

О. Я. Дзюблик, І. В. Дзюблик, О. П. Трохименко, О. Л. Боророва ВИРУЛІЦИДНА ДІЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ IN VITRO ПО ВІДНОШЕННЮ ДО КОРОНАВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»
Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України

ВИРУЛІЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕКАМЕТОКСИНА IN VITRO В ОТНОШЕНИИ КОРОНАВІРУСА ІНФЕКЦИОННОГО БРОНХІТА

О. Я. Дзюблик, І. В. Дзюблик, Е. П. Трохименко, О. Л. Боророва

Резюме

Цель исследования — изучить вирулицидную активность декаметоксина в отношении прототипного штамма семейства коронавирусов IBV (infectious bronchitis virus) в условиях *in vitro* и оценить возможность его использования для неспецифической профилактики коронавирусной инфекции у человека.

Материал и методы. При проведении исследований были применены современные и классические вирусологические методы исследования: определение цитотоксического действия декаметоксина на монослой клеточных культур в условиях *in vitro*; культивирования, накопления и определения инфекционного титра вируса с цитопатическим действием на монослой клеточных культур; оценка вирулицидного действия препарата *in vitro*; определения ингибирующей активности препарата по степени снижения инфекционного титра вируса в культуре клеток, суспензионный метод, покраска препаратов по Романовскому–Гимзе. Как тест-вирус в работе использовали коронавирус инфекционного бронхита птиц (Infectious bronchitis virus — IBV). Вирулицидное действие декаметоксина исследовали в культурах клеток фибробластов эмбрионов кур (ФЭК) и почек сирийского хомяка (ВНК-21). Результаты регистрировали методами световой микроскопии.

Результаты. Установлено, что инфекционный титр IBV снижается на 2–5 lg по сравнению с контролем в условиях обработки вируса физиологическим раствором декаметоксина в концентрациях 200–1000 мкг / мл. Показано, что в дозе 200 мкг / мл, средство полностью инактивирует 100–1000 инфекционных доз вируса при продолжительности экспозиции 30 минут без проявлений цитотоксического действия при серийных разведениях.

Выводы. Выявленные вирулицидные свойства декаметоксина в отношении прототипного штамма семьи Coronaviridae в фармакопейных разрешенных концентрациях позволяют рекомендовать его для применения в качестве дезинфицирующего средства для неспецифической профилактики коронавирусных инфекций у взрослых людей.

Ключевые слова: четвертичные аммониевые соединения, декаметоксин, вирулицидное действие, цитопатическое действие, коронавирус, вирус инфекционного бронхита IBV.

Укр. пульмонолог. журнал. 2020, № 2, С. 27–30.

Дзюблик Олександр Ярославович,

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології
ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

Зав. відділенням технологій лікування неспецифічних захворювань легень

Д-р мед. наук, проф.

м. Київ, вул. Амосова, 10, 03038

Тел.: +38 (044) 2703561, oleksandr@pulmon.kiev.ua

THE VIRUCIDAL EFFECT OF DECAMETHOXIN IN VITRO AGAINST CORONAVIRUS OF INFECTIOUS BRONCHITIS

O. Ya. Dziublyk, I. V. Dzyublyk, O. P. Trokhimenko, O. L. Bororova

Abstract

Aims — to study the cytotoxic effect of decamethoxin on cell cultures and evaluate the antiviral activity of decamethoxin against coronavirus (CoV) infectious bronchitis virus (IBV) and the possibility of its use for the prevention of CoV infection.

Materials and methods. Modern and classical methods of virology research were used in this study: determination of the cytotoxic effect of decamethoxin on the monolayer of cell cultures *in vitro*; cultivation, accumulation and determination of the infectious titer of the virus by cytopathic action on the monolayer of cell cultures; evaluation of virucidal action of the drug *in vitro*; determination of the inhibitory activity of the drug by the reduction of the infectious virus titer in cell culture, suspension method, Romanowsky-Giemsa stain. IBV was used as a test virus. The virucidal effects of decamethoxin have been studied in cell cultures of chick embryo fibroblasts and Syrian hamster kidney (BHK-21). The results were recorded by light microscopy.

Results. It was found that the infectious titer of IBV was reduced by 2–5 lg in comparison with the control when the virus was treated with an isotonic decamethoxin solution in concentrations of 200–1000 µg / ml. It was shown that in a dose of 200 µg / ml the agent completely inactivated 100–1000 infectious doses of the virus with a duration of irradiation of 30 minutes without manifestations of cytotoxic effects in serial dilutions.

Conclusion. The revealed virucidal properties of decamethoxin in pharmacopoeial permissible concentrations against a prototype strain of the Coronaviridae family allow to recommend its use as a disinfectant for non-specific prevention of coronavirus infection in adults.

Key words: quaternary ammonium compounds, decamethoxin, virucidal action, coronavirus, chicken infectious bronchitis virus IBV.

Ukr. Pulmonol. J. 2020;2: 27–30.

Oleksandr Ya. Dziublyk

SI "National Institute of Phthisiology and Pulmonology named
after F. G. Yanovsky

National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

Chief of the Department of Technology for the Treatment of Non-Specific
Lung Diseases

DM, Prof.

10, M. Amosov str., Kyiv, 03038, Ukraine

Tel./fax: 38044 2703550, oleksandr@pulmon.kiev.ua

Коронавірусна інфекція на початку 2020 року стала для людства однією із найбільш актуальних проблем сучасності. Це в повній мірі пов'язано із появою та пандемічним поширенням нового коронавірусу SARS-CoV-2, який був визнаний етіологічним агентом нового інфекційного захворювання COVID-19. Так, саме у грудні 2019 року в китайському місті Ухань, провінція Хубей, вперше було зафіксовано спалах атипичної пневмонії, викликаній

новим типом коронавірусу людини [13]. Пізніше SARS-CoV-2 розповсюдився далеко за межі Китаю, швидко поширився і вразив населення багатьох країн світу, серед яких США, Південна Корея, Італія, Іспанія, Франція, Німеччина, Велика Британія, Іран, Японія, Росія і Україна. ВООЗ оголосила цю подію «надзвичайною ситуацією в області суспільної охорони здоров'я, що має міжнародне значення» [10]. Станом на 19 травня 2020 року захворюваність на COVID-19 в світі становила 4 888124 осіб, при цьому летальність досягла 7,64% [11].

За даними Центру громадського здоров'я в Україні на цю ж дату було зареєстровано 18 876 випадків COVID-

19, померли 548 осіб, переважно поважного віку із хронічними супутніми захворюваннями, серед яких — діабет серцево-судинна патологія, хронічні захворювання дихальних шляхів, (летальність 2,9 %) [9].

Зважаючи на те, що в світі не існує готових засобів специфічної профілактики COVID-19 (вакцини тільки розробляються та проходять перші етапи випробувань) та не знайдено ефективних антивірусних препаратів для лікування тяжкохворих, єдиною можливістю запобігти подальшому поширенню COVID-19 стало введення і дотримання карантинних заходів, спрямованих на ізоляцію хворих, контактних осіб і вірусносіїв, соціальне дистанціювання, широке застосування антисептиків і дезінфектантів. Глобальне запровадження карантину, який триває вже понад 2 місяці, призвело до трильйонних економічних збитків для світової економіки, проте пік захворюваності ще не пройдено, і достеменно не відомо, скільки часу ще триватиме пандемія.

Надзвичайно актуальною медичною проблемою в протидії поширенню збудника COVID-19 став пошук більш ефективних дезінфекційних засобів, дія яких була б спрямована на зменшення інфекційної активності або на повну інактивацію позаклітинного вірусу [12].

Одним із перспективних напрямків такого пошуку можуть бути дослідження щодо встановлення віруліцидної активності по відношенню до коронавірусів четвертинних амонієвих сполук (ЧАС), які належать до групи поверхнево активних речовин (ПАР) і виявляють детергентні властивості. Типовим представником цієї групи є декаметоксин – біс-четвертинна амонієва сполука, високоактивний та швидкодіючий напівсинтетичний препарат, який складається із синтетичної декаметилової частини молекули та ментолового ефіру (L-ментолу) олії м'яти перцевої [7]. Відомо, що декаметоксин чинить виражений бактерицидний вплив на стафілококи, стрептококи, дифтерійну та синьогнійну паличку, капсульні бактерії та фунгіцидну дію — на дріжджі, дріжджоподібні гриби, збудники епідермофітії, трихофітії, мікроспорії, еритразми, деякі види пліснявих грибів, протистоцидну дію — на трихомонади, лямблії. Є поодинокі дослідження, в яких була встановлена віруліцидна дія декаметоксину на віруси герпесу та грипу А (H1N1), А (H3N2) та В людини [1, 3]. Проте дослідження віруліцидної активності декаметоксину щодо коронавірусів проведено не було.

Мета дослідження — дослідити віруліцидну активність декаметоксину по відношенню до прототипного штаму родини коронавірусів IBV (infectious bronchitis virus) в умовах *in vitro* та оцінити можливість його використання для неспецифічної профілактики коронавірусної інфекції у людини.

Матеріал і методи дослідження

При проведенні досліджень були застосовані сучасні та класичні вірусологічні методи дослідження: визначення цитотоксичної дії препарату на моношар клітинних культур в умовах *in vitro*; культивування, накопичення та визначення інфекційного титру вірусу за цитопатичною дією на моношар клітинних культур; оцінка віруліцидної дії препарату *in vitro*; визначення інгібуючої активності препарату за ступенем зниження інфекційно-

го титру вірусу в культурі клітин, суспензійний метод, фарбування препаратів за Романовським-Гімзою.

Вірус. Як тест-вірус в роботі використовували коронавірус інфекційного бронхіту птахів (Infection bronchitis virus — IBV) — вакцинний штам «Н-120» з інфекційним титром 6,0 Іg ЕІD₅₀/мл при культивуванні в курячих ембріонах.

Культури клітин. Первинно-трипсинізована культура клітин фібробластів ембріонів курки (ФЕК) та субкультура фібробластів (ФЕКс), одержана з 10-денних курячих ембріонів методом теплової трипсинізації, як описано [5].

Культура клітин ВНК-21 була надана Музеєм клітинних культур ІЄПОР АМН України (м. Київ).

В роботі використовували живильні середовища RPMI-1640, DMEM, фетальну сироватку крові корів виробництва Sigma (USA), розчини Версена 0,02 %, трипсину 0,25 % виробництва НВО БіоТестМед (м. Київ). Ростові середовища для всіх культур клітин готували на основі RPMI 1640 і DMEM у рівних співвідношеннях з додаванням фетальної сироватки до 5% та антибіотиків. Культивування клітин здійснювали у флаконах об'ємом 50 см³ (з поверхнею росту 75 см²) та мікропланшетах на 24 і 96 лунок з адгезивною поверхнею, виробництва Sarstedt (Німеччина).

Досліджуваний препарат. Використовували стерильний ізотонічний розчин декаметоксину в концентрації 0,02% та 0,1%, який широко застосовується в клінічній практиці, в тому числі при сучасних вірусних захворюваннях дихальних шляхів [4].

Система оцінки віруліцидної дії препарату включала в себе розрахунки інфекційного титру вірусу в клітинних культурах (ІgТЦД₅₀/0,1 мл); зниження рівня накопичення вірусу під дією препарату (Δ Іg).

Зниження рівня накопичення вірусу під дією препарату (Δ Іg) визначали за формулою:

$$\Delta = \text{Акв} - \text{Ад};$$

де Акв — рівень накопичення вірусу при культивуванні без будь-якої обробки препаратом (ІgТЦД₅₀/0,1 мл); Ад — рівень накопичення вірусу при культивуванні після експозиції з препаратом у різних концентраціях (ІgТЦД₅₀/0,1 мл).

Дослідження проводили в стерильних умовах у ламінарному боксі II класу безпеки фірми Jouan (Франція).

Для мікроскопії моношарів клітинних культур, візуалізації, фіксації і документування зображення використовували інвертований мікроскоп Primo Vert, виробництва Karl Zeis (Німеччина) з відеокамерою і відповідним програмним забезпеченням.

Робота виконана у повній відповідності до вимог Фармакологічного комітету України. Визначення цитотоксичності та віруліцидної активності декаметоксину, розрахунки МПК та інших показників проводили у повній відповідності до методичних рекомендацій [2, 6].

Результати та обговорення

У зв'язку з великою небезпекою нового пандемічного штаму коронавірусу SARS-CoV-2 і заборонаю проводити прямі дослідження віруліцидної дії дезінфектантів та антисептиків у лабораторіях загального режиму як

тест-вірус ми використовували в роботі репрезентативний, не патогенний для людини прототипний штам коронавірусу IBV, що має будову і основні фізико-хімічні властивості, притаманні всім представникам родини Coronaviridae, підродини Coronavirinae, родів Alphacoronavirus та Betacoronavirus, саме до яких входять всі сім відомих коронавірусів людини, включаючи SARS-CoV-2 [14]. Застосовуючи IBV, ми врахували вимоги для такого виду досліджень, а саме: тест-вірус мав бути достатньо легко адаптованим до культивування в первинно-трипсинізованих та перещеплюваних культурах клітин в умовах *in vitro*; здатним проявляти характерну цитопатичну дію (ЦПД) в клітинах; розмножуватись у високих інфекційних титрах як в культурі клітин, так і на курячих ембріонах; бути безпечним для персоналу вірусологічної лабораторії. При плануванні та проведенні дослідження ми опиралися вже на набутий досвід та результати власних попередніх досліджень щодо вивчення віруліцидності дії декаметоксину по відношенню до вірусів грипу, поліовірусів, везикулярного стоматиту та аденовірусів людини [1].

Для визначення віруліцидності дії декаметоксину використовували тест-вірус в титрах від 4,0 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл до 8,0 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл. Вірус, адаптований до курячих ембріонів, був позначений в роботі як IBV1; до первинно-трипсинізованих культур клітин фібробластів ембріонів курки — IBV2; до культури клітини ВНК-2 - IBV3.

Застосували суспензійний метод, що дозволяє забезпечити оптимальний контакт досліджуваного дезінфікуючого засобу з вірусом у рідкому середовищі, надає можливість моделювати умови дезінфекції і є відносно безпечним при виконанні. Суспензійний метод здійснювали наступним чином: у пробірки вносили по 1,0 мл нативних зразків IBV з відомим титром, додавали 1,0 мл декаметоксину в концентрації, що відповідала 2 МПК для культур клітин ФЕК, ФЕКс та ВНК-21. Зразки (вірус + декаметоксин) інкубували в термостаті при 37°C впродовж 30 хв згідно до вказаних вище методичних рекомендацій. Після закінчення експозиції зразки наносили на попередньо відмиті моношари клітинних культур у мікропланшетах. Використовували по 4 моношари кожної культури клітин для кожного зразка, та по 4 моношари для контролю клітин (КК) і 4 моношари для контролю вірусу (КВ).

Клітинні моношари із внесеними зразками інкубували при температурі 37°C в атмосфері 5 % CO₂. Щоденно контролювали прояви цитопатичної дії вірусу у лунках планшетів. Остаточний результат враховували при повному прояві ЦПД вірусу в КВ (4+) та за відсутності порушення цілісності клітинних моношарів в КК (4-). Остаточний облік результатів проводили через 72 годин.

Важливо відзначити, що перед проведенням досліджень на виявлення віруліцидності активності декаметоксину по відношенню до тест-вірусу, нами була дана оцінка цитотоксичності досліджуваного препарату окремо для кожної культури клітин. Були визначені параметри цитотоксичності дії декаметоксину в культурах клітин ФЕК, ФЕКс та ВНК-21. Було встановлено, що цитотоксична дія декаметоксину в дослідженнях *in vitro* була різною і залежала від виду культури клітин. Цитотоксична дія пов-

ністю реалізувалась через 24 години після нанесення на клітинні моношари. На всіх етапах дослідження препарат застосовували в максимально переносимих концентраціях не токсичних для відповідної культури клітин.

Вивчали вплив декаметоксину на репродукцію коронавірусу IBV в культурах клітин ФЕК і ФЕКс. Встановлено, що в клітинах первинно-трипсинізованої культури та субкультури фібробластів ембріону курки розчин декаметоксину в концентрації 200 мкг/мл виявляв чітку віруліцидну дію по відношенню до IBV2, зменшуючи його інфекційний титр на 2,75-3,25 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл (табл. 1).

Таблиця 1

Визначення віруліцидності дії декаметоксину по відношенню до коронавірусу IBV1 та IBV2 в культурі клітин ФЕК

Досліджуваний зразок	Тривалість спостереження		
	24 год.	48 год.	72 год.
Титр вірусу IBV1, ІgТЦД ₅₀ /0,1 мл	2,5	4,0	4,0
IBV1+декаметоксин, 200 мкг/мл	1,5	3,0	3,0
Пригнічення репродукції IBV1, Δ Іg	1,0	1,0	1,0
Титр IBV2, ІgТЦД ₅₀ /0,1 мл	6,0	8,0	8,0
IBV2+декаметоксин, 200 мкг/мл	3,0	4,75	5,25
Пригнічення репродукції IBV2, Δ Іg	3,0	3,25	2,75

У той же час по відношенню до IBV1, декаметоксин пригнічував репродукцію вірусу тільки на 1,0 Іg ТЦД₅₀/0,1мл. Цілком можливо припустити, що отримання такого результату пов'язано з великим вмістом білку в зразках, оскільки було застосовано вірус у складі алантоїсної рідини курячого ембріону при його накопиченні та титруванні. Якщо так, то розчин декаметоксину в дозі 200 мкг/мл за показником віруліцидності дії по відношенню до коронавірусу може розглядатись як ефективний дезінфікуючий засіб у випадку відсутності значного білкового навантаження.

Аналогічні дослідження віруліцидності дії декаметоксину по відношенню тест-вірусу IBV були проведені в культурі ВНК-21. Були використані IBV1 (у вигляді алантоїсної рідини) та адаптований до культури клітин ВНК-21 вірус IBV3 у підтримуючому середовищі, які мали інфекційні титри відповідно 5,0 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл та 6,0 Іg ЕІД₅₀/0,1 мл.

У пробірки вносили по 1 мл IBV1 та адаптований до культури клітин ВНК-21 тест-вірус (IBV3) із попередньо встановленим інфекційним титром, і додавали декаметоксин в різних концентраціях. Зразки інкубували при 37°C впродовж 30 хв. Після закінчення експозиції їх наносили на попередньо відмиті моношари культури ВНК-21, використовуючи по 4 моношари для дослідження кожного з них та відповідні контролю.

Показано, що досліджуваний розчин декаметоксину в концентраціях від 200,0 мкг/мл до 1000 мкг/мл, виявляв чітку віруліцидну дію по відношенню до тест-вірусу IBV3, зменшуючи його інфекційний титр на 5,0-6,5 Іg ТЦД₅₀/0,1 мл. По відношенню до IBV1 декаметоксин в дозі 1000 мкг/мл виявляв віруліцидну дію, знижуючи інфекційний титр IBV1, навіть при високому вмісті білку в зразку (табл. 2).

Слід зазначити, що отримані результати щодо віруліцидної дії декаметоксину і зниження інфекційного титру тест-вірусу більше ніж на 4 lg ТЦД₅₀/0,1мл повністю відповідають вимогам існуючих методичних рекомендацій, хоча у деяких авторів мінімальною величиною зниження інфекційного титру тест-вірусу за 30 хв. експозиції, що свідчить про наявність віруліцидної дії у дезінфектанту, вважається 2 lg ТЦД₅₀/0,1мл [8].

Таблиця 2

Визначення віруліцидної дії декаметоксину по відношенню до IBV в культурі клітин ВНК-21

Досліджуванний зразок	Тривалість спостереження		
	24 год.	48 год.	72 год.
Інфекційний титр IBV1, IgТЦД ₅₀ /0,1 мл	5,5	8,0	8,5
IBV1+декаметоксин, 1000 мкг/мл	<0,5	1,5	3,0
Пригнічення репродукції IBV1, Δ Ig	5,0	6,5	5,5
Інфекційний титр IBV3, IgТЦД ₅₀ /0,1 мл	6,0	8,0	8,0
IBV3+ декаметоксин, 1000 мкг/мл	1,5	2,5	3,0
Пригнічення репродукції IBV1, Δ Ig	3,0	5,5	5,0

Таким чином, нами встановлено, що декаметоксин, що є біс-четвертинною амонієвою сполукою, напівсин-

тетичним поверхнево-активним катіонним детергентом із широкою протимікробною активністю, в умовах *in vitro* в культурах клітин ФЕК і ФЕКс виявляє чітко виражену віруліцидну активність по відношенню до прототипного штаму коронавірусу інфекційного бронхіту IBV. Показано, що в концентрації 200 мкг/мл засіб повністю інактивує 100–1000 інфекційних доз вірусу при тривалості експозиції 30 хвилин без проявів цитотоксичної дії при серійних розведеннях. Доведено, що в умовах *in vitro* в перещеплювальній культурі клітин ВНК-21 декаметоксин виявляє чітку віруліцидну дію по відношенню до IBV в концентраціях від 200 мкг/мл до 1000 мкг/мл, тобто повністю інактивує 1000–10000 інфекційних доз вірусу при тривалості експозиції 30 хв, навіть при високому білковому навантаженні.

Таким чином, в представленому дослідженні вперше вивчена віруліцидна дія декаметоксину по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV в умовах *in vitro*. Виявлені віруліцидні властивості декаметоксину у фармакопейно допустимих концентраціях по відношенню до коронавірусу дозволяють рекомендувати його як дезінфікуючий засіб при розробці методів неспецифічної профілактики коронавірусної інфекції у дорослих людей.

ЛІТЕРАТУРА

1. Трохименко ОП, Панчук СІ, Гуменюк МІ, та ін. Визначення *in vitro* віруліцидної дії декаметоксину на моделях простих і складних вірусів – як можливих тригерів інфекційного загострення бронхіальної астми. Профілактична медицина. 2013;21(3–4):78–84.
2. Марієвський ВФ, Задорожна ВІ, Бондаренко ВІ, та ін. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів: методичні рекомендації. Затверджені наказом МОЗ України №231 від 08.04.09. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/dok/?uid=1039.9281.0>.
3. Гридїна ТЛ. Протівірусні властивості офіційних препаратів декаметоксину, етонію та унітіолу по відношенню до вірусів грипу і простого герпесу: дис...канд. біол. наук: 03.00.06. Київ.2008.
4. Гуменюк МІ, Гуменюк ГЛ, Опімах СГ. Ефективність декаметоксину проти складних вірусів, незалежно від їх антигенної будови: перспективи використання при сучасних вірусних захворюваннях дихальних шляхів. Актуальна інфектологія. 2020;8(1):25–33.
5. Дзюблик ІВ, Трохименко ОП, Соловійов СО. Культура клітин у медичній вірусології: навчально-методичний посібник. Вінниця: ТОВ «Меркьюрі-Поділля». 2015;144 с.
6. Испытание и определение эффективности действия дезинфицирующих средств на вирусы. Журнал Федеративного здравоохранения – Исследование – Защита здоровья. 2004;(7):62–66.
7. Ковальчук ВП, та ін. Результати експериментального і клінічного дослідження ефективності антисептичного препарату декасану. Вісник Вінницького державного університету. 2002;(2):292–294.
8. Bellamy KA. Review of the test methods used to establish virucidal activity. Journal of Hospital Infection. 1995;30:389–396. Available at: [https://doi.org/10.1016/0195-6701\(95\)90043-8](https://doi.org/10.1016/0195-6701(95)90043-8)
9. Коронавірусна інфекція COVID-19. Режим доступу: <https://www.phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/inshi-infekciyni-zakhvoryuvannya/koronavirusna-infekciya-covid-19>
10. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
11. COVID-19 Coronavirus pandemic. Available at: https://www.worldometers.info/coronavirus/?utm_campaign=homeAdvegas17
12. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020 (No. WHO/COVID-19/laboratory/2020.4). World Health Organization. 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
13. Novel Coronavirus 2019-nCoV. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
14. Virus Taxonomy: 2018b. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (last accessed 30.01.2020)

REFERENCES

1. Trokhymenko OP, Panchuk SI, Humenyuk MI, et al. Vyznachennya *in vitro* virulitsydnoyi diyi dekametoksynu na modelyakh prostykh i skladnykh virusiv – yak mozhlyvykh tryheriv infektsiynogo zagostrennya bronkhialnoyi astmy (Determination of *in vitro* virucidal action of decamethoxine in models of simple and complex viruses - as possible triggers of infectious exacerbation of bronchial asthma). *Profilaktychna medytsyna*. 2013;21(3–4):78–84.
2. Mariyevskyy VF, Zadorozhna VI, Bondarenko VI, ta in. Vyznachennya virulitsydnoyi diyi dezinfikuyuchykh zasobiv: metodychni rekomendatsiyi. Zatverdzeni nakazom MOZ Ukrainy №231 vid 08.04.09 (Determination of virucidal action of disinfectants: guidelines. Approved by the order of the Ministry of Health of Ukraine 31231 from 08.04.09). Available at: <http://zakon.nau.ua/dok/?uid=1039.9281.0>
3. Grydina TL. *Protivirusni vlastyvoli ofitsinalnykh preparativ dekametoksynu, etoniyu ta unitolu po vidnoshennyu do virusiv grypu i prostogo herpesu: dysertatsiya kandydata biologichnykh nauk: 03.00.06* (Antiviral properties of official drugs of decamethoxine, ethonium and unithiol in relation to influenza and herpes simplex viruses: dissertation of candidate of biological science: 03.00.06). Kyiv.2008.
4. Gumenyuk MI, Gumenyuk HL, Opimakh SG. *Efektivnist dekametoksynu proty skladnykh virusiv, nezalezno vid yikh antygennoyi budovy: perspektyvy vykorystannya pry suchasnykh virusnykh zakhvoryuvannyakh dykhalnykh shlyakhiv* (Efficacy of decamethoxine against complex viruses, regardless of their antigenic structure: prospects for use in modern viral diseases of the respiratory tract). *Aktualna infektologiya*. 2020;8(1):25–33.
5. Dzyublyk IV, Trokhymenko OP, Solovyov SO. *Kultura klityn u medychniy virusolohiyi: navchalno-metodychnyy posibnyk* (Cell culture in medical virology: a textbook). Vinnytsya: TOV «Merkyuri-Podillya». 2015;144 p.
6. *Ispytanye i opredelenie effektivnosti deystviya dezinfitsiruyushchikh sredstv na virusy* (Testing and determining the effectiveness of disinfectants on viruses). *Zhurnal Federativnoho zdavookhranennya – Issledovaniye – Zashchytta zdorovya*. 2004;(7):62–66.
7. Kovalchuk VP, et al. *Rezultaty eksperymentalnogo i klinichnogo doslidzhennya effektivnosti antyseptychnogo preparatu dekasanu* (The results of experimental and clinical studies of the effectiveness of the antiseptic drug decasan). *Visnyk Vinnytskogo derzhavnogo universytetu*. 2002;(2):292–294.
8. Bellamy KA. Review of the test methods used to establish virucidal activity. *Journal of Hospital Infection*. 1995;30:389–396. Available at: [https://doi.org/10.1016/0195-6701\(95\)90043-8](https://doi.org/10.1016/0195-6701(95)90043-8)
9. *Koronavirusna infektsiya COVID-19* (Coronavirus infection COVID-19). Available et: <https://www.phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/inshi-infekciyni-zakhvoryuvannya/koronavirusna-infekciya-covid-19>
10. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
11. COVID-19 Coronavirus pandemic. Available at: https://www.worldometers.info/coronavirus/?utm_campaign=homeAdvegas17
12. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020 (No. WHO/COVID-19/laboratory/2020.4). World Health Organization. 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
13. Novel Coronavirus 2019-nCoV. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
14. Virus Taxonomy: 2018b. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (last accessed 30.01.2020)