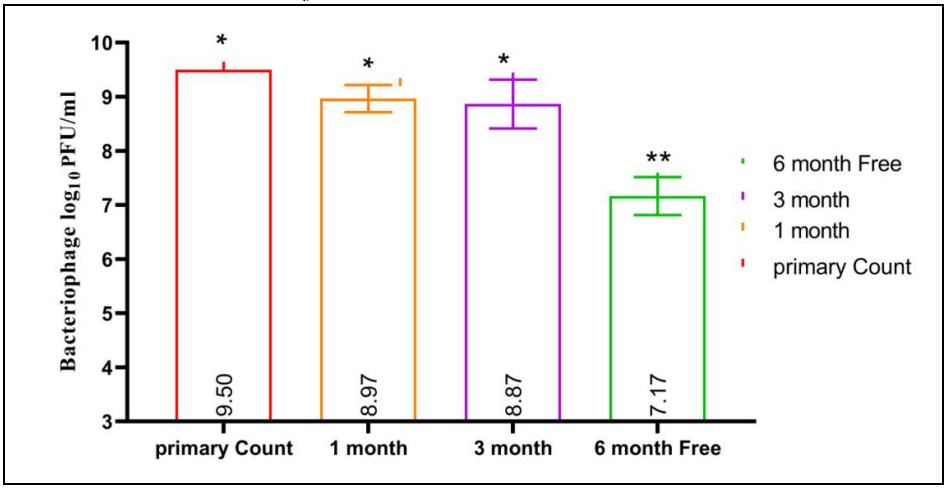
أشارت نتائج تقييم حساسية عاثيات الإشريكية القولونية للحفظ بالتبريد بدرجات حرارة 4 مْ إلى ثبات معيار عاثيات الإشريكية القولونية بالتقدم بالزمن إذ بينت الدراسة الإحصائية عدم وجود فروق معنوية ما بين مجموعة العاثيات المحفوظة بالتبريد لمدة تصل إلى 6 أشهر بالمقارنة مع المعيار الأولي للعاثيات، كما هو موضح بالمخطط رقم (1).



المخطط رقم (1): يظهر المخطط تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بعد حفظها بالتبريد لفترات مختلفة، حيث أشير إلى الفروق المعنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) بالاختلاف بالرمز(*)

4-1-2) تأثير التجميد:

يظهر المخطط رقم (2) تأثير حفظ عاثيات الإشريكية القولونية بالتجميد لفترات مختلفة حيث أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية عند حفظها بالتجميد لفترات (1 شهر، 3 أشهر) بالمقارنة مع التعداد الأولي بينما أشارت إلى انخفاض تعداد عاثيات الإشريكية القولونية عند حفظها بالتجميد لمدة 6 أشهر إذ أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى ($P\leq0.05$) ما بين العاثيات المحفوظة لمدة 6 أشهر بالمقارنة مع التعداد الأولي للعاثيات.

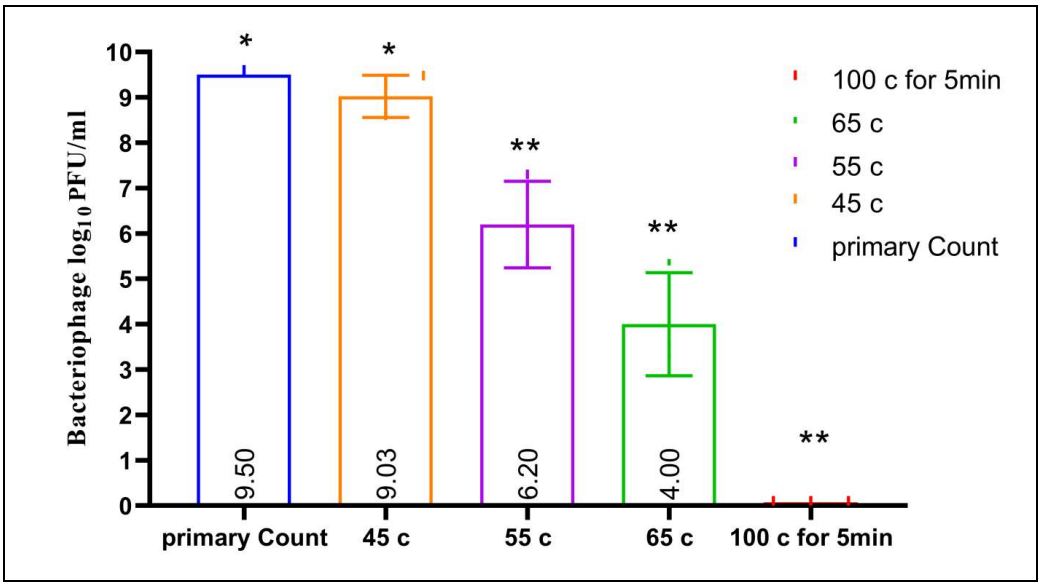


المخطط رقم (2): يظهر المخطط تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بعد حفظها بالتجميد لفترات ، حيث أشير إلى الفروق المعنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) بالاختلاف بالرمز(*)

4-1-3) تأثير التسخين:

أشارت نتائج تقييم حساسية عاثيات الإشريكية القولونية للتسخين بدرجات حرارة مختلفة إلى انخفاض تعداد عاثيات الإشريكية القولونية بارتفاع درجة الحرارة إلى 55 مْ إذ بينت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين مجموعة العاثيات المعرضة لدرجة حرارة 55 مْ والمعرضة لدرجة حرارة 65 مْ والمعرضة لدرجة حرارة

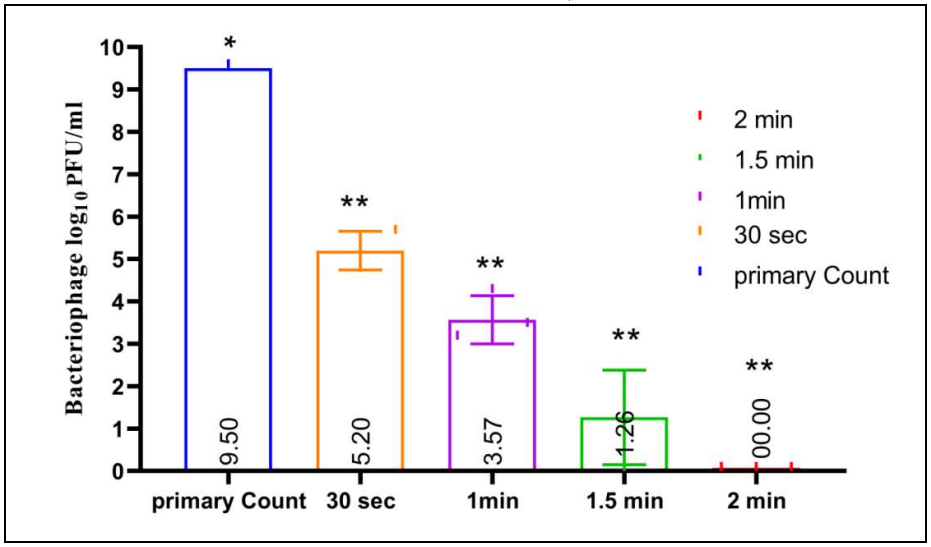
100 مْ مقارنة بالتعداد الأولي للعاثيات، في حين لم تلاحظ فروق معنوية ما بين تعداد عاثيات الإشريكية القولونية في المجموعات المعرضة لدرجة حرارة 45 مْ بالمقارنة مع التعداد البدئي للعاثيات، كما هو موضح بالمخطط رقم (3).



مخطط رقم (3): يظهر المخطط تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بعد تعريضها لدرجات حرارة مختلفة ، حيث أشير إلى الفروق المعنوية عند مستوى (p≤0.05) بالاختلاف بالرمز(*)

4-2) تأثير الأشعة فوق بنفسجية:

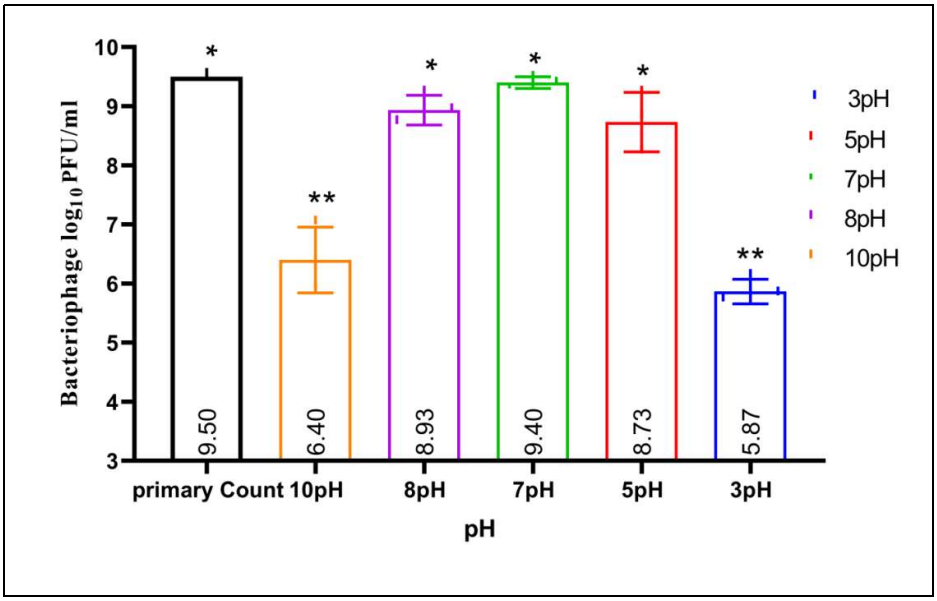
يظهر المخطط رقم (4) تفاوت تأثير تعريض عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية لأشعة UV لفترات مختلفة حيث انخفض أعداد عاثيات الإشريكية القولونية بازدياد فترة التعرض إذ بينت نتائج الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية عند مستوى (P≤0.05) ما بين مجموعات عاثيات الإشريكية القولونية المعرضة لاشعة الـUV والتعداد البدئي للعاثيات، كما أظهرت النتائج أن التعرض لأشعة UV لمدة دقيقتين يقضي على عاثيات الأشريكية القولونية المعرضة بشكل كامل.



المخطط رقم (4): يظهر المخطط تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بعد تعريضها لأشعة UV لفترات مختلفة ، حيث أشير إلى الفروق المعنوية عند مستوى (p≤0.05) بالاختلاف بالرمز(*)

4-3) حساسية العاثي للتغير بقيم الـpH:

أشارت نتائج تقييم حساسية عاثيات الإشريكية القولونية للتغير في قيم pH إلى انخفاضاً ملحوظاً في الظروف الحامضية والقلوية المتطرفة حيث بينت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين العاثيات المعرضة لدرجة pH 3 بالمقارنة مع التعداد الأولي للعاثيات كما لوحظ وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين العاثيات المعرضة لدرجة pH 10 بالمقارنة مع التعداد الأولي للعاثيات في حين أن الظروف المعتدلة عند درجة pH 7 و والحامضية 5 و القلوية 8 لم تؤثر على سلامة عاثيات الإشريكية القولونية إذ لم يلاحظ فروق معنوية ما بين العاثيات المخزنة في محلول pH 5 و 7 و 8 مقارنة مع التعداد الأولي للعاثيات، حيث يظهر المخطط رقم (5) تأثير التغير في درجة pH على سلامة عاثيات الإشريكية القولونية.



المخطط رقم (5): يظهر المخطط تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بعد تعريضها لدرجات حموضة مختلفة، حيث أشير إلى الفروق المعنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) بالاختلاف بالرمز(*)

5) المناقشة:

لقد تمت دراسة العاثيات الجرثومية لأكثر من مائة عام، مما مكننا من فهم العديد من الجوانب البيولوجية الحديثة، ومع ذلك لا تتوفر ولا يُستخدم أي أسلوب مشترك لحفظها. وعلى الرغم من ذلك، فإن الدراسات المنشورة التي تركز على هذه المسألة قليلة. وربما يعود هذا إلى الطبيعة المتنوعة للعاثيات الجرثومية، مما قلل من الجهود المبذولة في هذا الجانب من بيولوجيا العاثيات. وفي هذه الدراسة تم دراسة تأثير كل من الحفظ بالتبريد والتجميد، حيث أظهرت النتائج أن أفضل طريقة لحفظ العاثيات هي التبريد بدرجة حرارة 4 مْ وبمقارنة دراستنا مع الدراسات السابقة نجد أنها متوافقة مع ما وجده (Aşıhoğlu and Ayaz, 2023) في دراسته إذ تم الحفاظ على تعداد عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية H7:O157 (M8AEC16) بدون مواد واقية بشكل جيد عند +4 °C مع انخفاض غير معنوي بمقدار(0.78 log pfu/ml) بعد 6 أشهر ، كما أظهرت مجموعة العاثيات التي عرضت للتجميد بدرجة حرارة −85 مْ مع إضافة الغليسيرين فقد حصل انخفاض غير معنوي بمقدار(1.23 log pfu/ml) بعد 6 أشهر. كما أبلغ (Alvi *et al.*, 2018) في دراسته على تقييم الظروف المناسبة للتخزين طويل المدى للبكتيريوفاج إذ استخدم 5 عاثيات مختلفة معزولة من مياه الصرف الصحي خاصة بجراثيم الإشريكية القولونية والسالمونيلا والإنتيروباكتر (JHP, RLP, RSP, SaPL, IttPL) عن عدم وجود انخفاض في عيار أي من العاثيات الخمس بعد التخزين لمدة عام عند 4°، في حين لوحظ انخفاض كبير في العيار في درجتي التجميد (−20، −80) مْ. حيث أنه عند −20مْ تراوحت نسبة الانخفاض بين 25% إلى 71% في حين أنه عند −80مْ كانت الخسائر أكثر حدة تراوحت نسبة الإنخفاض بين 45% إلى 100%. وفي دراسة (Phuong *et al.*, 2022) تبين أن حفظ عاثيات

الجراثيم بدرجة حرارة 4 مْ أدى إلى الحفاظ على عاثيات جراثيم السالمونيلا بنسبة 88.7% في حين أخبر عن حفظ عاثيات الجراثيم بالتجميد بدرجة حرارة –20 مْ أدى إلى الحفاظ على عاثيات جراثيم السالمونيلا بنسبة 89.7% وبدرجة حرارة –80 مْ بنسبة 82.9%. أن الحفاظ على البنية التركيبية والوظيفية للعاثيات يعتمد بشكل أساسي على تجنب الإجهادات الفيزيائية الناجمة عن التجميد العميق، وهو ما يفسر تفوق التخزين عند +4°م. فقد أظهرت الدراسات السابقة أن التجميد، وخاصة عند درجات حرارة منخفضة جداً مثل –80°م أو –196°م، قد يتسبب في تشكل بلورات جليدية داخلية تؤدي إلى ضرر ميكانيكي للقفيصة الفيروسية (Capsid) وإلى اضطراب في تكوين البروتينات الأساسية للفيروس. وفي هذا الإطار، أشار (Clark *et al.,* 1962)إلى أن عمليات التجميد وإعادة التذويب (freeze–thaw cycles) قد تؤدي إلى فقدان كبير في الفعالية الحيوية للعاثيات الذيلية، وهو ما يتوافق مع ما لاحظه في (Aşıhoğlu and Ayaz, 2023) من انخفاض في العيار عند –85°م.

علاوة على ذلك، فإن الاستقرار البنيوي للعاثيات عند +4°م يمكن تفسيره أيضاً من خلال الحفاظ على التوازن الديناميكي للطبقة المائية المحيطة بالجسيم الفيروسي، والتي تلعب دوراً حاسماً في استقرار التفاعلات داخل القفيصة. ففي حين أن التجميد العميق قد يعطل هذه الطبقة المائية ويؤدي إلى تجفيف جزئي أو تغيير في توزيع الشحنات السطحية، فإن التبريد المعتدل يحافظ على البيئة المائية الثابتة حول الفيروس دون تعريضه لصدمة تجميد. وهذا ما أيدته دراسة (Ackermann *et al.,* 2004)التي أكدت أن العاثيات الذيلية غير المحتوية على دهون يمكن أن تحافظ على فعاليتها لسنوات عند تخزينها في وسط سائل بدرجة حرارة ثلاجة عادية، دون الحاجة إلى تجميد عميق، وقد ذكر (Weber–Dąbrowska *et al.,* 2016) أنه يمكن لبعض العاثيات أن تحافظ على عيارها عند 4°م لمدة تصل إلى 30 سنة، كما أخبر (Merabishvili *et al.,* 2009) أن الحماية الأساسية من التبخر والتلوث كافية للحفاظ على العيار عند +4°م، بينما قد تضيف مواد الحفظ الكيميائية مخاطر غير ضرورية أو تفاعلات جانبية مع المكونات الفيروسية.

يؤثر التعرض الحراري على العاثيات بشكل عميق ومتعدد الأوجه، بدءاً من التغيرات البنيوية للبروتين والقفيصة الفيروسية، وصولاً إلى التأثير على المادة الوراثية (DNA أو RNA) ووظائفها. تتراوح استجابات العاثيات للحرارة من التثبيط المؤقت للنشاط عند درجات حرارة معينة إلى التعطيل الكامل والإبادة الحرارية عند تجاوز عتبات حرجة، وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة فعالية عاثيات جراثيم الأشريكية القولونية بعد تعريضها لإجهاد حراري بدرجات حرارة مختلفة، إذ انخفض تعداد عاثيات الإشريكية القولونية عند درجة الحرارة 55 مْ وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده (Zhang *et al.,* 2025) عند استخدام خليط من عاثيتين لـ K. pneumonia (Kp7 + Kp11) ، أدت المعالجة الحرارية بدرجة حرارة 50 مْ لمدة 90 دقيقة أيضاً إلى انخفاض في عدد لويحات العاثيات (PFUs) مقارنة بالتعداد المبدئي، وقد أعزوا الباحثين أن السبب هو خلل في مرحلة لاحقة من دورة العدوى، وهي حقن الحمض النووي. حيث أظهرت النتائج أن كمية الحمض النووي للعاثية التي دخلت الخلية البكتيرية انخفضت بشكل كبير بعد المعالجة الحرارية، حيث يرتبط هذا الخلل في الحقن بـ تغييرات منهجية في الغلاف الخلوي البكتيري (الغشاء الخارجي والمحفظة). حيث يؤدي الإجهاد الحراري إلى انخفاض في تركيز العديد من بروتينات الغلاف مما قد يؤثر على البروتينات الضرورية التي تعمل كـ "مستقبلات ثانوية" لبدء عملية حقن الحمض النووي، حتى لو بقي المستقبل الأساسي سليماً. كما أظهرت نتائج (Taj *et al.,* 2014) أن نطاق النشاط الحراري للعاثية T4 ضد الإشريكية القولونية BL21 يتراوح بين 15°م و41°م، مع ذروة الكفاءة عند 37°م. وتعمل العاثية بشكل ضعيف كلما ابتعد خارج هذا النطاق . كما أشارت نتائج (Pope et al.,2004) إلى زيادة إنتاج العاثية حتى درجات حرارة تقارب 39°م. هذه النتيجة متوافقة مع (Basdew and Laing ,2014) التي أشارت إلى أن ارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى تقليل بقاء ونشاط الفيروسات بسبب تغير في بنية البروتينات الفيروسية وإتلاف الحمض النووي. في حين أظهرت نتائج (El–Tarabily, 2019) أن العاثيات (Ø1، Ø2، Ø3) الخاصة بـ Escherichia coli O157:H7 و

Bacillus subtilis و Salmonella enteritidis على التوالي كانت حساسة لدرجات الحرارة المرتفعة بنسب متفاوتة إذ أن Ø1 كانت مقاومة للحرارة بشكل أكبر من Ø2،Ø3 ، حيث انخفضت قدرتها على البقاء والتكاثر مع زيادة درجة الحرارة وطول فترة التعريض، إذ أنها عند 45°م لمدة 15 دقيقة لم يظهر انخفاض معنوي في عدد اللويحات (PFU) للعاثيات Ø1 وØ2، بينما انخفضت بنسبة طفيفة لـ Ø3، وعند 55°م لمدة 30 دقيقة انخفضت أعداد العاثيات Ø2 بنسبة 72.18% وØ3 بنسبة 45.3% ، بينما انخفضت Ø1 بشكل أقل بنسبة 4% وعند 65°م لمدة 30 دقيقة انخفضت أعداد جميع العاثيات بشكل ملحوظ خاصة Ø2 بنسبة 83.12% وØ3 بنسبة 82.96% فيح انخفضت Ø1 بنسبة 22.9%. في حين أن الغليان 100°م أدى إلى تدمير كامل للعاثيات بعد 5–10 دقائق حيث أصبحت PFU صفراً.

تبرز الأشعة فوق البنفسجية (UV) كأحد العوامل الأكثر انتشاراً وتأثيراً على الأنظمة البيولوجية الدقيقة. بينما تستخدم هذه الإشعاعات على نطاق واسع لأغراض التعقيم والتطهير لقدرتها المدمرة على الميكروبات، تم دراسة تأثير تحمل عاثيات الجراثيم للأشعة فوق البنفسجية وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاض ملحوظ بزيادة فترة التعرض للأشعة فوق البنفسجية وهذا ما يوافق دراسة (El–Tarabily, 2019) إذ أظهرت العاثيات (Ø1، Ø2، Ø3) حساسية متفاوتة للمعالجة بالأشعة فوق البنفسجية (UV)، حيث كانت Ø1 هي الأكثر مقاومة، بينما كانت Ø2 هي الأكثر حساسية. إذ أنه عند 30 ثانية من التعرض للأشعة فوق البنفسجية ، لم يظهر انخفاض معنوي في عدد اللويحات (PFU) للعاثية Ø1 والعاثية Ø3، في حين انخفضت Ø2 بشكل حاد بنسبة 74.34%. أما عند 60 ثانية حافظت Ø1 على مقاومة عالية ، بينما تزايد فقدان Ø2 إلى 81.19%، وانخفضت Ø3 بشدة إلى 82.07%. وعند 120 ثانية، أصبحت العاثيتان Ø2 و Ø3 غير فعالتين تماماً (فقدان 100%)، في حين انخفضت فعالية Ø1 بنسبة 88.74% و عند 180 ثانية فما فوق، أدى التعرض للأشعة فوق البنفسجية إلى تدمير كامل لجميع العاثيات (Ø1، Ø2، Ø3).

تُعد طبيعة المادة الوراثية العامل الأكثر أهمية في تحديد الحساسية للأشعة فوق البنفسجية، تسبب الأشعة فوق البنفسجية تكون روابط تساهمية بين القواعد النيتروجينية المتجاورة في سلسلة الحمض النووي/الريبي النووي، تُعرف باسم ثنائيات البيريميدين (Pyrimidine Dimers)، وأكثرها شيوعاً ثنائيات الثايمين (Thymine Dimers) في الحمض النووي DNA (Rastogi *et al.*, 2010). العاثيات ذات الحمض النووي DNA ثنائي السلسلة (dsDNA) هي الأكثر حساسية عموماً حيث يمتص DNA الأشعة فوق البنفسجية بقوة عند حوالي 260 نانومتر، مما يؤدي إلى تكوين ثنائيات الثايمين التي تشوه حلزون DNA وتعطل عمليات النسخ والاستنساخ (Sinha and Häder, 2002). هذا قد يفسر الحساسية العالية للعاثية Ø2 في دراسة (El–Tarabily, 2019) أما العاثيات ذات الحمض النووي DNA أحادي السلسلة (ssDNA) قد تكون أقل حساسية قليلاً من dsDNA لأن بنيتها أحادية السلسلة قد تمنع تكون بعض أنواع الثنائيات، والعاثيات ذات الحمض الرايبوزي RNA غالباً ما تكون أكثر مقاومة إذ يمتص RNA الأشعة فوق البنفسجية بقوة أقل و نظراً لأن RNA عادة ما يكون أحادي السلسلة، فإن تكون "ثنائيات اليوراسيل" أقل كفاءة أو استقراراً منه في DNA ثنائي السلسلة بالإضافة إلى ذلك، قد يكون الضرر الناجم عن الأشعة فوق البنفسجية على RNA غير مباشر أكثر، مرتبطاً بتكوين أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) التي تؤكسد القواعد (Kovacs and Kessler, 2018) كما يلعب الغلاف البروتيني (Capsid) للعاثية دور درع وقائي للمادة الوراثية وتحدد سماكته، ومدى تجانسه، وطبيعة الطيّ البروتيني مدى نفاذية الأشعة فوق البنفسجية داخله (Bosshard *et al.*, 2010).

كما أنه أهم المعايير لاختيار العاثيات لمكافحة البكتيريا الممرضة هو ثباتها أثناء التخزين، وكذلك تحت ظروف التطبيق المحددة (Duyvejonck *et al.*, 2021) في هذه الدراسة، تم تقييم ثبات عاثية الأشريكية القولونية عند التعرض لقيم الأس الهيدروجيني (pH) المختلفة لتحديد الظروف المثلى للحفاظ على حيويتها حيث تقدم نتائج هذه الدراسة رؤى حول تأثير الظروف الحامضية والقلوية المختلفة على تركيز العاثية.

تشير نتائج تقييم ثباتية العاثية عند درجات الـpH المختلفة إلى أن الظروف المتعادلة هي الأكثر ملاءمة للحفاظ على سلامة عاثية الأشريكية القولونية وقدرتها على العدوى. هذه النتائج تتوافق مع الدراسات السابقة التي أبلغت عن أن العاثيات المختلفة تميل إلى الحفاظ على ثباتها في ظروف قريبة من التعادل، وهو عامل مهم لكل من التخزين والتطبيق في المكافحة البيولوجية للبكتيريا الممرضة (Shahin *et al.,* 2021; Xiao *et al.,* 2022).

في المقابل، أدت كل من الظروف الحمضية (pH 3) والقلوية (pH 10) إلى انخفاض ملحوظ في تركيز العاثية. ترتبط مستويات الأس الهيدروجيني المتطرفة هذه بتأثيرات ضارة على البنية الفيروسية، على الأرجح بسبب تغير طبيعة البروتينات أو تلف القفيصة (Capsid)، مما يقلل من قدرة العاثية على إصابة البكتيريا المضيفة بشكل فعال (Majewska *et al.,* 2023; Sada and Tessema, 2024). وبالتالي يمكن لهذه الظروف القاسية أن تضر بجدوى ووظيفة العاثية.

وفي دراسة (Amarillas *et al.,* 2025) على عاثيات Multidrug-resistant Escherichia coli (Alux-21) المعزولة من روث الماشية، إذ تم قياس تعداد العاثية القابلة للحياة بوحدة PFU/ml بعد تعريضها لكل درجات حموضة مختلفة لمدة ساعة واحدة عند 37°م حيث أظهرت النتائج انخفاضاً في تعداد عاثيات الجراثيم في درجات الحموضة المتطرفة مقارنة بتعداد العاثيات المحضنة بدرجة حموضة 7، حيث أظهرت النتائج انخفاض في تعداد العاثيات المعرضة لدرجة حموضة 5 بمقدرار 1.5 $\log_{10}$ PFU/ml أما في درجة حموضة 3 كان الأنخفاض أكبر بمقدار 3.5 $\log_{10}$ PFU/ml أما في درجات الـ pH القلوية فقد كان الأنخفاض في تعداد عاثيات الجراثيم في درجة حموضة 9 بمقدار 1.8 $\log_{10}$ PFU/ml وفي درجة الـpH 11 فقد كان الأنخفاض بمقدار 4 $\log_{10}$ PFU/ml مقارنة بتعداد العاثيات في درجة pH 7 الذي أبدى ثباتية وقد بلغ 8 $\log_{10}$ PFU/ml.

6) الأستنتاجات:

نستنتج من هذه الدراسة :

1) أفضل طريقة حفظ عاثيات جراثيم الأشريكية القولونية بالتبريد بدرجة حرارة 4 مْ
2) تتحمل عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية درجة حرارة 45 مْ ويبدأ عددها بالأنخفاض بدرجة حرارة 55 مْ
3) يمكن القضاء على عاثيات جراثيم الإشريكية القولونية بتعريضها لأشعة UV لمدة دقيقتين.
4) إن تعرض عاثيات الجراثيم لدرجات حموضة متطرفة يؤدي إلى اتلافها.

7) التوصيات:

1) دراسة حفظ عاثيات الجراثيم بالتبريد لفترات أكثر من سنة.
2) دراسة حفظ عاثيات الجراثيم بالتجميد مع إضافة واقيات.
3) دراسة ثبات عاثيات أخرى للعوامل الفيزيائية والكيميائية.

8) المراجع:

1) Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. (2011). Phage treatment of human infections. Bacteriophage, 1(2): 66-85.
2) Ackermann, H.W. (2007). 5500 phages examined in the electron microscope. Arch. Virol., 152: 227-243.

3) Ackermann, H.W., Tremblay, D., Moineau, S., (2004). Long-term bacteriophage preservation. World Fed. Cult. Collect. Newslett. 38, 35-40.

4) Albaker. A, Saleh.M, and Alsaleh. A.(2025). Detection of virulence factors of Escherichia Coli strains isolated from calves diarrhea and their resistance to antibiotics in Hama Governorate, Syria, Open Veterinary Journal,12(15)1 – 8.

5) Alvi, I.A., Asif, M., Tabassum, R., Abbas, Z., Rehman, S., 2018. Storage of bacteriophages at 4°C leads to no loss in their titer after one year. Pakistan J. Zool. 50, 2395-2398.

6) Amarillas, L., León-Chan, R., López-Avendaño, E., González-Balcázar, A., Padilla, J., Lightbourn-Rojas, L., & Estrada-Acosta, M. (2025). Isolation and characterization of a novel bacteriophage as a biological control agent against multidrug resistant Escherichia coli in compost and agricultural irrigation water. F1000Research, 13, 1521.

7) Aşıhoğlu, N. F., & Ayaz, N. D. (2023). Comparison of various storage conditions for the stability of Escherichia coli O157:H7 bacteriophage M8AEC16. Journal of Independent Veterinary and Animal Research (JIVAR), 6(3), 96–101.

8) Basdew, I. H., & Laing, M. D. (2014). Stress sensitivity assays of bacteriophages associated with Staphylococcus aureus, causal organism of bovine mastitis. African Journal of Microbiology Research, 8(2), 200–210.

9) Bonhivers, M., & Letellier, L. (1995). Calcium controls phage T5 infection at the level of the Escherichia coli cytoplasmic membrane. FEBS Letters, 374 (2), 169–173.

10) Bonilla, N., Rojas, M.I., Netto Flores Cruz, G., Hung, S.H., Rohwer, F., Barr, J.J., (2016). Phage on tap–a quick and efficient protocol for the preparation of bacteriophage laboratory stocks. PeerJ. 4, e2261.

11) Bosshard, F., Riedel, K., Schneider, T., Geiser, C., Bucheli, M., & Egli, T. (2010). Protein oxidation and aggregation in UVA-irradiated Escherichia coli cells as signs of accelerated cellular senescence. Environmental Microbiology, 12(11), 2931–2945

12) Brussow, H. (2005). Phage therapy: the Escherichia coli experience. Microbiol., 151(7): 2133-2140.

13) Clark, W. A., Horneland, W., & Klein, A. G. (1962). Attempts to freeze some bacteriophages to ultralow temperatures. Applied Microbiology, 10(5), 463–465.

14) Duyvejonck, H., Merabishvili, M., Vaneechoutte, M., de Soir, S., Wright, R., Friman, V.-P., & Verbeken, G. (2021). Evaluation of the stability of bacteriophages in different solutions suitable for the production of magistral preparations in Belgium. Viruses, 13(5).

15) El-Tarabily, K. A. (2022). An innovative and safe study using a cocktail of bacteriophage viruses to ensure food quality and safety in the United Arab Emirates. Ajman Journal of Studies and Research, 18(1), 1–41.

16) Endersen, L. Omahony, J.C. Hill, R.P. Ros, O. (2014).McAuliffe, and Coffey, A., Annual Review in Food Science and Technology , 5, pp. 327-49.

17) Golec, P., Dąbrowski, K., Hejnowicz, M.S., Gozdek, A., Loś, J.M., Węgrzyn, G., Lobocka، M.B., Loś, M., (2011). A reliable method for storage of tailed phages. J. Microbiol. Methods. 84, 486-489.

18) Gomez-Duarte, O. G., Y. C. Romero-Herazo, C. Z. Paez- Canro, J. H. Eslava-Schmalbach, and O. Arzuza (2013). Enterotoxigenic Escherichia coli associated with childhood diarrhoea in Colombia, South America. J. Infect. Dev. Ctries.,7(5): 372-381.

19) Housby, J. N. and N. M. Mann (2009). Phage therapy. Drug. Dis. Today., 14(11-12): 536-540.

20) Jończyk, E., Kłak, M., Międzybrodzki, R., & Górski, A. (2011). The influence of external factors on bacteriophages—review. Folia Microbiologica, 56(3), 191–200.

21) Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. T. Mobley (2004). Athogenic Escherichia Coli. Nat. Rev. Microbiol., 2: 123-40.

22) Khawaja, K.A., Rauf, M. and Abbas, Z., 2016. J. Basic Microbiol., 56: 1090-1097.

23) 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 .

24) Kovacs, T., & Kessler, C. (2018). UV inactivation of common viral pathogens in water: A review. Journal of Water and Health, 16(2), 181–196.

25) Łobocka, M., Dąbrowska, K., & Górski, A. (2021). Engineered bacteriophage therapeutics: Rationale, challenges and future. Biotechnology Advances, 50, 107762.

26) Majewska, J., Międzybrodzki, R., Szymczak, A., Borysowski, J., & Górski, A. (2023). Evolution of T4 phage virus in different selection pressures from non-bacterial factors. Microbiology Spectrum, 11(5), e01515-23.

27) Malik, D. J., Sokolov, I. J., Vinner, G. K., Mancuso, F., Cinquerrui, S., Vladisavljevic, G. T.، Clokie, M., Garton, N.J., Stapley, A., Kirpichnikova, A., (2017). Formulation، stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. Adv. Colloid. Interface Sci. 249, 100-133.

28) Merabishvili, M., Pirnay, J.-P., Verbeken, G., Chanishvili, N., Tediashvili, M., Lashkhi, N., Glonti, T., Krylov, V., Mast, J., Van Parys, L., Lavigne, R., Volckaert, G., Mattheus, W., Verween, G., De Corte, P., Rose, T., Jennes, S., Zizi, M., De Vos, D., &

Vaneechoutte, M. (2009). Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. PLOS ONE, 4(3), Article e4944.

29) Monk, A. B., C. D. Rees, P. Barrow, S. Hagens, and D.R. Harper (2010). Bacteriophage application; where are we now?. Letter. Appl. Micriobiol., 51: 363-369.

30) Müller-Merbach, M., Rauscher, T., & Hinrichs, J. (2005). Inactivation of bacteriophages by thermal and high-pressure treatment. International Dairy Journal, 15(6–9), 777–784.

31) Novik, G., Sidarenka, A., Rakhuba, D., Kolomiets, E., (2009). Cryopreservation of bifidobacteria and bacteriophages in belarusian collection of non-pathogenic microorganisms. J. Cult. Collect. 6, 76-84.

32) 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.

33) Phuong, L. N. N., Anh, L. H., Huan, P. K. N., Loc, H. T., Trang, C. T. H., Mo, T. T. H., Xuan, N. H., & Ngu, N. T. (2022). The effect of different media and temperature conditions for Salmonella bacteriophage preservation. Veterinary Integrative Sciences, 20 (2), 489–498.

34) Rastogi, R. P., Richa, Kumar, A., Tyagi, M. B., & Sinha, R. P. (2010). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. Journal of Nucleic Acids, 592-580.

35) Sada, T. S., & Tessema, F. S. (2024). Isolation and characterization of lytic bacteriophages from various sources in Addis Ababa against antimicrobial-resistant diarrheagenic Escherichia coli strains and evaluation of their therapeutic potential. BMC Infectious Diseases, 24(1), 229.

36) Shahin, K., Barazandeh, M., Zhang, L., Hedayatkhah, A., Mansoorianfar, M., & Pang, H. (2021). Biodiversity of new lytic bacteriophages infecting Shigella spp. in freshwater environment. Frontiers in Microbiology, 12.

37) Sinha, R. P., & Häder, D. P. (2002). UV-induced DNA damage and repair: A review. Photochemical & Photobiological Sciences, 1(4), 225–236.

38) Summers, W. C. (2001). Bacteriophage therapy. Annu. Rev. Microbiol., 55: 437–451.

39) Taj, M. K., Ling, J. X., Bing, L. L., Qi, Z., Taj, I., Hassani, T. M., Samreen, Z., & Yunlin, W. (2014). Effect of dilution, temperature and pH on the lysis activity of T4 phage against E. coli BL21. The Journal of Animal & Plant Sciences, 24 (4), 1252–1255.

40) Weber-Dąbrowska, B., Jończyk-Matysiak, E., Żaczek, M., Łobocka, M., Lusiak-Szelachowska, M., & Górski, A. (2016). Phage therapy as a novel strategy in the treatment of urinary tract infections caused by E. coli. Frontiers in Microbiology, 7, 1177.

41) Xiao, Y., Huang, P., Huang, Z., Liu, C., Zhang, J., & Huang, A. (2022). Influencing factors on the preservation of lytic bacteriophage vB_KpnS_IME279. Biosafety and Health, 4(5), 314–320.

42) Zhang, F., Chen, H.-Z., Zheng, B., Huang, L., Xiang, Y., Zhang, J.-R., & Liu, J.-F. (2025). Heat stress induces phage tolerance in Enterobacteriaceae. eLife, 14, RP105703.