СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2022, том 57, № 4, с. 776-790

УДК 636.2:619:579.62:579.842.11 doi: 10.15389/agrobiology.2022.4.776rus

КОЛИБАКТЕРИОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ПЕРМСКОМ КРАЕ: РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, ИСТОЧНИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ*

И.Н. ЖДАНОВА[1], В.В. МОКРУШИН[2], М.В. КУЗНЕЦОВА[3] ✉

Инфекционные заболевания в животноводческих хозяйствах Российской Федерации ежегодно регистрируются у 50 % поголовья, при этом падеж молодняка в первые недели жизни составляет от 14 до 60 %. Колибактериоз по заболеваемости и летальности, несмотря на широкое использование современных антибиотиков и вакцин, остается основной инфекционной патологией животных. В настоящей работе для оценки распространенности колибактериоза среди крупного рогатого скота на сельскохозяйственных предприятиях в Пермском крае и выявления источника возбудителя инфекции впервые применен комплексный подход (больные животные—здоровые животные—окружающая среда), что имеет теоретическое значение, углубляя понимание закономерностей эпизоотического процесса при этом заболевании. Важным практическим аспектом работы стал анализ данных многолетних санитарно-зоогигиенических исследований, результаты которых свидетельствуют, что внутрихозяйственный контроль риска заражения животных и персонала предприятий диареегенными эшерихиями должен распространяться не только на естественный резервуар, но и на окружающую среду. Цель исследования — оценить распространенность колибактериоза крупного рогатого скота в хозяйствах Пермского края и описать биологические свойства возбудителя. Для осуществления контроля обсемененности эшерихиями оборудования, кормов и системы поения в животноводческих хозяйствах был проведен анализ данных санитарно-зоогигиенических исследований. Изучение динамики заболеваемости крупного рогатого скота бактериальными инфекциями проводили на основании отчетности Пермского ветеринарного диагностического центра, отдела животноводства Министерства сельского хозяйства Пермского края за 2010-2020 годы, статистических данных Департамента ветеринарии Пермского края и лабораторных журналов. В отчетность вошли результаты бактериологического исследования (22480 проб), взятых на предприятиях мясного и молочного животноводства всех категорий (*n* = 146). Санитарно-зоогигиенические исследования (29207 проб) проводили на этих же предприятиях. В динамике анализировали смывы с молочного оборудования, инвентаря боенских предприятий, исследовали корма растительного и животного происхождения, комбикорма. Бактериологическое исследование проводили согласно «Методическим указаниям по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных» (М., 2000). Изучали антигенную структуру выделенных штаммов *Escherichia coli*. Чувствительность штаммов к антибактериальным препаратам определяли согласно МУК 4.2.1890-04. Штаммы были проверены диско-диффузионным методом на чувствительность к ампициллину (10 мкг), цефокситину (30 мкг), цефтриаксону (30 мкг), цефепиму (30 мкг), меропенему (10 мкг), имипенему (10 мкг), азтреонаму (30 мкг), амикацину (30 мкг), гентамицину (10 мкг), ципрофлоксацину (5 мкг), левофлоксацину (5 мкг) моксифлоксацину (5 мкг), тетрациклину (30 мкг), хлорамфениколу (30 мкг). В проспективном исследовании (2020-2021 годы) оценивали распространенность штаммов *E. coli*, продуцирующих шига-токсин (STEC), в популяции здоровых животных. Культуры (*n* = 61) были выделены на предприятиях промышленного животноводства Пермского края из фекалий КРС. Гены шига-токсина (*stx1* и *stx2*) детектировали с помощью полимеразной цепной реакции по конечной точке. Результаты проведенных исследований показали, что в Пермском крае в 2010-2020 годы эпизоотическая ситуация по колибактериозу телят была достаточно благоприятной: его доля среди всех бактериальных инфекций не превышала 20 %. Отмечено увеличение числа регистраций павших и больных животных с диарейным синдромом на фоне снижения иммунизации стельных коров. Эпизоотический процесс характеризовался наличием спорадических заболеваний, при этом отмечался высокий риск передачи возбудителя инфекции горизонтальным путем, в том числе через объекты внешней среды. Наиболее часто эшерихий выделяли из смывов с молочного оборудования и инвентаря боенских предприятий, а также выявляли в комбикормах. Мы идентифицировали пять наиболее эпизоотически значимых серогрупп — O8, O15, O20, O101, O115, в единичных случаях были выявлены *E. coli* O157. Профили антибиотикоустойчивости штаммов *E. coli*, выделенных от больных, павших (первая группа) и здоровых животных (вторая группа), существенно не различались, за исключением достоверно повышенной резистентности к тетрациклину и хлорамфениколу у эшерихий от первой группы животных. У здорового крупного рогатого скота в субпопуляции эшерихий следует отметить более высокий удельный вес культур, резистентных к ампициллину и ципрофлоксацину. Кроме того, у эшерихий

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-26/541.

от здоровых животных были детектированы гены *stx1* (2,0 %) и *stx2* (6,1 %), то есть наши исследования подтверждают, что возбудители инфекционных заболеваний могут быть выделены из желудочно-кишечного тракта не только больных, но и здоровых сельскохозяйственных животных, которые становятся источником STEC. Дополнительными источниками заражения крупного рогатого скота эшерихиями, в том числе STEC-штаммами, на фермах служит питьевая вода, корма и другие абиотические компоненты экологической системы.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, колибактериоз, *Escherichia coli*, шига-подобный токсин, контаминация, объекты внутрихозяйственной среды.

Одна из приоритетных задач агропромышленного комплекса Российской Федерации — обеспечение населения экологически чистой мясной и молочной продукцией (1, 2). С этой целью в животноводческих хозяйствах активно применяются современные промышленные технологии, которые, однако, имеют ряд недостатков. Круглогодичное стойловое содержание, высокая концентрация поголовья на ограниченных площадях, отсутствие выгулов и инсоляции приводят к повышению функциональной нагрузки на организм животного и, как следствие, к росту заболеваемости, особенно инфекционной природы (3-5). В результате увеличивается число мертворожденных и нежизнеспособных телят, что наносит огромный экономический ущерб, который связан не только гибелью потомства, но и со снижением продуктивности, перерасходом кормов и значительными затратами на лечение (6, 7). Заболевания желудочно-кишечного тракта по массовости и экономическому ущербу наиболее значимы.

Инфекции желудочно-кишечного тракта в животноводческих хозяйствах России ежегодно регистрируется у 50 % поголовья, при этом падеж молодняка в первые недели жизни составляет от 14 до 60 % (8). У новорожденных телят на болезни органов пищеварения, сопровождающиеся диарейным симптомокомплексом, приходится 60-70 % патологий. Колибактериоз по числу случаев и летальности, несмотря на широкое использование современных антибиотиков и вакцин, остается основной инфекцией у животных. Это острое заболевание, протекающее с диареей, признаками обезвоживания организма, интоксикацией и нарушением функции сердечно-сосудистой и центральной нервной системы (9-11). Согласно многочисленным исследованиям, распространенность колибактериоза колеблется в широких пределах — от 5,4 до 90 %, а связанная с ним смертность телят по приблизительным оценкам составляет около 20 % (12). Такая вариабельность показателей заболеваемости обусловлена экологическими проблемами, условиями содержания и выращивания животных, а также качеством проведения санитарно-гигиенических мероприятий на сельскохозяйственных предприятиях в разных странах (13). Распространение колибактериоза в животноводческих комплексах зависит от наличия источника возбудителя инфекции, восприимчивости телят, а также от эффективности проводимых профилактических мероприятий (14).

В этиологии колибактериоза крупного рогатого скота (КРС) наиболее значимы энтеротоксигенные (enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC), энтеропатогенные (enteropathogenic *E. coli*, EPEC) и энтерогеморрагические (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) патотипы диареегенных *E. coli*, которые вызывают энтероколиты и у людей, что делает эту проблему актуальной не только для ветеринарии, но и для медицины (12, 15, 16). Представители энтеротоксигенных сероваров продуцируют термостабильные (STa или STb) и/или термолабильные (LT1 или LT2) энтеротоксины, которые вызывают обезвоживание организма и часто обнаруживаются у телят в первые трое суток жизни. Энтерогеморрагические и продуцирующие шига-ток-

син (EHEC, STEC) штаммы *E. coli* вырабатывают токсин, который, повреждая микроворсинки кишечника, обусловливает геморрагическую диарею у телят в возрасте 2-5 мес (17, 18). Инфицирование животных менее вирулентными культурами экстраинтестинальной *E. coli* приводит к возникновению заболеваний внекишечной локализации, в частности к полиартриту, менингиту, реже к увеиту и нефриту, которые могут приобретать хронический характер.

Известно, что представители диареегенных патотипов *E. coli* способны длительно циркулировать на животноводческих предприятиях среди поголовья (19). Основным источником возбудителя инфекции, по мнению большинства исследователей, становятся экскреты (фекалии) внешне здоровых животных, поскольку штаммы эшерихий энтеропатогенных серогрупп могут персистировать в кишечнике взрослых особей (12, 18). Вымя коров при недостатке подстилки и нерегулярной уборке навоза может контаминироваться бактериями, что ведет к заражению телят через пищеварительный тракт во время сосания, а также при выпаивании загрязненного молока. Среди телят передача возбудителя происходит при их непосредственном контакте («нос в нос») или через дыхательные пути (17). Следовательно, взрослые животные и молодняк служат резервуаром и/или источником возбудителя инфекции, что позволяет бактериям сохраняться в стаде, циркулируя среди животных всех возрастов. На сельскохозяйственных предприятиях возбудители колибактериоза могут также передаваться через питьевую воду и корм. Данные микробиологического исследования кормов на территории России за 2014-2018 годы свидетельствуют, что представители энтеропатогенных *E. coli* чаще всего выделялись из кормов растительного происхождения и комбикормов (20).

Мониторинг возбудителей бактериальных инфекций — важнейший компонент системы эпизоотического надзора за сельскохозяйственными животными. В связи с увеличением числа случаев пищевых токсикоинфекций при употреблении продукции животноводства, контаминированной продуцирующими шига-токсин эшерихиями, особое значение приобретает контроль за циркуляцией этих возбудителей в популяции здоровых особей.

В настоящем сообщении впервые представлены данные о распространенности колибактериоза и биологических свойствах возбудителей, циркулирующих на сельскохозяйственных предприятиях в Пермском крае. При этом впервые применен комплексный подход к оценке распространенности колибактериоза среди крупного рогатого скота (больные животные—здоровые животные—окружающая среда), что имеет теоретическое значение, углубляя понимание закономерностей эпизоотического процесса при этом заболевании. Важным практическим аспектом стал анализ данных многолетних санитарно-зоогигиенических исследований, результаты которых свидетельствуют, что внутрихозяйственный контроль риска заражения животных и персонала предприятий диареегенными эшерихиями должен распространяться не только на естественный резервуар, но и на окружающую среду.

Цель работы — оценить распространенность колибактериоза крупного рогатого скота в различных хозяйствах Пермского края и охарактеризовать возбудителя по биологическим свойствам. Для осуществления контроля обсемененности эшерихиями оборудования, кормов и системы поения в животноводческих хозяйствах был проведен анализ данных санитарно-зоогигиенических исследований.

Методика. Динамику заболеваемости КРС бактериальными инфек-

циями анализировали на основании данных отчетности Пермского ветеринарного диагностического центра, отдела животноводства Министерства сельского хозяйства Пермского края за 2010-2020 годы, статистических данных Департамента ветеринарии Пермского края (форма № 1-вет, 2-вет, форма № 3, 4), а также лабораторных журналов за 2016-2020 годы. В отчетность вошли результаты по 146 предприятиям мясного и молочного животноводства всех категорий, в том числе по 92 (63,0 %) сельскохозяйственным предприятиям, 46 (31,5 %) фермерским хозяйствам и 8 (5,5 %) индивидуальным хозяйствам. Средняя численность поголовья за весь период наблюдения составила 76754,2±850,1 гол. Санитарно-зоогигиенические исследования проводили на тех же предприятиях. Были исследованы биологические жидкости, экскреты и патологический материал, полученные от больных и павших животных: фекалии, кровь, моча, слизь носовая, слизь влагалищная, слизь препуциальная, печень с желчным пузырем, отрезок пораженного тонкого кишечника (всего проанализировали 22480 проб). Также в динамике анализировали смывы с молочного оборудования, инвентаря боенских предприятий, исследовали корма растительного и животного происхождения, комбикорма (всего 29207 проб).

Бактериологическое исследование проводили согласно «Методическим указаниям по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных» (М., 2000). Антигенную структуру выделенных штаммов *E. coli* изучали с использованием наборов «Сыворотки О-коли агглютинирующие» (ФКП «Армавирская биофабрика», Россия) и тест-сывороток для типирования адгезивных антигенов *Escherichia coli* F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F41, A20 (Att25) (РУП Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Россия) согласно инструкциям производителей.

Чувствительность штаммов к антибактериальным препаратам определяли согласно МУК 4.2.1890-04. Штаммы были проверены диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера-Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и дисков (ООО «НИЦФ», Россия) на чувствительность к пенициллинам (ампициллину, 10 мкг), цефалоспоринам (цефокситину, 30 мкг; цефтриаксону, 30 мкг; цефепиму, 30 мкг), карбапенемам (меропенему, 10 мкг; имипенему, 10 мкг), монобактамам (азтреонаму, 30 мкг), аминогликозидам (амикацину, 30 мкг; гентамицину, 10 мкг), фторхинолонам (ципрофлоксацину, 5 мкг; левофлоксацину, 5 мкг; моксифлоксацину, 5 мкг), тетрациклинам (тетрациклину, 30 мкг), фениколам (хлорамфениколу, 30 мкг). Нечувствительность штаммов хотя бы к одному препарату из трех и более групп антибиотиков считали множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ).

В проспективном исследовании (2020-2021 годы) оценивали распространенность шига-токсин-продуцирующих штаммов *E. coli* в популяции здоровых животных — телят и коров. Культуры (n = 61) были выделены на предприятиях промышленного животноводства Пермского края из фекалий КРС.

ДНК выделяли по следующей методике. Отдельную колонию каждого штамма ресуспендировали в 0,5 мл сверхчистой воды в пробирках типа Эппендорф, инкубировали в твердотельном термостате Термит (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в течение 10 мин при 98 °С, охлаждали и центрифугировали 5 мин при 13000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для генетических исследований немедленно или после хранения при –18 °С. Генетическое типирование культур осуществляли в системе двойного контроля методом rep-PCR (repetitive element sequence-based PCR) с праймерами M13 (5′-GAGGGTGGCGGTTCT-3′) и ERIC1R/ERIC2 (5′-

CACTTAGGGGTCCTCGAATGTA-3′/5′-AAGTAAGTGACTGGGGTGA-GCG-3′), используя соответствующие режимы реакций (21, 22). Детекцию генов *stx1* и *stx2* проводили с использованием праймеров stx1-F/stx1-R (5′-ATAAATCGCCTATCGTTGACTAC-3′/5′-AGAACGCCCACTGAGATC-ATC-3′; размер фрагмента 180 п.н.) и stx2-F/stx2-R (5′-GGCACTGTCTG-AAACTGCTCC-3′/5′-TCGCCAGTTATCTGACATTCTG-3′; размер фрагмента 255 п.н.). Для обеих пар применяли общий режим амплификации согласно рекомендациям (23): 3 мин при 95 °С (начальная денатурация); 1 мин при 95 °С, 2 мин при 60 °С, 1,5 мин при 72 °С (25 циклов); 5 мин при 72 °С (финальная элонгация). Олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ООО «Синтол» (Россия). Амплификацию ДНК проводили с применением реагентов производства ООО «Синтол» (Россия) на термоциклере DNA Engine Dyad («Bio-Rad», США) в 25 мкл реакционной смеси. Для обнаружения ПЦР-продуктов использовали горизонтальный электрофорез в 1,2 % агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см при комнатной температуре. Для нанесения проб использовали буфер, содержащий 0,25 % бромфенолового синего и 30 % глицерина в сверхчистой воде. Агарозные гели окрашивали раствором бромистого этидия (1-2 мкг/мл) в течение 10-15 мин. Визуализацию полос и регистрацию данных осуществляли с помощью системы гель-документации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США).

Статистическую обработку данных проводили в программах Microsoft Office XP Excel 2013 и Statistica v.6.0 («StatSoft, Inc.», США). Для сравнения качественных признаков применяли критерий χ^2 (с поправкой Йейтса). При $p < 0,05$ разницу между сравниваемыми выборками считали статистически значимой.

Результаты. По данным статистической отчетности за период с 2010 по 2020 год, на животноводческих предприятиях Пермского края среди крупного рогатого скота был зарегистрирован 1361 случай инфекционных заболеваний бактериальной этиологии. Удельный вес колибактериоза в инфекционной патологии животных варьировал от 0,2 до 61,5 % и в среднем составив за 11 лет 14,4±11,9 % (рис. 1).

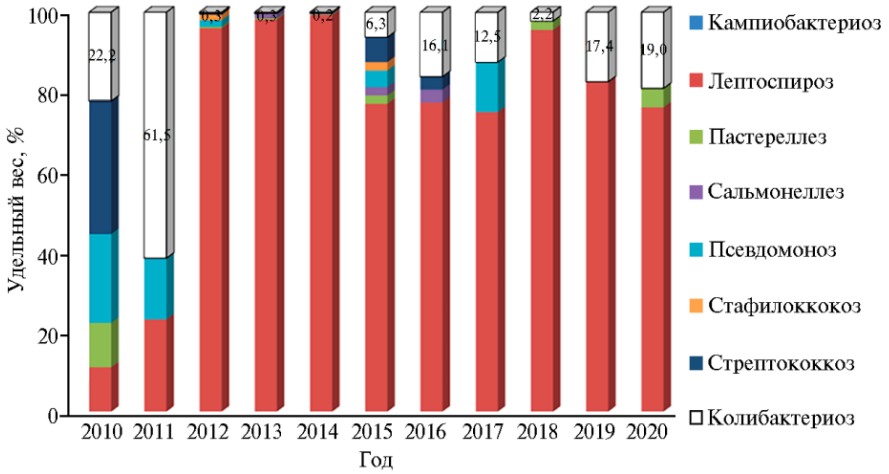

Рис. 1. Удельный вес колибактериоза в инфекционной патологии крупного рогатого скота на животноводческих предприятиях Пермского края в разные годы (по данным статистической отчетности, 22480 проб).

Следует отметить высокую заболеваемость в 2011 году. Снижение доли колибактериоза среди инфекций животных в 2012-2014 годах, оче-

видно, было обусловлено увеличением распространенности лептоспироза.

За 2020-2021 годы от больных и павших животных (телята и взрослое поголовье КРС) было выделено 39 культур диареегенных *E. coli*. Среди них мы идентифицировали 5 эпизоотически наиболее значимых серогрупп (O8, O15, O20, O101, O115), единично выявлялись *E. coli* O157. Частота встречаемости адгезина A20 среди патогенных штаммов *E. coli* составила 6 %. В большинстве случаев культуры *E. coli* проявляли устойчивость к ампициллину и цефазолину (по 61,5 %). Мы обнаружили высокую резистентность культур и к другим цефалоспориновым антибиотикам — цефокситину (30,7 %) и цефтриаксону (23,1 %). Наибольшей активностью в отношении эшерихий обладали имипенем, меропенем, амикацин, тобрамицин и моксифлоксацин: доля чувствительных штаммов составила соответственно 100; 97,4; 92,3; 100 и 92,3 %. Высокая частота устойчивых штаммов *E. coli* была зарегистрирована к тетрациклину (79,5 %) и хлорамфениколу (61,5 %).

По результатам ERIC-типирования первичной коллекции изолятов (n = 61), выделенных на предприятиях промышленного животноводства из фекалий здоровых телят и коров, мы выявили 49 представителей индивидуальных геномогрупп, которых использовали в дальнейшей работе. Ген *stx1* был детектирован только в одной культуре (2,0 %), *stx2* присутствовал в геноме трех (6,1 %) культур. То есть среди этих 49 штаммов *E. coli* мы обнаружили четыре штамма STEC (8,1 %).

1. Распространенность устойчивости к антибиотикам среди штаммов *Escherichia coli*, выделенных от крупного рогатого скота на животноводческих предприятиях Пермского края (2020-2021 годы)

Группа антибиотиков	Антимикробный агент	Устойчивые штаммы, %	
		больные/павшие животные (n = 39)	здоровые животные (n = 49)
Пенициллины	Ампициллин	61,5	77,6
Цефалоспорины	Цефокситин (II)	30,7	20,4
	Цефтриаксон (III)	23,1	16,3
	Цефепим (IV)	23,1	14,3
Монобактамы	Азтреонам	25,6	16,3
Карбапенемы	Меропенем	2,6	0
	Имипенем	0	0
Аминогликозиды	Гентамицин (II)	7,7	2,0
	Амикацин (III)	7,7	0
Фторхинолоны	Ципрофлоксацин (II)	8,2	10,2
	Левофлоксацин (III)	н.д.	6,1
	Моксифлоксацин (IV)	7,7	н.д.
Тетрациклины	Тетрациклин	79,5	49,0* (p = 0,0066)
Фениколы	Хлорамфеникол	61,5	20,4* (p = 0,0002)

Примечание. В скобках указано поколение антимикробного агента, н.д. — нет данных.
* Различия с группой больные/павшие животные статистически значимы.

Сформированная коллекция штаммов была протестирована на чувствительность к антимикробным агентам. Сравнение профилей антибиотикочувствительности штаммов кишечной палочки, выделенной от больных и павших (первая группа) и здоровых (вторая группа) животных, показало, что для большей части препаратов доля устойчивых штаммов была меньше среди культур второй группы, но разница оказалась статистически значимой только для тетрациклина и хлорамфеникола (табл. 1). Следует отметить более высокий удельный вес культур, резистентных к ампициллину и ципрофлоксацину, в субпопуляции эшерихий, выделенных от здорового КРС.

Результаты микробиологических исследований смывов с инвентаря и оборудования, проб воды из системы поения животных, кормов и комбикормового сырья показали, что анализируемые объекты в той или иной степени были контаминированы различными микроорганизмами, но в среднем число положительных проб составило немногим более 6 %. Чаще всего

контаминированными оказывались поверхности оборудования и инвентаря, а также водные источники. В исследованных пробах были обнаружены представители сальмонелл и эшерихий, протеи, энтерококки, стафилококки, стрептококки, анаэробные бактерии и плесневые грибы. Всего было выделено 1806 бактериальных культур, из которых практически 80 % составили изоляты *E. coli* (табл. 2).

2. Результаты оценки санитарно-зоогигиенического состояния на животноводческих предприятиях Пермского края (2010-2020 годы, по данным статистической отчетности)

Исследуемый материал	Число проб	Положительных результатов (%)	*Escherichia coli* (% от положительных проб)
Смывы:			
с молочного оборудования[a]	6928	613 (8,8)	559 (91,2) p^{cdef}
с инвентаря боенских предприятий[b]	7486	721 (9,6)	594 (82,4) p^{cdef}
Корма:			
растительного происхождения[c]	4414	71 (1,6)	50 (70,4) p^{def}
комбикорма[d]	3060	106 (3,5)	99 (93,4) p^{ef}
животного происхождения[e]	5445	25 (0,5)	7 (28,0) p^{f}
Вода для использования в животноводстве[f]	1874	270 (14,4)	123 (45,5)
Всего	29207	1806 (6,2)	1439 (79,7)

[a, b, c, d, e, f] Различия между показателем для указанного материала и материалов, помеченных соответствующими латинскими буквами, статистически значимы при $p < 0,01$.

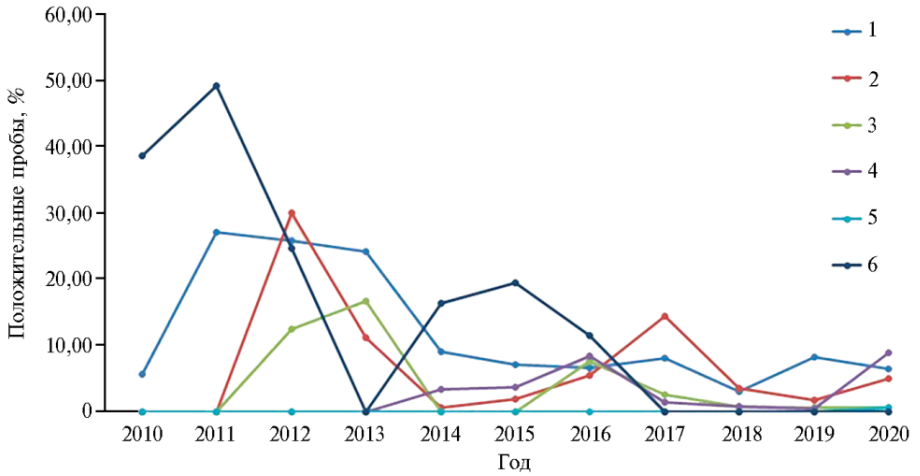

Рис. 2. Выделение бактерий *Escherichia coli* из проб, взятых на животноводческих предприятиях Пермского края в разные годы: 1 — смывы с молочного оборудования, 2 — смывы с инвентаря боенских предприятий, 3 — корма растительного происхождения, 4 — комбикорма, 5 — корма животного происхождения, 6 — вода для использования в животноводстве (по данным статистической отчетности, 29207 проб).

Чаще всего эшерихий выделяли из проб, содержащих смывы с молочного оборудования и инвентаря боенских предприятий, а также в комбикормах. Доля проб, содержащих *E. coli*, в большинстве случаев не превышала 20 % от числа всех проведенных исследований в году. В 2011 году был выявлен наиболее высокий процент контаминированных эшерихиями проб (49,1 %), взятых из поильных систем (рис. 2). По-видимому, эти результаты косвенно отражают ситуацию по колибактериозу на животноводческих предприятиях края в тот период (см. рис. 1).

Известно, что желудочно-кишечные заболевания бактериальной этиологии занимают особое место среди инфекций КРС, при этом энтеро-

патогенные штаммы *E. coli* играют ведущую роль в микробном профиле инфекционной патологии (6, 13, 24). Высокая распространенность колибактериоза сельскохозяйственных животных регистрируется в странах Южной Азии и Африки. Так, по данным ряда исследований, у животных с диарейным симптомокомплексом в Индии EPEC встречаются в 75 % случаев, в Пакистане — в 54 %, в Иране — в 86 %, в Египте — в 63,6-82,0 %. В странах Европы этот показатель существенно ниже, например в Швеции частота выделения эшерихий при кишечных заболеваниях КРС составила 11,5 %, в Германия — 42,0 %, во Франции — 20,3 %, в Испании — 35,9 % (12). Разброс показателя распространенности колибактериоза в разных географических регионах может быть связан с климатом, экологической ситуацией, формой содержания животных (свободное или стойловое), практикой использования антибиотиков и проведения санитарно-профилактических мероприятий.

В большинстве регионов России проводится постоянный микробиологический мониторинг, и данные по заболеваемости колибактериозом существенно различаются в разных хозяйствах. Анализ многолетней (1996-2015 годы) статистики инфекций сельскохозяйственных животных в Краснодарском крае показал, что заболеваемость телят колибактериозом оставалась высокой (33,5-53,6 %) на протяжении всего периода изучения и в среднем составила 40,5 % от всех зарегистрированных инфекций (25). Колибактериоз широко распространен в хозяйствах Амурской области: его удельный вес в инфекционной патологии телят в отдельных районах достигал 60 % (26). Заболеваемость телят эшерихиозом на молочно-товарных фермах ГУСП МТС «Центральная» (2014-2016 годы) в Республике Башкортостан составила более 30 % (9). На территории Иркутской области в 2001-2010 годах встречаемость колибактериоза крупного рогатого скота колебалась от 0,2 до 20,5 %, тем не менее авторы констатируют, что эпизоотологическая обстановка как в целом по желудочно-кишечным болезням, так и по колибактериозу за рассматриваемый период была напряженной. Эта патология остается одной из главных проблем в хозяйствах практически всех районов Иркутской области, особенно в стойловый период содержания животных (27). Аналогичные закономерности в отношении колибактериоза выявлены нами и в Пермском крае: за 11-летний период удельный вес заболевания у КРС колебался в широких пределах, при этом следует отметить относительно стабильную ситуацию по данной нозологии в регионе в последние годы.

Бактерии *E. coli* чрезвычайно гетерогенны по антигенной структуре и токсигенным свойствам, определяющим патогенетические особенности их персистирования в макроорганизме. Известны более 700 серотипов эшерихий, но только часть из них обладает способностью вызывать диарейный симптомокомплекс у животных, поэтому одновременно с идентификацией бактерий проводят серотипирование культур в реакции агглютинации со специфическими О-коли агглютинирующими сыворотками. Основную роль в развитии диареи у новорожденных телят играют энтеротоксигенные штаммы эшерихий с антигенами адгезии K88, K99, 987P, F41, F18, A20, которые чаще встречаются среди бактерий серогрупп O8, O9, O15, O41, O78, O86, O101, O115, O119, O137 (9, 12, 27). Особое значение имеет адгезин A20, который, согласно данным литературы, распространен среди эшерихий, вызывающих колибактериоз (9, 28). Представители STEC обычно не вызывают заболевания у переболевших или вакцинированных животных с постанамнестическим или поствакцинальным иммунитетом, но могут стать причиной падежа среди молодняка, геморрагического колита и гемолитико-уремического синдрома у человека (29). Зоонозные штаммы STEC включают

культуры ЕНЕС O157:H7, а также представителей других серогрупп (non-O157 ЕНЕС O26, O111, в меньшей степени — O17, O56, O87, O108, O109), которые в последнее время стали циркулировать на предприятиях сельского хозяйства с возрастающей частотой (19). В Пермском крае наиболее значимыми в этиологии колибактериоза коров и телят оказались бактерии встречающихся традиционно часто серогрупп O8, O15, O20, O101, O115. Следует отметить, что на сельскохозяйственных предприятиях были зафиксированы и штаммы *E. coli* O157 — этот серотип преобладает при вспышках эшерихиозов, обусловленных STEC, в России и других промышленно развитых странах (30, 31).

Активное использование антибиотиков для профилактики и лечения инфекционных заболеваний животных, а также при откорме, практикуемое во многих странах, приводит к появлению и распространению антибиотикоустойчивости среди комменсальной и патогенной микробиоты. Так, исследования антибиотикочувствительности патогенных изолятов эшерихий, выделенных при колибактериозе телят на предприятиях Алтайского края, показали, что большинство штаммов были устойчивы к семи-девяти антибактериальным препаратам (32). В Иране из 63 изолятов *E. coli*, выделенных от телят с диареей, 76 % проявляли резистентность хотя бы к одному из протестированных препаратов, а 62 % культур были устойчивы к нескольким лекарственным средствам (33). По данным N.M. Sobhy с соавт. (34), 54,5 % изолятов, выделенных от телят с диарейным синдромом в животноводческих хозяйствах Египта, обладали множественной лекарственной устойчивостью. Процент устойчивости к тетрациклину, стрептомицину, ампициллину и триметоприму/сульфаметоксазолу (комбинация, известная как котримоксазол) составил соответственно 79,5; 67,0; 54,5 и 43,0 %. Цефтазидим (14,8 %), амоксициллин-клавуланат (13,6 %) и азтреонам (11,3 %) оказались наиболее эффективными, и ни один из изолятов не был устойчив к имипенему.

В наших исследованиях устойчивость возбудителей эшерихиозов к бета-лактамным антибиотикам также колебалась в широких пределах: доля устойчивых к ампициллину составила 61,5 %, тогда как к имипенему были чувствительны все культуры. Интересно, что у штаммов *E. coli*, выделенных от больных/павших и здоровых животных, профили устойчивости к антибиотикам существенно не различались (за исключением тетрациклина и хлорамфеникола, резистентность к которым была достоверно выше у эшерихий первой группы). Фенотипом МЛУ обладали соответственно 14 (35,9 %) и 16 (32,7 %) культур исследованных субпопуляций, хотя, по данным литературы, среди изолятов *E. coli*, циркулирующих на предприятиях животноводства, более половины имеют множественную резистентность (33, 35). Тем не менее следует отметить, что процент устойчивых к бета-лактамам штаммов *E. coli* превышал показатели, полученные другими исследователями в отношении эшерихий, изолированных как от больных, так и от здоровых животных (34, 36-38). Существенные различия в распространенности антибиотикорезистентных микроорганизмов, циркулирующих в животноводческих хозяйствах разных стран, могут быть обусловлены особенностями условий содержания животных и подходов к применению антимикробных препаратов.

Крупный рогатый скот — наиболее важный резервуар зоонозных штаммов STEC, которые передаются человеку алиментарным путем или с водой, контаминированной фекалиями, а также при прямом контакте с инфицированными животными. Возбудители инфекционных заболеваний могут быть выделены из желудочно-кишечного тракта не только больных и

павших, но и здоровых сельскохозяйственных животных. Наши исследования подтверждают, что последние служат источником изолятов *E. coli*, продуцирующих шига-подобный токсин, которые встречались в 8,1 % случаев. Следует отметить, что в опубликованных материалах приводятся различные данные по распространенности продуцирующих шига-токсин *E. coli* в стадах здоровых животных — от 2,9 до 27,3 % (39, 40). При этом частота обнаружения STEC у КРС с симптомами кишечной инфекции, по данным зарубежных исследований, колеблется от 10 до 40 % (19, 34, 37). Результаты наблюдений В.И. Терехова с соавт. (25) показали, что 21,5 % штаммов *E. coli*, изолированных от телят с колибактериозом, несли гены шига-подобных токсинов. Данные о распространенности STEC имеют большое значение для разработки профилактических мероприятий на животноводческих предприятиях и оценки безопасности пищевых продуктов, поэтому мониторинг распространения STEC среди поголовья, в том числе среди здоровых особей, — один из элементов инфекционного контроля. Выявление факторов, которые влияют на носительство и выделение STEC крупным рогатым скотом и приводят к развитию заболевания у человека, имеют как ветеринарное, так и медицинское значение (41).

На фермах основными источниками заражения крупного рогатого скота эшерихиями, в том числе STEC-штаммами, служит питьевая вода, корма и другие абиотические компоненты экологической системы (19). В значительной степени здоровье сельскохозяйственных животных, их репродуктивные функции и биологическая ценность конечных пищевых продуктов зависят от санитарного качества кормов. Проведенный в 2020 году анализ данных микробиологического мониторинга кормов на территории Российской Федерации за 2014-2018 годы показал, что патогенные серотипы *E. coli* наиболее часто выделялись из кормов растительного происхождения и комбикормов (20). В наших исследованиях были получены аналогичные данные: контаминированные эшерихиями пробы убывали в ряду комбикорма > корма растительного происхождения > корма животного происхождения (см. табл. 2).

Вакцинация поголовья препаратами, имеющими в своем составе различные эшерихиозные антигены факторов адгезии и энтеротоксинов, крайне важна для профилактики колибактериоза на предприятиях животноводства. В настоящее время в России, в том числе на территории Пермского края, для активной иммунизации против колибактериоза сельскохозяйственных животных используются коммерческие препараты ОКЗ (*E. coli* O9:K99, *E. coli* O138:K88) (ООО «Агровет», Россия), Комбовак-К (*E. coli* O9, O78, O115; капсульные полисахариды K80, K30; адгезивные антигены K99, F41) (ООО «Ветбиохим», Россия), Ротагал, имеющий в составе *E. coli* EC/17 с адгезивным антигеном F5 (K99) (ООО «Ветбиохим», Россия), Скаугард 4КС (ScourGuard 4KC, энтеротоксигенные штаммы *E. coli* с фактором адгезии K99) («Zoetis, Inc.», США). В то же время можно полагать, что для профилактики колибактериоза в разных регионах более целесообразно использовать местные штаммы микроорганизмов для приготовления вакцин и гипериммунных сывороток (26). В этой связи интересные исследования выполнены в Белорусском НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского в 2002 году, целью которых стало определение соответствия О-серогрупповой принадлежности выделенных эпизоотических штаммов и вакцинных культур (28). Авторы показали, что О-серотипы применяемых вакцинных штаммов *E. coli* встречаются у полевых изолятов с частотой от 30,3 до 55,2 %, при этом у заболевших и павших телят отмечался

рост числа изолятов (до 20 %), несущих антигены, отсутствующие в коммерческих вакцинах.

В Пермском крае в качестве этиологических агентов колибактериоза коров и телят также встречались *E. coli* невакцинных серогрупп, что подтверждает необходимость специфической профилактики острых кишечных заболеваний телят с учетом спектра циркулирующих энтеропатогенных штаммов. Ее основой служит иммунизация стельных коров, что позволяет защищать молодняк в первые дни после рождения. В пользу такого подхода свидетельствуют данные о росте числа заболеваний желудочно-кишечного тракта, регистрируемом на фоне снижения доли стельных коров, иммунизированных против колибактериоза. Так, согласно отчетности отдела животноводства краевого Министерства сельского хозяйства, в 2016 году в регионе вакцинировали 57,6 % коров, в 2020 году — не более 40 %, при этом число больных телят увеличилось с 21,9 до 24,8 %, а число павших/вынужденно убитых — с 2,3 до 2,4 % (полностью данные не представлены). Тем не менее следует отметить, что в течение последних 5 лет общее поголовье КРС в Пермском крае остается стабильным по численности с тенденцией к увеличению (в 2016 году — 172029 гол., в 2020 году — 173944 гол.).

Развитие эпизоотического процесса в основном обусловлено особенностями взаимоотношений возбудителя инфекции с популяциями облигатного и потенциального хозяев, что, в свою очередь, определяется биологическими свойствами этиопатогена, иммунным статусом макроорганизма, а также природными и хозяйственными факторами (42). Проведенное нами комплексное исследование, в котором проанализирована доля колибактериоза в инфекционной патологии животных, распространенность эшерихий во внутрихозяйственной среде, а также описаны некоторые биологические свойства возбудителя, позволяют лучше понимать эпизоотический процесс при колибактериозе и оптимизировать меры профилактики.

Таким образом, проведенный нами санитарно-зоогигиенический анализ свидетельствует о необходимости более тщательного бактериологического контроля кормов, молочного оборудования, воды и источников водоснабжения, инвентаря боенских предприятий. Кроме того, обязателен внутрихозяйственный контроль риска заражения сотрудников диареегенными эшерихиями, который должен распространяться не только на естественный резервуар инфекции, но и на окружающую среду. Вакцинация, используемая в настоящее время в качестве основного приема профилактики колибактериоза, не всегда достаточно эффективна. Для уменьшения колонизации кишечника крупного рогатого скота патогенными *E. coli* необходимо использовать пробиотики, бактериофаги, а также модификацию питания молодняка и взрослого поголовья животных.

Итак, эпизоотическая ситуация по колибактериозу крупного рогатого скота в Пермском крае в 2010-2020 годы была достаточно благоприятной: его доля среди всех бактериальных инфекций не превышала 20 %. Эпизоотический процесс характеризовался спорадическими случаями заболевания, при этом отмечался высокий риск передачи возбудителя инфекции горизонтальным путем, в том числе через объекты внешней среды. Эшерихий в основном выделяли из смывов с молочного оборудования и инвентаря боенских предприятий, а также из комбикормов. Среди изолятов идентифицированы пять наиболее значимых в эпизоотическом отношении серогрупп — O8, O15, O20, O101, O115, в единичных случаях выделялись *Escherichia coli* O157. Профили устойчивости к антибиотикам у изолятов *E. coli* от больных/павших и здоровых животных существенно не различа-

лись (исключение — тетрациклин и хлорамфеникол, резистентность к которым была достоверно выше у эшерихий первой группы). Следует отметить более высокий удельный вес культур, резистентных к ампициллину и ципрофлоксацину, у эшерихий от здорового крупного рогатого скота. Кроме того, у последних мы детектировали гены *stx1* (2,0 %) и *stx2* (6,1 %), то есть наши исследования подтвердили, что возбудители инфекционных заболеваний могут присутствовать в желудочно-кишечном тракте не только больных, но и здоровых сельскохозяйственных животных, которые становятся источником *E. coli*, п

[1]*Пермский НИИ сельского хозяйства — филиал ПФИЦ УрО РАН,*
614532 Россия, с. Лобаново, ул. Культуры, 12,
e-mail: saratov_perm@mail.ru;
[2]*ГБУВК Пермский ветеринарный диагностический центр,*
614065 Россия, г. Пермь, ул. Экскаваторная, 35,
e-mail: 89124892212@mail.ru;
[3]*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН — филиал ПФИЦ УрО РАН,*
614000 Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13,
e-mail: mar@iegm.ru ✉

Поступила в редакцию 30 марта 2022 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2022, V. 57, № 4, pp. 776-790

CATTLE COLIBACILLOSIS IN PERM KRAI: PREVALENCE, SOURCES OF THE CAUSATIVE AGENT AND ITS BIOLOGICAL CHARACTERIZATION

I.N. Zhdanova[1], *V.V. Mokrushin*[2], *M.V. Kuznetsova*[3] ✉

[1]*Perm Federal Research Center, Perm Research Institute of Agriculture, Ural Branch RAS,* 12, ul. Kulyury, Lobanovo, Perm Krai, 614532 Russia, e-mail saratov_perm@.ru;
[2]*Perm Veterinary Diagnostic Center,* 35, ul. Ekskavatornaya, Perm, 614065 Russia, e-mail 89124892212@mail.ru;
[3]*Perm Federal Research Center, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch RAS,* 13, ul. Goleva, Perm, 614000 Russia, e-mail mar@iegm.ru (✉ corresponding author)
ORCID:
Zhdanova I.N. orcid.org/0000-0002-0260-6917 Kuznetsova M.V. orcid.org/0000-0003-2448-4823
Mokrushin V.V. orcid.org/0000-0001-8272-8828
The authors declare no conflict of interests
Acknowledgements:
Supported financially from the Government of Perm Krai within the framework of the scientific project No. C-26/541
Received March 30, 2022 doi: 10.15389/agrobiology.2022.4.776eng

Abstract

Infectious diseases in agricultural enterprises of the Russian Federation are annually recorded in 50 % of the livestock, while the death of young calves during the first weeks of life ranges from 14 to 60 %. Colibacillosis remains the main infectious pathology in terms of morbidity and mortality, despite the widespread use of modern antibiotics and vaccines. To assess the prevalence of colibacillosis among cattle and identify the source of the infectious agent, for the first time an integrated approach was used covering a triad of sick animals—healthy animals—environment, which is of theoretical significance because it contributes to a better understanding the patterns of the epizootic process. An important practical aspect of the work was the analysis of data from long-term sanitary and zoo-hygienic records, which indicates that the control of the risk of *Escherichia coli* infections should be aimed not only at the natural reservoirs but also at the environment factors. The purpose of the study was to assess the prevalence of colibacillosis in cattle in various agricultural enterprises of the Perm Territory and to study the biological properties of the pathogen. To assess the *Escherichia coli* contamination of inventory, feeding and watering systems, data from sanitary and zoo-hygienic studies were analyzed. The incidence of the infections in cattle was summarized based on the reports from the Perm Veterinary Diagnostic Center, the livestock department of the Ministry of Agriculture of the Perm Krai for 2010-2020, statistical data from the Department of Veterinary Medicine of the Perm Krai and form laboratory records. The reports also covered bacteriological data for 22,480 samples from beef and dairy farms (n = 146). Sanitary and zoo-hygienic analyses of swabs from dairy equipment, inventory of slaughterhouses, feed of plant and animal origin, mixed feed were carried out for 29,207 samples from the same farms. The antigenic structure of the *E. coli* isolates was determined. The sensitivity of

strains to antibacterial drugs was assayed by disk diffusion method (ampicillin 10 μg, cefoxitin 30 μg, ceftriaxone 30 μg, cefepime 30 μg, meropenem 10 μg, imipenem 10 μg, aztreonam 30 μg, amikacin 30 μg, gentamicin 10 μg, ciprofloxacin 5 μg, levofloxacin 5 μg, moxifloxacin 5 μg, tetracycline 30 μg, chloramphenicol 30 μg). In a prospective study (2020-2021), the prevalence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) strains in a population of healthy animals was assessed. Cultures ($n = 61$) were isolated from cattle feces. Genes encoding Shiga toxins 1 and 2 (*stx1* and *stx2*) were detected by polymerase chain reaction at the end point. The research results indicate that in recent years the prevalence of colibacillosis in the Perm Krai does not exceed 20 %. An increased number of dead animals and sick animals with diarrheal syndrome corresponded to a decreased immunization of pregnant cows. There were sporadic cases of the disease, but the risk of horizontal transmission of the pathogen, including through environmental objects, was high. *E. coli* was mostly isolated from swabs from dairy equipment and inventory of slaughterhouses, as well as from animal feed. Five most epizootically significant serogroups were identified, the *E. coli* O8, O15, O20, O101, and O115; in rare cases, *E. coli* O157 was isolated. The antibiotic resistance profiles of *E. coli* strains isolated from sick, dead and healthy animals did not differ significantly, except for tetracycline and chloramphenicol, resistance to which was significantly higher in *E. coli* strains of the first group. Of note is the higher proportion of cultures resistant to ampicillin and ciprofloxacin in the *E. coli* subpopulation from healthy cattle. In addition, the *stx1* (2.0 %) and *stx2* (6.1 %) genes were found in *E. coli* from healthy cattle. That is, our data confirm that pathogens can persist in the gastrointestinal tract of both sick and healthy farm animals, which become the source of STEC. Additional sources of *E. coli* infection, including STEC strains, are drinking water, feed, and other abiotic components.

Keywords: cattle, colibacillosis, *Escherichia coli*, Shiga-like toxins, on-farm contamination.

REFERENCES

1. *Prikaz Minsel'khoza Rossii ot 20.12.2019 № 713 «Ob opredelenii 56 prioritetnykh napravleniy razvitiya agropromyshlennogo kompleksa po sub'ektam Rossiyskoy Federatsii na 2020 god»* [Order of the Ministry of Agriculture of Russia dated December 20, 2019 No. 713 "On 56 priority areas for the development of the agro-industrial complex in the Russian Federation for 2020"] (in Russ.).
2. Vartanova M.L., Gazimagomedova P.K. *Prodovol'stvennaya politika i bezopasnost'*, 2018, 5(1): 37-46 (doi: 10.18334/ppib.5.1.40105) (in Russ.).
3. Zhdanova I.N. *Vestnik PFITs*, 2019, 4: 63-68 (in Russ.).
4. March M.D., Haskell M.J., Chagunda M.G., Langford F.M., Roberts D.J. Current trends in British dairy management regimens. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(12): 7985-7994 (doi: 10.3168/jds.2014-8265).
5. Mandel R., Whay H.R., Klement E., Nicol C.J. Invited review: Environmental enrichment of dairy cows and calves in indoor housing. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(3): 1695-1715 (doi: 10.3168/jds.2015-9875).
6. Tambiev T.S., Tazayan A.N., Byvaylov V.P., Koshlyak V.V. *Veterinarnaya patologiya*, 2015, 3: 5-10 (in Russ.).
7. Algers B., Bertoni G., Broom D., Hartung J., Lidfors L., Metz J. Munksgaard L., Pina T.N., Oltenacu P., Rehage J., Rushen J. Scientific report on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. *Annex to the EFSA Journal*, 2009, 1143: 1-38 (doi: 10.2903/j.efsa.2009.1143r).
8. Motuzko S.N. *Uchenye zapiski UO VGAVM*, 2015, 51(1): 84-87 (in Russ.).
9. Ivanov A.I., Baymurzin I.B. *Vestnik BGAU*, 2010, 4: 24-31 (in Russ.).
10. Nasertdinov D.D., Spiridonov A.G., Makhmutov A.F., Spiridonov G.N., Makaev Kh.N. *Uchenye zapiski KGAVM im. N.E. Baumana* [Scientific notes of the N.E. Bauman KGAVM]. Kazan', 2016, 226(2): 120-123 (in Russ.).
11. Kashin A.S., Zazdravnykh M.I., Shkil' N.A. *Kolibakterioz telyat v sovremennykh ekologicheskikh usloviyakh Sibiri (Osobennosti epizootologii, klinicheskie proyavleniya, patogenez, diagnostika, mery profilaktiki i bor'by)* [Colibacillosis of calves in modern ecological conditions of Siberia (Peculiarities of epizootology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, prevention and control measures)]. Barnaul, 2003 (in Russ.).
12. Bashahun G.M., Amina A. Colibacillosis in calves: a review of literature. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine Volume*, 2017, 2(3): 62-71 (doi: 10.31248/JASVM2017.041).
13. Cho Y., Yoon K.J. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.*, 2014, 15(1): 1-17 (doi: 10.4142/jvs.2014.15.1.1).
14. Ovod A.S. Irskiy A.G., Sidorenko N.M. *Sistema profilakticheskikh meropriyatiy i kontrol' za ikh vypolneniem pri bakterial'nykh i virusnykh zabolevaniyakh telyat* [Preventive measures and control over their implementation in bacterial and viral diseases of calves]. Novocherkassk, 2001 (in Russ.).
15. Sukharev Yu.S. Identifikatsiya termostabil'nogo enterotoksina *Escherichia coli* pri kolibakterioze telyat. *Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Biologiya. Meditsina,* 2011, 2(1): 114-119 (in Russ.).
16. Zazdravnykh M.I., Kashin A.S., Kuchina L.A. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki*, 2003, 3(149): 41-44 (in Russ.).

17. Gruenberg W. Overview of Coli-septicemia. *Merck Manual*, 2014.
18. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, 2(2): 123-140 (doi: 10.1038/nrmicro818).
19. Fairbrother J.M., Nadeau E. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. *Rev. Sci. Tech.*, 2006, 25(2): 555-569.
20. Kremleva A., Skomorina Yu., Belousov V., Varentsova A., Polosenko O., Shepelin A. *Kombikorma*, 2020, 3: 68-70 (in Russ.).
21. Versalovic J., Koeuth T., Lupski J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(24): 6823-6831 (doi: 10.1093/nar/19.24.6823).
22. Huey B., Hall J. Hypervariable DNA fingerprinting in *Escherichia coli*: minisatellite probe from bacteriophage M13. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171(5): 2528-2532 (doi: 10.1128/jb.171.5.2528-2532.1989).
23. 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 diarrheic swine. *Appl. Environ. Microbiol*, 2006, 72(7): 4782-4795 (doi: 10.1128/AEM.02885-05).
24. Khuramshina M.T., Makhmutov A.F., Spiridonov G.H., Makaev Kh.N. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana*, 243(3): 280-284 (in Russ.).
25. Terekhov V.I. *Veterinariya Kubani*, 2016, 3: 15-18 (in Russ.).
26. Petrukhin M.A., Shul'ga N.N., Zhelyabovskaya D.A. *Vestnik KrasGAU*, 2012, 12: 113-116 (in Russ.).
27. Chkhenkeli V.A., Glushenkova T.V. *Aktual'nye voprosy agrarnoy nauki*, 2012, 2: 30-37 (in Russ.).
28. Lomako Yu.V., Androsik N.N. *Izvestiya Akademii agrarnykh nauk Respubliki Belarus'*, 2002, 2: 70-72 (in Russ.).
29. Kartsev N.N., Svetoch E.A. *Bakteriologiya*, 2018, 3(1): 7-12 (in Russ.).
30. Onishchenko G.G., Dyatlov I.A., Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Bannov V.A., Kartsev N.N., Borzenkov V.N., Fursova N.K., Shemyakin I.G., Bogun A.G., Kislichkina A.A., Popova A.V., Myakinina V.P., Teymurazov M.G., Polosenko O.V., Kaftyreva L.A., Makarova M.A., Matveeva Z.N., Grechaninova T.A., Grigor'eva N.S., Kicha E.V., Zabalueva G.V., Kutasova T.B., Korzhaev Yu.N., Bashketova N.S., Bushmanova O.N., Stalevskaya A.V., Chkhindzheriya I.G., Zhebrun A.B. *Vestnik RAMN*, 2015, 1: 70-81 (in Russ.).
31. Weinroth M.D., Clawson M.L., Arthur T.M., Wells J.E., Brichta-Harhay D.M., Strachan N., Bono J.L. Rates of evolutionary change of resident *Escherichia coli* O157:H7 differ within the same ecological niche. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 275 (doi: 10.1186/s12864-022-08497-6).
32. Kashin A.S., Kashina G.V. *Mat. VI Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktual'nye problemy sel'skogo khozyaystva gornykh territoriy»* [Proc. VI Int. Conf. «Current challenges of agriculture in mountainous areas»]. Gorno-Altaysk, 2017 (in Russ.).
33. Staji H., Tonelli A., Zahraei Salehi T., Mahdavi A., Shahroozian E., Salimi Bejestani M., Mahdizade Mood S., Keywanloo M., Ahmadi Hamedani M., Emadi Chashmi H., Ashrafi Tamai I., Atefi Tabar E. Distribution of antibiotic resistance genes among the phylogroups of *Escherichia coli* in diarrheic calves and chickens affected by colibacillosis in Tehran, Iran. *Archives of Razi Institute*, 2018, 73(2): 131-137 (doi: 10.22092/ari.2018.116502).
34. Sobhy N.M., Yousef S.G.A., Aboubakr H.A., Nisar M., Nagaraja K.V., Mor S.K., Valeris-Chacin R.J., Goya S.M. Virulence factors and antibiograms of *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves of Egyptian cattle and water buffaloes. *PLoS ONE*, 2020, 15(5): e0232890 (doi: 10.1371/journal.pone.0232890).
35. Zabrovskaya A.V. *Epizootologicheskiy analiz rasprostraneniya antibiotikorezistentnykh shtammov vozbuditeley infektsionnykh bolezney sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh v severo-zapadnom federal'nom okruge Rossiyskoy Federatsii. Doktorskaya dissertatsiya* [Epizootological study of spreading antibiotic-resistant strains of farm animal pathogens in the Northwestern Federal District of the Russian Federation. DSc Thesis]. St. Petersburg, 2019 (in Russ.).
36. 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).
37. Ali D.A., Tesema T.S., Belachew Y.D. Molecular detection of pathogenic *Escherichia coli* strains and their antibiogram associated with risk factors from diarrheic calves in Jimma Ethiopia. *Sci. Rep.*, 2021, 11: 14356 (doi: 10.1038/s41598-021-93688-6).
38. 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).
39. Cookson A.L. The prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle and sheep in the lower North Island, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 2006, 54(1): 28-33 (doi: 10.1080/00480169.2006.36600).

40. Fagan P.K., Hornitzky M.A., Bettelheim K.A., Djordjevic S.P. Detection of shiga-like toxin (*stx1* and *stx2*), intimin (*eaeA*), and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) hemolysin (EHEC *hlyA*) genes in animal feces by multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 65(2): 868-872 (doi: 10.1128/AEM.65.2.868-872.1999).
41. Gyles C.L. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*, 2007, 85(13): E45-62 (doi: 10.2527/jas.2006-508).
42. Dzhupina S.I. *Teoriya epizooticheskogo protsessa* [Theory of the epizootic process]. Moscow, 2004 (in Russ.).