

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Патогенный потенциал интестинальных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от здоровых коров и телят в хозяйствах Пермского края


В.С. Михайловская¹, Н.Б. Ремезовская¹, И.Н. Жданова², М. Старчич Эрьявец³, М.В. Кузнецова¹ 

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук –

филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

² Пермский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Лобаново, Пермский край, Россия

³ Университет Любляны, Биотехнологический факультет, Любляна, Словения

 mar19719@yandex.ru

Аннотация. Крупный рогатый скот является резервуаром патогенных и потенциально патогенных *Escherichia coli* (*E. coli*), которые могут представлять угрозу для здоровья людей и животных. Цель исследования – оценить встречаемость 22 вирулент-ассоциированных генов, а также распространенность антибиотикоустойчивости и трех генов *bla* различных типов среди штаммов *E. coli*, выделенных от здорового крупного рогатого скота. Сорок девять штаммов *E. coli* были проанализированы методом ПЦР на присутствие генов, распространенных среди представителей диареогенной *E. coli* (DEC) и внекишечной патогенной *E. coli* (ExPEC). Обнаружены следующие детерминанты, ассоциированные с DEC: *east1* – 24.5 %, *estI* – 10.2 %, *ehxA* – 8.2 %, *stx2* – 6.1 %, *eltA* – 4.1 %, *estII* и *stx1* – 2.0 %. Распространенность генов ExPEC составила: *fimH* – 91.8 %, *afa/draBC* – 61.2 %, *iutA* – 44.9 %, *flu* – 32.7 %, *sfaDE* и *hlyF* – 30.6 %, *iroN* – 22.4 %, *ompT* и *papC* – 20.4 %, *kpsMTII* и *hlyA* – 18.4 %, *iss* – 14.3 %, *usp* – 2.0 %, *cnf1* и *iha* не детектированы. На основании установленных комбинаций генов были определены «классические», гетеропатогенные и гибридные штаммы. Эшерихии, выделенные от коров, обладали более высоким диареогенным потенциалом, а *E. coli*, изолированные от телят, чаще содержали гены, ассоциированные с патотипом ExPEC. Среди исследованных штаммов были устойчивыми: к ампициллину – 77.6 % культур, тетрациклину – 49.0 %, хлорамфениколу – 20.4 %, цефоперазону, цефтриаксону, азтреонаму – 16.3 %, цефепиму – 14.3 %, норфлоксацину и ципрофлоксацину – 10.2 %, левофлоксацину – 6.1 %, гентамицину – 2.0 %, все штаммы были чувствительны к меропенему и амикацину. Фенотип множественной лекарственной устойчивости имели 32.7 % культур, так как они были устойчивы к трем и более группам антибиотиков. Специфическая амплификация выявлена: к *bla*_{TEM} – у 100 % штаммов, к *bla*_{SHV} – у 31.6 %, к *bla*_{CTX-M} – у 26.3 % штаммов, устойчивых хотя бы к одному препарату из группы бета-лактамов антибиотиков. Штаммы *E. coli*, изолированные от здоровых коров и телят, обладали высоким гетеропатогенным потенциалом, поэтому молекулярно-генетическая характеристика этих бактерий должна стать важной частью эпизоотического мониторинга.

Ключевые слова: *Escherichia coli*; гены, ассоциированные с вирулентностью; устойчивость к антибиотикам; крупный рогатый скот.

Для цитирования: Михайловская В.С., Ремезовская Н.Б., Жданова И.Н., Старчич Эрьявец М., Кузнецова М.В. Патогенный потенциал интестинальных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от здоровых коров и телят в хозяйствах Пермского края. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(5):486-494. DOI 10.18699/VJGB-22-59


Virulence potential of faecal *Escherichia coli* strains isolated from healthy cows and calves on farms in Perm Krai

V.S. Mihailovskaya¹, N.B. Remezovskaya¹, I.N. Zhdanova², M. Starčič Erjavec³, M.V. Kuznetsova¹ 

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

² Perm Agricultural Research Institute, Lobanovo, Perm Krai, Russia

³ University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Ljubljana, Slovenia

 mar19719@yandex.ru

Abstract. Cattle are a reservoir of pathogenic and potentially pathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) strains, which can pose a threat to human and animal health. The aim of the study was to evaluate the occurrence of 22 virulence-associated genes (VAGs), as well as the prevalence of antimicrobial drug resistance and three different *bla*-genes among 49 *E. coli* strains isolated from healthy cattle. The presence of VAGs that are common among diarrheagenic *E. coli* (DEC) strains and/or extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) strains was determined by amplifying specific gene sequences by PCR. The following VAGs associated with DEC were found: *east1* in 24.5 % of the studied *E. coli* strains, *estI* in 10.2 %, *ehxA* in 8.2 %, *stx2* in 6.1 %, *eltA* in 4.1 %, *estII* and *stx1* in 2.0 % of the studied strains. The prevalence of ExPEC VAGs was: *fimH* – 91.8 %, *afa/draBC* – 61.2 %, *iutA* – 44.9 %, *flu* – 32.7 %, *sfaDE* and *hlyF* – 30.6 %, *iroN* – 22.4 %, *ompT* and *papC* –

20.4 %, *kpsMTII* and *hlyA* – 18.4 %, *iss* – 14.3 %, *usp* – 2.0 %, *cnf1* and *iha* were not detected among the studied strains. Based on the found co-occurrence of VAGs “classical”, hetero-pathogenic and hybrid-pathogenic *E. coli* strains were found. *E. coli* strains isolated from cows had a higher diarrheagenic potential, whereas *E. coli* strains isolated from calves more frequently contained genes associated with the ExPEC pathotype. Among the studied *E. coli* strains, 77.6 % were resistant to ampicillin, 49.0 % to tetracycline, 20.4 % to chloramphenicol, 16.3 % to cefoperazone, 16.3 % to ceftriaxone, 16.3 % to aztreonam, 14.3 % to cefepime, 10.2 % to norfloxacin, 10.2 % to ciprofloxacin, 6.1 % to levofloxacin and 2.0 % to gentamicin. All strains were sensitive to meropenem and amikacin. 32.7 % of the studied *E. coli* strains were found to be multidrug resistant, as they were resistant to at least three groups of antibiotics. With PCR, the *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, and *bla*_{CTX-M} genes were detected in 100, 31.6, and 26.3 %, respectively, of strains resistant to at least one of the beta-lactam antibiotics. Thus, it was shown that the studied faecal *E. coli* of healthy cows and calves had a high hetero-pathogenic potential, therefore in the future molecular genetic characterization of these bacteria shall be an important part of the epizootic monitoring.

Key words: *Escherichia coli*; virulence-associated genes (VAGs); antibiotic resistance; cattle.

For citation: Mihailovskaya V.S., Remezovskaya N.B., Zhdanova I.N., Starčić Erjavec M., Kuznetsova M.V. Virulence potential of faecal *Escherichia coli* strains isolated from healthy cows and calves on farms in Perm Krai. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(5):486-494. DOI 10.18699/VJGB-22-59

Введение

Представители комменсальной микробиоты, включая *Escherichia coli*, являясь облигатными обитателями кишечного тракта сельскохозяйственных животных, поддерживают физиологический гомеостаз и колонизационную резистентность организма. Крупный рогатый скот, в том числе здоровые животные, представляют собой резервуар патогенных и условно-патогенных эшерихий (Chapman et al., 2006; Ewers et al., 2009; Bok et al., 2015; Madoshi et al., 2016). Диареогенные *E. coli* (DEC), вызывающие вспышки кишечных заболеваний, включают различные патотипы: энтеропатогенные (EPEC), энтероинвазивные (EIEC), энтероагрегативные (EAEC), энтеротоксигенные (ETEC) и энтерогеморрагические (EHEC) *E. coli*, среди которых выделяют продуцирующие шига-подобные токсины (STEC) (Allocati et al., 2013; Vila et al., 2016; Oporto et al., 2019; Santos et al., 2020).

Штаммы *E. coli*, которые могут обуславливать инфекционный процесс во внекишечных локусах (ExPEC), принято подразделять на уропатогенные (UPEC), вызывающие менингиты новорожденных (NMEC), патогенные для птиц (APEC) и ассоциированные с сепсисом (SePEC). Циркулирующие в условиях сельскохозяйственных предприятий штаммы интестинальной и экстраинтестинальной *E. coli* могут представлять существенную опасность для здоровья животных и людей.

Геном эшерихий отличается высокой степенью гетерогенности, что опосредовано возможностью горизонтального переноса детерминант, ассоциированных с вирулентностью. В результате появляются гибридные и гетеропатогенные представители, сочетающие комбинации генов, характерные для разных патотипов эшерихий (Santos et al., 2020). Наряду с этим формируется патогенный потенциал симбиотических *E. coli*, которые становятся источниками вирулент-ассоциированных генов для других микроорганизмов либо впоследствии сами вызывают кишечные или внекишечные инфекции (Chapman et al., 2006; Bélanger et al., 2011).

Широкое применение антибиотиков в сельском хозяйстве приводит к формированию штаммов *E. coli* с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) (Pardon et al., 2017). Литературные данные о связи детерминант патогенности с резистентностью к противомикробным препаратам носят противоречивый характер:

в ряде работ была выявлена корреляция между фенотипической устойчивостью к антибиотикам и наличием отдельных вирулент-ассоциированных генов (Suojala et al., 2010; de Verdier et al., 2012), в других работах она отсутствовала (Bok et al., 2015). В России исследования по встречаемости гибридных и гетеропатогенных штаммов *E. coli*, циркулирующих среди здоровых животных сельскохозяйственных предприятий, не проводились. В связи с этим анализ генетических профилей патогенности и антибиотикорезистентности штаммов *E. coli* – облигатных представителей кишечной микробиоты крупного рогатого скота, важен в отношении как эпизоотического, так и эпидемиологического контроля за эшерихиозами в животноводческих хозяйствах.

Цель настоящей работы – оценить встречаемость 22 вирулент-ассоциированных генов, а также распространенность антибиотикостойчивости и трех генов *bla* различных типов среди штаммов *E. coli*, выделенных от здорового крупного рогатого скота.

Материалы и методы

Исследованные штаммы. Использованы штаммы *E. coli* ($n = 49$) с индивидуальным генетическим профилем (согласно ERIC-ПЦР), выделенные в 2019–2021 гг. на предприятиях промышленного животноводства ($n = 3$) и частных фермерских хозяйствах ($n = 5$) Пермского края из фекалий коров ($n = 31$) и телят от 3 до 13 дней жизни ($n = 18$). Штаммы получены от разных животных голштинской черно-пестрой породы. Сельскохозяйственные предприятия ООО АПК «Красава», ООО «Сергинское» и ООО «Русь» специализируются на разведении молочного крупного рогатого скота и производстве сырого молока. Хозяйственный рацион кормления и условия содержания животных (беспривязный способ) одинаковы и типичны для данных предприятий.

Детекция генов, ассоциированных с вирулентностью. Для получения ДНК петлю бактериальной биомассы инокулировали в 100 мкл сверхчистой воды, 15 мин прогревали при 97 °С в твердотельном термостате «Термит» (Россия), пробы охлаждали, центрифугировали 5 мин при 13 тыс. об/мин. Супернатанты применяли в генетических исследованиях. Методом ПЦР по конечной точке детектировали 22 гена, кодирующих токсины (*hlyA*, *hlyF*, *east1*, *ehxA*, *estI*, *estII*, *eltA*, *stx1*, *stx2*, *cnf1*),

адгезины (*fimH*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *iha*, *flu*), протектины (*ompT*, *kpsMTII*, *iss*), белки систем поглощения железа (*iron*, *iutA*) и белок, специфический для UPEC (*usp*). Использовали праймеры (ООО «Синтол», Москва) и программы по рекомендациям из работ (Charman et al., 2006; Moulin-Schouleur et al., 2007). Амплификацию проводили на термоциклере DNA Engine Dyad Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гель-документации Gel-DocXR (Bio-Rad).

Тестирование чувствительности к противомикробным препаратам. Определение чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам проводили согласно методическим указаниям МУК 4.2.1890-04 и клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ, версия-2018-03). Штаммы были проверены диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера-Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и дисков (НИЦФ, Санкт-Петербург) на чувствительность к пенициллинам (ампициллину, 10 мкг), цефалоспорином (цефоперазону, 75 мкг; цефтриаксону, 30 мкг; цефепиму, 30 мкг), карбапенемам (меропенему, 10 мкг), монобактамам (азтреонаму, 30 мкг), аминогликозидам (амикацину, 30 мкг; гентамицину, 10 мкг), фторхинолонам (ципрофлоксацину, 5 мкг; левофлоксацину, 5 мкг; норфлоксацину, 10 мкг), тетрациклинам (тетрациклину, 30 мкг), фениколам (хлорамфениколу, 30 мкг). Нечувствительность штаммов хотя бы к одному препарату трех и более групп антибиотиков была определена как МЛУ (Magiorakos et al., 2012).

Идентификация генов бета-лактамаз. Детекцию генов, кодирующих бета-лактамазы TEM, SHV и CTX-M типов, осуществляли с помощью ПЦР по конечной точке с использованием праймеров и режимов амплификации, согласно рекомендациям из работ (Ahmed et al., 2007; Aleisa et al., 2013).

Статистический анализ. Сравнение качественных признаков выполняли с применением точного критерия Фишера. Обработку данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Office XP Excel и Statistica 10.0.

Результаты

Молекулярная характеристика популяции *E. coli*

Оценка распространенности генов, ассоциированных с диареогенными патотипами (*east1*, *ehxA*, *estI*, *estIII*, *eltA*, *stx1*, *stx2*), и генов внекишечных патогенных *E. coli* (*fimH*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *flu*, *hlyA*, *hlyF*, *ompT*, *kpsMTII*, *iss*, *iron*, *iutA*, *usp*) показала, что они встречались с разной частотой. Детерминанты *iha* и *cnf1* не обнаружены (табл. 1). У всех штаммов детектирован хотя бы один вирулент-ассоциированный ген. Чаще всего встречались представители *E. coli*, содержащие три (20.4%), четыре (14.3%), пять (20.4%) и шесть (16.3%) генов, в то время как доля эшерихий, имеющих семь и более генов, не превышала 10%. Всего по сочетанию генов, ассоциированных с вирулентностью, выявлено 45 вариантов их комбинаций.

Распространенность генов, ассоциированных с патогенностью DEC. Семнадцать штаммов (34.7%) содержали гены, связанные с патотипами DEC. Среди детерминант, кодирующих токсины, наиболее распространенным был ген энтероагрегативного термостабильного энтеротоксина *east1* (24.5%), который обычно, но не исключительно, ассоциирован с EAEC. Семь штаммов (14.3%) несли гены, связанные с ETEC (*estI*, *estIII*, *eltA*), четыре культуры содержали гены-маркеры STEC *stx1* (2.0%) и *stx2* (6.1%). В четырех случаях был обнаружен *ehxA*, кодирующий энтерогемолизин, который является основным фактором вирулентности EHEC, но также встречается среди представителей прочих диареогенных патотипов (Jiang et al., 2015). Выделен гетеропатогенный штамм, содержащий одновременно гены-маркеры патотипов STEC и ETEC. Следует отметить, что у некоторых эшерихий, определенных как STEC и ETEC, был детектирован ген *east1*. Распределение в изучаемой популяции *E. coli* детерминант, ассоциированных с патотипами DEC, показано на рис. 1.

Распространенность генов, ассоциированных с патогенностью EхPEC. Ген *fimH*, ответственный за уролегиальную адгезию посредством адгезина фимбрий 1-го типа, был самым распространенным (91.8%). Вторым по встречаемости оказался ген афимбриального адгезина *afa/draBC* (61.2%), также достаточно часто детектировали *iutA* (44.9%). Распространенность детерминант *papC*, *sfaDE*, *flu*, *hlyA*, *hlyF*, *ompT*, *kpsMTII*, *iss*, *iron* варьировала от 14.3 до 32.7%. Лишь в одном случае был детектирован ген *usp*.

Более половины штаммов (55.1%) соответствовали критерию классификации EхPEC, согласно (Johnson, Russo, 2005), т.е. содержали два и более из следующих генов: *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *kpsMTII*, *iutA*. Интересно, что восемь штаммов включали хотя бы три из пяти генов (*hlyF*, *iron*, *ompT*, *iss*, *iutA*), которые были предложены T.J. Johnson с коллегами (2008) для определения патотипа APEC, связанного с системным колибактериозом птиц. Один штамм обладал высоким уропатогенным потен-

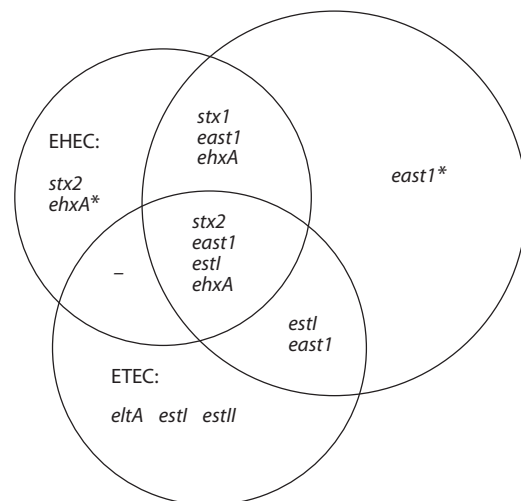


Рис. 1. Варианты распределения генов, ассоциированных с патотипами DEC.

* Ген ассоциирован более чем с одним патотипом.

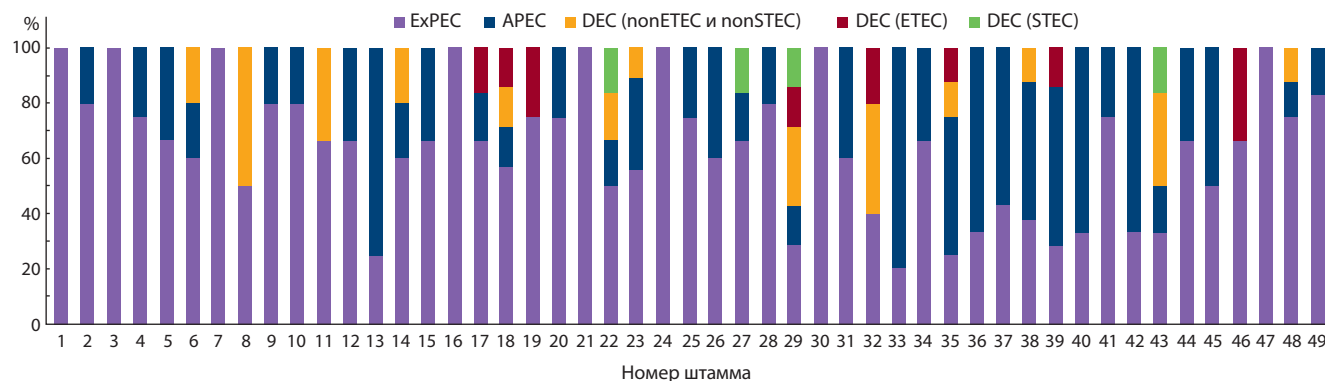


Рис. 2. Соотношение генов, ассоциированных с патотипами АРЕС, STEС, ETEС, прочих генов ExPEC и DEC в штаммах, выделенных от здоровых коров и телят.

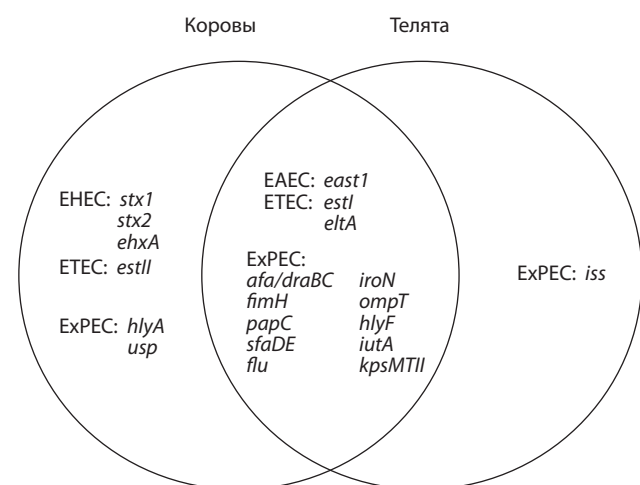


Рис. 3. Распределение детерминант патогенности среди штаммов, изолированных от здоровых коров и телят.

циалом, поскольку содержал ген *usp*, а также гены *hlyA*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, часто обнаруживаемые среди представителей UPEC.

На основании выявленных комбинаций генов определены не только «классические», но и гибридные штаммы. Обнаружено 11 (22.5 %) культур, которые соответствовали критерию ExPEC и включали гены, ассоциированные с патотипами DEC (*estI*, *stx2*, *east1*, *ehxA*). Среди них были гибридные патотипы ExPEC/STEC и ExPEC/ETEC, однако они встречались не более чем в 4.1 % случаев. Соотношение генов, ассоциированных с ExPEC и DEC, детектированных в исследуемой популяции эшерихий, представлено на рис. 2.

Сравнительный анализ распространенности генов вирулентности в субпопуляциях *E. coli*, выделенных от телят и взрослых животных. Между выборками установлены определенные статистические различия в распространенности детерминант патогенности (см. табл. 1). Ген *iss* детектировали только среди эшерихий, выделенных от телят, а гены *stx1*, *stx2*, *ehxA*, *estII*, *hlyA*, *usp* встречались исключительно у коровых штаммов. Ген *ompT* был обнаружен достоверно чаще у *E. coli*, циркулирующих среди телят ($p = 0.03$), в то время как распро-

страненность генов *afa/draBC* ($p = 0.03$) и *iroN* ($p = 0.04$) оказалась выше в субпопуляции *E. coli*, изолированных от взрослых животных. Кроме того, среди последних чаще встречались гены *fimH*, *papC*, *sfaDE*, *estI*, *east1*, *kpsMTII*, но разница не была статистически достоверной (рис. 3).

Характеристика резистентности к антимикробным препаратам штаммов *E. coli*

Доля штаммов, чувствительных ко всем изученным антибиотикам, составила 12.2 %. В популяции наиболее распространенными оказались *E. coli*, резистентные только к одному препарату (36.7 %). Культуры чаще были устойчивы к ампициллину (77.6 %) и тетрациклину (49.0 %) (табл. 2). Нужно отметить, что к меропенему и амикацину были чувствительны все штаммы.

Фенотипом МЛУ обладали 16 культур (32.7 %), при этом три штамма были не чувствительны хотя бы к одному препарату из пяти и более групп антибиотиков. Из 14 определенных фенотипических профилей антибиотикорезистентности семь были уникальными (не повторялись более одного раза). Чаще всего встречались штаммы с фенотипом устойчивости к ампициллину (32.7 %), ампициллину и тетрациклину (12.3 %), а также ампициллину, тетрациклину и хлорамфениколу (10.2 %).

Распространенность генов резистентности к бета-лактамам. Тридцать восемь штаммов *E. coli* (77.6 %) были устойчивы хотя бы к одному препарату из группы бета-лактамов антибиотиков. Эти штаммы были протестированы на присутствие генов бета-лактамаз. Специфическая амплификация к bla_{TEM} выявлена в 100 % случаев, к bla_{SHV} – 31.6 %, к bla_{CTX-M} – 26.3 %.

Сравнительный анализ распространенности лекарственной устойчивости в субпопуляциях *E. coli*, выделенных от телят и взрослых животных. Штаммы, резистентные к гентамицину и норфлоксацину, были обнаружены только среди эшерихий, полученных от телят. В этой же выборке встречаемость представителей *E. coli*, не чувствительных к тетрациклину и хлорамфениколу, а также обладающих фенотипом МЛУ, оказалась значимо выше ($p < 0.01$). Доля штаммов, резистентных к прочим антимикробным агентам, также была больше в группе телят, хотя различия не были статистически достоверными (см. табл. 2).

Таблица 1. Встречаемость вирулент-ассоциированных генов среди штаммов *E. coli*, изолированных от здоровых животных

Фактор вирулентности	Ген	Патотип	Встречаемость, %		
			Коровы	Телята	Все животные
Факторы адгезии					
Адгезин бифункционального энтеробактериального рецептора	<i>iha</i>	EHEC	0	0	0
Антиген Ag43а	<i>flu</i>	ExPEC	25.8	44.4	32.7
Антигенсвязывающий адгезин	<i>afa/draBC</i>	ExPEC	74.2	39.8*	61.2
Фимбрии 1-го типа	<i>fimH</i>	ExPEC	96.8	83.3	91.8
P-фимбрии	<i>papC</i>	ExPEC	22.6	16.7	20.4
S-фимбрии	<i>sfaDE</i>	ExPEC	32.3	27.8	30.6
Токсины					
Гемолизин А	<i>hlyA</i>	ExPEC	29.0	0	18.4
Гемолизин F	<i>hlyF</i>	ExPEC	19.4	30.0	30.6
Термолабильный энтеротоксин	<i>eltA</i>	EPEC	3.2	3.6	4.1
Термостабильный энтеротоксин а	<i>est1</i>	EPEC	12.9	5.6	10.2
Термостабильный энтеротоксин b	<i>estII</i>	EPEC	3.2	0	2.0
Цитотоксический некротический фактор	<i>cnf1</i>	ExPEC	0	0	0
Шига-подобный токсин 1-го типа	<i>stx1</i>	STEC	3.2	0	2.0
Шига-подобный токсин 2-го типа	<i>stx2</i>	STEC	9.7	0	6.1
Энтероагрегативный термостабильный энтеротоксин	<i>east1</i>	EAEC	22.6	27.8	24.5
Энтерогемолизин	<i>ehxA</i>	EPEC, EHEC	12.9	0	8.2
Факторы, обеспечивающие поглощение железа					
Катехолатный сидерофор	<i>iroN</i>	ExPEC	32.3	5.6	22.4
Рецептор сидерофора аэробактерина	<i>iutA</i>	ExPEC	25.8	77.8	44.9
Протектины					
Белок резистентности к сыворотке	<i>iss</i>	ExPEC	0	38.9	14.3
Капсульный антиген II группы	<i>kpsMTII</i>	ExPEC	22.6	11.1	18.4
Протеаза наружной мембраны	<i>ompT</i>	ExPEC	9.7	39.8*	20.4
Прочие факторы					
Белок, специфичный для UPEC	<i>usp</i>	ExPEC	3.2	0	2.0

* Разница между выборками статистически значима, $p \leq 0.05$.

Связь между факторами вирулентности и устойчивостью к противомикробным препаратам

В группе штаммов с фенотипом МЛЮ чаще наблюдались *E. coli*, содержащие пять и более генов патогенности ($p = 0.04$), также вероятность встретить гены *hlyA*, *iss*, *iutA* в этой группе была выше, чем среди эшерихий без фенотипа МЛЮ ($p \leq 0.05$). В выборке штаммов, у которых было детектировано пять и более генов патогенности, доля эшерихий, резистентных к пяти и более антимикробным агентам, была значимо выше ($p = 0.04$). Следует отметить, что среди *E. coli* с фенотипом МЛЮ встречались эшерихии, содержащие гены-маркеры *estI*, *eltA* (EPEC), *stx1* (STEC), а также шесть штаммов, идентифицированных как APEC.

Обсуждение

Штаммы *E. coli*, циркулирующие в условиях сельскохозяйственных предприятий, могут представлять существенную опасность для здоровья людей (Bélangier et al., 2011; Manges et al., 2016). С одной стороны, выявлена воз-

можность трансмиссии патогенных культур *E. coli* через продукты питания, в том числе мясо крупного рогатого скота (Vincent et al., 2010). С другой стороны, наличие у представителей *E. coli*, вызывающих заболевания человека, и *E. coli* животного происхождения сходных филогрупп, серотипов и генетических детерминант патогенности позволяет предположить, что животные могут быть резервуаром условно-патогенных эшерихий, а также возбудителей зоонозных инфекций (Tivendale et al., 2010; Mora et al., 2013). Например, сельскохозяйственные животные служат основным естественным резервуаром и источником STEC-штаммов, вызывающих геморрагический колит у людей (Онищенко и др., 2015).

Наличие определенных факторов вирулентности у возбудителя обуславливает проявление клинической симптоматики кишечных и внекишечных инфекций, вызванных эшерихиями, соответствующих патогрупп – DEC и ExPEC (Chapman et al., 2006; Dale, Woodford, 2015). Согласно литературным данным, эти штаммы могут циркулировать среди аутофлоры здоровых животных, не имеющих

Таблица 2. Распространенность устойчивости к антибиотикам

Группа антибиотиков	Антимикробный агент	Устойчивые штаммы, %		
		Коровы	Телята	Все животные
Пенициллины	Ампициллин	71.0	88.9	77.6
Цефалоспорины	Цефоперазон	12.9	22.2	16.3
	Цефтриаксон	12.9	22.2	16.3
	Цефепим	9.7	22.2	14.3
Монобактамы	Азтреонам	12.9	22.2	16.3
Карбапенемы	Меропенем	0	0	0
Аминогликозиды	Гентамицин	0	5.6	2.0
	Амикацин	0	0	0
Фторхинолоны	Левифлоксацин	3.2	11.1	6.1
	Норфлоксацин	0	27.8	10.2
	Ципрофлоксацин	3.2	22.2	10.2
Тетрациклины	Тетрациклин	22.6	94.4*	49.0
Фениколы	Хлорамфеникол	3.2	50*	20.4

* Разница между выборками статистически значима, $p \leq 0.05$.

выраженных симптомов заболевания, кроме того, в геномах комменсальных эшерихий могут присутствовать некоторые вирулент-ассоциированные гены (Orden et al., 2002; Ewers et al., 2009, 2021; Bok et al., 2015). Наши исследования показали, что штаммы *E. coli*, выделенные от здорового крупного рогатого скота, характеризовались высоким уровнем генетического разнообразия и содержали детерминанты патогенности, ассоциированные с патотипами DEC и ExPEC. Наиболее часто встречались штаммы ExPEC (55.1 %), также были обнаружены эшерихии, содержащие гены-маркеры диареогенных патотипов EHEC (в том числе STEC в 8.1 % случаев) и ETEC (14.3 %). Сходные данные представлены в работе J.A. Orden с коллегами: среди штаммов, полученных от здорового крупного рогатого скота, встречались представители STEC, EPEC и NTEC с частотами 8.7, 8.2 и 9.9 % соответственно (Orden et al., 2002). Тогда как распространенность штаммов *E. coli* патотипов ETEC и STEC, выделенных от коров молочного стада в Китае, составила только 4.29 и 1.98 % (Huasai et al., 2012). Нужно отметить, что в нашей выборке отдельные гены патогенности детектировались с достаточно высокой частотой (*fimH* – 91.8 %; *afa/draBC* – 61.2 %; *iutA* – 44.9 %; *sfaDE* – 30.6 %). В работе (Pereira et al., 2011) показано, что гены *fimH* и *iutA* встречались среди *E. coli*, изолированных от здоровых телят, чаще – в 100 и 86.9 % случаев соответственно, тогда как гены *sfaDE* и *afa/draBC* обнаруживались реже – у 4.9 и 1.6 % культур.

При сравнении распространенности детерминант патогенности у штаммов, циркулирующих среди здорового крупного рогатого скота предприятий России и Словении, было установлено, что представители выборки из Словении обладали меньшим патогенным потенциалом, так как встречаемость генов оказалась значительно ниже: *fimH* – 65.2 %, *hlyA* – 9.0 %, *stx2*, *ompT* и *kpsMT* – 3.4 %, *usp* – 1.1 %, а гены *sfaDE*, *iroN*, *cnf1* не были найдены вообще (данные не представлены).

В последнее время все больше исследователей отмечают, что гены патогенности, связанные либо с ExPEC, либо с DEC, выявляются среди *E. coli*, отнесенных к патотипам, с которыми они традиционно не ассоциировались (Santos et al., 2020; Ewers et al., 2021). Такие штаммы могут стать причиной тяжелых инфекционных заболеваний как сельскохозяйственных животных, так и людей. В 2011 г. в Германии была зафиксирована вспышка пищевого отравления, вызванная гетеропатогенным штаммом *E. coli* O104:H4 с редкой комбинацией вирулентных генов (*stx2* и *aatA*, *aggR*, *aap*, *aggA*, *aggC*), характерных для двух разных групп диареогенных эшерихий – STEC и EAEC (Bielaszewska et al., 2011). Сообщается, что гетеропатогенные штаммы могут быть выделены от животных и из продуктов питания (Cheng et al., 2006; Monday et al., 2006).

В изучаемой выборке были найдены штаммы, включающие гены *stx1*, *stx2* и ген энтероагрегативного термостабильного энтеротоксина *east1*, который часто встречается у представителей EAEC. Однако для определения этого патотипа необходимы выявление дополнительных детерминант, а также фенотипические исследования (Boisen et al., 2020). Гибриды ExPEC/STEC также являются патогенами высокого риска, поскольку вызывают одновременно диарею и внекишечную инфекцию. Частота встречаемости подобных вариантов невысока, тем не менее нами были обнаружены гибридные и гетеропатогенные штаммы в 2.0 и 4.1 % случаев соответственно.

Профили генов патогенности штаммов *E. coli*, циркулирующих среди здоровых коров и телят, имеют специфические отличия. Встречаемость большинства генов (за исключением *ompT*, *hlyF*, *iutA*) оказалась выше среди *E. coli*, изолированных от взрослых животных, более того, детерминанты патогенности *stx1*, *stx2*, *ehxA*, *estII*, ассоциированные с DEC, были детектированы исключительно в данной выборке. Интересно, что среди *E. coli*, выделенных от телят от 3 до 13 дней жизни, чаще были детектированы детерминанты *ompT*, *hlyF*, *iutA*, *iss*. Таким

образом, высоким диареогенным потенциалом обладали эшерихии, обитающие в кишечнике здоровых коров, тогда как детерминанты ExPEC были распространены в обеих выборках, с той разницей, что у эшерихий, изолированных от телят, чаще встречались гены, ассоциированные с внекишечным патотипом АРЕС. Возможно, эти отличия связаны с тем, что бактерии патогрупп DEС могут персистировать в кишечнике взрослых особей, не вызывая активной инфекции, поскольку «зрелый» микробиом обеспечивает колонизационную резистентность, тогда как телята более уязвимы к DEС, которые часто становятся причиной диареи и гибели молодняка в первые дни жизни (Bashahun, Amina, 2017). Кроме того, естественный иммунитет, сформированный у переболевших ранее взрослых животных, а также поствакцинальный иммунитет обеспечивают толерантность к большей части патогенных эшерихий.

На сельское хозяйство приходится до 70 % потребления противомикробных препаратов, поэтому продуктивные животные служат основной ареной возникновения бактериальной антибиотикоустойчивости и появления штаммов со множественной резистентностью (Berge et al., 2009; Pereira et al., 2011; Okello et al., 2021). Показано, что среди изолятов *E. coli*, выделенных от животных сельскохозяйственных предприятий, более половины имели фенотип МЛУ¹.

Существенные различия в распространенности антибиотикорезистентных микроорганизмов, циркулирующих в животноводческих хозяйствах разных стран, могут быть обусловлены особенностями условий содержания животных и применением антимикробных препаратов, что определяет целесообразность сравнительного изучения путей передачи и механизмов приобретения устойчивости к антибиотикам.

Для лечения и профилактики инфекционных заболеваний крупного рогатого скота в ветеринарии наиболее широко используются бета-лактамы антибиотики и препараты тетрациклинового ряда (Berge et al., 2009; Pereira et al., 2011). Особое значение имеет растущая устойчивость микроорганизмов к цефалоспорином расширенного спектра действия (третьего и четвертого поколений), поскольку эта группа препаратов входит в список антибиотиков, критически важных для медицины². По данным нашего исследования, выделенные от здоровых коров и телят штаммы с фенотипом МЛУ встречались с достаточно высокой частотой (32.7 %). В изучаемой выборке 77.6 % культур были устойчивы хотя бы к одному антимикробному агенту группы бета-лактамы антибиотиков (16.3 % – к цефоперазону и цефтриаксону, 49 % – к тетрациклину, 20.4 % – к хлорамфениколу). Эти данные значительно превышают показатели, полученные В.Р. Madoshi с коллегами (2016), согласно которым доля штаммов, изолированных от здорового крупного рогатого скота и устойчивых к ампициллину, тетрациклину и хлорамфениколу, составила соответственно 21.3, 33.1

и 4.4 %. К цефотаксиму устойчивыми оказались только 3.7 % культур (Madoshi et al., 2016). Еще более низкую устойчивость к цефалоспорином (1.5 %) продемонстрировали штаммы эшерихий, выделенные из фекалий крупного рогатого скота на сельскохозяйственных предприятиях Японии (Sato et al., 2014).

Производство бета-лактамаз – один из основных механизмов устойчивости к бета-лактамам антибиотикам. У исследуемых нами штаммов, резистентных хотя бы к одному агенту из этой группы антимикробных препаратов, обнаружены гены и комбинации генов бета-лактамаз семейств TEM, SHV и CTX-M. Этот факт может быть связан с широким использованием бета-лактамы антибиотиков на предприятиях Пермского края, однако было выявлено, что даже среди культур, выделенных от крупного рогатого скота на фермах, где антибиотики применялись редко, встречаемость *bla*_{CTX-M} колебалась от 2.3 до 25.0 % (Lee et al., 2020). Тем не менее следует обратить внимание на высокую встречаемость в штаммах *E. coli* детерминант, кодирующих бета-лактамазы, плазмидная локализация которых может способствовать эффективному распространению антибиотикоустойчивости внутри микробной популяции путем горизонтального переноса.

Согласно нашим данным, в целом устойчивость к антимикробным агентам была чаще распространена в субпопуляции эшерихий, выделенных от телят, чем среди *E. coli*, изолированных от взрослых животных. Наибольшие различия наблюдались в отношении тетрациклина (94.4 против 22.6 %) и хлорамфеникола (50.0 против 3.2 % устойчивых штаммов от телят и коров соответственно). Возможно, это связано с добавлением в корм телят именно этих препаратов в течение продолжительного периода, поскольку известно, что антибиотики часто добавляют в молоко или заменители молока с целью профилактики заболеваний и лечения диареи – основной причины смертности телят до отъема (Berge et al., 2009; de Campos et al., 2021; Okello et al., 2021).

Известно, что фенотип резистентности бактерий, циркулирующих среди телят, в основном является следствием использования противомикробных препаратов на конкретных предприятиях (DeFrancesco et al., 2004; Sato et al., 2005). Большое значение для профилактики и лечения стрептококковых и стафилококковых инфекций у телят имеют антибиотики аминогликозидной группы – неомидин и гентамицин³. Это может объяснить то, что штаммы *E. coli*, устойчивые к гентамицину и норфлоксацину, были обнаружены только среди эшерихий, полученных от телят.

Заключение

Микробиологический мониторинг патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения, осуществляется в настоящее время на всех предприятиях РФ. Важность контроля обусловлена тем, что бактерии циркулируют в стаде длительное время, перемещаясь среди животных всех возрастов. Это

¹ Забровская А.В. Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации: Дис. ... д-ра вет. наук. Санкт-Петербург, 2019. 323 с.
² Antibiotics in Animal Farming. Public Health and Animal Welfare, 2011.

³ Есауленко Н.Н. Эффективность использования пробиотика «Споротермин» в рационах для телок: Дис. ... канд. с.-х. наук. Краснодар, 2015. 118 с.

представляет риск как для самих животных, так и для персонала сельскохозяйственных предприятий.

В нашей работе впервые представлены данные о распространенности вирулент-ассоциированных генов, а также встречаемости гибридных и гетеропатогенных штаммов *E. coli*, циркулирующих среди здоровых животных на сельскохозяйственных предприятиях европейской части России (Пермский край). Кроме того, проанализирована связь между патогенным потенциалом эшерихий и их антибиотикоустойчивостью. Еще одним важным аспектом в этой работе является сравнительный анализ биологических свойств штаммов *E. coli*, изолированных от разных возрастных групп животных – коров и телят.

Проведенные исследования показали, что штаммы *E. coli*, циркулирующие среди здоровых животных на фермах и предприятиях животноводства, характеризовались высоким гетеропатогенным потенциалом. В рассматриваемой популяции эшерихий были распространены представители DEC (в том числе STEC и ETEC), которые могут стать причиной острых кишечных инфекций, а также ExPEC, обуславливающие внекишечные инфекции. Кроме того, были обнаружены гибридные эквары, сочетающие гены, ассоциированные с разными патотипами *E. coli*. Культуры с фенотипом МЛЮ обладали высоким патогенным потенциалом, поскольку чаще содержали более пяти вирулент-ассоциированных генов. Эшерихии, выделенные от коров, демонстрировали более высокий диареогенный потенциал, а *E. coli*, изолированные от телят, чаще содержали гены, ассоциированные с патотипом ExPEC. Последние в целом проявляли большую устойчивость к антимикробным агентам, чем *E. coli*, изолированные от взрослых животных.

Полученные данные о молекулярных свойствах представителей кишечной микробиоты здорового крупного рогатого скота позволяют оценить их эпизоотическую значимость и могут служить основой для формирования системы мониторинга колибактериоза на сельскохозяйственных предприятиях.

Список литературы / References

Онищенко Г.Г., Дятлов И.А., Светоч Э.А., Воложанцев Н.В., Баннов В.А., Карцев Н.Н., ... Бушманова О.Н., Сталевская А.В., Чхинджерия И.Г., Жебрун А.Б. Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсинпродуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 году. *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* 2015;70(1):70-81. DOI 10.15690/vramn.v70i1.1234.
[Onishchenko G.G., Dyatlov I.A., Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Bannov V.A., Kartsev N.N., ... Bushmanova O.N., Stalevskaya A.V., Tekhinjeriya I.G., Zhebrun A.B. Molecular-genetic characterization of shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated during a food-borne outbreak in St. Petersburg in 2013. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(1):70-81. DOI 10.15690/vramn.v70i1.1234. (in Russian)]
Ahmed A.M., Motoi Y., Sato M., Maruyama A., Watanabe H., Fukumoto Y., Shimamoto T. Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007;73(20):6686-6690. DOI 10.1128/AEM.01054-07.
Aleisa A.M., Ashgan M.H., Alnasserallah A.A., Mahmoud M.H., Moussa I.M. Molecular detection of β -lactamases and aminoglycoside resistance genes among *Escherichia coli* isolates recovered

from medicinal plant. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2013;7(20):2305-2310. DOI 10.5897/AJMR12.1965.
Allocati N., Masulli M., Alexeyev M.F., Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013;10(12):6235-6254. DOI 10.3390/ijerph10126235.
Bashahun G.M., Amina A. Colibacillosis in calves: A review of literature. *J. Anim. Sci. Vet. Med.* 2017;2(3):62-71. DOI 10.31248/JASVM2017.041.
Bélangier L., Garenaux A., Harel J., Boulianne M., Nadeau E., Dozois C.M. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011;62(1):1-10. DOI 10.1111/j.1574-695X.2011.00797.x.
Berge A.C., Moore D.A., Besser T.E., Sisco W.M. Targeting therapy to minimize antimicrobial use in preweaned calves: effects on health, growth, and treatment costs. *J. Dairy Sci.* 2009;92(9):4707-4714. DOI 10.3168/jds.2009-2199.
Bielaszewska M., Mellmann A., Zhang W., Köck R., Fruth A., Bauwens A., Peters G., Karch H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect. Dis.* 2011;11(9):671-676. DOI 10.1016/S1473-3099(11)70165-7.
Boisen N., Østerlund M.T., Joensen K.G., Santiago A.E., Mandomando I., Cravioto A., Chattaway M.A., Gonyar L.A., Overballe-Petersen S., Stine O.C., Rasko D.A., Scheutz F., Nataro J.P. Redefining enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): Genomic characterization of epidemiological EAEC strains. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020;14(9):e0008613. DOI 10.1371/journal.pntd.0008613.
Bok E., Mazurek J., Stosik M., Wojciech M., Baldy-Chudzick K. Prevalence of virulence determinants and antimicrobial resistance among commensal *Escherichia coli* derived from dairy and beef cattle. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2015;12(1):970-985. DOI 10.3390/ijerph120100970.
Chapman T.A., Wu X.-Y., Barchia I., Bettelheim K.A., Driesen S., Trott D., Wilson M., Chin J.J.-C. Comparison of virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains isolated from healthy and diarrhetic swine. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72(7):4782-4795. DOI 10.1128/AEM.02885-05.
Cheng D., Sun H., Xu J., Gao S. PCR detection of virulence factor genes in *Escherichia coli* isolates from weaned piglets with edema disease and/or diarrhea in China. *Vet. Microbiol.* 2006;115(4):320-328. DOI 10.1016/j.vetmic.2006.02.013.
Dale A.P., Woodford N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. *J. Infect.* 2015;71(6):615-626. DOI 10.1016/j.jinf.2015.09.009.
de Campos J.L., Kates A., Steinberger A., Sethi A., Suen G., Shutske J., Safdar N., Goldberg T., Ruegg P.L. Quantification of antimicrobial usage in adult cows and preweaned calves on 40 large Wisconsin dairy farms using dose-based and mass-based metrics. *J. Dairy Sci.* 2021;104(4):4727-4745. DOI 10.3168/jds.2020-19315.
de Verdier K., Nyman A., Greko C., Bengtsson B. Antimicrobial resistance and virulence factors in *Escherichia coli* from Swedish dairy calves. *Acta Vet. Scand.* 2012;54(1):2. DOI 10.1186/1751-0147-54-2.
DeFrancesco K.A., Cobbold R.N., Rice D.H., Besser T.E., Hancock D.D. Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from dairy cattle associated with recent multi-resistant salmonellosis outbreaks. *Vet. Microbiol.* 2004;98(1):55-61. DOI 10.1016/j.vetmic.2003.10.017.
Ewers C., Antao E.M., Diehl I., Philipp H.C., Wieler L.H. Intestine and environment of the chicken as reservoirs for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains with zoonotic potential. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75(1):184-192. DOI 10.1128/AEM.01324-08.
Ewers C., de Jong A., Prenger-Berninghoff E., Garch F.E., Leidner U., Tiwari S.K., Semmler T. Genomic diversity and virulence potential of ESBL- and AmpC- β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains from healthy food animals across Europe. *Front. Microbiol.* 2021;12:626774. DOI 10.3389/fmicb.2021.626774.

- Huasai S., Chen A., Wang C.-J., Li Y., Tongrige B. Occurrence and characteristics of virulence genes of *Escherichia coli* strains isolated from healthy dairy cows in Inner Mongolia, China. *Braz. J. Microbiol.* 2012;43(2):528-534. DOI 10.1590/S1517-83822012000 200013.
- Jiang C., An T., Wang S., Wang G., Si W., Tu Y., Liu Y., Wu J., Liu S., Cai X. Role of the *ehxA* gene from *Escherichia coli* serotype O82 in hemolysis, biofilm formation, and *in vivo* virulence. *Can. J. Microbiol.* 2015;61(5):335-341. DOI 10.1139/cjm-2014-0824.
- Johnson J.R., Russo T.A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005;295(6-7):383-404. DOI 10.1016/j.ijmm.2005.07.005.
- Johnson T.J., Wannemuehler Y., Doetkott C., Johnson S.J., Rosenberger S.C., Nolan L.K. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *J. Clin. Microbiol.* 2008;46(12):3987-3996. DOI 10.1128/JCM.00816-08.
- Lee S., Teng L., DiLorenzo N., Weppelmann T.A., Jeong K.C. Prevalence and molecular characteristics of extended-spectrum and AmpC β -lactamase producing *Escherichia coli* in grazing beef cattle. *Front. Microbiol.* 2020;10:3076. DOI 10.3389/fmicb.2019.03076.
- Madoshi B.P., Kudirkiene E., Mtambo M.M., Muhairwa A.P., Lupindu A.M., Olsen J.E. Characterisation of commensal *Escherichia coli* isolated from apparently healthy cattle and their attendants in Tanzania. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168160. DOI 10.1371/journal.pone.0168160.
- Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatoopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012;18(3):268-281. DOI 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- Manges A.R. *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016;22(2):122-129. DOI 10.1016/j.cmi.2015.11.010.
- Monday S.R., Keys C., Hanson P., Shen Y., Whittam T.S., Feng P. Produce isolates of the *Escherichia coli* Ont:H52 serotype that carry both Shiga toxin 1 and stable toxin genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72(4):3062-3065. DOI 10.1128/AEM.72.4.3062-3065.2006.
- Mora A., Viso S., López C., Alonso M.P., García-Garrote F., Dabhi G., Mamani R., Herrera A., Marzoa J., Blanco M., Blanco J.E., Moulin-Schouleur M., Schouler C., Blanco J. Poultry as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O45:K1:H7-B2-ST95 in humans. *Vet. Microbiol.* 2013;167(3-4):506-512. DOI 10.1016/j.vetmic.2013.08.007.
- Moulin-Schouleur M., Répérant M., Laurent S., Brée A., Mignon-Grasteau S., Germon P., Rasschaert D., Schouler C. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. *J. Clin. Microbiol.* 2007;45(10):3366-3376. DOI 10.1128/JCM.00037-07.
- Okello E., Williams D.R., ElAshmawy W.R., Adams J., Pereira R.V., Lehenbauer T.W., Aly S.S. Survey on antimicrobial drug use practices in California preweaned dairy calves. *Front. Vet. Sci.* 2021;8:636670. DOI 10.3389/fvets.2021.636670.
- Oporto B., Oejo M., Alkorta M., Marimón T., Montes M., Hurtado A. Zoonotic approach to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: integrated analysis of virulence and antimicrobial resistance in ruminants and humans. *Epidemiol. Infect.* 2019;147:e164. DOI 10.1017/S0950268819000566.
- Orden J.A., Cid D., Ruiz-Santa-Quiteria J.A., García S., Martínez S., de la Fuente R. Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and necrotogenic *E. coli* (NTEC) isolated from healthy cattle in Spain. *J. Appl. Microbiol.* 2002;93(1):29-35. DOI 10.1046/j.1365-2672.2002.01649.x.
- Pardon B., Smet A., Butaye P., Argudín M.A., Valgaeren B., Catry B., Haesebrouck F., Deprez P. Nosocomial intravascular catheter infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in calves after strain introduction from a commercial herd. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017;64(1):130-136. DOI 10.1111/tbed.12352.
- Pereira R.V., Santos T.M., Bicalho M.L., Caixeta L.S., Machado V.S., Bicalho R.C. Antimicrobial resistance and prevalence of virulence factor genes in fecal *Escherichia coli* of Holstein calves fed milk with and without antimicrobials. *J. Dairy Sci.* 2011;94(9):4556-4565. DOI 10.3168/jds.2011-4337.
- Santos A.C.M., Santos F.F., Silva R.M., Gomes T.A.T. Diversity of hybrid- and hetero-pathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020;10:339. DOI 10.3389/fcimb.2020.00339.
- Sato K., Bartlett P.C., Saeed M.A. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from dairy farms using organic versus conventional production methods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005;226(4): 589-594. DOI 10.2460/javma.2005.226.589.
- Sato T., Okubo T., Usui M., Yokota S., Izumiyama S., Tamura Y. Association of veterinary third-generation cephalosporin use with the risk of emergence of extended-spectrum-cephalosporin resistance in *Escherichia coli* from dairy cattle in Japan. *PLoS One.* 2014;9(4): e96101. DOI 10.1371/journal.pone.0096101.
- Suojala L., Pohjanvirta T., Simojoki H., Myllyniemi A.L., Pitkala A., Pelkonen S., Pyorala S. Phylogeny, virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated in clinical bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 2010;147(3-4):383-388. DOI 10.1016/j.vetmic.2010.07.011.
- Tivendale K.A., Logue C.M., Kariyawasam S., Jordan D., Hussein A., Li G., Wannemuehler Y., Nolan L.K. Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. *Infect. Immun.* 2010;78(8):3412-3419. DOI 10.1128/IAI.00347-10.
- Vila J., Sáez-López E., Johnson J.R., Römmling U., Dobrindt U., Cantón R., Giske C.G., Naas T., Carattoli A., Martínez-Medina M. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol. Rev.* 2016;40(4):437-463. DOI 10.1093/femsre/fuw005.
- Vincent C., Boerlin P., Daignault D., Dozois C.M., Dutil L., Galanakis C., Reid-Smith R.J., Tellier P.P., Tellis P.A., Ziebell K., Manges A.R. Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16(1):88-95. DOI 10.3201/eid1601.091118.

ORCID ID

V.S. Mihailovskaya orcid.org/0000-0002-4264-8177
I.N. Zhdanova orcid.org/0000-0002-0260-6917
M. Starčić Erjavec orcid.org/0000-0003-0200-573X
M.V. Kuznetsova orcid.org/0000-0003-2448-4823

Благодарности. Работа выполнена при поддержке правительства Пермского края по проекту № С-26/541 и государственному заданию АААА-А19-119112290009-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 30.03.2022. После доработки 07.05.2022. Принята к публикации 12.05.2022.