

**EFFECT OF MICROAMPERE CURRENT ON CLINICAL STRAINS OF ACINETOBACTER BAUMANNII WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE AND THE MANIFESTATION OF THE BIOELECTRIC EFFECT**

<sup>1</sup>National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (Vinnytsya, Ukraine)

<sup>2</sup>Odesa National Medical University (Odesa, Ukraine)

<sup>3</sup>Central Polyclinic of Internal Affairs of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

[nazarchukoa@gmail.com](mailto:nazarchukoa@gmail.com)

There is an urgent need to develop new effective strategies to combat resistant bacteria. The aim was to investigate the effect of microampere current on resistant *A. baumannii* strains and its impact on bacterial susceptibility to antibiotics. The study of the effect of low-intensity currents on the reference and clinical strains of *A. baumannii* ( $n=15$ ) was conducted in isotonic solution and meat-peptone broth (MPB), followed by measuring the optical density (OD) after 24 and 48 hours of incubation. The change in microorganism susceptibility to ceftazidime was also evaluated. The OD values after current exposure on the reference strain *A. baumannii* in isotonic solution significantly ( $p \leq 0.05$ ) differed from the values without current exposure by 1.7 and 1.55 times at 24 and 48 hours, respectively. The effect of currents on clinical strains led to a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) in OD values ( $1.9 \pm 0.4$  – without current exposure;  $1.2 \pm 0.2$  – after current exposure) by 1.58 times at 48 hours. Under the influence of currents, the cell concentration of clinical *A. baumannii* strains in MPB at 48 hours significantly decreased by 1.18 times ( $p \leq 0.05$ ). A statistically significant bioelectric effect was also observed after prior exposure to microampere currents on *A. baumannii* strains, manifested by the reduction of bacterial resistance to ceftazidime. The average values of the minimum inhibitory concentrations of ceftazidime significantly ( $p \leq 0.001$ ) decreased approximately 3.38 times, and the bactericidal ones – 4.18 times. Low-intensity currents exhibit a significant bactericidal effect on clinically relevant multidrug-resistant *A. baumannii* strains and enhance their susceptibility to antibiotics.

**Key words:** multidrug resistance, *A. baumannii*, microampere current, bioelectric effect.

**Connection of the publication with planned research works.**

The work was performed at the Department of Microbiology of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya and is a fragment of the research work “Research of the biological properties of pathogens of healthcare-associated infections and the development of means of combating them” (state registration number 0123U101070).

**Introduction.**

Resistance of gram-negative bacteria to last-line drugs has become a serious global problem, the scale of which continues to gain momentum. Non-fermenting gram-negative bacteria, in particular *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Stenotrophomonas maltophilia*, which show high resistance and limit therapeutic options, and the use of alternative drugs, in particular tigecycline or colistin, is often accompanied by problems related to their efficacy and potential toxicity attract the special attention of researchers and clinicians [1-3].

*A. baumannii* is one of the six main dangerous nosocomial pathogens in the ESCAPE short list (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) of the World Health Organization (WHO) with high rates of morbidity and mortality [4-6]. In the updated (May 17, 2024) list of WHO priority pathogens *A. baumannii*, resistant to carbapenems (Carbapenem-resistant *A. baumannii* – CRAB), remained in

the group of the highest (critical) priority, which emphasizes the lack of progress in controlling this problem [7].

*Acinetobacter* infections have a diverse epidemiology, including infections associated with war and natural disasters, nosocomial infections in temperate climates, and infections in tropical regions [3, 8]. *A. baumannii* is characterized by both natural resistance and a high ability to acquire  $\beta$ -lactamases, in particular carbapenemases of the class OXA [4]. CRAB strains usually possess resistance to most known antibiotics, including broad-spectrum carbapenems such as meropenem, imipenem, and doripenem [8, 9]. Among gram-negative pathogens, *A. baumannii* causes infections with a higher frequency, and the proportion of polyresistant isolates is four times greater than for *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. Infections of the skin and soft tissues, bloodstream, etc., caused by *A. baumannii* are mainly nosocomial, and infection with a polyresistant strain increases the severity of the disease, the length of stay in the intensive care unit or hospital, despite therapy with broad-spectrum antibiotics, in particular third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and carbapenems and their combinations with  $\beta$ -lactamase inhibitors [2, 6].

The epidemic scale of multidrug-resistant *A. baumannii* infections requires immediate action: increased monitoring and prevention, development of innovative therapeutic approaches, and strategies to stop further spread of the pathogen.

**The aim of the study.**

Investigation of the antibacterial effect of microampere current without external power sources on multi-

drug-resistant *A. baumannii* strains and its influence on bacterial susceptibility to antibiotics.

**Object and research methods.**

In the course of experimental studies, clinical strains of *Acinetobacter baumannii* with signs of multidrug resistance (MDR) and the reference strain *A. baumannii* ATCC 15151 were used. The study of the effect of microampere current on microorganisms was conducted using 24-hour cultures of museum and clinical isolates in isotonic sodium chloride solution and meat-peptone broth (MPB).

Concentration standardization was performed spectrophotometrically using the Densi-La-Meter II densitometer ("Erba Lachema s.r.o.", Czech Republic), which was pre-calibrated for accurate determination of concentration based on optical density (OD), where one OD<sub>600</sub> unit corresponded to approximately 8×10<sup>8</sup> CFU/ml [10]. The initial concentration of microorganisms was set at 2.0 OD units for both the reference and clinical *A. baumannii* strains (n=15).

Suspensions of *A. baumannii* strains in isotonic solution and MPB (15 ml each) were placed into tubes with electrodes – electron donor and acceptor – connected to each other, including via a measuring device, using a first-kind conductor. The current strength in saline solution ranged from 46 to 50 μA, and in MPB from 54 to 60 μA, at a voltage of 0.02-0.04 V. The control group included microbial suspensions without exposure to low-intensity currents.

After 24 and 48 hours of incubation at 37°C, the current strength in the interelectrode space and the concentration of microbial cells were determined. Additionally, the change in microbial susceptibility to ceftazidime was assessed. For this purpose, a standardized bacterial suspension (4.0×10<sup>8</sup> CFU/ml, corresponding to 0.5 McFarland units) was prepared. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of antibiotics were determined by the serial dilution method according to EUCAST recommendations (Version 14.0, effective from 01.01.2024).

Statistical data processing was performed using Microsoft Office (365) Excel 2019, calculating the arithmetic mean (M), standard error (m), and significance of differences (p). The results were considered statistically significant at p<0.05.

**Research results and their discussion.**

The initial cell concentration of the reference and clinical *A. baumannii* strains was pre-standardized to 2.0 OD units (≈1.6×10<sup>9</sup> CFU/ml). In the physiological solution, the cell concentration of the reference and clinical strains that were not exposed to low-intensity currents decreased after 24 hours to 1.6±0.4 OD (≈1.28×10<sup>9</sup>) and

1.6±0.7 OD (≈1.28×10<sup>9</sup> CFU/ml), respectively, and after 48 hours to 1.7±0.3 OD (≈1.36×10<sup>9</sup> CFU/ml) and 1.9±0.4 OD (≈1.52×10<sup>9</sup> CFU/ml), respectively (**table 1**). The OD values after current exposure on the reference strain *A. baumannii* ATCC 15151 significantly (p≤0.05) differed from the values without current exposure by 1.7 and 1.55 times at 24 and 48 hours, respectively, and were found to be 0.9±0.6 OD (≈7.2×10<sup>8</sup> CFU/ml) and 1.1±0.2 OD (≈8.8×10<sup>8</sup> CFU/ml). The current effect on clinical strains did not result in a significant reduction in cell concentration at 24 hours, but at 48 hours, the OD value was 1.2±0.2 (≈9.6×10<sup>8</sup> CFU/ml) and was significantly (p≤0.05) lower (by 1.58 times) than without current exposure (OD=1.9±0.4, ≈1.52 × 10<sup>9</sup> CFU/ml) at that time of observation (**table 1**).

In the conditions of MPB, the concentration of cells of the reference and clinical strains of *A. baumannii* in test tubes increased without the action of a physical factor, and at 24 h, the ODU indexes were determined 6,3±0,5 (≈5.04×10<sup>9</sup> CFU/ml) and 6,6±0,2 (≈ 5.28×10<sup>9</sup> CFU/ml) respectively, at 48 h – 6,5±0,7 (≈5.2×10<sup>9</sup> CFU/ml) and 6,7±0,7 (≈5.36×10<sup>9</sup> CFU/ml) respectively (**table 2**). Under the influence of currents, the concentration of cells of clinical strains of *A. baumannii* in the MPB decreased in 24 h (ODU=6,2±0,6, ≈ 4.96×10<sup>9</sup> CFU/ml), but no significant difference was determined. However, at 48 h, a significant decrease in the number of cells of clinical strains (ODU=5.7±0.4, ≈ 4.56×10<sup>9</sup> CFU/ml) was determined by 1.18 times (p≤0.05) compared to untreated suspensions of *A. baumannii* (**table 2**).

We found a statistically significant bioelectrical effect after the preliminary action of microampere currents on the multidrug-resistant (MDR) strains of *A. baumannii*, which was manifested in weakening the resistance of bacteria to ceftazidime. Indicators of sensitivity to antibiotics of clinical MDR strains of *Acinetobacter* (MIC and MBC) without prior exposure to current and after its action are listed in **table 3**. For MDR strains of *A. baumannii*, high concentrations of MIC and MBC were determined. Without prior exposure to current, the MIC value of ceftazidime was determined on average to be 541.67±160.29 μg/ml, MBC – 1166.67±278.89 μg/ml. For MDR strains of *A. baumannii*, high concentrations of MIC and MBC were determined. Without prior exposure to current, the MIC value of ceftazidime was determined on average to be 541.67±160.29 μg/ml, MBC – 1166.67±278.89 μg/ml. Current treatment reduced the resistance of the studied strains by approximately 4 times. The average MICs of ceftazidime decreased significantly (p ≤ 0.001) by approximately 3.38 times and were equal to 135.42±40.07 μg/ml, and MBC – by 4.18

**Table 1 – The effect of low-intensity currents without external power sources on reference and clinical strains of *Acinetobacter baumannii* in isotonic solution conditions**

Strains of microorganisms		Initial values		24 h		48 h	
		Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, μA	Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, μA	Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, μA
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 15151	Intact environment	2,0	-	1,6±0,4	-	1,7±0,3	-
	Currents of low intensity		46-50	0,9±0,6*	36-40	1,1±0,2*	24-30
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=19)	Intact environment	2,0	-	1,6±0,7	-	1,9±0,4	-
	Currents of low intensity		46-50	1,1±0,5	38-40	1,2±0,2*	27-31

**Notes:** \* – significant difference between the indicators obtained in an intact environment and under the conditions of action of a current of low intensity without external power sources (p≤0,05); \*\* – significant difference between the indicators obtained in an intact environment and under the conditions of action of a current of low intensity without external power sources (p≤0,01).

**Table 2 – Effect of low-intensity currents without external power sources on reference and clinical strains of *Acinetobacter baumannii* in meat-peptone broth conditions**

Strains of microorganisms		Initial values		24 h		48 h	
		Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, $\mu\text{A}$	Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, $\mu\text{A}$	Bacterial cell concentration, ODU	Current strength, $\mu\text{A}$
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 15151	Intact environment	2,0	-	6,3 $\pm$ 0,5	-	6,5 $\pm$ 0,7	-
	Currents of low intensity		54-60	5,9 $\pm$ 0,3	44-48	5,8 $\pm$ 0,4*	30-40
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=19)	Intact environment	2,0	-	6,6 $\pm$ 0,2	-	6,7 $\pm$ 0,7	-
	Currents of low intensity		54-60	6,2 $\pm$ 0,6	43-47	5,7 $\pm$ 0,4*	31-39

**Notes:** \* – significant difference between the indicators obtained in an intact environment and under conditions of low-intensity current without external power sources ( $p \leq 0.05$ ); \*\* – significant difference between the indicators obtained in an intact environment and under conditions of low-intensity current without external power sources ( $p \leq 0.01$ ).

**Table 3 – Susceptibility of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains to antibiotics after exposure to low-intensity current without external power sources during cultivation**

Ceftazidime			
MIC without current (control), $\mu\text{g/ml}$	MIC after the action of the current, $\mu\text{g/ml}$	MBC without current (control), $\mu\text{g/ml}$	MBC after the action of the current, $\mu\text{g/ml}$
541,67 $\pm$ 160,29	135,42 $\pm$ 40,07*	1166,67 $\pm$ 278,89	291,67 $\pm$ 69,72*

**Note:** \* – significant difference between the indicators determined without prior exposure to the current and after exposure to a low-intensity current without external power sources ( $p \leq 0,001$ ).

times and amounted to an average of 291.67 $\pm$ 69.72  $\mu\text{g/ml}$ .

The threat of antibiotic resistance is no longer a forecast for the future. This is already happening in every country and can affect every person of any age. The WHO warns that humans may have another 1-2 decades to use existing antibiotics, so there is an urgent need to develop new effective antibacterial strategies. Strategies using physical methods of impact on resistant microorganisms with the possibility of application for medical and environmental purposes are promising [11-14].

At the first stage of the study, we applied low-intensity currents (current strength – 54-60  $\mu\text{A}$ , voltage – 0.02-0.04 V) without external power sources to planktonic forms of *A. baumannii* in various environments (physiological solution and MPB) for 24-48 hours, which led to their death, the formation of sediment from microorganisms, and as a result, a decrease in the concentration of viable bacteria. Damage to bacteria under the action of an electric current, leading to their death, is known as the phenomenon of irreversible electroporation, and can be used with stronger currents of short duration to disinfect various environments, for example, drinking water, liquid food [15-17].

We found a significant bactericidal effect of currents of low intensity (microampere current), which is important for medical use, against actual strains of *A. baumannii* with signs of multidrug resistance (MDR). Naomi Lesmana Putri and colleagues also studied the effects of low milliampere-scale electrical voltage as a method to eradicate *A. baumannii* bacteria with and without signs of multidrug resistance. The researchers used currents of 1 mA, 2 mA, 5 mA, and 10 mA and 0.5 V with monitoring times of 30 minutes, 2 hours, and 4 hours, and concluded that a current of 5 mA and a duration of 30 minutes was optimal for reducing the concentration of

MDR strains of *A. baumannii* and strains without signs of MDR [18].

At the next stage, we found a significant bioelectric effect, i.e. an increase in the sensitivity of resistant *A. baumannii* strains to ceftazidime after preliminary exposure of the physical factor under. The mechanisms of the bioelectric effect are electrophoresis, ionophoresis and electroporation, which allow overcoming the barriers of the cell wall and biofilm biomass [19].

As Saša Haberl Meglič and colleagues point out in their recent study on the inactivation of resistant *E. coli* strains by electroporation, many studies have demonstrated the inactivation of bacteria by electroporation, but rarely have clinical antibiotics and bacteria resistant to them been used. The researchers used four different electric field strengths (5, 10, 15 and 20 kV/cm) for electroporation. The study revealed that electroporation significantly boosts the efficacy of antibiotics and eliminates resistant bacteria. Moreover, the authors highlighted that electroporation exerts a prolonged effect lasting up to 24 hours, rendering bacteria susceptible for an extended period [15].

**Conclusions.**

Low-intensity currents (microampere currents) without external source cause a significant antimicrobial effect against current strains of *A. baumannii* with multidrug resistance.

Low-intensity electric current without external power sources increases the sensitivity of multidrug-resistant *A. baumannii* strains to antibiotics by 4 times (bioelectric effect), i.e., weakens their antibiotic resistance.

**Prospects for further research.**

It is expected that the data substantiate the use of the bioelectric effect as the additional option for the prevention and treatment of infectious complications of wounds, burns, and surgical sites caused by resistant strains of *A. baumannii* in the complex antimicrobial management approaches.

**ВПЛИВ МІКРОАМПЕРНОГО СТРУМУ НА КЛІНІЧНІ ШТАМИ ACINETOBACTER BAUMANNII З ОЗНАКАМИ МНОЖИННОЇ ЛІКАРСЬКОЇ СТІЙКОСТІ ТА ПРОЯВ БІОЕЛЕКТРИЧНОГО ЕФЕКТУ**

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

<sup>2</sup>Одеський національний медичний університет (м. Одеса, Україна)

<sup>3</sup>Центральна поліклініка Міністерства внутрішніх справ України (м. Київ, Україна)

nazarchukoa@gmail.com

Існує гостра необхідність у розробці нових ефективних стратегій боротьби із резистентними бактеріями. Мета – дослідити дію мікроамперного струму на резистентні штами *A. baumannii*, а також його вплив на чутливість бактерій до антибіотиків. Дослідження впливу струмів низької інтенсивності на референтний та клінічні штами *A. baumannii* (n=15) проводили у ізотонічному розчині та м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) із подальшим вимірюванням оптичної густини (ОГ) через 24 та 48 годин інкубації. Також оцінювали зміну чутливості мікроорганізмів до цефтазидиму. Показники ООГ після дії струмів на референтний штам *A. baumannii* ATCC 15151 в ізотонічному розчині достовірно ( $p \leq 0,05$ ) відрізнялись від значень без впливу струму у 1.7 та 1.55 рази на 24 та 48 год. Дія струмів на клінічні штами призводила до достовірного зниження ( $p \leq 0,05$ ) значень ООГ ( $1,9 \pm 0,4$  – без дії струмів;  $1,2 \pm 0,2$  – після дії струмів) у 1.58 рази на 48 год. Під дією струмів концентрація клітин клінічних штамів *A. baumannii* у МПБ на 48 год достовірно зменшувалась у 1.18 рази ( $p \leq 0,05$ ). Також було виявлено статистично значущий біоелектричний ефект після попередньої дії мікроамперних струмів на штами *A. baumannii*, який проявлявся у послабленні резистентності бактерій до цефтазидиму. Середні значення мінімальних інгібуючих концентрацій цефтазидиму достовірно ( $p \leq 0,001$ ) зменшились приблизно у 3,38 рази, а бактерицидних – у 4,18 рази. Струми низької інтенсивності спричиняють значний цидний ефект щодо актуальних полірезистентних штамів *A. baumannii* та підвищують їх чутливість до антибіотиків.

**Ключові слова:** множинна лікарська стійкість, *A. baumannii*, мікроамперний струм, біоелектричний ефект.

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.**

Дане дослідження виконано відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Дослідження біологічних властивостей збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та розробка засобів боротьби з ними» (номер державної реєстрації 0123U101070).

**Вступ.**

Стойкість грамнегативних бактерій до препаратів останньої лінії захисту перетворилася на серйозну глобальну проблему, масштаби якої продовжують набирати обертів. Особливу увагу дослідників і клініцистів привертають неферментуючі грамнегативні бактерії, зокрема *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Stenotrophomonas maltophilia*, які демонструють високу резистентність і обмежують терапевтичні можливості, а застосування альтернативних препаратів, зокрема тигецикліну чи колістину, часто супроводжується проблемами, пов'язаними з їхньою ефективністю та потенційною токсичністю [1-3].

*A. baumannii* є одним із шести головних небезпечних внутрішньолікарняних патогенів із шорт-спіску ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) Всесвітньої організації охорони (ВООЗ) здоров'я із високими показниками захворюваності і смертності [4-6]. У оновленому 17 травня 2024 року переліку пріоритетних патогенів ВООЗ *A. baumannii*, стійкі до карбапенемів

(Carbapenem-resistant *A. baumannii* – CRAB), залишились у групі найвищого (критичного) пріоритету, що підкреслює відсутність прогресу у контролі цієї проблеми [7].

Інфекціям, викликаним ацинетобактеріями, властива різноманітна епідеміологія, включаючи інфекції пов'язані із війнами та стихійними лихами, лікарняні інфекції у помірному кліматі та інфекції тропічних регіонів [3, 8]. *A. baumannii* відзначається як природною резистентністю, так і високою здатністю набувати β-лактамази, зокрема карбапенемази класу OXA [4]. Штами CRAB зазвичай демонструють стійкість до більшості відомих антибіотиків, зокрема до карбапенемів широкого спектра дії, таких як меропенем, іміпенем та доріпенем [8, 9]. Серед грамнегативних патогенів, *A. baumannii* викликає інфекції із більшою частотою, а частина полірезистентних ізолятів є в чотири рази більшою, ніж для *P. aeruginosa* та *K. pneumoniae*. Інфекції шкіри та м'яких тканин, кровотоку, тощо, викликані *A. baumannii*, в основному є нозокоміальними, а зараження полірезистентним штамом збільшує важкість захворювання, тривалості перебування у відділенні інтенсивної терапії чи лікарні, не дивлячись на терапію антибіотиками широкого спектра дії, зокрема цефалоспоринами третього покоління, фторхінолонами та карбапенемами та їх комбінаціями з інгібіторами β-лактамаз [2, 6].

Епідемічні масштаби захворюваності полірезистентними інфекціями *A. baumannii* вимагають негайних дій: посилення моніторингу та профілактики, розробки інноваційних терапевтичних підходів та

стратегій для припинення подальшого розповсюдження патогена.

**Мета дослідження.**

Дослідження антибактеріальної дії мікроамперного струму без зовнішніх джерел живлення на штами *A. baumannii* з множинною лікарською стійкістю, а також впливу цього фізичного фактора на чутливість бактерій до антибіотиків.

**Об'єкт і методи дослідження.**

У ході експериментальних досліджень використовували клінічні штами *Acinetobacter baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості (МЛС) та референтний штам *A. baumannii* ATCC 15151. Дослідження впливу мікроамперного струму на мікроорганізми проводили із застосуванням добових культур музейних і клінічних ізолятів у середовищі ізотонічного розчину хлориду натрію та м'ясо-пептонного бульйону (МПБ).

Стандартизацію концентрації проводили спектрофотометрично із застосуванням денситометра Densi-La-Meter II («Erba Lachema s.r.o.», Чехія), який попередньо калібрували для точного визначення концентрації за оптичною густиною (ОГ), причому одна одиниця  $ОГ_{600}$  відповідає приблизно  $8 \times 10^8$  КУО/мл [10]. Вихідну концентрацію мікроорганізмів встановлювали на рівні 2,0 ООГ (одиниць оптичної густини) для референтного та клінічних штамів *A. baumannii* (n=15).

Завис культур штамів *A. baumannii* у ізотонічному розчині та МПБ вносили по 15 мл в пробірки з електродами – донором та акцептором електронів, сполучених між собою, в тому числі і через вимірювальний пристрій, провідником першого роду. Сила струму у фізіологічному розчині становила 46-50 мкА, у МПБ – 54-60 мкА, при напрузі 0,02-0,04 В. Контрольна група включала суспензії мікроорганізмів без впливу струму низької інтенсивності.

Через 24 та 48 годин інкубації при 37°C визначали силу струму в міжелектродному просторі та концентрацію мікробних клітин. Окрім цього, оцінювали зміну чутливості мікроорганізмів до цефтазидиму. Для цього готували стандартизовану бактеріальну суспензію ( $4,0 \times 10^8$  КУО/мл, що відповідає 0,5 за McFarland). Визначення мінімальних інгібуючих (МІК) та мінімальних бактерицидних (МБЦК) концентрацій антибіотиків проводили методом серійних розведень відповідно до рекомендацій EUCAST (Версія 14.0, чинна з 01.01.2024).

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою Microsoft Office (365) Excel 2019, обчислюючи середнє арифметичне (M), середню похибку (m) та

достовірність різниці (p). Результати вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Вихідну концентрацію клітин референтного та клінічних штамів *A. baumannii* було попередньо стандартизовано до 2,0 ООГ ( $\approx 1,6 \times 10^9$  КУО/мл). У фізіологічному розчині концентрація клітин референтного та клінічних штамів, які не зазнавали дії струмів низької інтенсивності зменшувалась на 24 год до  $1,6 \pm 0,4$  ООГ ( $\approx 1,28 \times 10^9$ ) та  $1,6 \pm 0,7$  ООГ ( $\approx 1,28 \times 10^9$  КУО/мл) відповідно, а на 48 год – до  $1,7 \pm 0,3$  ООГ ( $\approx 1,36 \times 10^9$  КУО/мл) та  $1,9 \pm 0,4$  ООГ ( $\approx 1,52 \times 10^9$  КУО/мл) відповідно (таблиця 1). Показники ООГ після дії струмів на референтний штам *A. baumannii* ATCC 15151 достовірно ( $p \leq 0,05$ ) відрізнялись від значень без впливу струму у 1,7 та 1,55 рази на 24 та 48 год відповідно і було визначено  $0,9 \pm 0,6$  ООГ ( $\approx 7,2 \times 10^8$  КУО/мл) та  $1,1 \pm 0,2$  ООГ відповідно ( $\approx 8,8 \times 10^8$  КУО/мл). Дія струмів на клінічні штами не дала достовірного зменшення концентрації клітин на 24 год, проте на 48 год значення ООГ становило  $1,2 \pm 0,2$  ( $\approx 9,6 \times 10^8$  КУО/мл) і достовірно ( $p \leq 0,05$ ) було меншим за таке без дії струму (ООГ= $1,9 \pm 0,4$ ,  $\approx 1,52 \times 10^9$  КУО/мл) на цей час спостереження (таблиця 1).

В умовах м'ясо-пептонного бульйону концентрація клітин референтного та клінічних штамів *A. baumannii* у пробірках без дії фізичного фактору зростала і на 24 год були визначені показники ООГ  $6,3 \pm 0,5$  ( $\approx 5,04 \times 10^9$  КУО/мл) та  $6,6 \pm 0,2$  ( $\approx 5,28 \times 10^9$  КУО/мл) відповідно, а на 48 год –  $6,5 \pm 0,7$  ( $\approx 5,2 \times 10^9$  КУО/мл) та  $6,7 \pm 0,7$  ( $\approx 5,36 \times 10^9$  КУО/мл) відповідно (таблиця 2). Під дією струмів концентрація клітин клінічних штамів *A. baumannii* у МПБ на 24 год зменшилась (ООГ= $6,2 \pm 0,6$ ,  $\approx 4,96 \times 10^9$  КУО/мл), але достовірної різниці не було визначено. Проте на 48 год було визначено достовірне зменшення кількості клітин клінічних штамів (ООГ= $5,7 \pm 0,4$ ,  $\approx 4,56 \times 10^9$  КУО/мл) у 1,18 рази ( $p \leq 0,05$ ) щодо необроблених суспензій *A. baumannii* (таблиця 2).

Ми виявили статистично значущий біоелектричний ефект після попередньої дії мікроамперних струмів на МЛС штами *A. baumannii*, який проявлявся у послабленні резистентності бактерій до цефтазидиму. Показники чутливості до антибіотиків клінічних полірезистентних штамів ацинетобактерій (МІК та МБЦК) без попереднього впливу струму та після його дії зазначено у таблиці 3. Для МЛС штамів *A. baumannii* було визначено високі концентрації МІК та МБЦК. Без попереднього впливу струму значення МІК цефтазидиму визначили в середньому  $541,67 \pm 160,29$  мкг/мл, МБЦК –  $1166,67 \pm 278,89$  мкг/

**Таблиця 1 – Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *Acinetobacter baumannii* в умовах ізотонічного розчину**

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 15151	Інтактне середовище	2,0	-	$1,6 \pm 0,4$	-	$1,7 \pm 0,3$	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	$0,9 \pm 0,6^*$	36-40	$1,1 \pm 0,2^*$	24-30
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=19)	Інтактне середовище	2,0	-	$1,6 \pm 0,7$	-	$1,9 \pm 0,4$	-
	Струми низької інтенсивності		46-50	$1,1 \pm 0,5$	38-40	$1,2 \pm 0,2^*$	27-31

**Примітки:** \* – достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ( $p \leq 0,01$ ).

**Таблиця 2 – Вплив струмів низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення на референтні та клінічні штами *Acinetobacter baumannii* в умовах м'ясо-пептонного бульйону**

Штами мікроорганізмів		Вихідні показники		24 год		48 год	
		Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА	Концентрація мікробних тіл, ООГ	Сила струму, мкА
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 15151	Інтактне середовище	2,0	-	6,3±0,5	-	6,5±0,7	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	5,9±0,3	44-48	5,8±0,4*	30-40
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=19)	Інтактне середовище	2,0	-	6,6±0,2	-	6,7±0,7	-
	Струми низької інтенсивності		54-60	6,2±0,6	43-47	5,7±0,4*	31-39

**Примітки:** \* – достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – достовірна різниця між показниками, отриманими в інтактному середовищі та за умов дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ( $p \leq 0,01$ ).

мл. Обробка струмом знизилася стійкість досліджуваних штамів приблизно у 4 рази. Середні МІК цефтазидиму достовірно ( $p \leq 0,001$ ) зменшились приблизно у 3,38 рази і дорівнювали 135,42±40,07 мкг/мл, а МБЦК – у 4,18 рази і становили в середньому 291,67±69,72 мкг/мл.

Загроза стійкості до антибіотиків перестав бути прогнозом на майбутнє. Це відбувається вже зараз у кожній країні і може вплинути на кожну людину будь-якого віку. ВООЗ застерігає, що у людей може залишитися ще 1–2 десятиліття для використання існуючих антибіотиків, тому існує гостра необхідність у розробці нових ефективних антибактеріальних стратегій. Багатообіцяючими є стратегії із використанням фізичних методів впливу на резистентні мікроорганізми із можливістю застосування для медичних та екологічних цілей [11-14].

На першому етапі дослідження ми діяли струмами низької інтенсивності (сила струму – 54-60 мкА, напруга – 0,02-0,04 В) без зовнішніх джерел живлення на планктонні форми *A. baumannii* у різних середовищах (фізіологічному розчині та МПБ) протягом 24-48 год, що призводило до їх загибелі, утворення осаду із мікроорганізмів, і як наслідок, зниження концентрації життєздатних бактерій. Пошкодження бактерій під дією електричного струму, що призводить до їх загибелі, відоме як явище незворотної електропорації, і може використовуватись при більш сильних струмах короткої тривалості для дезінфекції різних середовищ, наприклад питної води, рідких продуктів харчування [15-17].

Нами виявлено значний цидний ефект струмів низької інтенсивності (мікроамперного струму), що важливо для медичного застосування, проти актуальних штамів *A. baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості (МЛС). Naomi Lesmana Putri з колегами також вивчали вплив низької електричної напруги в міліамперній шкалі як метод знищення бактерій *A. baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості та без них. Дослідники використовували силу струму 1 мА, 2 мА, 5 мА та 10 мА та 0,5 В з часом моніторингу 30 хвилин, 2 години та 4 години та прийшли до висновку, що сила струму 5 мА та тривалість 30 хвилин є оптимальними для зменшення концентрації МЛС *A. baumannii* та без ознак МЛС [18].

На наступному етапі нами було виявлено значний біоелектричний ефект, тобто підвищення чутливості резистентних штамів *A. baumannii* до цефтазидиму після попереднього впливу досліджуваного фізичного фактора. Механізмами дії біоелектричного ефекту

**Таблиця 3 – Чутливість полірезистентних штамів *Acinetobacter baumannii* до антибіотиків після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення в процесі культивування**

Цефтазидим			
МІК без дії струму (контроль), мкг/мл	МІК після дії струму, мкг/мл	МБЦК без дії струму (контроль), мкг/мл	МБЦК після дії струму, мкг/мл
541,67±160,29	135,42±40,07*	1166,67±278,89	291,67±69,72*

**Примітка:** \* – достовірна різниця між показниками, визначеними без попереднього впливу струму та після дії струму низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення ( $p \leq 0,001$ ).

визначають електрофорез, іонофорез та електропорез, що дозволяє долати бар'єри клітинної стінки та біомаси біоплівки [19].

Як зазначають Saša Haberl Meglič з колегами у своєму нещодавньому дослідженні інактивації резистентних штамів *E. coli* шляхом електропорації, у багатьох дослідженнях було продемонстровано інактивацію бактерій за допомогою електропорації, але рідко використовувались клінічні антибіотики та бактерії, що до них стійкі. Дослідники застосовували чотири різні напруженості електричного поля (5, 10, 15 і 20 кВ/см) для електропорації і зазначають, що електропорація ефективно посилює дію антибіотиків та інактивує стійкі бактерії. До того ж, автори підкреслюють, що електропорація має більш тривалий ефект (до 24 годин), що робить бактерії вразливими протягом значного часу [15].

### Висновки.

Струми низької інтенсивності (мікроамперні струми) спричиняють значний цидний ефект проти актуальних штамів *A. baumannii* з ознаками множинної лікарської стійкості.

Електричний струм низької інтенсивності без зовнішніх джерел живлення підвищує чутливість полірезистентних штамів *A. baumannii* до антибіотиків у 4 рази (біоелектричний ефект), тобто послаблює їх антибіотикорезистентність.

### Перспективи подальших досліджень.

Очікується, що отримані дані полегшують використання біоелектричного ефекту для профілактики та лікування інфекційних ускладнень ран, опіків, зони хірургічного втручання, викликаних резистентними штамми *A. baumannii*.

References / Література

1. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;69(7): 521-8. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz824>.
2. Karakonstantis S, Rousaki M, Vassilopoulou L, Kritsotakis EI. Global prevalence of cefiderocol non-susceptibility in Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2023;30(2):178-88.
3. Stanley CN, Awanye AM, Ogbonnaya UC. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Clinical Manifestations and Associated Infections. *IntechOpen eBooks*. 2023. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.1003618>.
4. Venkateswaran P, Vasudevan S, David H, Shaktivel A, Shanmugam K, Neelakantan P, et al. Revisiting ESKAPE Pathogens: virulence, resistance, and combating strategies focusing on quorum sensing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2023;13:1-30.
5. Itani R, Khojah HMJ, Karout S, Rahme D, Hammoud L, Awad R, et al. *Acinetobacter baumannii*: assessing susceptibility patterns, management practices, and mortality predictors in a tertiary teaching hospital in Lebanon. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2023;12(1):136. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01343-8>.
6. Mukhopadhyay H, Bairagi A, Mukherjee A, Prasad AK, Roy AD, Nayak A. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: A study on its pathogenesis and therapeutics. *Current Research in Microbial Sciences*. 2024;8:100331. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666517424001147#bib0137>.
7. WHO. WHO Bacterial Priority Pathogens List. Geneva: WHO; 2024. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>.
8. Thacharodi A, Vithlani A, Hassan S, Alqahtani A, Pugazhendhi A. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* raises global alarm for new antibiotic regimens. *iScience*. 2024;27(12):111367. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004224025926>.
9. Benin BM, Hillyer T, Aguirre N, Sham YY, Willard B, Shin WS. Carbapenem-induced  $\beta$ -lactamase-isoform expression trends in *Acinetobacter baumannii*. *Scientific Reports*. 2024;14(1):30841. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-81501-z>.
10. Wacogne B, Belinger Podevin M, Vaccari N, Koubevi C, Codjiová C, Gutierrez E, et al. Concentration vs. Optical Density of ESKAPEE Bacteria: A Method to Determine the Optimum Measurement Wavelength. *Sensors*. 2024;24(24):8160. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8220/24/24/8160>.
11. Chaurasia AK, Thorat ND, Tandon A, Kim JH, Park SH, Kim KK. Coupling of radiofrequency with magnetic nanoparticles treatment as an alternative physical antibacterial strategy against multiple drug resistant bacteria. *Scientific Reports*. 2016;6(1):33662. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep33662>.
12. Abd FH, Abbar AH. Treatment of hospital wastewater by anodic oxidation using a new approach made by combining rotation with pulsed electric current on Cu-SnO<sub>2</sub>-Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> rotating cylinder anode. *Heliyon*. 2025;11(2):e42069-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42069>.
13. Deng Y. Making Waves: Principles for the Design of Sustainable Household Water Treatment. *Water Research*. 2021;198:117151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117151>.
14. Kim YW, Lee J, Han SK, Koo BS, Park T, Park HM, et al. A Non-Electrolysis Bioelectric Effect for Gingivitis and Hygiene Contamination Biofilm Removal. *Applied Microbiology*. 2023;3(3):675-86. DOI: <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030046>.
15. Haberl Meglič S, Slokar D, Miklavčič D. Inactivation of antibiotic-resistant bacteria *Escherichia coli* by electroporation. *Frontiers in Microbiology*. 2024;15:1-11. DOI: [10.3389/fmicb.2024.1347000](https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1347000).
16. Zhou J, Hung YC, Xie X. Making waves: Pathogen inactivation by electric field treatment: From liquid food to drinking water. *Water Research*. 2021;207:117817. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117817>.
17. Garner AL. Pulsed electric field inactivation of microorganisms: from fundamental biophysics to synergistic treatments. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103(19):7917-29. DOI: [10.1007/s00253-019-10067-y](https://doi.org/10.1007/s00253-019-10067-y).
18. Putri NL, Koendhori EB, Susilo I, Tambunan BA. The effect of low-electrical voltage as a method to eradicate *Acinetobacter baumannii* bacteria. *Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2023;3(2):41-4. DOI: <https://doi.org/10.51559/jcmid.v3i2.20>.
19. Del Pozo JL, Rouse MS, Patel R. Bioelectric Effect and Bacterial Biofilms: a Systematic Review. *The International Journal of Artificial Organs*. 2008;31(9):786-95. DOI: <https://doi.org/10.1177/039139880803100906>.

**ВПЛИВ МІКРОАМПЕРНОГО СТРУМУ НА КЛІНІЧНІ ШТАМИ *ACINETOBACTER BAUMANNII* З ОЗНАКАМИ МНОЖИННОЇ ЛІКАРСЬКОЇ СТІЙКОСТІ ТА ПРОЯВ БІОЕЛЕКТРИЧНОГО ЕФЕКТУ**

**Назарчук О. А., Бебик В. В., Дениско Т. В., Назарчук Г. Г., Пархоменко О. Г.**

**Резюме.** Всесвітня організація охорони здоров'я застерігає, що у людей може залишитися ще 1–2 десятиліття для використання існуючих антибіотиків, тому існує гостра необхідність у розробці нових ефективних антибактеріальних стратегій.

**Мета** – дослідження антибактеріальної дії мікроамперного струму без зовнішніх джерел живлення на штами *A. baumannii* з множинною лікарською стійкістю (МЛС), а також впливу цього фізичного чинника на чутливість бактерій до антибіотиків.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження впливу мікроамперного струму на суспензії референтного та клінічних МЛС штамів *A. baumannii* (n=15) проводили у середовищі ізотонічного розчину хлориду натрію та м'ясо-пептоного бульйону (МПБ) із подальшим спектрофотометричним вимірюванням оптичної густини (ОГ) через 24 та 48 годин інкубації при 37°C під дією струмів. Сила струму у фізіологічному розчині становила 46-50 мкА, у МПБ – 54-60 мкА. Також оцінювали зміну чутливості мікроорганізмів до цефтазидиму, для чого визначали мінімальні інгібуючі та бактерицидні концентрації (МІК та МБЦК) до та після впливу фізичного фактора.

**Результати.** Показники ООГ після дії струмів в ізотонічному розчині на референтний штам *A. baumannii* ATCC 15151 достовірно (p≤0,05) відрізнялись від значень без впливу струму у 1.7 та 1.55 рази на 24 та 48 год. Дія струмів на клінічні штами не дала достовірного зменшення концентрації клітин на 24 год, проте на 48 год значення ООГ становило 1,2±0,2 і достовірно (p≤0,05) було меншим за таке без дії струму (ООГ=1,9±0,4, ≈ 1.52×10<sup>9</sup> КУО/мл) на цей час спостереження. Під дією струмів концентрація клітин клінічних штамів *A. baumannii* у МПБ на 48 год достовірно зменшувалась (ООГ=5,7±0,4, ≈ 4.56×10<sup>9</sup> КУО/мл) у 1.18 рази (p≤0,05) щодо необроблених суспензій *A. baumannii*. Також було виявлено статистично значущий біоелектричний ефект після попередньої дії мікроамперних струмів на МЛС штами *A. baumannii*, який проявлявся у послабленні резистентності бактерій до цефтазидиму. Без попереднього впливу струму значення МІК цефтазидиму визначили в середньому 541,67±160,29 мкг/мл, МБЦК – 1166,67±278,89 мкг/мл. Середні МІК цефтазидиму достовірно (p≤0,001) зменшились приблизно у 3,38 рази і дорівнювали 135,42±40,07 мкг/мл, а МБЦК – у 4,18 рази і становили в середньому 291,67±69,72 мкг/мл.

**Висновки.** Струми низької інтенсивності спричинюють значний цидний ефект щодо актуальних полірезистентних штамів *A. baumannii* та підвищують їх чутливість до антибіотиків.

**Ключові слова:** множинна лікарська стійкість, *A. baumannii*, мікроамперний струм, біоелектричний ефект.

**EFFECT OF MICROAMPERE CURRENT ON CLINICAL STRAINS OF ACINETOBACTER BAUMANNII WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE AND THE MANIFESTATION OF THE BIOELECTRIC EFFECT**

**Nazarchuk O. A., Bebyk V. V., Denysko T. V., Nazarchuk H. H., Parkhomenko O. G.**

**Abstract.** The World Health Organization warns that humanity may have only 1–2 decades left to use existing antibiotics, highlighting the urgent need for the development of new effective antibacterial strategies.

**Aim** – to investigate the antibacterial effect of microampere current without external power sources on *A. baumannii* strains with multidrug resistance (MDR) and to assess the impact of this physical factor on bacterial susceptibility to antibiotics.

**Object and research methods.** The effect of microampere current on suspensions of reference and clinical MDR *A. baumannii* strains (n=15) was studied in an isotonic sodium chloride solution and meat-peptone broth (MPB), followed by spectrophotometric measurement of optical density (OD) after 24 and 48 hours of incubation at 37°C under the influence of currents. The current intensity in physiological saline was 46–50 µA, while in MPB it ranged from 54–60 µA. Changes in bacterial susceptibility to ceftazidime were also evaluated by determining the minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC and MBC) before and after exposure to the physical factor.

**Results.** The OD values after exposure to currents in an isotonic solution for the reference strain *A. baumannii* ATCC 15151 significantly ( $p \leq 0.05$ ) differed from those without current exposure, decreasing by 1.7 and 1.55 times at 24 and 48 hours, respectively. The effect of currents on clinical strains did not result in a significant reduction in cell concentration at 24 hours; however, at 48 hours, the OD value was  $1.2 \pm 0.2$ , significantly ( $p \leq 0.05$ ) lower than that without current exposure ( $OD = 1.9 \pm 0.4$ ,  $\approx 1.52 \times 10^9$  CFU/ml) at this observation point. Under the influence of currents, the cell concentration of clinical *A. baumannii* strains in MPB at 48 hours significantly decreased ( $OD = 5.7 \pm 0.4$ ,  $\approx 4.56 \times 10^9$  CFU/ml) by 1.18 times ( $p \leq 0.05$ ) compared to untreated *A. baumannii* suspensions. A statistically significant bioelectric effect was also observed following prior exposure of MDR *A. baumannii* strains to microampere currents, manifested by a decrease in bacterial resistance to ceftazidime. Without prior exposure to current, the MIC value of ceftazidime was determined to be an average of  $541.67 \pm 160.29$  µg/ml, and the MBC was  $1166.67 \pm 278.89$  µg/ml. The average MIC of ceftazidime significantly ( $p \leq 0.001$ ) decreased approximately 3.38 times to  $135.42 \pm 40.07$  µg/ml, while the MBC decreased 4.18 times, averaging  $291.67 \pm 69.72$  µg/ml.

**Conclusions.** Low-intensity currents exert a significant bactericidal effect on clinically relevant multidrug-resistant *A. baumannii* strains and enhance their susceptibility to antibiotics.

**Key words:** multidrug resistance, *A. baumannii*, microampere current, bioelectric effect.

**ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:**

Nazarchuk O. A.: <https://orcid.org/0000-0001-7581-0938><sup>ABEF</sup>

Bebyk V. V.: <https://orcid.org/0000-0001-7110-8543><sup>BCD</sup>

Denysko T. V.: <https://orcid.org/0000-0002-2188-2001><sup>BCD</sup>

Nazarchuk H. H.: <http://orcid.org/0000-0003-3902-1741><sup>CDE</sup>

Parkhomenko O. G.: <https://orcid.org/0000-0002-5887-8559><sup>BC</sup>

**Conflict of interest / Конфлікт інтересів:**

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Corresponding author / Адреса для кореспонденції**

Nazarchuk Oleksandr Adamovych / Назарчук Олександр Адамович

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya / Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Ukraine, 21018, Vinnytsya, 56 Pirogov str. / Адреса: Україна, 21018, м. Вінниця,

Tel.: +380977293761 / Тел.: +380977293761

E-mail: [nazarchukoa@gmail.com](mailto:nazarchukoa@gmail.com)

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 / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

**Received 04.01.2025 / Стаття надійшла 04.01.2025 року**

**Accepted 07.03.2025 / Стаття прийнята до друку 07.03.2025 року**