

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ *ESCHERICHIA COLI* З РІЗНИХ БІОТОПІВ

Войда Ю. В., Бірюкова С. В.

Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, кафедра клінічної імунології та мікробіології (м. Харків, вул. Пушкінська, 14);  
yoga60044@gmail.com

Досліджено морфологічні, культуральні, біохімічні властивості, гемолітичну активність 677 клінічних штамів *E. coli*, вилучених з різних біотопів. Встановлено, що ізоляти кишкових паличок з гемолітичним фенотипом зустрічались у всіх проаналізованих групах, частота виявлення була залежна від наявності гнійно-запального процесу. Вивчено антибіотикочутливість ешерихій з гемолітичним фенотипом. Встановлено їх високу чутливість до імпенему ( $96,6 \pm 1,5$  % чутливих штамів), гатифлоксацину ( $92,4 \pm 2,2$  %) і амікацину ( $80,0 \pm 3,3$  %), а також зростання стійкості до фторхінолонів та циркуляцію великої кількості помірно стійких штамів до похідних нітрофуранів і нітроксоліну, які займають провідне місце в схемах тривалої емпіричної терапії хворих хронічним пієлонефритом. Досліджено плазмідний профіль 35 клінічних штамів *E. coli* та встановлено, що плазмід зустрічався у 88,6 % штамів ешерихій з різних біотопів, при чому більшість вилучених штамів були мультиплазмідними. Штами мали від 1 до 8 плазмід з розмірами від 1 до 24 kb. Найчастіше серед досліджуваних ешерихій зустрічалась плазміда розміром 19,3.

**Ключові слова:** *Escherichia coli*, біотоп, біохімічні властивості, гемолітична активність, антибіотики, антибіотикорезистентність, плазмідний профіль.

Кишкова паличка є одним з найбільш вивчених видів мікроорганізмів, проте й до тепер ешерихії продовжують привертати до себе увагу фахівців різного профілю. Як убіквітарні представники флори *E. coli* володіють високим ступенем біологічної пластичності, що дозволяє тривало циркулювати і колонізувати широкий круг біологічних господарів, адаптуватись до специфічних умов місця існування. Цьому сприяє яскраво виражений внутрішньовидовий поліморфізм *E. coli* за комплексом фенотипових характеристик [1].

Відносини, які еволюційно сформувалися між людиною і *E. coli*, носять в більшості випадків виключно взаємовигідний характер, проте дана група мікроорганізмів здатна викликати інфекції кишкової та позакишкової локалізації. Ешерихіозна інфекція характеризується вираженою політипичністю клінічної картини, що пов'язане не лише зі станом захисних сил організму хворого, але й з біологічними властивостями самого збудника. Відомо, що при дисбіотичних порушеннях мікробіоценозного гомеостазу

відбувається частіше всього збільшення чисельності представників аеробної частини мікрофлори (зокрема ешерихій зі зниженою ферментативною активністю, гемолітичними властивостями) та посилення агресивного потенціалу цих бактерій [2]. Це сприяє подоланню ними бар'єру проєпітеліального шару кишечника, транслокації у внутрішнє середовище організму та розвитку позакишкових форм інфекцій та ускладнень.

Особливий інтерес представляють мобільні генетичні детермінанти *Escherichia coli* – плазмідні, що забезпечують адаптацію мікроорганізмів до певної екологічної ніші. Значна генетична пластичність збудників інфекційних хвороб, відносна легкість в придбанні деяких плазмід (наприклад, R-плазмід) веде до формування штамів, що набувають нові біологічні властивості. В останні роки доказано, що плазмідний профіль може бути корисним епідеміологічним інструментом, особливо при госпітальних спалахах інфекцій різної етіології.

Останніми десятиліттями у світі спостерігається ріст антибіотикорезистентності грамнегативних бактерій, в тому числі виду *E. coli* [3, 4], які є одними з провідних збудників нозокоміальних гнійно-запальних інфекцій [5]. З огляду на постійні зміни резистентності клінічних штамів *E. coli*, що спостерігаються не лише в різних регіонах України, а навіть в окремих відділеннях одного лікувального закладу, необхідно здійснювати постійний моніторинг за резистентністю мікроорганізмів до дії антибіотиків і на основі отриманих локальних даних розробити лікарняний формуляр антибіотиків.

Результати лабораторної діагностики, заснованої на обмеженому числі фенотипових тестів, не завжди дозволяють з певністю оцінити етіологічну значущість ешерихій (навіть за умови урахування їх серологічної приналежності до певної групи або біовару). Накопичені дані свідчать про необхідність поглибленого вивчення внутрішньовидової різноманітності *E. coli*, визначення факторів вірулентності та їх генетичних детермінант одночасно з повним біохімічним і серологічним типуванням для остаточного встановлення етіопатогенетичної ролі ешерихій при запальних захворюваннях.

**Мета роботи:** вивчення фенотипових властивостей (морфологічні, культуральні, біохімічні, гемолітична активність) та генотипових характеристик (оцінювання розповсюдженості плазмід та визначення їх молекулярного розміру) у клінічних ізолятів *E. coli*, вилучених з різних біотопів, а також встановлення розповсюдженості серед них клінічно значущих полірезистентних штамів.

### Матеріали та методи

У ході виконання дослідної роботи вивчено культуральні, морфологічні, тінкторіальні та біохімічні властивості 373 штамів *E. coli*, виділених з патологічного матеріалу: 96 вилучено з сечовивідних шляхів, 168 – з статевих шляхів, 10 – з дихальних

шляхів, 6 – з ділянок шкіри та м'яких тканин, 93 – з кишечника осіб з дисбактеріозом [6, 7]. В якості контролю використано 304 штами *E. coli*, вилучених з кишечника здорових осіб.

Для обліку гемолітичних форм бактерій матеріал висівали на поверхню 5% кров'яного агару [8, 9].

Для дослідження антибіотикочутливості відібрано 145 штамів *E. coli* з гемолітичними властивостями, з них 120 виділено з патологічного матеріалу (38 – з сечовивідних шляхів, 44 – з статевих шляхів, по 2 – з дихальних шляхів і ділянок шкіри та м'яких тканин, 34 – з кишечника осіб з дисбактеріозом) та 25 – з кишечника клінічно здорових осіб (в якості контролю). Чутливість ешерихій до антибактеріальних препаратів визначали диско-дифузійним методом Keurby-Bauer з використанням стандартних комерційних дисків (ТОВ «Аспект», Україна) на середовищі Мюллера-Хінтона (HiMedia, Індія). Продукцію β-лактамаз розширеного спектру дії (БЛРС) визначали методом «подвійних дисків». Результати дослідження інтерпретували у відповідності до Наказу Міністерства охорони здоров'я України № 167 від 05.04.2007 р. та рекомендаціям Європейського комітету по визначенню чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів (EUCAST) [10, 11].

Вивчення плазмідного спектру проводили з використанням лужного методу [12], для цього матеріалом для дослідження було відібрано 35

гемолітичних ізолятів ешерихій: з сечовивідних шляхів – 10 штамів, жіночих статевих шляхів – 4 штама, чоловічих статевих шляхів – 4 штама, ділянки шкіри – 1 штама, кишечника осіб з синдромом дисбактеріоз – 8 штамів, а також кишечника здорових людей – 8 штамів. Молекулярну масу плазмідних ДНК визначали за калібровочною кривою, яка була складена з використанням параметрів маркерної плазмиди Lambda-pUC mix Marker 4 («Fermentas», Canada).

Статистична обробка отриманих даних проведена загальноприйнятими методами статистики із використанням Excel (MS Office 2010, XP) та програми STATISTICA 8,0 (StatSoft Inc., США).

### Результати та обговорення

В ході дослідження в якості попереднього етапу ідентифікації проведено вивчення та інтерпретацію характеру росту ешерихій на середовищі Ендо та кров'яному агарі. При оцінці колоній враховували комплекс їх характеристик (розмір, форма, здймання над поверхнею, особливості краю, щільність, консистенція).

За здатністю ферментувати лактозу на середовищі Ендо виділені штами розподілялись як показано на рис. 1. При цьому більшість (27/32) лактозонегативних штамів було вилучено з кишечника осіб з дисбактеріозом.

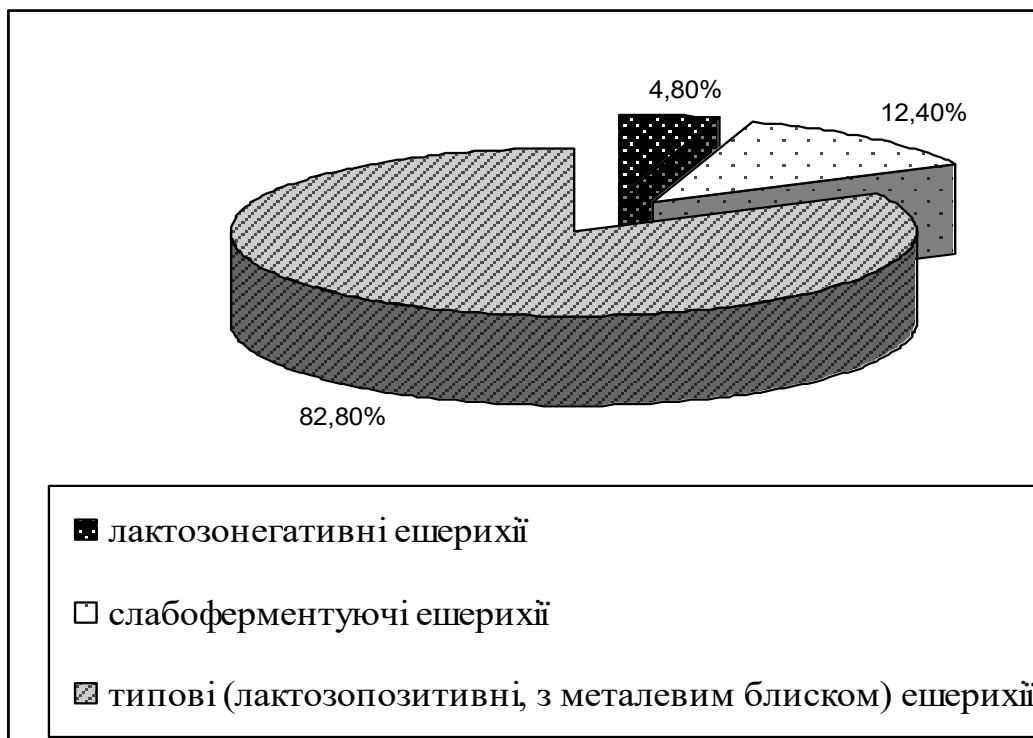


Рис. 1. Розподіл штамів *E. coli*, вилучених з різних біотопів, за здатністю ферментувати лактозу

На кров'яному агарі через 18–24 годин інкубації бактерії *E. coli* росли у вигляді середніх, розміром (2–4) мм, правильної округлої форми, з гладкою випуклою поверхнею, рівним краєм, сіруватого кольору S-колоній. Посів матеріалу на кров'яному агарі давав можливість визначити гемолітичні властивості бактерій. Представлені в табл. 1 дані свідчать, що штами з гемолітичною активністю зустрічались в усіх проаналізованих групах.

**Таблиця 1. Пенетрантність гемолітичної активності у вилучених штамів *E. coli* (n=677)**

| Біотоп походження ешерихій     | Кількість вивчених штамів | Кількість гемолітично активних штамів |           |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------|
|                                |                           | абс.                                  | М±m, %    |
| кишечник осіб з дисбактеріозом | 93                        | 34                                    | 36,6±4,9  |
| кишечник здорових осіб         | 304                       | 25                                    | 8,2±1,5   |
| сечовивідні шляхи:             | 96                        | 38                                    | 39,5±4,9  |
| - при неускладнених інфекціях  | 57                        | 12                                    | 21,0±5,3  |
| - при ускладнених інфекціях    | 39                        | 26                                    | 66,6±7,5  |
| статеві шляхи                  | 168                       | 44                                    | 26,1±3,3  |
| дихальні шляхи                 | 10                        | 2                                     | 20,0±12,6 |
| ділянки шкіри та м'яких тканин | 6                         | 2                                     | 33,3±19,2 |

В результаті досліджень виявлено, що ізоляти кишкових паличок з гемолітичним фенотипом колонізували кишечник осіб з дисбіозом в 4 рази частіше, ніж в контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Слід відмітити, що ешерихії, які володіють гемолітичною активністю та знаходяться в кишечнику здорових осіб, при високій антагоністичній дії біфідо- і лактобактерій та високій резистентності макроорганізму, як правило, не проявляють свої патогенні властивості, тому згідно з прийнятими нормами допускається наявність таких штамів в кількості приблизно 10% від загальної кількості мікроорганізмів цього виду. Штами з гемолітичною активністю були присутні в усіх групах позакишкової локалізації. Найчастіше ця ознака виявлялася серед штамів, які вилучено з сечі при ускладненій інфекції сечовивідної системи (гемолітичноактивні представники зустрічались в (66,6±7,5) % випадків).

Для встановлення біохімічного профілю вилучених штамів бактерій здійснювали посів на мінімальний диференціюючий ряд тестів. Слід зазначити, що одним з «ключових» біохімічних тестів

при ідентифікації бактерій роду *Escherichia* є здатність утилізувати ацетат натрію. Проте існують «неактивні» *E. coli*, які дають негативний результат в більшості використовуваних тестів, що робить їх схожими з шигелами та гафніями. Так, серед досліджуваних ізолятів нами виявлено нетиповий лактозонегативний штам, який був нерухомим, негативним в тесті з ацетатом натрію, не ферментував сорбіт та не утворював газ при зброджуванні глюкози. Встановлення родової та видової приналежності цього штаму стало можливим після постановки додаткових біохімічних тестів (температурні тести, малонат натрію, глицерол, ксилоза, тартрат) та повної серологічної ідентифікації.

Наступним завданням досліджень було вивчення антибіотикорезистентності саме гемолітичних штамів ешерихій. Сумарні результати проведених досліджень узагальнені та представлені в табл. 2. Встановлено розбіжності в антибіотикочутливості штамів, вилучених з різних біотопів.

**Таблиця 2. Антибіотикорезистентність гемолітичних штамів *E. coli*, вилучених з різних біотопів**

| Антибіотик                    | Розподіл штамів за чутливістю, % |          |                    |          |             |          |
|-------------------------------|----------------------------------|----------|--------------------|----------|-------------|----------|
|                               | стійкі (R)                       |          | помірно стійкі (I) |          | чутливі (S) |          |
|                               | абс.                             | М±m, %   | абс.               | М±m, %   | абс.        | М±m, %   |
| <b>β-лактами (n=145)</b>      |                                  |          |                    |          |             |          |
| ампіцилін                     | 129                              | 89,0±2,5 | 6                  | 4,1±1,6  | 10          | 6,9±2,1  |
| амоксицилін                   | 135                              | 93,1±2,1 | 4                  | 2,8±1,3  | 6           | 4,1±1,6  |
| амоксиклав                    | 110                              | 75,8±3,5 | 14                 | 9,7±2,4  | 21          | 14,5±2,9 |
| цефазолін                     | 70                               | 48,3±4,1 | 38                 | 26,2±3,6 | 37          | 25,5±3,6 |
| цефалотин                     | 112                              | 77,2±3,4 | 21                 | 14,5±2,9 | 12          | 8,3±2,2  |
| цефалексин                    | 53                               | 36,5±3,9 | 31                 | 21,4±3,4 | 61          | 42,1±4,1 |
| цефуроксим                    | 105                              | 72,4±3,7 | 17                 | 11,7±2,6 | 23          | 15,9±3,0 |
| цефотаксим                    | 46                               | 31,7±3,8 | 35                 | 24,1±3,5 | 64          | 44,2±4,1 |
| цефтріаксон                   | 33                               | 22,7±3,4 | 19                 | 13,1±2,8 | 93          | 64,2±3,9 |
| цефтазидим                    | 35                               | 24,2±3,5 | 16                 | 11,0±2,5 | 94          | 64,8±3,9 |
| імipенем                      | 3                                | 2,0±1,1  | 2                  | 1,4±0,9  | 140         | 96,6±1,5 |
| <b>Аміноглікозиди (n=145)</b> |                                  |          |                    |          |             |          |
| гентаміцин                    | 32                               | 22,1±3,4 | 51                 | 35,2±3,9 | 62          | 42,7±4,1 |

|                                    |    |          |    |          |     |          |
|------------------------------------|----|----------|----|----------|-----|----------|
| нетилміцин                         | 21 | 14,5±2,9 | 30 | 20,7±3,3 | 94  | 64,8±3,9 |
| амікацин                           | 11 | 7,6±2,2  | 18 | 12,4±2,7 | 116 | 80,0±3,3 |
| <b>Фторхінолони (n=145)</b>        |    |          |    |          |     |          |
| ципрофлоксацин                     | 17 | 11,7±2,6 | 11 | 7,6±2,2  | 117 | 80,7±3,2 |
| норфлоксацин                       | 32 | 22,1±3,4 | 36 | 24,8±3,5 | 77  | 53,1±4,1 |
| офлоксацин                         | 23 | 15,9±3,0 | 15 | 10,3±2,5 | 107 | 73,8±3,6 |
| перфлоксацин                       | 16 | 11,0±2,5 | 12 | 8,3±2,2  | 117 | 80,7±3,2 |
| гatifлоксацин                      | 6  | 4,1±1,6  | 5  | 3,5±1,5  | 134 | 92,4±2,2 |
| <b>Протимікробні засоби (n=82)</b> |    |          |    |          |     |          |
| нітроксолін                        | 11 | 13,4±3,7 | 17 | 20,7±4,4 | 54  | 65,9±5,2 |
| фуразолідон                        | 13 | 15,8±4,0 | 30 | 36,6±5,3 | 39  | 47,6±5,5 |
| фурагін                            | 8  | 9,8±3,2  | 22 | 26,8±4,8 | 52  | 63,4±5,3 |

Встановлена висока чутливість штамів *E. coli* до імipенему (96,6±1,5 % чутливих штамів), гatifлоксацину (92,4±2,2 %) і амікацину (80,0±3,3 %), що визначає їх практичне значення як препаратів резерву для лікування ешерихіозних інфекцій, обумовлених полірезистентними штамми. Виявлено зростання стійкості до фторхінолонів, особливо до

норфлоксацину (рис. 2), і циркуляція великої кількості помірно стійких штамів до похідних нітрофуранів і нітроксоліну (табл. 1), які займають провідне місце в схемах емпіричної терапії хворих на хронічні інфекції сечовивідних шляхів, тому використання цих засобів не завжди виправдано.

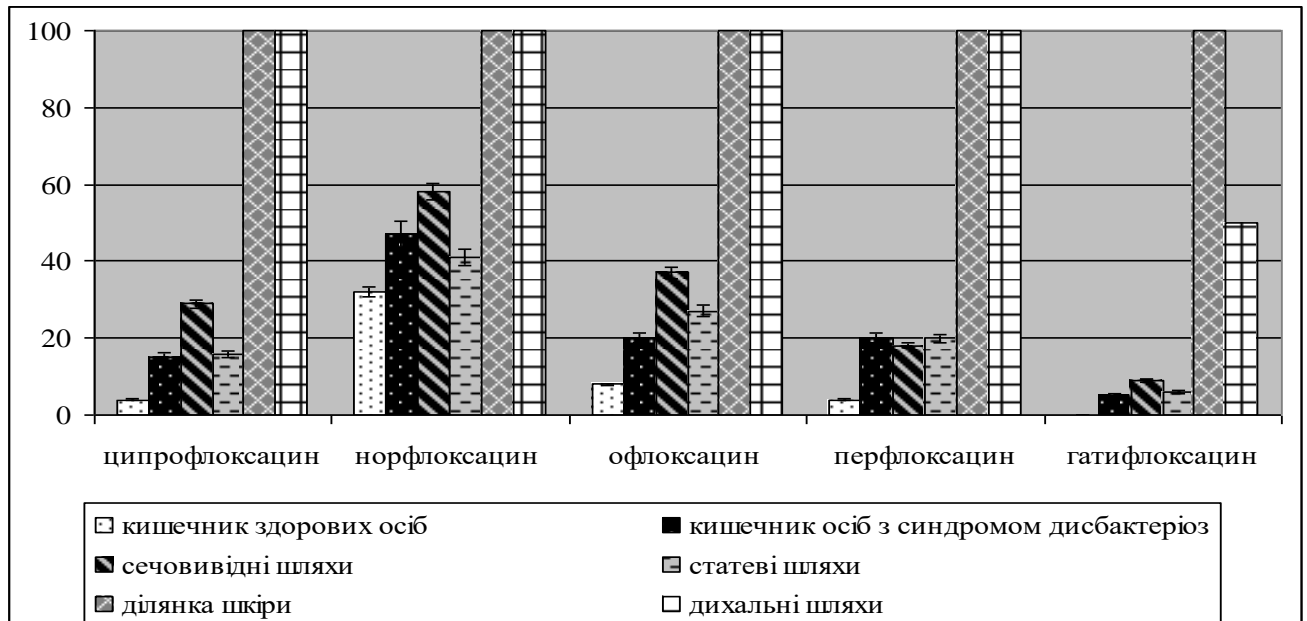


Рис. 2. Питома вага нечутливих до фторхінолонів штамів *E. coli*, які вилучено з різних біотопів.

Відомо, що ешерихії володіють природною чутливістю до всіх β-лактамних антибіотиків, але реальна активність цих антибіотиків обмежена поширенням придбанної резистентності, пов'язаної з продукцією β-лактамаз широкого та розширеного спектрів дії. В нашому дослідженні виявлено, що 18,6 % (27/145) ешерихій продукують БЛРС (рис. 3), причому більшість таких штамів виділено із сечі – 15/27 (55,6 %).

Встановлено високу розповсюдженість поліантибіотикорезистентних штамів з гемолітичними властивостями, як серед представників нормальної мікрофлори кишечника (49,2±9,8) %, так і серед уропатогенних серотипів (87,2±5,4) %. Всі штам, що були вилучені з дихальних шляхів і ділянок шкіри та м'яких тканин, характеризувалися множинною

резистентністю до вивчених антибіотиків, що характерно для госпітальних штамів. Визначено плазмідні профілі клінічних штамів *E. coli* (n=35) і встановлено, що плазмідні були присутні у 88,6 % штамів ешерихій, виділених з кишечника здорових осіб і патологічного матеріалу. Досліджені штам володіли від 1 до 8 плазмід з розмірами від 1 до 24 kb.

У чотирьох штамів, серед вилучених з кишечника здорових людей і осіб з дисбактеріозом, в зазначеному розмірному діапазоні плазмід не виявлено. Виявлені плазмідні були умовно розділені на 5 розмірних класів (I ~ 1-<4,2 kb; II ~ 4,2-<7,7 kb; III ~ 7,7-<19,3 kb; IV ~ 19,3 kb; V ~ >19,3 kb), в тому числі визначався нульовий клас ешерихій, в клітинах яких не виявлено позахромосомні елементи. Встановлено, що кількість плазмід в різних класах суттєво відрізнялася (рис. 3).

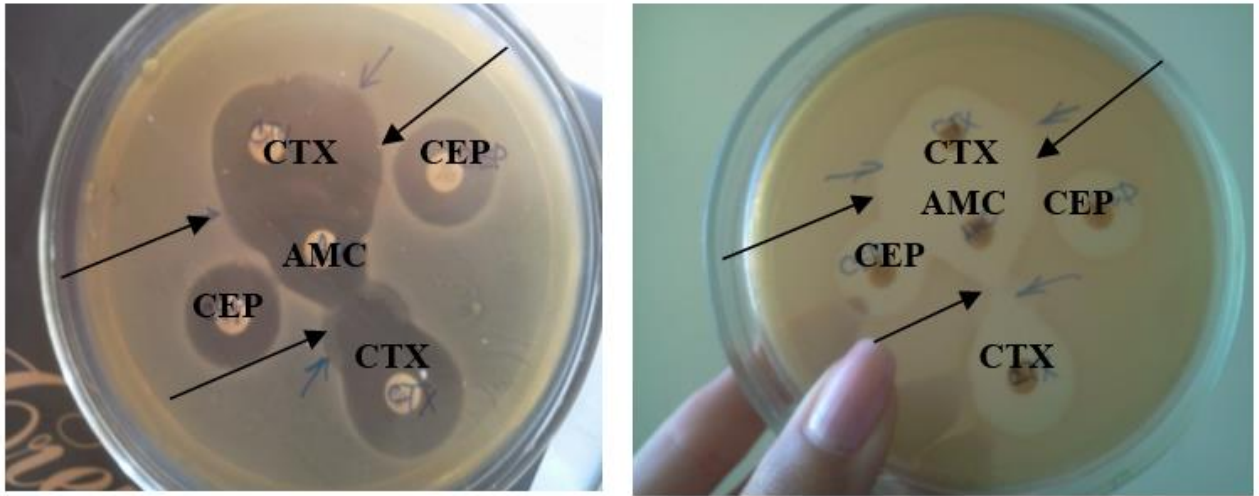


Рис. 3. Виявлення методом «подвійних дисків» продукції БЛРС у штамів *E. coli*: стрілками позначено розширення зони затримки росту навколо диска з цефалоспорином III покоління напроти диска, що містить клавуланову кислоту. Позначення дисків: AMC – амоксицилін/клавуланова кислота (20/10 мкг), CTX – цефотаксим (30 мкг), CEP – цефподоксим (10 мкг).

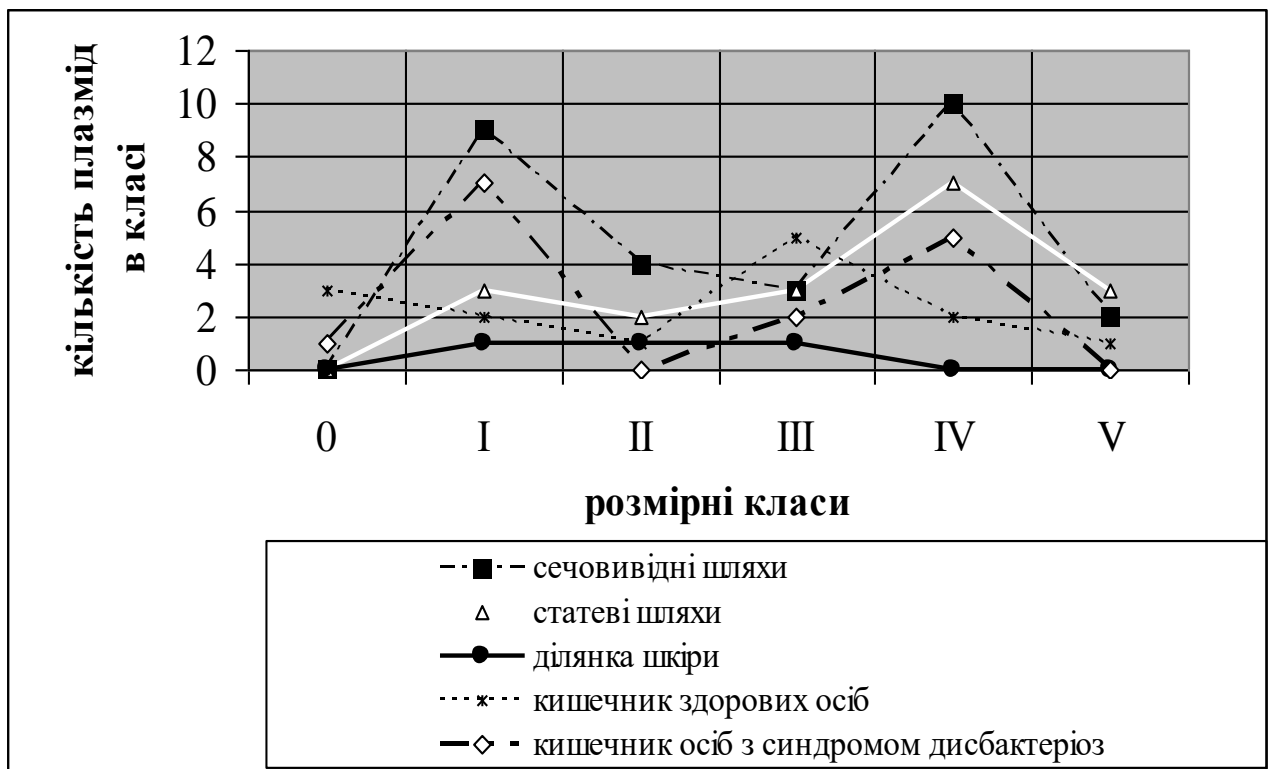


Рис. 3. Розподіл за розмірними класами позахромосомних ДНК у ешерихій, вилучених з різних біотопів.

Більшість вивчаємих штамів (64,5 % плазмідомістких ізолятів) характеризувалися множинністю вмісту плазмід. Відносно частіше серед досліджуваних ешерихій зустрічалась плазміда розміром 19,3 kb, причому ці штами мали високий рівень резистентності до антибіотиків (до 6-10 антибіотиків одночасно). Слід відмітити, що штами, вилучені з сечі та відділяемого піхви від однієї хворої, мали подібні профілі. Це підтверджує положення про

можливу подальшу транслокацію ешерихій з генітального тракту в сечовивідні шляхи та інші органи і тканини.

Плазмідні профілі є достатньо індивідуального штамовою характеристикою, яка визначає одну з фенотипових ознак збудника. З метою вдосконалення мікробіологічного моніторингу ешерихіозних інфекцій раціонально використовувати не лише виявлення антибіотикостійких штамів мікроорганізмів і проведення їх мікробіологічного та біохімічного

дослідження, але також виділення та ідентифікацію плазмідних ДНК в якості додаткового епідеміологічного маркера патогенів.

#### Висновки

1. Виявлено, що ізоляти кишкових паличок з гемолітичним фенотипом зустрічаються доволі часто та незалежно від місця виділення, але залежно від наявності гнійно-запального процесу.
2. Показано, що більшість ізолятів зберігають високу чутливість до карбапенемів та амікацину на тлі поступового зростання стійкості до багатьох цефалоспоринів III покоління (пов'язано з продукцією  $\beta$ -лактамаз) та фторхінолонів.
3. Показано високу розповсюдженість детермінант резистентності серед ізолятів – представників нормальної мікрофлори з гемолітичним фенотипом, що робить їх потенційним джерелом поширення антибіотикорезистентності серед свого виду та споріднених видів бактерій різних таксономічних груп.
4. Асоційована присутність гемолітичної активності та антибіотикорезистентності в біопротипі конкретного мікроорганізму додає йому біоагресивності і робить його потенційно здатним долати систему імунного захисту господаря і викликати позакишкову інфекцію.
5. Встановлено, що плазмиди зустрічалися у 88,6 % штамів ешерихій, виділених з кишечника здорових осіб і патологічного матеріалу, при чому більшість вилучених штамів характеризувалися множинністю вмісту плазмід. Найчастіше серед досліджуваних ешерихій зустрічалась плазмида розміром 19,3 kb.
6. Дослідження плазмідних ДНК, виділених з клінічних штамів, дозволить з більшою достовірністю визначати полірезистентні штами, що викликають внутрішньолікарняні інфекції, а також виявляти шляхи розповсюдження госпітальної інфекції в конкретному стаціонарі.

#### BIOLOGICAL PROPERTIES OF CLINICAL STRAINS OF ESCHERICHIA COLI FROM DIFFERENT BIOTOPES

Voyda J.V., Birukova S.V.

**Introduction.** The results of laboratory diagnostics based on a limited number of phenotypic tests do not always allow to estimate with confidence the etiological significance of *Escherichia* (even if their serological belonging to a certain group or biovar is taken into account). The accumulated data indicate the need for an in-depth study of the intraspecific diversity of *E. coli*. The aim of the work is to study phenotypic properties (morphological, cultural, biochemical, hemolytic activity) and genotypic characteristics (evaluation of plasmid prevalence and determination of their molecular size) of clinical isolates of *E. coli* from various biotopes, and to establish the prevalence of clinically significant multidrug-resistant strains among them. **Material and methods** The morphological, cultural, biochemical properties, hemolytic activity of 677 clinical strains of *E. coli* isolated from different biotopes have been investigated. The material has been sown on the 5% blood

agar for accounting of the hemolytic forms. The sensitivity of *E. coli* to the antibacterial drugs has been performed by disco-diffusion method Keurby-Bauer using standard commercial discs on medium Mueller-Hinton. The study of the plasmid spectrum has been carried out using the alkaline method. **Results and discussion.** Coliform isolates with hemolytic phenotype colonize the intestines of persons with dysbiosis 4 times more often than in the control group (hemolytic active representatives of the control group have been found in (8,2±1,5) % of cases - according to accepted standards, the percentage that is allowed). Strains with hemolytic activity have been present in all groups of extracellular localization. Most often, this feature has been among the strains that were removed from the urine with complicated urinary system infection ((66,6±7,5) %). The antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* with hemolytic phenotype has been studied. A high prevalence of multidrug-resistant strains with hemolytic properties has been established, both among representatives of normal intestinal microflora (49,2±9,8) %, and among uropathogenic serotypes (87,2±5,4) %. All strains that have been removed from the respiratory tract and areas of the skin and soft tissues were characterized by multiple resistance to the studied antibiotics, which is typical for hospital strains. Plasmid profile of 35 clinical strains of *E. coli* has been studied and plasmids have been found in 88.6% of *Escherichia coli* strains from different biotopes, most of the isolated strains were multiplasmid. The strains had from 1 to 8 plasmids with sizes from 1 to 24 kb. It often has been found plasmid with size 19,3 among the studied multidrug-resistant *Escherichia coli*. **Conclusion.** It has been set that the isolates of *E. coli* with hemolytic phenotype meet in all analyzed groups, frequency of exposure depends on the presence of festering-inflammatory process. The high sensitiveness to imipenem (96,6±1,5 % sensitive strains), gatifloxacin (92,4±2,2 %) and amikacin (80,0±3,3 %) has been found out, as well as growth of resistance to the third generation cephalosporins (due to production of  $\beta$ -lactamases), other fluoroquinolones and circulation of generous amount mildly resistant strains to the derivatives of nitrofurans and nitroxolinum, which occupy a leading place in the charts of the protracted empiric therapy of patients with chronic pyelonephritis. Plasmid profiles are quite individual strain characteristic, which determines one of the phenotypic characteristics of the pathogen. The study of plasmid DNA isolated from clinical strains will make possible to determine with greater certainty the multidrug-resistant strains that cause nosocomial infections and to identify ways of spreading hospital infection in a particular hospital. **Key words:** *Escherichia coli*, biotope, biochemical properties, hemolytic activity, antibiotics, antibiotic resistance, plasmid profile.

#### Список літератури

1. Croxen M.A., Finlay B.B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*. 2010. Vol. 8. P. 26-38.
2. Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhiyev Yu.P. et al. Detection of some genes encoding pathogenicity factors

in the typical isolates of *Escherichia coli*. *Bjul. VSNC SO RAMN*. 2014. N 5 (99). P. 89-94.

3. Magiorakos A. P., Srinivasan A., Carey R. B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. Vol. 18. P. 268–281.

4. Candan E. D., Aksoz N. *Escherichia Coli: Characteristics of Carbapenem Resistance and Virulence Factors*. *Braz. arch. biol. technol.* 2017. Vol. 60. URL: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160416>.

5. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenemase-producing bacteria in Europe: interim results from the European Survey on carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) project. Stockholm: ECDC 2013. Available at: [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu).

6. *Manual of clinical microbiology* / eds. J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller. 11th ed. Washington. ASM Press. 2015. 2730 p.

7. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (George M. Garrity, Editor-in-Chief, Bergey's Manual Trust). Family I. Enterobacteriaceae, genus I. *Escherichia* in Vol. 2. Part B The Gammaproteobacteria. Springer, 2005. P. 595, 607–624.

8. About standartization of microbiological (bacteriological) methods of research, medical prophylactic establishments applied in clinical diagnostic laboratories: order № 535. Moscow. Ministry of Health Care of the USSR. 1985. 65 P.

9. Particular medical microbiology with techniques of microbiological studies: Manual. Ed. by Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eschina A.S. Mos. Medicine. 2005. 598 c.

10. About claim of the methodical pointing in relation to determination of sensitiveness of microorganisms to antibacterial preparations: order № 167. Operating from 05.04.2007. Kyiv. Ministry of Health Care of the Ukraine. 2007. 63 P.

11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. Available at: [www.eucast.org](http://www.eucast.org).

12. Birnboim H.C., Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant DNA. *Nucleic Acids Res.* 1979. Vol. 7. P. 1513–1523.