

С. І. Панчук, М. І. Гуменюк, О. П. Трохименко, І. В. Дзюблик ВИРУЛІЦИДНА ДІЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ВІРУСНИХ ТРИГЕРІВ ІНФЕКЦІЙНОГО ЗАГОСТРЕННЯ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

ДУ «Національний інститут фізіотерпії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»
Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика

ВИРУЛІЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕКАМЕТОКСИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К ВИРУСНЫМ ТРИГГЕРАМ ИНФЕКЦИОННОГО ОБОСТРЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

С. І. Панчук, М. І. Гуменюк, О. П. Трохименко, І. В. Дзюблик

Резюме

Известно, что бронхиальную обструкцию и обострение бронхиальной астмы способны вызвать как простые, так и сложные вирусы респираторной группы.

Цель работы заключалась в изучении вирулицидного действия декаметоксина по отношению к вирусным триггерам инфекционного обострения БА в культурах клеток на моделях простых и сложных вирусов.

Установлено, что декаметоксин обладает вирулицидным действием по отношению к сложным вирусам, в частности, респираторным вирусам: гриппа А (H1N1), А (H3N2), полностью инактивируя их в вирусосодержащих жидкостях в инфекционных титрах 3,0 и 4,5 lg ТЦД50/0,1 мл соответственно при длительности экспозиции в течение 5 и более минут. Декаметоксин не проявляет вирулицидное действие по отношению к простым вирусам, в частности, к респираторным аденовирусам человека и не инактивирует их ни при одном из исследованных режимов экспозиции. Установлено, что 0,02 % раствор декаметоксина является средством с ограниченным вирулицидным действием.

Ключевые слова: бронхиальная астма, четвертичные аммониевые соединения, декаметоксин, вирулицидное действие, простые вирусы, сложные вирусы.

Укр. пульмонол. журнал. 2014, № 2, С. 48–51.

Панчук Світлана Іванівна

ДУ «Національний інститут фізіотерпії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України».
10, вул. М. Амосова, 03680, Київ,
Tel.: 38 044 275-01-08, ps@uf.ua

EFFECT OF DECAMETOXINE ON VIRAL TRIGGERS OF INFECTIOUS EXACERBATION OF ASTHMA

S. I. Panchuk, M. I. Gumeniuk, O. P. Trokhimenko, I. V. Dziublyk

Abstract

Both simple and complex respiratory viruses are known to cause bronchial obstruction and exacerbation of asthma.

The aim of the study was to evaluate virucidal effect of decametoxine on viral triggers of asthma exacerbation in cell cultures on models of simple and complex viruses.

It has been established that decametoxine exerts virucidal effect against complex viruses, including respiratory viruses: influenza A (H1N1), A (H3N2) via their complete inactivation in virus-containing fluids in infectious titers of 3,0 and 4,5 lg TCD 50 / 0.1 ml, respectively, when exposure lasts for 5 minutes or more. Decametoxine exhibits no virucidal effect on simple viruses including respiratory human adenoviruses and does not inactivate them in any of the investigated exposure modes. It has been established that 0.02 % solution of decametoxine is an agent with limited virucidal action.

Key words: asthma, quaternary ammonium compounds, decametoxine, virucidal effect, simple viruses, complex viruses.

Ukr. Pulmonol. J. 2014; 2: 48–51.

Svitlana I. Panchuk

SO «National institute of phthisiology and pulmonology named after F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine
10, M. Amosova street, 03680, Kyiv
Tel.: 38 044 275-01-08, ps@uf.ua

Бронхіальна астма (БА), як хронічне запальне захворювання нижніх дихальних шляхів, може супроводжуватися загостреннями (GINA, 2006). Будь-яке загострення БА, особливо тяжке, призводить до зниження функції легенів, яке часто зберігається тривалий час і далеко не завжди відновлюється до вихідного рівня, погіршуючи перебіг і прогноз захворювання [1, 2]. Показано, що у 80–85 % випадків БА у дітей та приблизно у 75 % дорослих саме гострі респіраторні вірусні інфекції сприяють розвитку БА, викликають її загострення та значно ускладнюють і пролонгують перебіг захворювання [3, 4]. Згідно даних вірусологічних досліджень, найбільш поширеною причиною загострення БА є віруси респіраторної групи: респіраторно-синтиціальний вірус, риновірус людини, віруси грипу А і В, вірус парагрипу, коронавіруси, метапневмовіруси, респіраторні аденовіруси [5, 6]. Проте найчастішою (до 80 % усіх вірус-індукованих загострень БА у дорослих і дітей старшого віку) причиною бронхіальної обструкції є риновіруси різних типів [5–7]. Переважна більшість зазначених вірусів мають суперкапсидну оболонку і є складними, вони не стійкі до дії зовнішнього середовища та швидко руйнуються під впливом фізико-хімічних чинників і дезінфікуючих засобів.

Проте деякі респіраторні віруси, наприклад аденовіруси, не мають суперкапсидної оболонки. Такі віруси є простими і дуже стійкими до дії фізико-хімічних чинників та дезінфікуючих і миючих засобів [8].

Відповідно до сучасних національних та міжнародних консенсусів, основним принципом лікування загострення БА залишається усунення провокуючих факторів та інтенсифікація базисної (бронходилатуючої та протизапальної) терапії. Однак, незважаючи на доведену високу ефективність сучасних методів базисного лікування хворих БА, елімінація інфекційного чинника при загостренні БА є одним із пріоритетних завдань її терапії. Одним із перспективних напрямків профілактики та лікування інфекційного загострення БА, враховуючи значну роль респіраторних вірусів, є місцеве (інгаляційне) застосування препаратів з протівірусними та віруліцидними властивостями.

Хоча за останні десятиріччя розроблені нові засоби і методи профілактики та терапії респіраторних вірусних інфекцій, проблема профілактики і лікування інфекційного загострення БА залишається ще не вирішеною. Тому пошук препаратів, ефективних проти збудників респіраторних вірусних інфекцій залишається актуальним завданням.

Одним із перспективних напрямків профілактики поширення респіраторних інфекцій є застосування четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) [9–12], які використовуються у складі сучасних дезінфікуючих і миючих засобів, а також як активний компонент препаратів для місцевої антисептикотерапії. ЧАС належать до групи поверхнево активних речовин (ПАР), мають детергентні властивості, добре розчиняються у воді і здатні зменшувати поверхневий натяг клітинних мембран, що і обумовлює наявність у них потенційних бактерицидних і віруліцидних властивостей. Типовим представником цієї групи є декаметоксин — біс-четвертинна амонієва сполука, структурна формула якої представлена на рис.1.

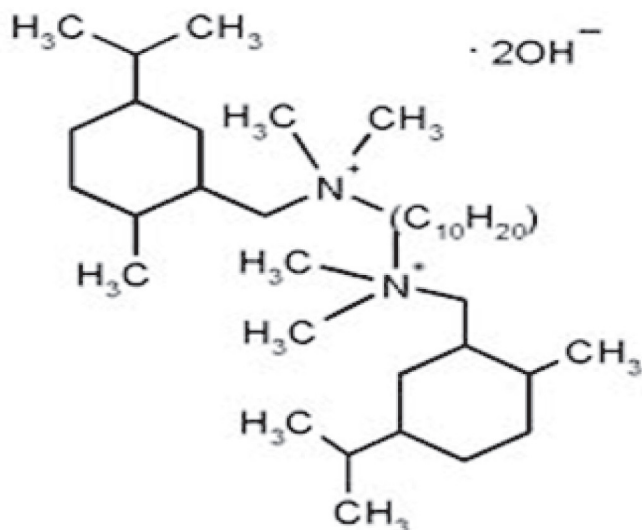


Рис. 1. Структурна формула декаметоксину

Декаметоксин - високоактивний і швидкодіючий напівсинтетичний препарат, який складається із синтетичної декаметиленової частини молекули та ментолового ефіру (L-ментолу) олії м'яти перцевої [10].

Однією із лікарських форм декаметоксину є його 0,02% стерильний водний розчин для місцевого застосування, що випускається в Україні під торгівельною назвою декасан (ТОВ «Юрія-Фарм»).

Систематизованих досліджень щодо вивчення віруліцидної дії декаметоксину по відношенню до респіраторних вірусів досі проведено не було. У зв'язку з цим актуальним є вивчення віруліцидної дії декаметоксину в культурі клітин по відношенню до основних вірусних збудників інфекційного загострення БА на моделях простих і складних вірусів.

Мета роботи полягала у вивчення віруліцидної дії декаметоксину по відношенню до вірусних тригерів інфекційного загострення БА в культурах клітин на моделях простих і складних вірусів.

Матеріали і методи досліджень

Визначення віруліцидної дії декаметоксину по відношенню до модельних умов, за яких використовували прості і складні віруси, патогенні для людини, проводили в перещеплювальних культурах клітин аденокарциноми гортані людини (HEP-2) та нирки собаки (MDCK). Віруліцидну дію визначали суспензійним методом [13]. Визначення інфекційного титру тест-вірусів проводили за методом Кербера [14].

Використані біологічні агенти

Тест-віруси:

Вірус грипу людини А/Київ/2008/(H1N1) сезонний штам — складний РНК-геномний вірус, одержаний з центру грипу МОЗ України з інфекційним титром 3,0 IgТЦД₅₀/0,1 мл, адаптований до умов культивування в культурі клітин MDCK.

Вірус грипу людини А/Панама/2007/99(H3N2) референтний штам — складний РНК-геномний вірус, одержаний з центру грипу МОЗ України з інфекційним титром 4,5 IgТЦД₅₀/0,1 мл MDCK.

Вірус везикулярного стоматиту (ВВС) штам Індіана — складний РНК-геномний вірус з колекції штамів вірусів кафедри вірусології НМАПО ім. П.Л.Шупика, з інфекційним титром 4,0 Ig ТЦД₅₀/0,1мл, адаптований до умов культивування в культурі клітин HEP-2.

Респіраторний аденовірус людини – простий РНК-геномний вірус, виділений з назо-фаренгіального змиву людини з гострою респіраторною інфекцією з колекції штамів вірусів кафедри вірусології НМАПО ім. П.Л.Шупика, з інфекційним титром 4,0 log ТЦД₅₀/0,1мл, адаптований до умов культивування в культурі клітин HEP-2.

Вірус поліомієліту 2 типу штам Себіна (P712(ch-2ab)) простий РНК-геномний вірус з колекції штамів вірусів кафедри вірусології НМАПО ім. П.Л.Шупика з інфекційним титром 5,0 Ig ТЦД₅₀/0,1мл, адаптований до умов культивування в культурі клітин HEP-2.

Культури клітин. Перещеплювальні субстратзалежні клітинні лінії: аденокарциноми гортані людини (HEP-2) штам Cincinnati, чутлива і пермісивна по відношенню до ВВС, респіраторного аденовірусу, вірусу поліомієліту та нирки самки собаки (MDCK) були одержані із банку клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології і радіології (ІЄПОР) ім. Р.Є.Кавецького АМН України, Київ, як криоконсервовані суспензії. Перед початком досліджень вони були адаптовані до умов культивування впродовж 4 пасажів.

Живильні середовища. Ростове живильне середовище для приготування клітинних моношарів обох клітинних культур готували на основі стандартного середовища RPMI-1640 з додаванням сироватки крові ембріонів корів виробництва Sigma (США) до кінцевої концентрації 5 % і антибіотиків: пеніциліну 100 Од/мл і стрептоміцину 100 мкг/мл виробництва Артеріум (Україна). Підтримує середовище (ПС) аналогічного складу без сироватки використовували для промивання клітинних моношарів та культивування вірусів.

Субстратзалежні культури клітин культивували стандартним методом, знімали з поверхні росту розчином Версена. Дослідження виконували мікрометодом, у 96-лункових культуральних планшетах виробництва Sarstedt (Німеччина).

Віруліцидну дію декаметоксину досліджували з використанням його готового 0,02 % розчину (декасан, ТОВ «Юрія-Фарм»).

При виконанні досліджень суспензійним методом у три пробірки вміщували по 1 мл культуральної рідини, що містила відповідні тест-віруси із попередньо визначеними інфекційними титрами. У кожну пробірку додавали по 1 мл 0,02 % розчину декаметоксину і витримували впродовж 5, 10 і 30 хвилин при 37°C. Тривалість експозиції визначалась вимогами інструкції до застосування 0,02 % розчину декаметоксину. Після цього до суміші додавали рівний об'єм стерильного нейтралізатора — 0,2 % розчину сульфонулу на 10 % розчині молока у підтримуючому середовищі RPMI-1640. Суміш витримували впродовж 5

хвилини при кімнатній температурі і центрифугували при 1,5 тис. об/хв. для видалення осаду, що утворився. Готували десятиразові серійні розведення супернатантної рідини з кожного зразка від 10^{-1} до 10^{-6} . По 100 мкл зразків у кожному розведенні наносили на сформовані клітинні моношари відповідної культури, використовуючи по 4 моношари на кожне розведення. Оброблені культури клітин інкубували при 37°C впродовж 24–72 годин в атмосфері 5 % CO_2 . Наявність або відсутність інфекційної активності тест-вірусів у досліджуваних клітинних моношарах визначали за цитопатичною дією, інфекційні титри вірусів розраховували за методом Кербера. Проведення випробувань супроводжувалось контролюями: контроль клітин, контроль інфекційної дози вірусу, контроль повноти нейтралізації дезінфектанту. Повноту інактивації вірусів досліджували при проведенні послідовних трьох сліпих пасажувань вірусомісної рідини після дії дезінфектанту у відповідних культурах клітин. Всі дослідження виконувались тричі.

Критерії оцінки: повна інактивація інфекційної активності тест-вірусу або зниження його інфекційної активності не менш ніж на 4,0 lg ТЦД₅₀ в порівнянні з контролем при досліджуваних режимах застосування та відсутність його цитопатичної дії в культурі клітин впродовж трьох послідовних пасажувань.

Результати і обговорення

Результати дослідження віруліцидності дії декаметоксину на моделях простих і складних тест-вірусів представлені у таблиці 1.

За результатами трьох послідовних випробувань показано, що досліджуваний розчин декаметоксин виявляє віруліцидну дію до вірусів грипу людини А(Н1N1) та А(Н3N2), повністю інактивуючи їх у вірусомісних рідинах в інфекційних титрах 3,0 та 4,5 ТЦД₅₀/0,1 мл відповідно при тривалості експозиції впродовж 5 хвилин і більше. Позитивні результати були одержані при аналогічному дослідженні віруліцидності дії декаметоксину з використанням іншого складного вірусу — ВВС. Так, за результатами трьох випробувань показано, що досліджуваний 0,02 % розчин декаметоксину виявляє віруліцидну дію по відношенню до ВВС, повністю інактивуючи його у вірусомісній рідині з інфекційним титром 4,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл при тривалості експозиції впродовж 5 хвилин і більше. Повнота інактивації вірусів грипу та ВВС була підтверджена результатами трьох послідовних сліпих пасажувань, де в жодному з випадків інфекційна активність вірусів виявлена не була.

При виконанні досліджень визначення віруліцидності дії дезінфікуючих засобів здійснюється з обов'язковим використанням моделей простих і складних вірусів [13, 15]. Прості

віруси (поліовіруси, віруси Коксаки А, В, ЕСНО, віруси гепатиту А, адено-, ротавіруси тощо) не мають суперкапсидної оболонки, тому вони надзвичайно стійкі до дії кислот та лугів, органічних розчинників, дезінфікуючих засобів, у тому числі і до більшості детергентів, четвертинних амонієвих солей, похідних гуанідину (наприклад хлоргексидину). Складні віруси (грипу, парагрипу, кору, червоної висипки, герпесу, ВІЛ тощо) мають багату на ліпіди суперкапсидну оболонку, тому вони швидко інактивуються під впливом різноманітних фізико-хімічних факторів, органічних розчинників, дезінфікуючих засобів. Зважаючи на велику кількість відомих збудників вірусних інфекцій, а також у зв'язку з методичними обмеженнями: неможливістю адаптації багатьох вірусів до умов культивування *in vitro* або їх велику небезпеку для дослідника, не доцільно проводити прямі випробування ефективності дезінфікуючих засобів при їх дії на віруси всіх родин. Тому для прийняття аргументованих рішень щодо наявності віруліцидності дії у дезінфікуючого засобу, необхідно відбирати репрезентативні тест-віруси з характерними властивостями.

Тест-віруси повинні відповідати наступним вимогам: бути адаптованими до культивування в культурі клітин в умовах вірусологічної лабораторії; викликати характерну тканинну цитопатичну дію (ТЦД) у культурі клітин; мати високий інфекційний титр при культивуванні в чутливій культурі; бути відносно безпечними для персоналу лабораторії.

Тому, згідно методичних рекомендацій [13], як тест-віруси використовували: віруси грипу типу А — складний РНК-геномний вірус, представник родини ортоміксовірусів, відносно чутливий до дії зовнішніх чинників. Поліовірус типу 1, вакцинний штам LSc2ab — РНК-геномний вірус, представник родини пікорнавірусів, високорезистентний вірус, інактивація якого гарантує аналогічний ефект по відношенню до збудників вірусних гепатитів, ротавірусних гастроентеритів, до вірусів ЕСНО, Коксаки та інших вірусних патогенів [15]; аденовірус типу 2, простий ДНК-геномний вірус, представник родини аденовірусів, стійкий до дії зовнішніх чинників.

Нами встановлено, що по відношенню до складних тест-вірусів (зокрема грипу та ВВС), декаметоксин є ефективним дезінфікуючим засобом із вираженою віруліцидною дією. Механізм його віруліцидності дії, як поверхнево активної речовини, може реалізуватись через руйнування ліпідного шару суперкапсидної оболонки вірусу, що походить із клітинної оболонки, модифікованої вірусспецифічними білками. Руйнування суперкапсидної оболонки складних вірусів може відбуватись за рахунок зміни поверхневого натягу на межі розділу фаз суперкапсидна оболонка вірусу-культуральна рідина [10, 11]. При клініч-

Таблиця

Віруліцидна дія декаметоксину

Тест-вірус	Початковий інфекційний титр тест-вірусу lg ТЦД ₅₀ /0,мл	Інфекційний титр вірусу після контакту з розчином декаметоксину впродовж			Результат інактивації тест-вірусу
		5 хвилин	10 хвилин	30 хвилин	
Вірус грипу людини А/Київ/2008/(H1N1)	3,0	<0,5	<0,5	<0,5	Повна інактивація тест-вірусу
Вірус грипу людини А)/Панама/2007/99(H3N2)	4,5	<0,5	<0,5	<0,5	Повна інактивація тест-вірусу
Вірус везикулярного стоматиту штаму Індіана	4,0	<0,5	<0,5	<0,5	Повна інактивація тест-вірусу
Респіраторний аденовірус людини	4,0	4,0	4,0	4,0	Відсутність інактивації
Вірус поліомієліту 2 типу штаму Себіна (P712(ch-2ab))	5,0	5,0	5,0	5,0	Відсутність інактивації

ному застосуванні декаметоксину патогенез вірусної інфекції переривається у вхідних воротах інфекції за рахунок втрати здатності інактивованого декаметоксином вірусу до прикріплення і проникнення в чутливу клітину [12].

Таким чином, за показником віруліцидності дії по відношенню не тільки до вірусів грипу, але й по відношенню до інших складних респіраторних вірусів, які сьогодні розглядають як тригери інфекційного загострення бронхіальної астми, декаметоксин є ефективним дезінфікуючим засобом.

На моделях простих вірусів, патогенних для людини: респіраторного аденовірусу та вірусу поліомієліту, за результатами трьох випробувань показано, що декаметоксин не виявляє віруліцидності дії при дослідженні суспензійним методом за жодного режиму його застосування.

ЛІТЕРАТУРА

- Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Workshop Report, 2009 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.ginasthma.com>
- Bateman, E. D. Overall asthma control: the relationship between current control and future risk [Text] / E. D. Bateman et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, № 3. – P. 600–608.
- Message, S. Rhinovirus-induced lower respiratory illness is increased in asthma and related to virus load and Th1/2 cytokine and IL-10 production [Text] / Message S., V. Laza-Stanca, P. Mallia // *Proc Natl Acad Sci.* – 2008. — Vol. 105. – P. 13562–13567.
- Xepapadaki, P. Duration of postviral airway hyperresponsiveness in children with asthma: effect of atopy [Text] / P. Xepapadaki, N. G. Clare, A. J. Papadopoulos et al. // *Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116 (2). – P. 299–304.
- Busse, W. W. Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations [Text] / W. W. Busse, R. F. Lemanske, J. E. Gern // *The Lancet.* – 2010. – Vol. 376, № 9743. – P. 826–834.
- Dulek Daniel, E. Viruses and asthma [Text] / E. Daniel Dulek, R. Monroe Carell // *Jr. Biochimica et Biophysica Acta.* – 2011. – № 2. – P. 1–10.
- The role of respiratory viruses in the origin and exacerbations of asthma [Text] / G. Nikolaos [et al.] // *Current opinion in allergy and clinical immunology.* – 2003. – Vol. 3, № 1. – P. 39–44.
- Кампф, Г. Гигиена рук в здравоохранении [Текст] / Г. Кампф // Київ: Здоров'я. — 2005. — 286 с.
- Фещенко, Ю. І. Антисептичний препарат декасан у профілактиці та лікуванні місцевих гнійно-запальних уражень [Текст] / Ю. І. Фещенко, М. І. Гуменюк // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2010. – № 1 (13) – С. 65.
- Ковальчук, В. П. Результати експериментального і клінічного дослідження ефективності антисептичного препарату декасану [Текст] / В. П. Ковальчук [та ін.] // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2002. – № 2. – С. 292–294.
- Эффективность антисептика декасан в комплексном лечении больных с инфекционным обострением хронического обструктивного заболевания легких [Текст] / В. И. Игнатъева, Г. Л. Гуменюк, О. И. Шпак, О. А. Венгерова // Украинский пульмонологический журнал. – 2008. – № 3. Додаток. – С. 125.
- Коваленко, С.В. Досвід застосування небулайзерної терапії декасаном хворих з інфекційним загостренням хронічного обструктивного захворювання легень в умовах пульмонологічного відділення [Текст] / С. В. Коваленко // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2010. – № 1–2. – С. 65–66.
- Визначення віруліцидності дії дезінфікуючих засобів [Текст] / В. Ф. Марієвський, В. І. Задорожна, В. І. Бондаренко, Т. О. Бура, С. І. Доан, Н. Л. Зубкова, В. В. Ведмеденко, І. В. Дзюблик, О. П. Трохименко, О. О. Костенко // Методичні рекомендації. Затверджені Наказом МОЗ №231 від 08.04.09. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1039.9281.0>
- Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита [Текст] / ВОЗ, Женева. – 1998. – 112 с.
- Шандала, М. Г. Современное состояние и возможные перспективы решения проблемы тестирования вирулицидности дезинфицирующих средств [Текст] / М. Г. Шандала // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2005. — № 2. — С.42–43.

Висновки

1. Встановлено, що декаметоксин виявляє віруліцидну дію по відношенню до складних вірусів, зокрема респіраторних вірусів: грипу А(Н1N1), А(Н3N2), повністю інактивуючи їх у вірусомісних рідинах в інфекційних титрах 3,0 та 4,5 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл відповідно при тривалості експозиції впродовж 5 і більше хвилин.

2. Декаметоксин не виявляє віруліцидності дії по відношенню до простих вірусів, зокрема до респіраторних аденовірусів людини і не інактивує їх за жодного з досліджених режимів експозиції.

3. Встановлено, що 0,02 % розчин декаметоксину є засобом з обмеженою віруліцидною дією.

REFERENCES

- Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Workshop Report, 2009. Available at: <http://www.ginasthma.com>
- Bateman ED, et al. Overall asthma control: the relationship between current control and future risk. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010;125(3):600–608.
- Message S, Laza-Stanca V, Mallia P. Rhinovirus-induced lower respiratory illness is increased in asthma and related to virus load and Th1/2 cytokine and IL-10 production. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105:13562–13567.
- Xepapadaki P, Clare NG, Papadopoulos AJ, et al. Duration of postviral airway hyperresponsiveness in children with asthma: effect of atopy. *Allergy Clin. Immunol.* 2005;116(2):299–304.
- Busse WW, Lemanske RF, Gern JE. Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations. *The Lancet.* 2010;376(9743):826–834.
- Dulek Daniel E, Monroe Carell R. Viruses and asthma. *Jr. Biochimica et Biophysica Acta.* 2011;2:1–10.
- Nikolaos G, et al. The role of respiratory viruses in the origin and exacerbations of asthma. *Current opinion in allergy and clinical immunology.* 2003;3(1):39–44.
- Kampf G. *Gigiyena ruk v zdravookhraneni* (Hygiene of hands in the health protection). Kyiv, Zdorovya. 2005;286p.
- Feshchenko Yul, Gumenyuk MI. *Antyseptychnyy preparat dekasana u profilaktytsii mistsevyykh gniynozapalnykh urazhen* (Antiseptic preparation dekasana in the prevention and treatment of local inflammatory lesions). *Ukr. Khimioterapevt. Zhurnal.* 2010;No 1(13):65.
- Kovalchuk VP, et al. *Rezultaty eksperymental'nogo i klinichnogo doslidzhennya efektyvnosti antyseptychnogo preparatu dekasana* (Results of experimental and clinical trial of antiseptic preparation dekasana). *Visnyk Vinnytskogo derzhavnogo medychnogo universytetu.* 2002;No 2:292–294.
- Ignatyeva VI, Gumenyuk GL, Shpak OI, Vengerova OA. *Effektivnost antiseptika dekasana v kompleksnom lechenii bolnykh s infektsionnym obostreniyem khronicheskogo obstruktyvnogo zabolovaniya legkikh* (Dekasan antiseptic effectiveness in complex treatment of patients with infectious exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease). *Ukr. Pulmonol. Zhurnal.* 2008;No 3(dodatok):125.
- Kovalenko SV. *Dosvid zastosuvannya nebulayzernoyi terapiyi dekasanom khvorykh z infektsionnym zagostrennyam khronichnogo obstruktyvnogo zakhvoryuvannya legen v umovakh pulmonologichnogo viddilennya* (Experience with nebulizer therapy with dekasana in patients with infectious exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in terms of branch pulmonary). *Ukr. Khimioterapevt. Zhurnal.* 2010;No 1–2:65–66.
- Mariyevskyy VF, Zadorozhna VI, Bondarenko VI, Bura TO, Doan SI, Zubkova NL, Vedmedenko VV, Dzyublyk IV, Trokhymenko OP, Kostenko OO. *Vyznachennya virulitsydnoyi diyi dezinfikuyuchykh zasobiv* (Determination of virulicide action of disinfectants). Available at: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1039.9281.0>
- Rukovodstvo po laboratornym issledovaniyam poliomiylita* (Guidance on laboratory studies of polio). WHO, Geneva. 1998;112p.
- Shandala MG. *Sovremennoye sostoyaniye i vozmozhnyye perspektivy resheniya problemy testirovaniya virulitsidnosti dezinfitsiruyushchikh sredstv* (Current state and prospects of the possible solution to the problem of testing virucidal disinfectant). *Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni.* 2005;No 2:42–43.