

DOI: 10.26693/jmbs06.03.226

УДК 616.98:579.86]:615.33

Ващенко А. О., Воронкова Ю. С., Вінніков А. І.,  
Шевченко Т. М., Воронкова О. С.

## ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ ШТАМІВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ЩО ЗДАТНІ ДО УТВОРЕННЯ БІОПЛІВКИ

Дніпровський національний університет ім. Олесея Гончара, Дніпро, Україна

Проблема захворювань респіраторного тракту, пов'язаних зі стафілококовим носійством, вважається з однією найбільш гострих у сучасному суспільстві через значне поширення та проблеми лікування, зумовлені значною стійкістю цих бактерій до антибіотиків.

*Метою роботи* було визначити чутливість штамів *Staphylococcus aureus* здатних до утворення біоплівки, що виділені з верхніх дихальних шляхів людини.

*Матеріал та методи.* Для виконання досліджень були застосовані бактеріологічні методи виділення та ідентифікації стафілококів, метод експрес-визначення здатності до утворення біоплівки на планшеті та диск-дифузійний метод визначення чутливості до антибіотиків.

*Результати та висновки.* У результаті проведених досліджень встановлено, що у структурі збудників загострень сезонного риніту переважав *S. aureus*, який виділено з 34 зразків біологічного матеріалу з носу, що склало 69,4 % всіх обстежених випадків риніту. Також серед збудників виявлені *Staphylococcus spp.* (6,1 %) та *Streptococcus spp.* (24,5 %). Серед виділених штамів *S. aureus* здатність до утворення біоплівки мали 27 (79,4 %). Визначено, що понад 80 % плівкотвірних штамів були чутливими до ципрофлоксацину, амоксицилін/клавуланової кислоти та азитроміцину. Метіцилінрезистентними є 4 (14,8 %). Стійкість до метіциліну була виявлена одночасно зі стійкістю до ципрофлоксацину (3 випадки) та до азитроміцину (2 випадки), 1 штам був стійким до гентаміцину і 2 – до тетрацикліну. 1 з метіцилінорезистентних штамів *S. aureus* був множиннорезистентним (проявив стійкість до всіх досліджених антибіотиків). Серед небіоплівкотвірних штамів понад 80 % штамів також були чутливі до ципрофлоксацину, амоксицилін/клавуланової кислоти та азитроміцину. Низькою в обох групах була чутливість до тетрацикліну (42-63 % чутливі). Значні відмінності

у біологічних властивостях штамів вказують на необхідність індивідуалізованого підходу до призначення антибіотикотерапії.

**Ключові слова:** *Staphylococcus aureus*, носійство, риніт, біоплівка, стійкість до антибіотиків.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження виконані в рамках наукової теми кафедри загальної медицини з курсом фізичної терапії Дніпровського національного університету імені Олесея Гончара «Моніторинг стану здоров'я населення Дніпропетровської області з аналізом клініко-лабораторних показників», № державної реєстрації 0119U101044.

**Вступ.** Умовно-патогенні мікроорганізми дедалі набувають все більшого значення у клінічній патології людини. Вони є одними з найбільш часто виявлюваних як у здорових осіб (носіїство), так і серед пацієнтів лікувальних закладів різного профілю. Серед таких мікроорганізмів одними з найбільш відомих та поширених є стафілококи, що спричиняють значну кількість ускладнень, у тому числі і через значне поширення серед них детермінант резистентності до антибіотиків, що почасти зумовлює невдачі терапії [1, 2, 3].

Додаткову проблему зі стафілококами становить їх носійство практично здоровими особами, зокрема, медичним персоналом, що знижує ефективність заходів припинення їх циркуляції у лікувальних закладах. [1, 2].

Серед причин посилення ролі стафілококів у патології людини можна відмітити численні епідеміологічні аспекти, які пов'язані зі збільшенням кількості осіб, що мають порушення імунітету, концентрацією міського населення, яка пов'язана зі збільшенням контактів, внутрішньолікарняною циркуляцією полірезистентних штамів, дефектами у тактиці антибіотикотерапії тощо [2, 3]. У зв'язку із цим необхідним є моніторинг циркулюючих у лікувальних закладах та поза ними штамів

стафілококів, що має на меті виявлення джерел поширення цих бактерій [4, 5].

Важливою проблемою, пов'язаною зі стафілококами, також є поширена серед них здатність до утворення біоплівки [6, 7]. Остання є організованою формою спільного існування багатьох клітин, які отримують перевагу у виживанні за дії несприятливих факторів довкілля за рахунок просторово організованого та метаболічно складного консорціуму [5, 8, 9]. У складі біоплівки бактерії стають менш чутливими до дії антибіотиків, що зумовлює необхідність у розширенні спектру лабораторних тестів, які застосовуються для вивчення біологічних властивостей збудників захворювань [7, 10, 11].

Відповідно до цього, **метою роботи** було визначити чутливість штамів *Staphylococcus aureus* здатних до утворення біоплівки, що виділені з верхніх дихальних шляхів людини.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження зі штамми стафілококів проводили на базі бактеріологічного відділу «Центру лабораторної медицини «ВІС-Медик» (м. Дніпро). Біологічний матеріал з носових ходів осіб з ознаками сезонного загострення хронічного риніту (n=49) досліджували бактеріологічними методами. Ідентифікацію стафілококів проводили за ознаками, наведеними у Визначнику бактерій Берджі [12].

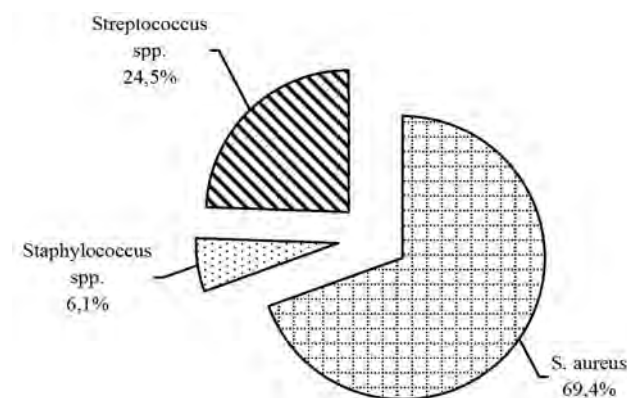
Для досліджень відбирали всі зразки, що містили грампозитивні коки. За умов виявлення останніх при мікроскопії висівали матеріал штрихом на живильні середовища: сольовий агар, 5% кров'яний агар, цукровий бульйон і середовище для контролю стерильності. Інкубували при +37°C протягом 18–24 годин. При виявленні росту проводили відсівання окремих колоній на жовтково-сольовий агар. Зі зрослих колоній відбирали матеріал для подальшої ідентифікації. Належними до роду *Staphylococcus* вважали бактерії, що давали рост на середовищі Чистовича, ферментували глюкозу в анаеробних умовах з утворенням кислоти. Для встановлення належності до виду *S. aureus* проводили тест на виявлення плазмокоагулази та ферментацію маніту в анаеробних умовах з утворенням кислоти. За наявності плазмокоагулази та утворення кислоти з маніту при анаеробіозі штам вважали належним до вказаного виду [13].

Для визначення здатності до формування біоплівки чисту культуру виділеного штаму висівали у лунки імунологічного планшета (Sarstedt, Німеччина) у кількості не менше  $10^5$  КУО/мл. Планшет інкубували при +37°C протягом 3 діб. Якщо у цей період формувалася біоплівка – поверхневий чи придонний ріст у лунці, що давав плівку, яка при видаленні середовища осідала на стінках, то штам вважали плівкоутворюючим. На один 96-лунковий

імунологічний планшет засівали по 3 комірці для кожного штаму. Відповідь про здатність до плівкоутворення вважали позитивною, якщо принаймні у одній лунці з трьох формувалася плівка протягом 72 годин [14].

Вивчення чутливості до антибіотиків та інтерпретацію результатів проводили відповідно до рекомендацій CLSI [15]. З добової культури готували суспензію із вмістом клітин  $1 \times 10^6$  клітин/мл. На стерильну чашку з середовищем Мюлера-Хінтона (HiMedia, Індія) наносили 0,1 мл отриманої суспензії, яка містила  $1 \times 10^5$  КУО/мл стафілококів. Шпателем розтирали краплю по поверхні для рівномірного розподілення матеріалу. Стерильним пінцетом диски з антибіотиками розкладали по поверхні живильного середовища, засіяного культурою стафілококу. На 1 чашку уміщували 6 дисків з антибіотиками амоксицилін/клавулановою кислотою, ципрофлоксацином, гентаміцином, тетрацикліном, метициліном та азитроміцином. Облік результатів проводили через 24 год після розкладання дисків. Чутливість штаму визначали на основі вимірювання зони затримки росту навколо диску.

**Результати дослідження.** Ідентифікація ізолятів бактерій, виділених з верхніх дихальних шляхів осіб з сезонним загостренням хронічного риніту, дозволила встановити, що 34 штами належали до виду *Staphylococcus aureus*, що становило 69,4 % випадків серед усіх звернень. Також виявляли інші види стафілококів та стрептококи (рис. 1).

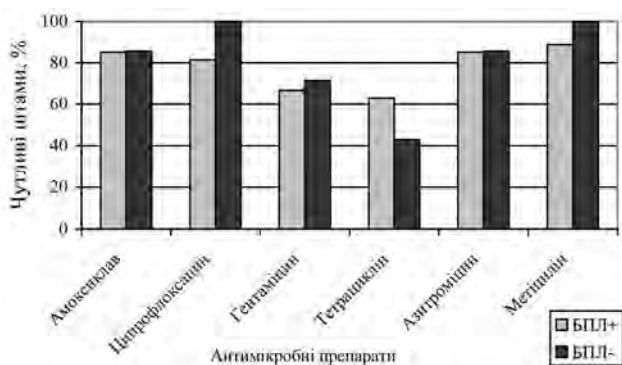


**Рис. 1.** Частота виявлення умовно-патогенних мікроорганізмів у носових ходах при сезонному загостренні риніту

Отже, крім *S. aureus*, стафілококи інших видів були виявлені ще у 3 випадках (6,1 %), а на частку стрептококів припадало 12 випадків (24,5 %).

Дослідження здатності штамі *S. aureus* до утворення біоплівки показало, що 27 (79,4 %) з них здатні до утворення цієї структури.

Для всіх штамів, ідентифікованих як *S. aureus*, вивчено чутливість до антибіотиків диск-дифузійним методом (рис. 2).



**Рис. 2.** Чутливість до антимікробних препаратів штамів *S. aureus*, що виділені з носових ходів при сезонному загостренні риніту (БПЛ+ – штам, що здатний до утворення біоплівки; БПЛ- – штам, що не здатний до утворення біоплівки; амоксицилін/клавуланова кислота)

У даному дослідженні показано, що виділені плівкотвірні штам переважно були чутливими до ципрофлоксацину, азитроміцину та амоксицилін/клавуланової кислоти – понад 80 %. Також визначено, що тільки 4 штам (14,8 %) є метіцилінрезистентними, що вказує на більш високі ризики широкого спектру їх стійкості до антибіотиків інших груп [5]. Зокрема, при аналізі отриманих результатів підтверджено одночасну стійкість цих 4 штамів до ципрофлоксацину (в 3-х випадках) і до азитроміцину (в 2-х випадках). Також один з цих штамів був стійким до гентаміцину і 2 – до тетрацикліну. Один з досліджених біоплівкотвірних штамів був стійким до всіх досліджених антибіотиків, що потребувало додаткового вивчення його чутливості до антибіотиків задля призначення раціональної антибіотикотерапії. У той же час слід відмітити, що частота виявлення метіцилінрезистентних штамів значно менша, ніж це вказується у інших дослідженнях подібного напрямку [1, 2, 5].

Серед небіоплівкотвірних штамів також понад 80 % штамів були чутливі до ципрофлоксацину, амоксицилін/клавуланової кислоти та азитроміцину. До метіциліну резистентних взагалі виявлено не було.

Загальною тенденцією для обох груп також можна відмітити знижену чутливість до гентаміцину (66-71 %) та тетрацикліну (42-63 %), що вказує на необхідність обов'язкового тестування штамів, виділених в умовах хронічного носійства, на чутливість до цих препаратів.

**Обговорення отриманих результатів.** У даних дослідженнях визначено переважання *S. aureus* у структурі збудників загострень сезонного риніту, що співпадає з даними інших авторів стосовно складу мікробіоти носових ходів [10, 16]. Аналіз складу збудників також дозволив відмітити порівняно меншу роль стафілококів інших видів та стрептококів, що збігається з даними [10].

Відомо, що у більшості випадків хронічного стафілококового носійства виявляють штам, схильний до утворення біоплівки [17, 18], що у свою чергу корелює з більшим широким спектром стійкості до антибіотиків [4, 5, 18], тому ці характеристики необхідно вивчати, особливо у разі хронічних патологічних процесів.

Найбільшу загрозу в біоплівковому стані становлять стафілококи через підвищену стійкість до антибіотиків [7, 18].

Показано, що більш високу ефективність мають захищені бета-лактами та фторхінолони, що співпадає з відомими даними [1, 3]. Також спільною тенденцією є знижений рівень чутливості до тетрациклінів, що є достатньо типовим для стафілококів [2, 3], хоча певні дослідження вказують на високу ефективність тетрациклінів проти метіцилінорезистентних *S. aureus* [1]. Це вимагає більш детальних досліджень їх резистентності та, при необхідності, корекції антимікробної терапії шляхом індивідуального підбору препаратів.

**Висновки**

1. Встановлено, що у структурі збудників загострень сезонного риніту переважає *S. aureus*: 34 випадки (69,4 %). Ще у 3 випадках (6,1 %) виявлено стафілококи інших видів та 12 випадках (24,5 %) виявлено стрептококи.
2. Визначено, що здатність до утворення біоплівки мали штам *S. aureus*: 27 (79,4 %) штамів.
3. Показано, що понад 80 % виділених плівкотвірних штамів були чутливими до ципрофлоксацину, амоксицилін/клавуланової кислоти та азитроміцину. 4 штам (14,8 %) є метіцилінрезистентними. У них стійкість до метіциліну була виявлена одночасно зі стійкістю до ципрофлоксацину (3 випадки) та до азитроміцину (2 випадки), 1 штам був стійким до гентаміцину і 2 – до тетрацикліну. 1 з цих штамів проявив стійкість до всіх досліджених антибіотиків. Серед небіоплівкотвірних штамів також понад 80 % штамів були чутливі до ципрофлоксацину, амоксицилін/клавуланової кислоти та азитроміцину. До метіциліну резистентних взагалі виявлено не було. Загальною для обох груп є знижена чутливість до тетрацикліну (42-63 % чутливі).

**Перспективи подальших досліджень.** Поширення резистентності до антибіотиків серед клінічних штамів умовно-патогенних бактерій, на жаль, показує тенденцію до зростання. Це вимагає постійного моніторингу чутливості до антимікробних препаратів з метою розробки схем раціональної антибіотикотерапії з урахуванням індивідуалізованого підходу до пацієнтів. Особливістю, що пов'язана зі стійкістю до антибіотиків, є також здатність штамів мікроорганізмів до утворення біоплівки, у складі якої вони набувають посилені можливості виживання за умов дії

несприятливих факторів довкілля, у тому числі і при застосуванні лікарських засобів. У цьому сенсі перспективним є при вивченні біологічних властивостей клінічних ізолятів визначати не лише стійкість до антибіотиків, але й їх здатність до утворення біоплівки.

### References

1. de Benito S, Alou L, Becerro-de-Bengoa-Vallejo R, Losa-Iglesias ME, Gómez-Lus ML, Collado L, et al. Prevalence of *Staphylococcus spp.* nasal colonization among doctors of podiatric medicine and associated risk factors in Spain. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018; 7: 24. doi: 10.1186/s13756-018-0318-0
2. Xie X, Dai X, Ni L, Chen B, Luo Z, Yao Y, et al. Molecular epidemiology and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in medical laboratory staff: comparison between microbiological and non-microbiological laboratories. *BMC Infect Dis*. 2018; 18(1): 122. doi: 10.1186/s12879-018-3024-x
3. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(4): e00020-18. doi: 10.1128/CMR.00020-18
4. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17(4): 203-218. doi: 10.1038/s41579-018-0147-4
5. Abdel Halim RM, Kassem NN, Mahmoud BS. Detection of Biofilm Producing *Staphylococci* among Different Clinical Isolates and Its Relation to Methicillin Susceptibility. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018; 6(8): 1335-1341. doi: 10.3889/oamjms.2018.246
6. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(2): 167–193. doi: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
7. Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility of antibiotics. *Can J Vet Res*. 2002; 66(2): 86–92.
8. Dakheel KH, Abdul Rahim R, Neela VK, Al-Obaidi JR, Hun TG, Yusoff K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms and Their Influence on Bacterial Adhesion and Cohesion. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 4708425. doi: 10.1155/2016/4708425
9. Hiltunen AK, Savijoki K, Nyman TA, Miettinen I, Ihalainen P, Peltonen J, et al. Structural and Functional Dynamics of *Staphylococcus aureus* Biofilms and Biofilm Matrix Proteins on Different Clinical Materials. *Microorganisms*. 2019; 7(12): 584. doi: 10.3390/microorganisms7120584
10. Boase S, Foreman A, Cleland E, Tan L, Melton-Kreft R, Pant H, et al. The microbiome of chronic rhinosinusitis: culture, molecular diagnostics and biofilm detection. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 210. doi: 10.1186/1471-2334-13-210
11. Wolcott R, Costerton JW, Raoult D, Cutler SJ. The polymicrobial nature of biofilm infection. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(2): 107–112. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.04001.x
12. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. (Eds.). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams&Wilkins; 1994.
13. Labinskaia AS, Volina YeH. (Eds.). *Manual of Medical Microbiology. General and sanitary microbiology*. M: Binom; 2008.
14. Manner S, Goeres DM, Skogman M, Vuorela P, Fallarero A. Prevention of *Staphylococcus aureus* biofilm formation by antibiotics in 96-Microtiter Well Plates and Drip Flow Reactors: critical factors influencing outcomes. *Sci Rep*. 2017; 7: 43854. doi: 10.1038/srep43854
15. CLSI Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standart M07. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standarts Institute; 2018. 13 p. Available from: [https://clsi.org/media/1928/m07ed11\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf)
16. Chen BJ, Xie XY, Ni LJ, Dai XL, Lu Y, Wu XQ, et al. Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage and molecular characteristics among the general population at a Medical College Campus in Guangzhou, South China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017; 16(1): 28. doi: 10.1186/s12941-017-0206-0
17. Ghellai L, Hassaine H, Klouche N, Abdelmounaim K. Detection of biofilm formation of a collection of fifty strains of *Staphylococcus aureus* isolated in Algeria at the University Hospital of Tlemcen. *J Bacteriol Res*. 2014; 6(1): 1-6. doi: 10.5897/JBR2013.0122
18. Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Chemother*. 2010; 65(9): 1955-1958. doi: 10.1093/jac/dkq257

УДК 616.98:579.86]:615.33

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, СПОСОБНЫХ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНКИ****Ващенко А. А., Воронкова Ю. С., Винников А. И., Шевченко Т. М., Воронкова О. С.**

**Резюме.** Заболевания респираторного тракта, связанные со стафилококковым носительством, считаются одними из наиболее острых в современном обществе из-за значительного распространения и проблем с лечением, обусловленных значительной устойчивостью этих бактерий к антибиотикам.

**Целью работы** было определить чувствительность штаммов *Staphylococcus aureus* способных к образованию биопленки, выделенных из верхних дыхательных путей человека.

**Материал и методы.** Для выполнения исследований были использованы бактериологические методы выделения и идентификации стафилококков, метод экспресс-определения способности к образованию биопленки на планшете, и диск-диффузионный метод определения чувствительности к антибиотикам.

**Результаты и выводы.** В результате проведенных исследований установлено, что в структуре возбудителей обострений сезонного ринита преобладал *S. aureus*, который выделен из 34 образцов биологического материала из носа, что составило 69,4% всех обследованных случаев ринита. Также среди возбудителей обнаружены *Staphylococcus spp.* (6,1%) и *Streptococcus spp.* (24,5%). Среди выделенных штаммов *S. aureus* способность к образованию биопленки имели 27 (79,4%). Определено, что более 80% пленкообразующих штаммов были чувствительными к ципрофлоксацину, амоксициллин / клавулановой кислоте и азитромицину. Метициллинрезистентными были 4 (14,8%) штамма. Устойчивость к метициллину была обнаружена одновременно с устойчивостью к ципрофлоксацину (3 случая) и к азитромицину (2 случая), 1 штамм был устойчивым к гентамицину, и 2 – к тетрациклину. 1 из метициллинрезистентных штаммов *S. aureus* был множественноустойчивым (проявил устойчивость ко всем исследованным антибиотикам). Среди непленкообразующих штаммов более 80% также были чувствительны к ципрофлоксацину, амоксициллин / клавулановой кислоте и азитромицину. Низкой в обеих группах была чувствительность к тетрациклину (42-63% чувствительные). Значительные различия в биологических свойствах штаммов указывают на необходимость индивидуализированного подхода к назначению антибиотикотерапии.

**Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, носительство, ринит, биопленка, устойчивость к антибиотикам.

UDC 616.98:579.86]:615.33

**Sensitivity to Antibiotics of *Staphylococcus Aureus* Strains, Able to Biofilm Formation****Vashchenko A. O., Voronkova Yu. S., Vinnikov A. I., Shevchenko T. N., Voronkova O. S.**

**Abstract.** The problem of respiratory diseases associated with staphylococcal carriers is considered to be one of the most acute in modern society due to its high prevalence and problems with treatment due to the high resistance of these bacteria to antibiotics.

**The purpose of the study** was to determine the sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains, able to form biofilm, isolated from the upper respiratory tract of human.

**Materials and methods.** Bacteriological methods of isolation and identification of staphylococci, the method of rapid determination of the ability to form biofilm on a tablet and the disk-diffusion method of determining the susceptibility to antibiotics were used to perform the research. As a result of the conducted researches it was established that in the structure of pathogens of exacerbations of seasonal rhinitis *S. aureus* prevailed. It was isolated from 34 samples of biological material from the nose, which accounted for 69.4% of all examined cases of rhinitis. *Staphylococcus spp.* (6.1%) and *Streptococcus spp.* (24.5%) among the isolated strains of *S. aureus*, 27 (79.4%) had the ability to form a biofilm. A feature associated with antibiotic resistance is the ability of strains of microorganisms to form a biofilm, in which they acquire enhanced ability to survive under adverse environmental factors, including the use of drugs.

**Results and discussion.** In our research we showed that more than 80% of film-forming strains were found to be susceptible to ciprofloxacin, amoxicillin / clavulanic acid and azithromycin. 4 (14.8%) are methicillin-resistant. Resistance to methicillin was detected simultaneously with resistance to ciprofloxacin (3 cases) and to azithromycin (2 cases), 1 strain was resistant to gentamicin and 2 – to tetracycline. 1 of the methicillin-resistant strains of *S. aureus* was multidrug-resistant (showed resistance to all studied antibiotics). Among non-biofilm

strains, more than 80% of the strains were also sensitive to ciprofloxacin, amoxicillin / clavulanic acid and azithromycin. Sensitivity to tetracycline was low in both groups (42-63% sensitive).

**Conclusion.** The prevalence of antibiotic resistance among clinical strains of opportunistic bacteria, unfortunately, shows an increasing trend. This requires constant monitoring of susceptibility to antimicrobial drugs in order to develop schemes of rational antibiotic therapy, taking into account the individualized approach to patients. In this sense, it is promising when studying the biological properties of clinical isolates to determine not only the resistance to antibiotics, but also their ability to form a biofilm.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, carriage, rhinitis, biofilm, antibiotic resistance.

#### **ORCID and contributionship:**

Anton O. Vashchenko: 0000-0003-3179-9081<sup>A,B,D,F</sup>

Yuliia S. Voronkova: 0000-0002-4079-8294<sup>C,E,F</sup>

Albert I. Vinnikov: 0000-0003-0893-7570<sup>A,E,F</sup>

Tetiana N. Shevchenko: 0000-0002-0947-0960<sup>A,E,F</sup>

Olha S. Voronkova: 0000-0003-3380-6871<sup>A,B,C,D,F</sup>

---

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,  
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,  
E – Critical review, F – Final approval of the article

#### **CORRESPONDING AUTHOR**

##### **Olha S. Voronkova**

Oles Honchar Dnipro National University,  
Department of General Medicine with Course of Physical Therapy  
35, D. Yavornitskii Ave., Dnipro 49044, Ukraine  
tel: +380962250463, e-mail: voronkova.olga.04@gmail.com

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Received: 03.03.2021 p.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*