

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
імені П.Л. ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БОРОРОВА Олена Леонідівна

УДК: 616.98.036:616.211/.232-07-02-085.001.5

ДИСЕРТАЦІЯ
ОПТИМІЗАЦІЯ ЛІКУВАННЯ ТА ВТОРИННОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ВІРУСНО-
БАКТЕРІАЛЬНОЇ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ Боророва О. Л.

Наукові керівники: Дзюблик Ярослав Олександрович, доктор медичних наук,
Соловйов Сергій Олександрович, доктор фармацевтичних наук, доцент

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Боророва О. Л. Оптимізація лікування та вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 «Охорона здоров'я»), Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, Київ, 2024.

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування та вирішення актуального завдання, яке полягає у підвищенні ефективності лікування хворих на негоспітальну пневмонію (НП), проведенні вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії шляхом застосування інгаляційного антисептика декаметоксину та оптимізації діагностичних алгоритмів для виявлення етіопатогена даної нозології.

З метою підвищення ефективності виявлення збудника НП запропоновано схему етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП та її модифікацію – для пошуку етіопатогену НП під час високої поширеності COVID-19 або грипу. Розроблені схеми передбачають одночасне застосування трьох різних методичних підходів – класичного бактеріологічного, «експрес»-тестування та молекулярно-біологічного для детекції респіраторних збудників. Саме такий підхід дає можливість максимально підвищити ефективність ідентифікування респіраторних збудників.

Виконано вірусологічне дослідження, результати якого розширили уявлення про антимікробний спектр вітчизняного лікарського засобу, представника групи четвертинних амонієвих сполук, декаметоксину.

Встановлено, що цитотоксична дія декаметоксину в дослідженнях *in vitro* залежала від виду культури клітин, повністю реалізувалась через 24 години після його нанесення на клітинні моношари і залишалась незмінною впродовж всього періоду спостереження до 72 год.

При оцінці цитотоксичної дози декаметоксину при аналізі життєздатності клітин з використанням МТТ-тесту встановлено, що CD_{50} декаметоксину через 24 год культивування, за моделлю логістичної регресії, дорівнювала 6,34 мкг/мл, а через 48 годин – 3,63 мкг/мл.

Для визначення протівірусної дії дезінфекційних засобів обрано суспензійний метод. Саме він дозволяє забезпечити контакт досліджуваного дезінфікуючого засобу з концентрованим вірусомісним матеріалом у рідкому середовищі, надає можливість моделювати умови дезінфекції біологічних рідин і є відносно безпечним при виконанні для персоналу лабораторії.

Встановлено, що IBV з інфекційним титром 3,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл повністю інактивувався розчином декаметоксину в концентрації 0,1 мг/мл (100 мкг/мл) при короткій експозиції – впродовж 30, 60 і 120 секунд при кімнатній температурі. Водночас за умов найменшої експозиції декаметоксину (10 і 20 с) спостерігається часткова протівірусна активність антисептика, що становить 1 і 2 lg (TCID₅₀/0,1 мл) через 24 і 48 год культивування відповідно. У той же час у контролі (без обробки декаметоксином), інфекційний титр IBV при культивуванні в аналогічних умовах збільшувався з 3,0 до 4,5 і 5,5 lg ТЦД₅₀/0,1 мл через 24 і 48 год відповідно. У контролі клітин моношар культури ВНК-21 залишався без порушень цілісності і проявів осередків дегенерації. Не спостерігалось також проявів токсичної дії в контролях нейтралізатора та декаметоксину.

Виявлена *in vitro* протівірусна активність декаметоксину щодо коронавірусів IBV була підтверджена проведенням дослідження *in silico*. Результати молекулярного докінгу декаметоксину в активному центрі основної протеази IBV демонструють утворення комплексу ліганд-білок з розрахунковою енергією зв'язування $-8,6$ ккал/моль. Цей ліганд-білковий комплекс стабілізується шістьма водневими зв'язками (2,22– 3,66 Å) з амінокислотами ASN26, GLY141, GLU187 і GLU164, однією електростатичною взаємодією

(3,75Å) з GLU187 і п'ятьма гідрофобними взаємодіями (53.189Å) з амінокислотними залишками ALA140, CYS143, HIS161 і PRO166.

З метою оцінки протівірусної дії декаметоксину щодо SARS-CoV-2 було досліджено *in silico* подібність первинних та вторинних структур основної протеази IBV та основної протеази SARS-CoV-2 та проведено молекулярний докінг декаметоксину в активний центр SARS-CoV-2 Mpro. Встановлено, що основні протеази IBV і SARS-CoV-2 мають 41 % ідентичності послідовностей і 55 % подібності послідовностей. Продемонстровано структурну подібність їх активних центрів.

Виконано молекулярний докінг декаметоксину в активний центр SARS-CoV-2 Mpro. Результати докінгу демонструють утворення ліганд-білкового комплексу за розрахунковою енергією зв'язку -8,4 ккал/моль. Цей комплекс ліганд-білок стабілізується сімома водневими зв'язками (1,94 – 3,68Å) з амінокислотами THR24, THR25, ASN142, GLY143, CYS145, HIS164, GLU166, однією електростатичною взаємодією (4,84Å) з HIS41 та п'ятьма гідрофобними взаємодіями (3,81 – 4,81Å) з амінокислотними залишками HIS41, CYS145, HIS163. Слід підкреслити утворення водневих, електростатичних та гідрофобних зв'язків між декаметоксином та амінокислотами каталітичної діади HIS41 – CYS145 активного центру Mpro.

З метою оптимізації лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною НП, виконано дослідження, що включає результати обстеження і лікування 70 хворих, у яких була діагностована вірусно-бактеріальна НП середньотяжкого перебігу (III клінічна група). Усі включені в дослідження пацієнти були розподілені на 2 групи порівняння залежно від об'єму протиінфекційної терапії. У 1-й основній групі (30 пацієнтів) антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію поєднували з інгаляційним протимікробним засобом декаметоксином, а в 2-й, контрольній, (40 пацієнтів) – використовували лише антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію.

Ефективність проведених режимів хіміотерапії була оцінена за динамікою основних клінічних (термін нормалізації температури тіла, наявність задишки, кашлю, аускультативних змін в легенях), лабораторних (кількість лейкоцитів, рівень ШОЕ) та рентгенологічних проявів захворювання

Встановлено, що проведена емпірична ступенева антиінфекційна терапія сприяла досягненню позитивних результатів: в усіх випадках діагностовано одужання. У той же час термін досягнення позитивних результатів в обох групах достовірно відрізнявся. Так, в основній групі він склав ($12,2 \pm 0,8$) дня, а в контрольній – ($17,7 \pm 0,7$), $p < 0,05$. Відрізнялась у основній і контрольній групах і середня тривалість використання антибактеріальних препаратів (відповідно ($9,4 \pm 0,6$) та ($11,6 \pm 0,5$) дня, $p < 0,05$)

Важливу роль у перебігу захворювання у пацієнтів відігравали інфекційні ускладнення. Так, крім НП, у 24 (60,0 %) хворих 2-ї групи відмічали, головним чином, гострий ринофарингіт (38,0 % випадків), ангіну бічних валиків глотки (10,0 %) та синусити (8,0 %), всі інші ускладнення (отит, інфекційний ексудативний перикардит) – значно рідше. При цьому у 22 (55,0 %) випадків було одне ускладнення і у 2 (5,0 %) випадків – два ускладнення. У першій групі пацієнтів інфекційних ускладнень не було завдяки протимікробним властивостям декаметоксину, який шляхом інгаляцій проникає у верхні та нижні дихальні шляхи.

Проведено фармакоеконічний аналіз на основі результатів лікування 70 пацієнтів із НП, які були включені в дослідження та завершили антимікробну хіміотерапію згідно з протоколом. За методом аналізу «мінімізація вартості» проводили порівняння загальної вартості лікування в обох групах спостереження. Було встановлено, що призначення небулайзерної терапії із застосуванням декаметоксину на 15,0 % знижує вартість антибіотикотерапії ($p < 0,05$). Додаткові витрати на протівірусну терапію в 1-й групі призвели до того, що вартість антимікробної терапії була співставна в обох групах. У той же час

вартість трудових затрат на лікування перевищувала у пацієнтів 2-ї групи, що пов'язано з більшою тривалістю застосування даних лікарських засобів.

Витрати на консультації були достовірно вище в 2-й групі, що обумовлено більшою частотою ускладнень. Оскільки в 2-й групі термін перебування в стаціонарі був суттєво більший ніж у 1-й, то і витрати, пов'язані з госпіталізацією, виявились значно вищими. Внаслідок виявлених особливостей, загальна вартість лікування в 2-й групі була на 27,1 % вище, ніж в 1-й, не дивлячись на те, що загальна вартість антимікробної терапії достовірно не відрізнялась.

За результатами проведених вірусологічних досліджень, а також за даними низки авторів, декаметоксин володіє широким спектром антисептичної дії та є безпечним у застосуванні, що підтверджують дослідження, проведені за участю хворих на НП, хронічний бронхіт та ХОЗЛ. Це дозволило запропонувати метод вторинної профілактики вірусно-бактеріальної НП шляхом застосування розчину декаметоксину для обробки рук та слизових оболонок очей, верхніх та нижніх дихальних шляхів з метою захисту від проникнення інфекційного агента.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що вперше досліджено цитотоксичні та противірусні властивості декаметоксину *in vitro* та *in silico* по відношенню до коронавірусів. Доведено активність декаметоксину щодо коронавірусів та вперше продемонстровано взаємодію декаметоксину з активними центрами IBV Mpro та SARS-CoV-2 Mpro. Вперше запропоновано метод вторинної профілактики вірусно-бактеріальної НП шляхом застосування декаметоксину. Вперше розроблений спосіб лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною НП з застосуванням вітчизняного антисептичного препарату. Розроблений спосіб достовірно значимо дозволив скоротити час перебування пацієнтів у стаціонарі, прискорити одужання, знизити частоту розвитку ускладнень та зменшити загальну вартість терапії. Вперше було запропоновано схему етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП з урахуванням епідемічного сезону. Результати проведеного дослідження

впроваджені в практику роботи пульмонологічних та терапевтичних відділень України.

Ключові слова: бронхолегенева система, пневмонія, негоспітальна пневмонія, коронавіруси, SARS-CoV-2, COVID-19, інгаляційна терапія, антимікробна терапія, протівірусні препарати, антибактеріальна терапія, профілактика, діагностика.

ABSTRACT

Bororova O. L. Optimization of treatment and secondary prevention of viral-bacterial community-acquired pneumonia. Qualifying scientific work on manuscript rights.

Thesis for the PhD degree in the field of knowledge 22 “Health Science” in specialty 222 “Medicine”, Shupyk National University of Healthcare of Ukraine, Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, 2024.

The dissertation provides a theoretical justification and a solution to the current task, which consists of increasing the effectiveness of treatment of patients with community-acquired pneumonia (CAP) and conducting secondary prevention of viral-bacterial community-acquired pneumonia by using the inhaled antiseptic decamethoxin and optimizing diagnostic algorithms for identifying the etiopathogen of this nosology.

To increase the effectiveness of identifying the causative agent of CAP, an algorithm for the etiological laboratory diagnosis of pathogens in patients with CAP and its modification – to search for the etiopathogen of CAP during a high prevalence of COVID-19 or influenza – were proposed. The developed algorithm provides for the simultaneous use of three different methodological approaches – classical, rapid and molecular tests for detecting respiratory pathogens. This approach significantly increases the efficiency of etiological diagnostics of CAP.

A virological study was performed, the results of which expanded the understanding of the antimicrobial spectrum of the drug developed in Ukraine, a representative of the group of quaternary ammonium compounds, decamethoxin.

It was established that the cytotoxic effect of decamethoxin by *in vitro* studies depends on the type of cell culture, fully realizes during 24 hours after its application to cell monolayers and remains unchanged throughout the observation period up to 72 hours.

By assessing the cytotoxic dose of decamethoxin in the analysis of cell viability using the MTT test, it was established that the CD_{50} of decamethoxin after 24 h of cultivation, according to the logistic regression model, was equal to 6,34 $\mu\text{g/ml}$, and after 48 hours – 3,63 $\mu\text{g/ml}$.

To determine the virucidal effect of disinfectants, we chose the suspension method. It allows the contact of the studied disinfectant with concentrated virus-containing material in a liquid environment, provides an opportunity to simulate the conditions of disinfection of biological fluids, and is relatively safe to perform for laboratory personnel.

It was established that IBV with an infectious titer of 3,0 lg TCD₅₀/0,1 ml was completely inactivated by a solution of decamethoxin at a concentration of 0,1 mg/ml (100 $\mu\text{g/ml}$) during a short exposure – for 30, 60 and 120 seconds at room temperature. At the same time, under the conditions of the smallest exposure of decamethoxin (10 and 20 s), a partial virucidal activity of the antiseptic is observed, which is 1 and 2 lg (TCID₅₀/0,1 ml) after 24 and 48 h of cultivation, respectively. At the same time, in the control (without decamethoxin treatment), the infectious titer of IBV when cultivated under similar conditions increased from 3,0 to 4,5 and 5,5 lg TCD₅₀/0,1 ml after 24 and 48 hours, respectively. In control culture, the monolayer of BHK-21 cells remained without violations of integrity and manifestations of degeneration foci. There were also no manifestations of toxic effects in controls of neutralizer and decamethoxin.

The *in vitro* virulicidal activity of decamethoxin against IBV coronaviruses was confirmed by the *in silico* study. The molecular docking of decamethoxin in the active site of the main IBV protease demonstrates the formation of a ligand-protein complex with an estimated binding energy of -8,6 kcal/mol. This ligand-protein complex is stabilized by six hydrogen bonds (2,22–3,66Å) with amino acids ASN26, GLY141, GLU187 and GLU164, one electrostatic interaction (3,75Å) with GLU187 and five hydrophobic interactions (53,189Å) with amino acid residues ALA140, CYS143, HIS161 and PRO166.

To evaluate the virucidal effect of decamethoxin against SARS-CoV-2, the similarity of the primary and secondary structures of the main protease of IBV and the main protease of SARS-CoV-2 was investigated *in silico*, and molecular docking of decamethoxin into the active center of SARS-CoV-2 Mpro was performed.

It was established that the main proteases of IBV and SARS-CoV-2 have 41% sequence identity and 55% sequence similarity. The structural similarity of their active centers has been demonstrated.

The molecular docking of decamethoxin into the active center of SARS-CoV-2 Mpro was performed. The docking shows the formation of a ligand-protein complex by the estimated binding energy of -8,4 kcal/mol. This ligand-protein complex is stabilized by the seven hydrogen bonds (1,94–3,68Å) with amino acids THR24, THR25, ASN142, GLY143, CYS145, HIS164, GLU166, the one electrostatic interaction (4,84Å) with HIS41 and the five hydrophobic interactions (3,81–4,81Å) with the amino acid residues HIS41, CYS145, HIS163. It is necessary to emphasize the formation of hydrogen, electrostatic and hydrophobic bonds between decamethoxine and amino acids of the catalytic dyad HIS41 – CYS145 of the Mpro active site.

To achieve the purpose of the dissertation, 70 patients with viral-bacterial CAP of medium severity (clinical group III) were examined and analyzed. All patients included in the study were divided into 2 comparison groups depending on the quantity of antimicrobial therapy. In the 1st main group (30 patients), antibacterial, pathogenetic and symptomatic treatment was combined with decamethoxin inhalation,

and in the 2nd, control group (40 patients), only antibacterial, pathogenetic and symptomatic therapy was used.

The effectiveness of chemotherapy regimens was evaluated by the dynamics of the main clinical (time of normalization of body temperature, presence of shortness of breath, cough, auscultatory changes in the lungs), laboratory (WBC count, ESR) and radiological manifestations of the disease

It was established that the empiric antimicrobial step-down therapy contributed to the positive results: recovery was diagnosed in all cases. At the same time, the time to achieve positive results in both groups was significantly different. So, it was ($12,2 \pm 0,8$) days in the main group, and ($17,7 \pm 0,7$) in the control group, $p < 0,05$. The average duration of usage of antibacterial drugs also differed in the main and control groups ($9,4 \pm 0,6$) and ($11,6 \pm 0,5$) days respectively, $p < 0,05$)

Infectious complications play an important role in the course of the disease. So, in addition to CAP, in 24 (60,0%) patients of the 2nd group, acute nasopharyngitis (38,0% of cases), acute tonsillitis (10,0 %) and sinusitis (8,0%) were noted. All other complications (otitis, infectious exudative pericarditis) are much less common. At the same time, 22 (55,0 %) patients had one complication and 2 (5,0 %) patients – two complications. In the first group of patients, there were no infectious complications due to the antimicrobial properties of decamethoxin, which penetrates the upper and lower respiratory tract by inhalation.

A pharmacoeconomic analysis was performed on 70 patients with CAP who were included in the study and completed antimicrobial chemotherapy according to the protocol.

According to the "cost minimization" method of analysis, the total cost of treatment was compared in both study groups. It was established that the nebulizer therapy with decamethoxine reduced the cost of antibiotic therapy by 15,0 % ($p < 0,05$). The additional antiviral therapy in group 1 led to the fact that the cost of antimicrobial therapy was comparable in both groups. At the same time, the hospital labor costs exceeded in patients of the 2nd group, which is associated with a longer

duration of treatment. As a result, the total cost of treatment in the 2nd group was 27,1 % higher than in the 1st, even though the total cost of antimicrobial therapy did not differ significantly.

According to the results of our virological studies and data of many authors, decamethoxin has a wide spectrum of antiseptic action and is safe to use, confirmed by studies conducted with the participation of patients with CAP, chronic bronchitis and COPD. Therefore, we proposed a secondary prevention method of viral-bacterial CAP by using a solution of decamethoxine to sanitize hands and mucous membranes of the eyes, upper and lower respiratory tract to protect against the penetration of an infectious agent.

Thanks to modern, highly informative research and data processing methods, the cytotoxic and virucidal properties of decamethoxin against coronaviruses were investigated *in vitro* and *in silico* for the first time. The activity of decamethoxin against coronaviruses has been proven, and the interaction of decamethoxin with the active centers of IBV Mpro and SARS-CoV-2 Mpro has been demonstrated for the first time. As a result of the study, next products were created: a viral-bacterial CAP secondary prevention method, a treatment method for patients with viral-bacterial CAP and an algorithm for the etiological laboratory diagnosis of CAP. The research results are implemented in the work practice of pulmonology and therapeutic departments of Ukraine.

Keywords: bronchopulmonary system, pneumonia, community-acquired pneumonia, coronaviruses, SARS-CoV-2, COVID-19, inhalation therapy, antimicrobial therapy, antiviral drugs, antibacterial therapy, prevention, diagnosis.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у фахових виданнях МОН України:

1. Дзюблик О.Я., Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Боророва О.Л. Віруліцидна дія декаметоксину *in vitro* по відношенню до коронавірусу інфекційного бронхіту. Укр. пульмонол. журн. 2020, №2, С. 27-30.
DOI: 10.31215/2306-4927-2020-108-2-27-30
<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/upj/20/pdf20-2/27.pdf>
2. Боророва О.Л. Коронавірусна інфекція: види, клінічні особливості, шляхи профілактики. Астма та алергія, 2021, №1, С 49-57.
DOI: 10.31655/2307-3373-2021-1-49-57
<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/aa/21/pdf21-1/49.pdf>
3. Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. Інфузія & Хіміотерапія, 2021, №1, С. 15-21.
DOI: 10.32902/2663-0338-2021-1-15-21
<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/ic/21/pdf21-1/15.pdf>
4. Дзюблик Я.О., Боророва О.Л., Патюк Ю.О. Доцільність та безпека застосування небулайзерної терапії у пацієнтів з інфекційними захворюваннями дихальних шляхів у період пандемії COVID-19. Укр. пульмонол. журнал. 2021, № 1, С. 31–38.
DOI: 10.31215/2306-4927-2021-29-1-31–38
<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/upj/21/pdf21-1/31.pdf>
5. Боророва О.Л., Дзюблик Я.О., Ячник В.А., Сучасні методи етіологічної діагностики гострих негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів. Укр. пульмонол. журнал. 2021, № 3, С. 58–65.
DOI: 10.31215/2306-4927-2021-29-3-58-65
<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/upj/21/pdf21-3/58.pdf>

6. Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Соловійов С.О., Трохимчук В.В., Боророва О.Л., Яковенко О.К. Ефективність *in vitro* декаметоксину для швидкої інактивації респіраторного коронавірусу. Фармацевтичний журнал, 2022, Т. 77, № 2, С. 87–101.

DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.22.09>

<https://pharmj.org.ua/index.php/journal/article/view/1286>

7. Дзюблик І.В., Боророва О.Л., Капітан Г.Б., Яковенко О.К. Алгоритми лабораторної діагностики COVID-19. Укр. пульмонол. журнал. 2022, Т. 30, № 2–3, С. 63–71.

DOI: 10.31215/2306-4927-2022-30-2-63-71

<http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/upj/22/pdf22-2-3/63.pdf>

Публікації у виданнях, індексованих у Scopus:

8. Semenyuta I. V., Trokhimenko O. P., Dziublyk I. V. et al. Decamethoxin virucidal activity: in vitro and in silico studies. Ukr. Biochem. J. 2022, Volume 94, N 3, P. 81-91.

DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj94.03.081>

<http://ukrbiochemjournal.org/2022/09/decamethoxin-virucidal-activity-in-vitro-and-in-silico-studies.html>

Публікації у матеріалах конгресів, конференцій, з'їздах:

9. Боророва О.Л. Ведення клінічного випадку COVID-19-асоційованої пневмонії в умовах пандемії. Матеріали: XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» (20 листопада 2020 р., м. Запоріжжя) – Запоріжжя, 2020. С 20-23.

<https://sites.google.com/view/zmapo->

[tmv/%D0%B0%D1%80%D1%85%D1%96%D0%B2-](https://sites.google.com/view/zmapo-tmv/%D0%B0%D1%80%D1%85%D1%96%D0%B2-)

[%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D1%96%D0%B9](https://sites.google.com/view/zmapo-%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D1%96%D0%B9)

10. Боророва О.Л., Капітан Г.Б. Комп'ютерне моделювання як безпечна альтернатива лабораторній практиці при роботі з особливо небезпечними інфекційними агентами. Future Healthcare: Innovations, Advances and Progress: Proceedings of the 3rd International Scientific and Practical Internet Conference, June 6-7, 2024. Dnipro, Ukraine. Pp. 25-27.
11. Боророва О.Л., Капітан Г.Б., Ячник В.А. Алгоритм етіологічної діагностики негоспітальної вірусно-бактеріальної пневмонії залежно від епідемічної ситуації. Abstracts of the XXIII International Scientific and Practical Conference «The current state of the organization of scientific activity in the world», June 10-12, 2024, Madrid, Spain. Pp. 284-288.
<https://eu-conf.com/en/events/the-current-state-of-the-organization-of-scientific-activity-in-the-world/>
12. Боророва О.Л., Ячник В.А. Зменшення вартості лікування негоспітальної пневмонії III клінічної групи за рахунок додаткової небулайзерної терапії. Ways of Science Development in Modern Crisis Conditions: Proceedings of the 5th International Scientific and Practical Internet Conference, June 13-14, 2024. Dnipro, Ukraine. Pp. 45-47.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ	18
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ВІРУСНО-БАКТЕРІАЛЬНУ НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ, ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ, ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ, ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	31
1.1. Тягар вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії як складової гострих негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів	31
1.2. Мікробіологічна характеристика основних бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії та проблема їх антибіотикорезистентності	33
1.2.1. Особливості резистентності основних бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії.....	35
1.3. Роль вірусів у розвитку негоспітальної пневмонії	37
1.3.1. Коронавіруси людини.....	38
1.4. Сучасні методи етіологічної діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.....	41
1.5. Раціональна хіміотерапія вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії	53
1.5.1. Антибактеріальна хіміотерапія пацієнтів із негоспітальною пневмонією	54
1.5.2. Противірусна хіміотерапія пацієнтів із негоспітальною пневмонією....	56
1.5.3. Антисептичні препарати в лікуванні вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.....	58
1.6. Профілактика розвитку вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії	59
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	63
2.1. Матеріали і методи вірусологічних досліджень	64

2.1.1. Характеристика препарату дослідження	64
2.1.2. Культура клітин та поживні середовища	64
2.1.3. Тест-вірус	65
2.1.4. Метод визначення цитотоксичності препарату дослідження	66
2.1.5. Молекулярний докінг	67
2.2. Матеріали і методи клінічних досліджень	68
2.2.1. Характеристика обстежуваних хворих	68
2.2.2. Методи обстеження хворих	70
2.2.3. Медикаментозна терапія	72
РОЗДІЛ 3. ДІАГНОСТИКА ЕТІОЛОГІЧНИХ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНО- БАКТЕРІАЛЬНОЇ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ.....	76
3.1. Роль етіологічної діагностики при веденні хворих на негоспітальну пневмонію	76
3.2. Основні вірусно-бактеріальні збудники негоспітальної пневмонії.....	77
3.3. Схема ідентифікації основних вірусних та бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії.....	79
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ТА МЕХАНІЗМУ ДІЇ ДЕКАМЕТОКСИНУ ЩОДО КОРОНАВІРУСІВ	87
4.1. Дослідження цитотоксичності декаметоксину	87
4.2. Визначення противірусної дії декаметоксину по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV в культурах клітин ФЕК та ФЕКс.....	96
4.3. Визначення противірусної дії декаметоксину по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV в культурі клітин ВНК-21.....	99
4.4. Дослідження <i>in silico</i> противірусної активності декаметоксину	107
РОЗДІЛ 5. АНТИМІКРОБНА ХІМІОТЕРАПІЯ ТА ВТОРИННА ПРОФІЛАКТИКА ВІРУСНО-БАКТЕРІАЛЬНОЇ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ	118
5.1. Антимікробна хіміотерапія у хворих на негоспітальну пневмонію середньотяжкого перебігу	118

5.2. Фармакоеконічний аналіз запропонованого способу лікування хворих на негоспітальну пневмонію середньотяжкого перебігу	129
5.3. Принцип вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії із застосуванням декаметоксину	134
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	138
ВИСНОВКИ.....	152
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	154
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	156
ДОДАТОК 1	186

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

Скорочення, символи, позначення, які повторюються не більше двох разів, до переліку не вносяться.

Ag	antigen
ATS	American thoracic society
ВНК-21	культури клітин нирки сірійського хом'ячка
<i>B. pertussis</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
<i>B. parapertussis</i>	<i>Bordetella parapertussis</i>
BSL	biosafety level
CD ₅₀	цитотоксична концентрація, що викликає загибель 50 % клітин
CDC	centre for disease prevention and control
CoV	коронавірус
CoVs	коронавіруси
COVID-19	коронавірусна хвороба 2019
<i>C. pneumoniae</i>	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
ECDC	European centre for disease prevention and control
EUCAST	European committee on antimicrobial susceptibility testing
FDA	U.S. Food and Drug Administration
FEV ₁	об'єм форсованого видиху за першу секунду
FISH	fluorescent in situ hybridization
FVC	форсована життєва ємність легень
HCoV	human coronaviruses
HEP-2	культури клітин аденокарциноми гортані

людини

<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
IBV	infectious bronchitis virus
IDSA	Американське товариство інфекційних хвороб
IgG	імуноглобулін G
IgM	імуноглобулін M
LAMP	loop-mediated isothermal amplification
LPA _s	тести молекулярної гібридизації з типоспецифічними зондами
<i>L. pneumophila</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
MALDI-TOF MS	це матрично-активована лазерна десорбційна / іонізаційна проміжна часова мас-спектрометрія
MDCK	культури клітин нирки собаки
MEF ₂₅ , MEF ₅₀ , MEF ₇₅	швидкість видиху на рівні 25 %, 50 % і 75 % FVC відповідно
MERS	Middle East respiratory syndrome
<i>M. catarrhalis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>M. pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
MRSA	meticillin-resistant <i>S. aureus</i>
Mpro	main protease
MTT	Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NAAT	nucleid acid amplification test
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PRSP	penicillin-resistant <i>S. pneumoniae</i> .
SARS	severe acute respiratory syndrome

SARS-CoV	severe acute respiratory syndrome coronavirus
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus-2
SpO ₂	насичення гемоглобіну артеріальної крові киснем
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
UCSF	University of California, San Francisco
VC	життєва ємність легень
АБП	антибактеріальні препарати
АБР	антибіотикорезистентність
АБТ	антибіотикотерапія
АГ	антиген
АТ	антитіла
БА	бронхіальна астма
БАЛ	бронхоальвеолярний лаваж
ВДШ	верхні дихальні шляхи
ВІЛ	вірус імунодефіциту людини
ВІТ	відділення інтенсивної терапії
ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГНІНДШ	гострі негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів
ГРВІ	гострі респіраторні вірусні інфекції
ГРДС	гострий респіраторний дистрес-синдром
ГРІ	гостра респіраторна інфекція
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
ДШ	дихальні шляхи
ЕІД ₅₀	кількість вірусу, яка інфікує 50 %

	інокульованих яєць
ЄС	Європейський Союз
ЗТ-ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція із зворотною транскрипцією
ІБ	імуноблотинг
ІФА	імуно-ферментний аналіз
ІХА	імунохроматографічний аналіз
МІК	мінімальна інгібуюча концентрація
МО	міжнародні одиниці
МПК	максимально переносима концентрація
НІНДШ	негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів
НП	негоспітальна пневмонія
ПАР	поверхнево активні речовини
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція
ПС	підтримуюче середовище
РА	радіоіmunний аналіз
РНК	рибонуклеїнова кислота
РОГК	рентгенографія органів грудної клітки
РС	ростове середовище
СНІД	синдром набутого імунодефіциту
США	Сполучені Штати Америки
ТЦД ₅₀	доза, що інфікує 50% культур клітин
ФЕК	фібробласти ембріонів курки
ФЕК _c	субкультури клітин фібробластів ембріонів курки
ФЗД	функція зовнішнього дихання
ХОЗЛ	хронічне обструктивне захворювання

легень

ЦПД	цитопатична дія
ЧАС	четвертинні амонієві сполуки
ШОЕ	швидкість осідання еритроцитів
ШТ	швидкі тести

ВСТУП

Актуальність теми

Гострі негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів, в структурі яких найвагоміша роль належить негоспітальній пневмонії (НП), відносяться до числа найбільш розповсюджених захворювань в Україні і світі [1, 2]. НП залишається лідером за рівнем смертності серед інфекційних захворювань [3–5]. За рахунок госпіталізації та втрачених робочих днів НП призводить до значних економічних збитків. З числа хворих на НП госпіталізують у стаціонар або відділення інтенсивної терапії (ВІТ) 22,0–42,0 % і 1,2 %–10,0 % відповідно, смертність серед яких оцінюється у 5,0–14,0 % та 30,0–50,0 % відповідно [6–8].

Етіологія НП вивчена досить добре, проте епідеміологічні дослідження і далі тривають, постійно додаючи нову інформацію. НП може бути викликана бактеріями, вірусами, грибами та паразитами [9–11]. Нерідко виявляється декілька різних видів мікроорганізмів одночасно у одного пацієнта. З усіх випадків НП, у яких вдається ідентифікувати етіологічний чинник, у 30 % випадків знаходять полімікробні асоціації [12–16]. Зустрічаються бактеріальні, вірусні та вірусно-бактеріальні асоціації [10, 13, 17]. Респіраторні віруси посідають одне із провідних місць в структурі збудників НП. З появою вакцин від пневмококу та гемофільної палички, а також – активними розробками нових антибактеріальних препаратів частка пневмоній, викликаних бактеріальним агентом поступово знижується [9, 11, 15]. Вірусною етіологією зумовлено 10–50 % випадків НП у дорослих осіб [3, 18–20]. Причиною цього захворювання можуть бути: віруси грипу А та В, риновіруси, віруси парагрипу, аденовіруси, респіраторно-синцитіальний вірус, метапневмовірус людини, коронавіруси (SARS-CoV, MERS-CoV і SARS-CoV-2), а також бокавірус людини [21].

Ідентифікація збудника НП дає змогу своєчасно застосовувати цілеспрямовану етіотропну терапію, яка мінімізує побічні ефекти, скорочує тривалість лікування, зменшує ризики розвитку ускладнень та зменшує вартість лікування [22, 23]. На практиці у 50,0–70,0 % хворих виявити збудник інфекції не

вдається через відсутність можливості отримати матеріал з нижніх дихальних шляхів (у 20,0–30,0 % пацієнтів непродуктивний кашель), нечутливі діагностичні тести на відомі збудники, відсутність тестів на інші визнані збудники, забір матеріалу на тлі прийому антимікробних препаратів [7, 10, 14, 20, 24, 25–28].

При невдачі виявити збудник НП, як правило, призначається емпірична антибіотикотерапія, неефективна при вірусній етіології НП (тобто у 10–50 % випадків НП у дорослих осіб) [3, 18–20].

Специфічна етіотропна терапія негоспітальної пневмонії, спричиненої багатьма респіраторними вірусами, поки що відсутня. Проте при деяких вірусних інфекціях вона існує і досить непогано зарекомендувала себе в клінічній практиці. При тяжкому перебігу інфекції, спричиненої респіраторно-синцитіальним вірусом, можна призначати рибавірин. У лікуванні хворих з ураженням легень, спричиненим вірусом вітряної віспи, використовується ацикловір, а при ураженні легень, викликаному цитомегаловірусом, – ганцикловір, летерновір, валганцикловір. Перспективним лікуванням для пацієнтів з аденовірусною пневмонією в майбутньому може стати цидофовір [7, 29]. Для лікування хворих з грипозною інфекцією широко використовуються пероральний озельтамівір та інгаляційний занамівір. Крім того, в Японії, Китаї, Південній Кореї, Канаді та США призначається внутрішньовенний перамівір. Четвертий препарат цього класу, інгаляційний ланінамівір тривалої дії, ліцензований у Японії [30, 31]. Крім того, 24 жовтня 2018 р. FDA було схвалено новий препарат для лікування грипу, єдиний в своєму класі – балоксавіру марбоксил [11, 31].

Враховуючи труднощі виявлення етіологічного чинника НП, яким можуть виступати віруси або полімікробні асоціації, відсутності ефективних противірусних препаратів прямої дії, вкрай актуальною проблемою в усьому світі є пошук нових та вже відомих засобів з противірусною активністю з метою профілактики та лікування НП.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом двох планових науково-дослідних робіт відділення технологій лікування неспецифічних захворювань легень ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»:

- “Визначити розповсюдженість антибіотикорезистентних штамів основних бактеріальних збудників негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів та розробити оптимальні схеми диференційованої антимікробної хіміотерапії з урахуванням фармакоекономічних аспектів”, № держреєстрації 0120U000008, шифр А.20.01 (2020–2020).
- «Оптимізувати діагностику та розробити методи неспецифічної профілактики негоспітальної пневмонії, що викликана коронавірусами або поєднанням їх з бактеріальними збудниками», № держреєстрації 0120U102510, шифр А.20.04 (2020–2022)

Мета дослідження: оптимізація вторинної профілактики та підвищення ефективності антимікробної хіміотерапії негоспітальної вірусно-бактеріальної пневмонії із застосуванням декаметоксину

Задачі дослідження:

1. Розробити схему етіологічної діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.
2. Дослідити протівірусну активність декаметоксину *in vitro* по відношенню до прототипного штаму коронавірусу інфекційного бронхіту курки.
3. Визначити механізм протівірусної активності декаметоксину методом *in silico* по відношенню до коронавірусів.
4. Оптимізувати антимікробну терапію хворих на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію.
5. Вивчити фармакоекономічні аспекти антибактеріальної та протівірусної терапії у хворих на негоспітальну пневмонію.

6. Запропонувати принцип вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальну пневмонію із використанням антисептичного препарату декаметоксину.

Об'єкт дослідження: пацієнти з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією, дані автоматизованої медичної інформаційної системи «EMSiMED».

Предмет дослідження: протівірусна активність декаметоксину *in vitro* по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV, вірусно-бактеріальна негоспітальна пневмонія, підходи до антибактеріальної і протівірусної терапії та її фармакоепідеміологічні аспекти, методи профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.

Методи дослідження: клінічні, рентгенологічні, біохімічні, функціональні (ЕКГ, спірометрія, пульсоксиметрія), молекулярно-біологічні з використанням зворотної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу для виключення наявності SARS-CoV-2, швидкі тести на основі імунохроматографічного аналізу, вірусологічні, математичні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів.

За результатами досліджень поглиблено уявлення про антимікробний спектр дії антисептичного препарату з групи четвертинних амонієвих сполук – декаметоксину. Вперше досліджено цитотоксичні та протівірусні властивості декаметоксину *in vitro* та *in silico* по відношенню до коронавірусів. Доведено активність декаметоксину щодо коронавірусів та вперше продемонстровано взаємодію декаметоксину з активними центрами IBV M_{pro} та SARS-CoV-2 M_{pro}. Встановлено високий ступінь подібності ферментів основних протеаз IBV та SARS-CoV-2, а також структурну подібність їх активних центрів. Проведене дослідження дозволило запропоновано принцип вторинної профілактики вірусно-бактеріальної НП у дорослих осіб шляхом застосування декаметоксину.

Вперше показано, що додаткове включення до емпіричної ступеневої антибіотикотерапії інгаляцій з декаметоксином дозволяє достовірно зменшити частоту інфекційних ускладнень, тривалість антибіотикотерапії, термін досягнення позитивних результатів лікування та значно знизити загальну вартість лікування.

Вперше на основі проведеного аналізу існуючих сучасних методів виявлення збудників респіраторних інфекцій було запропоновано схему етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП з урахуванням епідемічного сезону.

Практичне значення отриманих результатів.

Дослідження подібності вірусів інфекційного бронхіту та новітнього коронавірусу довело, що під час проведення вірусологічних досліджень у якості безпечної для людини моделі вірусу SARS-CoV-2 можна використовувати IBV.

Розраховані показники взаємодії декаметоксину в активних центрах IBV Mpro та SARS-CoV-2 Mpro можуть значно розширити можливості пошуку та аналізу нових противірусних препаратів різних хімічних класів як інгібіторів Mpro вірусу SARS-CoV-2.

Враховуючи вагому роль вірусів у розвитку негоспітальної вірусно-бактеріальної пневмонії, встановлена необхідність призначення лікарських засобів з противірусною активністю, яким зокрема є інгаляційний антисептик декаметоксин, для профілактики та комплексного лікування негоспітальної пневмонії.

Розроблений принцип неспецифічної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії шляхом обробки шкіри та слизових оболонок розчином декаметоксину.

З метою прискорення одужання, зменшення ускладнень та зниження вартості лікування рекомендовано користуватись запропонованим способом лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III

клінічної групи, який полягає у включенні небулайзерної терапії із використанням інгаляційного антисептика широкого спектру дії декаметоксину у комплексне лікування НП.

Запропонована схема етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП та її модифікація – для пошуку етіопагогену НП під час високої поширеності COVID-19 або грипу, – дозволять підвищити частоту виявлення збудника НП, що в свою чергу дасть змогу вчасно призначити етіотропну терапію хворим на НП.

Проведене вірусологічне дослідження сприяло зміні Інструкції лікарського засобу ДЕКАСАН®, розчин 0,2 мг/мл, виробництва ТОВ "Юрія-Фарм", Україна, а саме – було доповнено розділ «Фармакологічні властивості» («Фармакодинаміка») новими даними стосовно противірусної активності декаметоксину.

Наукові положення дисертації впроваджені та використовуються в науково-педагогічному процесі кафедри фтизіатрії і пульмонології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика.

Практичні положення дисертації впроваджені та використовуються у лікувально-діагностичному процесі КНП «Міської клінічної лікарні № 13» Харківської міської ради; ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», КП «Волинська обласна клінічна лікарня» Волинської обласної ради.

За результатами дисертаційної роботи розроблені та опубліковані 2 інформаційні листи: «Методи профілактики коронавірусної інфекції декаметоксином у дорослих осіб» (Київ, 2020 р.), «Алгоритм лабораторної етіологічної діагностики збудників негоспітальної пневмонії під час епідемії COVID-19 або грипу» (Київ, 2022) та методичні рекомендації «Швидкі імунохроматографічні тести (CITO TEST) в етіологічній та диференційній діагностиці COVID-19» (Київ, 2022. 46 с.).

Особистий внесок здобувача.

На основі аналізу світової медичної літератури здобувач вивчила актуальний стан проблеми діагностики, лікування та вторинної профілактики вірусно-бактеріальної НП.

Здобувачем особисто проводився відбір та обстеження тематичних хворих, призначення та контроль лікування, реєстрація даних обстеження, проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження. Автор сама виконала статистичну обробку, описання та наочне представлення результатів дослідження. Висновки та практичні рекомендації сформульовані разом з науковим керівником.

Здобувач підготувала наукові публікації, доповідала результати досліджень на наукових фахових конференціях.

Дисертаційна робота виконана на базі Державної установи «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України».

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи висвітлювались на науково-практичній конференції «Загальноукраїнський симпозіум з лікування пацієнтів працездатного віку: Дніпровські студії зі збереження професійного довголіття» (м. Дніпро, 16-17 вересня 2020 р.), XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» (м. Запоріжжя, 20 листопада 2020 р.), XI науково-практичній конференції «Актуальні проблеми лікування хворих на хронічне обструктивне захворювання легень» (м. Київ, 18 квітня 2024 р.), III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Future healthcare: innovations, advances and progress» (м. Дніпро, 6-7 червня 2024 р.), XXIII Міжнародній науково-практичній конференції «The current state of the organization of scientific activity in the world» (м. Мадрид, Іспанія, 10-12 червня 2024 р.), V Міжнародній науково-практичній інтернет-

конференції «Ways of science development in modern crisis conditions» (м. Дніпро, 13-14 червня 2024 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації було опубліковано 12 наукових праць, з них 1 стаття – у виданні, індексованому у наукометричній базі Scopus, 8 статей у наукових фахових журналах, рекомендованих МОН України, а також 1 тези доповідей на всеукраїнській конференції та 3 тез доповідей на міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 191 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 26 малюнками, містить 7 таблиць. Вона складається із вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів, 3 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, переліку літератури, який налічує 272 посилань, та 1 додатку.

РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ВІРУСНО-БАКТЕРІАЛЬНУ НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ, ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ, ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ, ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Тягар вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії як складової гострих негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів

Гострі негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів відносяться до числа найбільш розповсюджених захворювань в Україні і світі [1]. Серед усіх інфекційних захворювань людини негоспітальні інфекції дихальних шляхів зустрічаються у 18 % випадків [7, 24]. У 2017 р. інфекції нижніх дихальних шляхів було виявлено у 471,8 млн пацієнтів [32, 33]. За рівнем смертності вони посідають друге місце серед інфекційних хвороб та четверте – серед усіх захворювань [32]. Щорічно від респіраторних інфекцій нижніх дихальних шляхів помирає 2,6 млн осіб [32, 33].

Визначення гострі негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів включає в себе наступні нозології: гострий бронхіт (у дітей – бронхіоліт), негоспітальну пневмонію, а також – грип [3, 34], загострення хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) та бронхоектатичної хвороби [3, 12, 35]. Найбільше медико-економічне значення серед них має пневмонія, яка виявляється у 5,0–12,0 % пацієнтів з інфекцією нижніх дихальних шляхів. Госпіталізації потребують 22,0–42,0 % хворих на НП, смертність серед них варіює від 5,0 до 14,0 % [6, 7]. Тяжкий перебіг захворювання відмічається у 1,2 %–10,0 % дорослих пацієнтів, ризик смерті для даної групи пацієнтів оцінюється в 30,0-50,0 % [6–8]. НП залишається лідером за рівнем смертності серед інфекційних захворювань [3–5]. Щороку, за оцінкою American Thoracic Society (ATS), НП зумовлює 2,8 млн смертей по всьому світу, переважно вражаючи дітей молодше 5 років та людей похилого віку [5]. Рівень смертності вищий у країн з низьким та середнім рівнем доходу [5].

Захворюваність в країнах Європи широко варіює і становить від 20.6 випадків на 10,000 осіб в Ісландії [8, 20] до 79.9 випадків на 10,000 осіб у Великій Британії (0,5–1,0 % дорослих осіб). [1, 2, 6, 8, 36]. Рівень госпіталізації в європейських країнах значно відрізняється, коливаючись від 20 до 50%, що означає, що в ЄС стаціонарну терапію з приводу НП отримує близько 1 мільйона осіб [3, 34, 37]. Тривалість госпіталізації пацієнтів з НП також широко варіює. Так, середня тривалість стаціонарного етапу лікування хворого на НП в Україні в 2017 р. становила 12,1 дня [1]. У Великій Британії та Данії цей показник становить 5 днів [38, 39], в Іспанії – 7 днів [40], в США – 4,3 і 7,3 днів для пацієнтів, що отримували лікування у відділеннях терапевтичного профілю та відділеннях інтенсивної терапії відповідно [41], в Нідерландах – 6,2 і 15,2 днів – відповідно [42]. Рівень смертності від НП в європейському регіоні становить 23 тис осіб [8].

У США щороку на НП хворіють 5,6 млн осіб, 1,7 млн з яких госпіталізують. З числа останніх безпосередньо від НП щорічно помирають біля 100 тис. осіб [1, 2, 8]. Майже 9 % пацієнтів, які отримували стаціонарне лікування з приводу НП, будуть госпіталізовані повторно протягом того ж року через новий епізод НП [43].

У країнах Латинської Америки, захворюваність на НП варіює від 4,8 до 110 випадків на 10 000 дорослих осіб (віком від 18 до 64 років) та 109–294 випадків на 10 000 осіб у віці старше 65 років [8, 44, 45].

У Південній Кореї щорічно в середньому 62,6 випадки на 10 000 осіб госпіталізують з діагнозом НП [8, 46]. Захворюваність на НП у Японії серед дорослих осіб середнього віку (55–64 роки) становить 65 випадків на 10 000 осіб, і значно вище для осіб у віці 65–74 роки та 75– 84 років – 169 та 434 випадки на 10 000 осіб відповідно [8]. Нещодавно проведене дослідження трьох азіатських країн повідомило, що рівень захворюваності на НП становив 1424,5, 420,5 та 98,8 випадків на 10 000 осіб у Філіппінах, Індонезії та Малайзії відповідно [8, 47]. У Китаї рівень захворюваності на НП оцінюється як 29,8-221,0 випадків на 10 000

осіб, включаючи дітей [8, 48], з них особи похилого віку становили $37.2\% \pm 7.9\%$ [48]. В Австралії, дослідження в період з 2011 по 2013 рік повідомляло про захворюваність 24,5 випадків на 10 000 осіб на рік у пацієнтів старше 20 років [8, 49]. В Азіатсько-Тихоокеанському регіоні рівень смертності варіює від 1,0 до 30,0 % [8, 50].

У Російській Федерації за статистичними даними 2018 р. захворюваність на НП становила 49,2 випадки на 10 000 населення [51]. Показник смертності від НП становить 24,6 на 100 тис осіб. У структурі смертності серед хвороб органів дихання на пневмонію припадало 46,5 % [52].

В Україні за даними 2017 р. захворюваність дорослих на НП становила 38,4 випадки на 10 000 населення, а смертність – 11,7 на 100 тис. населення [1].

Така варіабельність статистичних даних перш за все зумовлена критеріями для госпіталізації, які нормуються на державному рівні, доступністю медичної допомоги, а також поширеністю збудників НП.

Висока сприйнятливність населення до збудників ГРІ, їх повітряний шлях передачі, а також постійне зростання урбанізації сприяють поширенню НП [53]. На рівень захворюваності та смертності від НП впливають такі чинники, як характер популяції хворих (перебування в організованому колективі дітей та військовослужбовців, навчальному та медичному закладі, будинку для людей похилого віку), епідемічні спалахи грипу та інших гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ), погодні чинники, рівень охоплення населення профілактичною вакцинацією [9, 11, 30, 31, 54–56].

1.2. Мікробіологічна характеристика основних бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії та проблема їх антибіотикорезистентності

Етіологія НП вивчена досить добре, проте інформація періодично оновлюється у зв'язку з появою нових збудників та проведенням епідеміологічних досліджень. Варіабельність у частоті виявлення того чи іншого

етіопатогена пов'язані з деякими географічними особливостями, різні методи діагностики, неоднорідністю досліджуваних груп хворих за тяжкістю процесу, віком, наявністю супутніх захворювань, тощо [12, 24].

Кількість визначених видів мікроорганізмів, здатних викликати НП сягає більше 200 видів та постійно зростає, як наслідок появи новітніх технологій мікробіологічної діагностики та перегляду ролі окремих патогенів в розвитку запалення нижніх дихальних шляхів [57, 58]. Тільки за останнє десятиріччя були «відкриті» десятки невідомих раніше патогенів, здатних викликати НП вкрай тяжкого перебігу, нерідко з летальним завершенням через їх несвоєчасну етіологічну діагностику та неадекватне лікування [25, 59, 60]. Тому дуже важливим є удосконалення вже відомих і розробка нових стратегій етіологічної діагностики НП на основі останніх досягнень в ідентифікації інфекційних збудників [27, 61, 62].

На практиці у 50,0–70,0 % хворих виявити збудник інфекції не вдається через відсутність можливості отримати матеріал з нижніх дихальних шляхів (у 20,0–30,0 % пацієнтів непродуктивний кашель), нечутливі діагностичні тести на відомі збудники, відсутність тестів на інші визнані збудники, забір матеріалу на тлі прийому антибактеріальних препаратів (АБП) [7, 10, 14, 20, 24–28].

НП може бути спричинена бактеріями, вірусами, грибами та паразитами [9–11]. У третини випадків знаходять полімікробні асоціації (бактеріальні, вірусні та вірусно-бактеріальні) [10, 12–17]. Етіологічна діагностика також може бути ускладнена тим, що деякі патогени виявляються і у здорових людей [9, 63].

Бактеріальні інфекції асоційовані з вищим рівнем смертності порівняно з іншими інфекціями. Найбільш значимим в глобальному плані серед бактеріальних збудників пневмонії є *S. pneumoniae*, який вдається виявити у 10,0–85,0 % хворих на НП. Пневмокок зумовлює половину смертності від пневмонії. Ризик летальних явищ при пневмонії, збільшується втричі, якщо інфекція обумовлена *S. pneumoniae*, та становить від 6,4 % до понад 40,0 %. Це пов'язано з тим фактом, що пневмококова пневмонія у 10–30 % випадків

супроводжується бактеріємією [1, 3, 8–10, 12, 16, 20, 22, 28, 32–34, 64–68].

На другому місці за частотою ідентифікації знаходиться *Haemophilus influenzae*, що виявляють в 12 % випадків [12, 64].

Рідше причиною пневмонії можуть бути: *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae* [22, 28]. Кожен з цих збудників вдається ідентифікувати у 2–5 % хворих на пневмонію, що потребують госпіталізації [10, 28]. Частота виявлення таких збудників, як *Streptococcus pyogenes*, *Chlamydomphila psittaci*, *Bordetella pertussis* не перевищує 2–3 %, а НП, зумовлена ендемічними мікроміцетами (*Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* та ін.), зустрічається надзвичайно рідко [16, 23]. Для деяких мікроорганізмів (*Streptococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis* та інші коагулазонегативні стафілококи, *Neisseria spp.*, *Enterococcus spp.*, *Candida spp.*) нехарактерний розвиток НП [16, 23, 69]. Останнім часом, у етіології НП зросло значення таких опортуністичних патогенів, як *Pneumocystis jirovecii*. Однак, враховуючи високий рівень носійства, проведення обстеження для виявлення цього доцільно тільки у осіб з груп ризику [23].

1.2.1. Особливості резистентності основних бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії

Феномен резистентності мікроорганізмів до антибіотиків – основна причина неефективного лікування хворих із НП. Виникнення стійкості і поширення її серед мікроорганізмів є природним процесом [24, 70–72].

Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) 27.02.17 р. було опубліковано список стійких до дії антибіотиків "пріоритетних патогенів", згідно з яким до категорії з середнім рівнем пріоритетності увійшли *Streptococcus pneumoniae*, нечутливі до пеніциліну, та *Haemophilus influenzae*, стійкі до ампіциліну [73].

Рівні резистентності варіюють залежно від географічних показників. Так, у країнах Європи в середньому близько 80% ізолятів *S. pneumoniae* резистентні до пеніцилінів (10 % штамів) та макролідів (15 % штамів) [3]. Рівні стійкості

пневмококу до пеніциліну варіюють від 0,1 % до 78,2 %, а до макролідів, від 2,5 до 72,0 %. Комбінована резистентність до пеніцилінів та макролідів була менш поширеною і зустрічалась у менш ніж 10 % ізолятів [74–80]. *H. influenzae* характеризується вищим рівнем чутливості до β -лактамних антибіотиків загалом. Рівень стійкості до ампіциліну становив від 0 % до 14,7 %, до макролідів – до 37,1 %. Загалом β -лактамази продукували лише 8,4 – 13,7 % ізолятів *H. influenzae*. Низька активність щодо досліджених штамів гемофільної палички відзначалася у ко-тримоксазолу (30,8 % стійких ізолятів) [80–84].

У країнах Близького Сходу спостерігається високий рівень резистентності *S. pneumoniae*, зокрема до оральних пеніцилінів він становить 39 – 57,1 %. Ізоляти *H. influenzae* чутливі до більшості антибіотиків, 3,6 % та 12,7 % мали стійкість до ампіциліну [85].

У країнах Латинської Америки близько двох третин ізолятів пневмококів мають резистентність до пероральних пеніцилінів (або низьких доз парентеральних) [86]. Рівень стійкості до цефаклору, цефіксиму, цефуроксиму та триметоприму / сульфаметоксаксазолу перевищував 20 %. Загалом в країнах Латинської Америки відмічався високий рівень β -лактамазопродукуючих *H. influenzae* – до 30,8 %, з поміж яких стійкість до ампіциліну відмічалась у понад 80 % ізолятів [86].

У США спостерігався високий рівень резистентності *S. pneumoniae* до еритроміцину (29,3 %) [87]. Стійкість до тетрацикліну становила 11,3 %, до ко-тримоксазолу, пеніциліну та цефотаксиму – 6,9 %, 2,4 % та 0,3 % відповідно [87].

За даними моніторингу резистентності клінічних штамів *S. pneumoniae* в Україні в 2011–2013 рр. [88] та 2014–2016 рр. [89] рівні стійкості пневмокока до пеніциліну, цефуроксиму та макролідів зросли в середньому на 5,0 % та не перевищують 17,0 % на даний час. Варто відмітити появу 3,0 % штамів збудника, резистентних до амоксициліну/клавуланату та 2,0 % – до цефтріаксону. Гемофільна паличка зберігає високу чутливість до всіх груп антибактеріальних препаратів. Отримані дані демонструють стабільно високий рівень стійкості до

ко-тримоксазолу (40 %) та значний ріст частоти нечутливих штамів до кларитроміцину (38,5 %) [88], [89].

Таким чином, рівні антибіотикорезистентності *S. pneumoniae* та *H. influenzae* характеризуються широкою територіальною варіабельністю та неухильним зростанням у глобальних масштабах. Це зумовлено рядом причин, серед яких – нераціональна антибіотикотерапія, поширення стійких мікроорганізмів у місцях ув'язнень і закладах охорони здоров'я; загальне старіння населення планети, що спричинило збільшення питомої ваги хворих із множинною патологією; маркетингова політика виробників та дистриб'юторів ліків тощо [24].

1.3. Роль вірусів у розвитку негоспітальної пневмонії

Вірусною етіологією зумовлено 10 – 50 % випадків НП у дорослих осіб [3, 18–20]. А з появою вакцин від пневмококу та гемофільної палички, відкриттям «нових» вірусів, частка пневмоній, спричинених вірусним агентом, поступово зростає [9, 11, 15, 32, 91–95]. Відомі збудники ГРВІ – це насамперед віруси грипу та парагрипу, адено- та респіраторно-синцитіальний вірус, пікорна-, корона-, рео-, ентеро- та герпесвіруси [53]. Найбільше значення серед них посідають вірус грипу, коронавірус та риновірус [10, 25, 96–99], які зумовлюють близько 1/3 від усіх випадків розвитку пневмонії у дорослих осіб [64].

ГРВІ зумовлюють як первинну вірусну так і вторинну бактеріальну пневмонію. Первинна вірусна пневмонія розвивається через 2–3 дні після появи симптомів як наслідок безпосереднього вірусного ураження легень [102, 103]. Ряд вірусів (бокавірус, метапневмовірус, коронавірус та ін.) можуть безпосередньо викликати первинну пневмонію без попередньої симптоматики. У деяких ситуаціях, коли збудниками є вірус Епштейн-Барр і цитомегаловірус, первинна пневмонія може розвиватися, як один із проявів генералізованої інфекції [102]. За рахунок погіршення мукоциліарного кліренсу та імунного бар'єру дихальних шляхів респіраторні віруси нерідко сприяють приєднанню

вторинної бактеріальної флори [9, 13, 104]. Наприклад, вірус грипу знижує кліренс *S. pneumoniae* та посилює адгезію *H. influenzae*, *S. aureus* та *S. pneumoniae* до епітеліальних клітин дихальних шляхів, а вірус RSV індукує приєднання *S. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* та *H. influenzae* [9, 13, 102]. RSV, риновірус та вірус грипу сприяють утворенню біоплівки пневмококів на слизових оболонках дихальних шляхів [104].

Діагностика ГРВІ ускладнена, оскільки більшість вірусів у 70 % випадків можуть контамінувати слизову оболонку дихальних шляхів людини, не викликаючи жодної симптоматики; 10 % серед позитивних зразків містять кілька вірусних збудників [105].

Грип тривалий час був єдиною ГРВІ, для якої розроблені методи специфічної профілактики та етіотропного лікування. Але не дивлячись на це, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), щороку під час спалахів епідемії грипу у світі хворіють 1 млрд осіб із яких до 650 тис осіб помирає [101].

За даними Центру грипу та ГРВІ в Україні зафіксовано широке географічне розповсюдження грипу. Щороку хворіє близько 18 % населення України [100, 101].

Отже, поширені респіраторні віруси зумовлюють величезне навантаження на системи охорони здоров'я та економічні втрати через прямі медичні витрати та непрямі втрати продуктивності. Крім того такі респіраторні віруси, як пташиний грип H5N1 та пандемія (H1N1) 2009 року, епідемії SARS у 2003, MERS в 2012 та пандемія COVID-19, становлять загрозу глобальній безпеці здоров'я [18].

1.3.1. Коронавіруси людини

Коронавіруси (CoVs) посідають значиме місце серед вірусних збудників респіраторних інфекцій. Вважається, що близько 70 % популяції інфіковані в дитинстві, з періодичним реінфікуванням протягом життя [106]. В Україні до

2019 р. CoVs щороку виявляли у 11,0 % дорослих та 28,0 % дітей хворих на інфекції нижніх дихальних шляхів [91, 102].

Коронавіруси відомі людству з 1930-х років, коли було відкрито вірус інфекційного бронхіту птахів. У середині 1960-х вперше ідентифіковано коронавіруси, здатні інфікувати людей. Як самостійна родина Coronaviridae була сформована у 1968 р. І на часі вона поєднує в собі близько 50 видів [91, 92, 106–115].

За структурою всі коронавіруси – це РНК-вмісні складні, або оболонкові, віруси округлої або плейоморфної форми, розміром від 80 до 120 нм, геном яких представлений одноланцюговою РНК з позитивною полярністю (РНК+). Розмір геному варіює від 26 to 32 kb, що робить CoVs найбільшими представниками РНК-вмісних вірусів [113, 116]. Геном коронавірусів кодує синтез 4 або 5 основних структурних протеїнів: S (spike), N (nucleocapsid), M (membrane), E (envelope) та HE (hemagglutinin-esterase glycoprotein). HCoV-229E, HCoV-NL63, SARS-CoV, SARS-CoV-2 та MERS-CoV мають чотири структурних протеїни S, M, N та E, тоді як HCoV-OC43 та HCoV-NKU1 також містять п'ятий – HE [91, 109, 116–120].

N-білок разом з РНК формують нуклеокапсид, інші структурні протеїни входять до складу вірусної оболонки. S-білок зумовлює характерну форму вірусу, утворюючи грушеподібні виступи (пепломери). S-білок відповідає за зв'язування вірусу з рецепторами клітин-мішеней та його проникнення в клітину. Подібні функції виконує і HE-білок. Невеликий інтегральний протеїн E може створювати та модифікувати іонні канали, а також бере участь у циклі реплікації вірусу. M-протеїн – «організатор» збирання вірусу, взаємодіє з усіма структурними білками CoV та є індуктором апоптозу клітин [91, 116–121].

Структура коронавірусів обумовлює їх здатність протистояти впливу різних фізико-хімічних чинників та навколишнього середовища. Коронавіруси зберігаються у складі аерозолі впродовж 8–10 год, у питній воді – до 9 діб, у приміщенні при температурі 0–18°C – від 4 до 11 діб. Такі органічні розчинники,

як-от етанол 62–71 %, перекис водню 0,5 % або гіпохлорит натрію 0,1 % здатні інактивувати CoV протягом 1 хвилини. Інші біоцидні засоби, такі як бензалконію хлорид 0,05–0,2 % або хлоргексидин диглюконат 0,02 %, є менш ефективними [91, 122].

Коронавіруси людини (HCoV) за умовно поділяються на високопатогенні (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2) та низькопатогенні (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-NKUI). Останні ще називають звичайними, ендемічними або сезонними CoVs людини, оскільки вони постійно циркулюють в природі [106, 114, 115, 123–131].

Основні шляхи передачі коронавірусної інфекції – повітряно-крапельний та контактний. Проте можливі і інші, зокрема фекально-оральний і повітряно-пиловий. Характерні для ГРВІ катаральні прояви сприяють поширенню вірусу в навколишньому середовищі. Джерело збудника інфекції – хворі як з клінічно вираженою, так і зі стертою формою захворювання [91, 132].

Після перенесеного захворювання формується специфічний клітинний та гуморальний імунітет. При цьому механізми захисту розвиваються проти структурних протеїнів CoVs [115, 133–135].

Основними клітинами-мішенями коронавірусів виступають епітеліальні клітини та макрофаги. Різні види CoVs комплементарні різним видам рецепторів [92, 123, 136, 137]. Відомо, що у певних етапах реплікації вірусу беруть участь протеази людини. Клітини, уражені вірусами, здатні запускати процеси апоптозу та аутофагоцитозу. [106, 138]. Окрім прямої цитопатичної дії, коронавіруси беруть участь в ряді біохімічних реакцій шляхом блокування відповідних рецепторів. [123, 139–142].

При ГРВІ коронавірусної етіології інкубаційний період складає 2–5 днів. Тривалість хвороби – 2–18 днів (за нетяжкого перебігу). Захворювання починається гостро і характеризується неспецифічними клінічними проявами. HCoV-OC43 та HCoV-229E зазвичай вражають верхні дихальні шляхи (ВДШ), тоді як новітні штами (HCoV-NKUI та HCoV-NL63) інфікують як верхні, так і

нижні дихальні шляхи, що призводить до більш важкого перебігу захворювання. У ряді випадків коронавірусна інфекція супроводжується розвитком пневмонії, ГРДС, менінгіту та енцефаломієліту (HKU1, OC43, SARS-CoV, SARS-CoV-2). У тяжких пацієнтів нерідко зустрічаються васкуліти, тромбози, ниркова недостатність, септичний шок. Власне пневмонія та ГРДС, які супроводжуються дихальною недостатністю, можуть стати причиною декомпенсації роботи серця, порушення свідомості та розвитку енцефалопатії. Також коронавірусна інфекція може проявлятися в асоціації з іншими захворюваннями вірусної та бактеріальної етіології [91, 108, 114, 115, 143–146].

1.4. Сучасні методи етіологічної діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії

Ідентифікація збудника НП дає змогу своєчасно застосовувати цілеспрямовану етіотропну терапію, яка мінімізує побічні ефекти, скорочує тривалість лікування, зменшує ризики розвитку ускладнень та зменшує вартість лікування [22, 23]. Також дослідження, спрямовані на виявлення ряду потенційних збудників НП, можуть мати важливе епідеміологічне значення з точки зору профілактики епідемій (SARS, COVID-19, вірус грипу, *Legionella spp.*) і виявлення фактів біотероризму (збудники чуми, туляремії, сибірської виразки) [23]. Характеристика і докладний аналіз респіраторних вірусів особливо важливі для цілей спостереження за здоров'ям населення (для моніторингу антигенного дрейфу, вибору та оцінки ефективності противірусних вакцин і появи нових штамів вірусів) [19].

При невдачі виявити збудник НП, як правило, призначається емпірична антибіотикотерапія. У такому випадку вибір препаратів базується на регіональних даних щодо поширеності бактеріальних збудників та їх резистентності до антимікробних препаратів [16, 22]. Для адекватного формування рекомендацій з емпіричного вибору препаратів у різних категорій пацієнтів і їх своєчасної

корекції теж необхідний регулярний моніторинг структури збудників та їх чутливості до антибактеріальних препаратів [16, 23].

Існує широкий вибір методів етіологічної діагностики, які можуть бути спрямовані на виявлення самого збудника інфекційного захворювання (прямі методи) та діагностичних маркерів інфікування цим збудником (непрямі методи). Пріоритетом в етіологічній діагностиці інфекційних захворювань людини є прямі методи. Саме до них відносяться: мікроскопія (в тому числі електронна мікроскопія), бактеріологічне дослідження з виділенням збудника, вірусологічне дослідження, методи ампліфікації нуклеїнових кислот, включаючи полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) тощо. Прямі методи формують підґрунтя для постановки остаточного діагнозу інфекційного захворювання. Діагностичними маркерами, як правило, виступають специфічні антигени збудника (АГ), фрагменти геномних РНК та ДНК, специфічні антитіла (АТ), що утворюються у відповідь на інфікування організму людини тим чи іншим збудником захворювання [149, 150].

Не дивлячись на сучасні наукові досягнення та відкриття, на жаль, ще не розроблено “золотого стандарту” з діагностики пневмонії. У багатьох випадках етіологічна діагностика утруднена. Перепонами можуть бути наступні особливості, які потрібно враховувати при оцінці результатів обстеження [23]:

- збудниками можуть бути мікроорганізми з різними біологічними властивостями (віруси, бактерії, гриби, найпростіші), що визначає широкий перелік методів дослідження;
- матеріал, який використовується для мікробіологічної діагностики (респіраторні зразки), найчастіше контаміновані мікрофлорою верхніх дихальних шляхів і порожнини рота, що ускладнює інтерпретацію отриманих даних;
- мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* і *S. aureus*, будучи нечастими збудниками ГНІНДШ, можуть колонізувати мокроту;
- може мати місце коінфекція.

Важливу роль також відіграють такі фактори, як якість взяття матеріалу, його збереження і транспортування, кваліфікація працівників лабораторії, наявність відповідних поживних середовищ та реактивів, тощо [24].

Тому є актуальним пошук нових підходів діагностики та вдосконалення існуючих.

На сьогодні основою діагностики бактеріальних, вірусних та грибкових інфекцій залишається мікробіологічний метод [9, 151].

Вагомою перевагою культуральних досліджень є те, що під час їх проведення виявляється лише живий збудник інфекції. Зазначений метод дозволяє оцінити фенотипову резистентність до широкого спектру антимікробних препаратів. З цією метою в мікробіологічних лабораторіях застосовуються диско-дифузійний метод та його модифікації (метод комбінованих дисків, метод подвійних дисків), а також Е-тести та методи серійних розведень (в рідкому поживному середовищі або на агарі). Диско-дифузійний метод одним з перших був винайдений і впроваджений в практику. На сьогодні це найпоширеніший спосіб. Він є найбільш універсальним і не потребує додаткового обладнання. Іншим дифузійним методом виявлення антибіотикорезистентності (АБР) є метод із використанням Е-тестів. Відмінність від попереднього способу полягає в тому, що замість дисків з антибіотиком, використовують смужки, які містять градієнт концентрації антибіотика від максимальної до мінімальної. Це дає змогу визначити мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК), що є «золотим» стандартом оцінки антибіотикорезистентності (ВООЗ) [152]. Обидва методи прості у використанні, і доступні для лабораторій будь-якого рівня. Але з економічних міркувань в рутинній роботі перевага надається диско-дифузійному методу. З метою оцінки МІК антибактеріальних препаратів у лабораторній практиці також використовується методи серійних розведень. Вони характеризуються високою точністю та інформативністю, але пов'язані зі значними методичними труднощами: необхідність використання субстанцій антибіотиків з відомим

рівнем активності, суворого дотримання режимів зберігання, ретельного виконання контролю якості поживних середовищ, трудомісткості приготування робочих розчинів антибіотиків [153]. На противагу цим дослідженням, автоматичний метод потребує проведення менше маніпуляцій, швидше видає результат, є стандартизованим. Проте його використання обмежене через високу вартість та необхідність постійного технічного обслуговування обладнання, а також недостатню візуалізацію синергії та антагонізмів [153].

Відомо, що мікробіологічна діагностика має ряд обмежень. Основними недоліками культуральної діагностики є те, що приблизно в половині випадків НП не вдається виявити етіологічний чинник, крім того не можна виключити імовірність отримати хибнонегативний результат на тлі прийому антимікробних препаратів [1, 24, 64]. Робота з вірусними культурами у свою чергу характеризується високим рівнем біонебезпеки [95]. Тому вірусологічні дослідження (зараження культур клітин або курячих ембріонів з метою ізоляції та ідентифікації вірусу), а також роботи, пов'язані з утворенням аерозолію вірусів з пандемічним потенціалом, виконуються лише в умовах лабораторії з третім або четвертим рівнем біобезпеки (BSL-3 або BSL-4) [154]. При виявленні антибіотикорезистентності, для культурального методу характерні суб'єктивність оцінки результату та низький рівень стандартизації, також цей метод не дає інформацію про генетичні механізми, що лежать в основі антибіотикорезистентності мікроорганізмів [151, 152]. Крім того мікробіологічний метод вимагає значної затрати часу для його проведення, оскільки стандартна культуральна діагностика триває від 3–4 діб до кількох тижнів [152]. Новітні розробки (хромогенні поживні середовища та набори реагентів, набори дисків для прискореної ідентифікації АБР) дозволяють скоротити час проведення дослідження до 24 год, однак це також не дає змоги застосовувати мікробіологічну діагностику на долікарняному етапі дообстеження хворого [12, 24, 27, 61].

Останнім часом набувають популярності молекулярні методи етіологічної

діагностики. Вони характеризуються більшою чутливістю за фенотипові методи та, головне, дозволяють набагато швидше отримати результат [152]. Згідно з ВООЗ, тести молекулярної діагностики поділяються на чотири категорії в залежності від механізму, що покладений в їх основу: імуноаналіз, методи гібридизації, методи ампліфікації та секвенування. Принцип імуноаналізу базується на реакціях зв'язування антитіл з цільовими антигенами; гібридизації – гібридизований зонд (нуклеїнова кислота) з'єднується з комплементарною генною послідовністю; в основі реакцій ампліфікації лежить збільшення кількості копій цільового гену, що дозволяє його ідентифікацію; метод секвенування дає змогу проводити аналіз цілого геному [152].

Варті уваги імунологічні методи діагностики, такі як ІФА, РІА, ІБ, пряма й непряма імунофлуоресценція та ін. За допомогою даних тестів можна виявити специфічні антитіла (непрямі методи) або антигени (прямі методи). Перевагами даних методів є швидкість (менше 4 год) та простота проведення, низька вартість досліджень, високі чутливість та специфічність, можливість визначення кількох маркерів резистентності одночасно, можливість стандартизації та автоматизації [24, 152, 155]. До недоліків відноситься те, що виявити можна лише відомі збудники та їх генні мутації, недостатньо доказів економічної ефективності використання імунологічних тестів в клінічній практиці, збереження позитивного результату аналізу після вилікування, потреба у використанні спеціального обладнання [24, 95, 152, 155, 156].

Одним із опосередкованих способів визначення етіології інфекційного процесу є серологічний метод, заснований на визначенні специфічних антитіл у парних сироватках. Даний спосіб діагностики не допомагає в початковій оцінці етіологічного фактора НП і зазвичай не рекомендуються для рутинного використання, але може мати велике значення для ретроспективного аналізу та епідеміологічних досліджень [12, 157]. Серологічні тести зазвичай проводяться з метою виявлення атипичних збудників і включають оцінку рівня антитіл IgG у парних сироватках (з інтервалом в декілька тижнів) [157].

На використанні імунологічних реакцій базуються і прості швидкі тести (ШТ). Практичне впровадження перших ШТ показало, що вони відповідають сучасній уяві про ідеальний діагностичний засіб в галузі лабораторної медицини, який має бути високочутливим, високоспецифічним, швидким, простим та дешевим [149]. Беззаперечною цінністю експрес-тестів є те, що прийом антимікробних препаратів не впливає на результат [1, 12, 158]. Впровадження ШТ підтримують ВООЗ і Глобальний фонд, вони рекомендуються для застосування в міжнародних програмах по контролю за хворобами, що передаються статевим шляхом, в програмах, пов'язаних із ВІЛ-інфекцією тощо [159]. У пульмонологічній практиці використовують швидкі тести на основі імунохроматографічного аналізу (ІХА) для виявлення вірусу грипу А та В, коронавірусу, респіраторно-синцитіального та аденовірусу, а також діагностикуми для виявлення антигенів пневмокока і легіонели в сечі [95, 160].

На сьогодні застосування швидких тестів для виявлення антигенів *L. pneumophila* у сечі хворих включені до міжнародних настанов з питань лікування НП – для пацієнтів із нетяжким перебігом за наявності епідеміологічних показань, а також в усіх госпіталізованих хворих поряд із іншими методами обстеження [1, 12, 15, 16]. Основним недоліком експрес-тесту на *L. pneumophila* є те, що він спрямований на визначення *L. pneumophila* лише першого серотипу [16, 23, 161–163].

Швидкий тест для виявлення *S. pneumoniae* показаний особам з пневмонією без виділення мокротиння та пацієнтам з позалегеневою інфекцією (менінгіт, сепсис тощо) [1, 164]. Єдиним обмеженням є те, що виробником не було оцінено вплив вакцинації від пневмококу на результат тесту. Вважається, що через 48 год після вакцинації вже не буде псевдопозитивного результату, проте не рекомендується проводити тестування в перші 5 днів після вакцинації [161].

Пневмококовий і легіонельозний експрес-тести залишаються позитивними протягом декількох тижнів після перенесеного епізоду НП, тому вони мають

діагностичну цінність тільки при наявності клінічних проявів захворювання [16, 23, 69, 161].

Натомість генетичний підхід дозволяє виявляти саме збудники інфекцій, зокрема і на ранній фазі захворювання, коли серологічні та імунологічні методи неефективні [95, 165].

На даний час тести ампліфікації нуклеїнових кислот (NAAT – nucleic acid amplification test) – єдиний доступний метод для більшості нових респіраторних вірусів, оскільки вони або не ростуть, або ростуть погано в культурі клітин, і для яких не було комерціалізовано ефективних методів виявлення антигенів [150]. Методи ампліфікації нуклеїнових кислот характеризуються більшим рівнем чутливості, ніж культуральні [12, 95, 150]. Вони повністю автоматизовані, реагенти можна зберігати при кімнатній температурі, іноді апарати оснащені змінними батареями (забезпечує мобільність) [152]. Недоліками NAAT є: збільшення вартості реагентів, більший час роботи, ніж для швидких тестів, необхідність знати принаймні частину цільового геному для створення відповідних праймерів і зондів [150, 152]. До того ж велика кількість респіраторних вірусів є РНК-вірусами, які більше схильні до генетичних мутацій, що може впливати на чутливість та надійність молекулярного методу [150].

Однією з NAAT є полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР), яка характеризується швидкістю, високою чутливістю та специфічністю (95–100 %) [9, 95]. Методика проведення є складною, коштовною й поки ще недостатньо уніфікована для рутинного застосування [24]. За допомогою ПЛР-діагностики можливе виявлення геному збудника, починаючи з 3–6 діб від моменту інфікування, а також в період так званого «серологічного вікна». Застосування методу ПЛР є пріоритетним в той період, коли сероконверсія ще не відбулась. Перевагами методу є не тільки високі показники чутливості та специфічності, але й відтворюваність, експресність виконання, широкий спектр і малий об'єм досліджуваного матеріалу, автоматизація етапів проведення ПЛР та обліку

результатів з можливістю їх відеодокументування [166]. Обмеження методу ПЛР полягають в тому, що, по-перше, ампліфікується ДНК як живих, так і неживих мікроорганізмів. Це обумовлює вимоги до інтерпретації і термінів проведення досліджень при контролі ефективності лікування. По-друге, теоретично існує можливість перехресних реакцій (наприклад, у результаті неадекватного підбору праймерів), що може призвести до появи хибнопозитивних результатів [167].

До модифікацій полімеразної ланцюгової реакції належать ПЛР із зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР), мультиплексна ПЛР, а також ПЛР у реальному часі. ЗТ-ПЛР дає змогу виявляти РНК вірусів. Це швидкий метод аналізу (достатньо 1–2 год), хоча чутливість для різних штамів може відрізнятися і лімітована стадією зворотної транскрипції [165]. Мультиплексна ПЛР дозволяє протягом години виявляти генетичний матеріал більш ніж 20 збудників одночасно (атипові бактерії, грам-позитивні та грам-негативні бактерії, віруси та маркери резистентності), що є економічно вигідно у порівнянні з моноплексною ПЛР [150, 165]. ПЛР у режимі реального часу – це один із сучасних варіантів методу, що застосовується для кількісного визначення вірусних нуклеїнових кислот в досліджуваному зразку. Результат реакції можна реєструвати на екрані монітору комп'ютера безпосередньо в процесі ПЛР-ампліфікації [165–168]. Переваги ПЛР у реальному часі наступні [24]:

- Інформацію щодо складу проби й плину реакції можна отримувати, не відкриваючи пробірку. Це прискорює отримання результату, знижує небезпеку контамінації.

- Наявність специфічного зонду, який є комплементарним внутрішній ділянці фрагменту та додатково перевіряє специфічність отриманого фрагменту, знижує ризик отримання псевдопозитивних результатів.

- Реєстрація інтенсивності флюоресценції дозволяє визначити кількість інфекційного агенту у пробі вихідного матеріалу.

Розроблено протоколи ідентифікації *M. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *B. pertussis* та цілого ряду респіраторних вірусів [12, 24, 99, 169,

170]. Використання ПЛР для діагностики позагоспітальної пневмонії, зумовленої атипovими збудниками, є доцільним через складність і тривалість їх виділення у культурі [24, 169, 170]. На відміну від імунологічних тестів, ПЛР не дає хибнонегативних результатів на ранніх стадіях захворювання. Чутливість та специфічність методу для виділення атипovих збудників становить 97.4 % та 98.6 % відповідно [99]. На даний час ПЛР в реальному часі – найбільш чутливий і специфічний метод тестування на грип з отриманням результатів впродовж 4–6 год після подачі зразка. ЗТ-ПЛР показує більш високу чутливість, ніж вірусні культури, може бути використаний в якості підтверджуючого тесту і корисний для швидкого визначення типів і підтипів грипу [19, 99, 171].

Мультиплексна ПЛР у реальному часі демонструє високу чутливість і при визначенні *S. pneumoniae* та *H. influenzae* у бронхо-альвеолярних змивах хворих на пневмонію [24, 172]. Проблема з інтерпретацією результатів на фоні стрептококового носійства може частково бути вирішена шляхом кількісного визначення числа копій ДНК в препараті (кількісна ПЛР у реальному часі) [24].

Але не дивлячись на всі переваги методу, місце ПЛР в етіологічній діагностиці НІНДШ остаточно не визначено, оскільки доступні тест-системи потребують валідації, а отримані результати не завжди однозначно узгоджуються з клінічним перебігом захворювання [24].

Відносно новим методом діагностики із використанням техніки ампліфікації нуклеїнових кислот є метод ізотермальної петльової ампліфікації (LAMP – loop-mediated isothermal amplification), винайдений у 2000 р. Особливість методу полягає в тому, що він не потребує циклічних змін температурного режиму. Це дає LAMP ряд переваг у порівнянні з ПЛР – спрощення процедури проведення, зменшення часу реакції (від 10 хв), а також відсутність потреби у вартісному ампліфікаторі (можна використовувати термостат або водяну баню) [173]. Як і ПЛР, LAMP має такі модифікації, як LAMP зі зворотною транскрипцією, мультиплексна LAMP, LAMP у реальному часі.

Розроблені протоколи ідентифікації багатьох респіраторних патогенів за допомогою LAMP: бактеріальних збудників (*Mycobacterium tuberculosis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, *Bordetella pertussis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *M. pneumoniae*, *L. pneumophila*), вірусів (аденовірус, цитомегаловірус, вірус грипу, цитомегаловірус, *SARS-CoV*, *MERS-CoV*), *Candida albicans* та *Pneumocystis jirovecii*, а також маркери резистентності [174].

Разом з тим, LAMP поступається ПЛР в тому, що кінцевий продукт реакції представляє собою великий неуніверсальний фрагмент ДНК. На основі LAMP не можуть базуватись інші методи діагностики. Також непросто підібрати праймери для забезпечення високого рівня специфічності та чутливості тесту. Вважається, що на даний час мультиплексна LAMP менш ефективна за ПЛР [174].

Неампліфікаційні методи з використанням зондів базуються на реакціях гібридизації [165]. До них відносять реакцію флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH – fluorescent in situ hybridization), тести молекулярної гібридизації з типоспецифічними зондами (LPAs) та метод з використанням мікрочипів (arrays) [152]. До переваг вказаних методів, окрім високої чутливості та специфічності, належать швидкість виконання та можливість виявляти кілька генів одночасно [152, 165, 175]. Проте дані методики вимагають присутності не менше 10^6 молекул збудника в досліджуваному зразку [165]. Проблематичним є те, що для зчитування результату потрібне дороговартісне обладнання (лазер, флуоресцентний лазерний мікроскоп тощо), а іноді може виникнути необхідність статистичної обробки результатів (при аналізі кількох генів). ВООЗ рекомендує LPAs лише для діагностики туберкульозу. Цей метод дозволяє виявити стійкість *M. tuberculosis* до ізоніазиду, рифампіцину, фторхінолонів та ін'єкційних препаратів [152].

Ще одним новітнім генетичним методом діагностики є секвенування, що дає можливість отримувати величезний об'єм даних в ході одного експерименту і дозволяє виявляти чужорідні нуклеїнові кислоти в крові без необхідності використання трудомісткого і далеко не завжди успішного культивування [152,

165, 176]. Особливу цінність технології секвенування представляють для діагностики інфекційних вірусних захворювань, так як порівняно з традиційними методами дозволяють скоротити час виявлення патогена і одночасно дають інформацію про первинну структуру його генома. На підставі аналізу цієї структури можливо передбачити стійкість нового штаму до вживаних лікарських препаратів і провести оцінку результативності наявних серологічних тестів [165]. Як і будь-яка нова технологія на етапі свого становлення, методи секвенування потребують подальшого вдосконалення [165]. Однією з найважливіших проблем є забруднення зразків нецільовими нуклеїновими кислотами. Перш за все це відноситься до ДНК господаря, що потрапляє в кров в результаті розпаду лейкоцитів або їх перманентної присутності в плазмі крові (так звана циркулююча позаклітинна ДНК) [165]. Обмеженнями у використанні цього методу є дороговартісне обладнання, що потребує регулярного обслуговування кваліфікованим персоналом; інтерпретація даних та контроль якості вимагають обширної підготовки з біоінформатики; великий об'єм отриманих даних буває нелегко обробити; для його аналізу потрібен доступ до Інтернету; недешеві витрати на зберігання даних [152].

Великі перспективи для ідентифікації патогенів, виділених в чистій культурі, мають спектральні методи вивчення цілих мікроорганізмів і їх основних компонентів [151, 177]. Розроблена проста і точна технологія мас-спектрометричної ідентифікації будь-яких видів мікроорганізмів (MALDI-TOF MS), яка дозволяє отримати результат протягом кількох хвилин [9, 151]. Метод повністю автоматизований і дозволяє проводити прямий мас-спектрометричний аналіз білкової фракції мікробної клітини (пряме білкове профілювання), без фракціонування та очищення окремих білків. Ідентифікація мікроорганізму здійснюється за його унікальним молекулярним складом, порівнюючи отриманий результат з існуючими базами даних [9, 151, 177]. Особливостями і перевагами такого підходу є висока чутливість, швидкість аналізу і низька вартість використовуваних реактивів і матеріалів, скорочення часу ідентифікації

після виявлення росту будь-якого мікроорганізму на будь-якому середовищі від 1–2 діб при традиційних методах, до декількох хвилин для окремої проби («від колонії до видової ідентифікації») і до 1,5 годин для одночасного аналізу 96 проб на панелі [151, 177]. Для дослідження потрібна одинична колонія або центрифугат рідкої культури. Для аналізу досить 10000 клітин [151]. У перспективі планується використання мас-спектрометрії не лише для ідентифікації збудника інфекції, але й для визначення його резистентності. Оскільки деякі фактори резистентності в своїй основі мають білкову природу (наприклад, β -лактамази), вони можуть бути визначені MALDI-TOF MS [177]. Іншою стратегією виявлення антимікробної стійкості є короткотривале (до 3 год) вирощування мікроорганізму на середовищі з присутнім АБП та амінокислотами, міченими ізотопом. При наявності резистентності мікроорганізм буде зростати, захоплюючи мічені амінокислоти та нарощуючи білкову масу [177], що може бути визначено при мас-спектрометрії. Третій спосіб визначення резистентності вже увійшов до керівництва EUCAST з метою оцінки наявності гідролізу карбапенемів – принцип полягає у виявленні зниження чи відсутності піків, характерних для карбапенемів, у мас-спектрі бактеріальної суспензії, попередньо інкубованої в присутності карбапенема, за допомогою MALDI-TOF [178].

Аналізуючи сучасні дані, можна дійти висновку, що у повсякденній клінічній практиці основним залишається мікробіологічний підхід із виділенням культур мікроорганізмів, оскільки лише він дозволяє не тільки встановити етіологію інфекції, але й визначити їх профіль резистентності. До того ж культуральний метод діагностики незамінний при оцінці життєздатності респіраторних вірусів. Разом з тим, культуральне дослідження атипових бактерій та ряду нових вірусів досить тривале та ускладнене. Встановлено, що молекулярно-біологічні методи характеризуються більшою чутливістю та специфічністю в порівнянні з мікробіологічними методами діагностики. Також їх беззаперечною перевагою є швидкість проведення аналізу, що вкрай важливо

при призначенні цілеспрямованої антимікробної терапії при НП, коли результат лікування залежить від термінів призначення та вибору АБП.

1.5. Раціональна хіміотерапія вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії

Раціональна хіміотерапія разом з розробкою нових протимікробних препаратів є основою боротьби з лікарською стійкістю мікроорганізмів [24, 70–72]. Для проведення емпіричної терапії слід керуватись наступними принципами [1, 24, 179, 180]:

- антимікробна терапія повинна бути цілеспрямована – проводитись тільки в тих випадках, коли є докази або серйозні підозри наявності бактеріальної інфекції з урахуванням чутливості можливих збудників до антибактеріальних препаратів та рівня їх резистентності;
- антимікробна терапія повинна забезпечити максимально можливе зниження мікробного навантаження або ерадикацію збудника. З цією метою необхідно використовувати найбільш ефективні препарати по відношенню до можливих збудників інфекційного захворювання з оптимальними фармакокінетичними та фармакодинамічними властивостями – можливістю створення належних концентрацій препарату в вогнищі ураження за рахунок призначення препарату в оптимальній разовій та добовій дозі, відповідного шляху введення та загальної тривалості антибактеріальної терапії;
- відповідна терапія повинна бути максимально безпечною – антимікробний препарат повинен мати максимальний профіль безпеки з урахуванням супутньої патології та віку хворого;
- вибір препарату з максимальною ефективністю та мінімальною токсичністю повинен поєднуватись з найменшою вартістю лікування;
- антимікробна терапія має бути зручною у застосуванні, що сприяє дотриманню хворим відповідного режиму лікування (комплаєнс).

Сучасні принципи антимікробної хіміотерапії НП детально висвітлені в міжнародних керівництвах щодо лікування хворих на НП, а саме Американським товариством інфекційних хвороб / Американським торакальним товариством в 2019 р. [15]; Британським торакальним товариством в 2009 р. [181] (на даний момент переглядається у зв'язку з поширенням COVID-19); Російським респіраторним товариством і Міжрегіональною асоціацією з клінічної мікробіології та антимікробної хіміотерапії в 2018 р. [16]; Європейським респіраторним товариством в 2011 р. [12]. В Україні лікування НП регламентовано Протоколом надання медичної допомоги хворим на негоспітальну та нозокоміальну (госпітальну) пневмонію у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія відповідно до Наказу МОЗ України від 19.03.2007 р. № 128. Також у 2019 р. було оновлено клінічні настанови, засновані на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика» [1].

1.5.1. Антибактеріальна хіміотерапія пацієнтів із негоспітальною пневмонією

Діагноз пневмонії є абсолютним показанням до призначення антибіотиків [1, 12]. Розпочати антибактеріальну терапію потрібно одразу після встановлення діагнозу, адже ефективність лікування хворих на НП залежить від своєчасності призначення адекватної антибіотикотерапії [1, 16]. Тому, будь-яка затримка із початком введення антибіотиків є неприпустимою. Не можна зволікати з призначенням антибіотиків хворим при тяжкому перебігу захворювання, очікуючи на результати культурологічного аналізу мокротиння [12, 24, 181]. Успіх лікування залежатиме від вибору антимікробних препаратів. Для цього потрібно враховувати спектр можливих збудників НП в залежності від ступеня тяжкості захворювання і наявності супутньої патології, регіональний і місцевий профіль антибіотикорезистентності патогенів, а також індивідуальні особливості пацієнта щодо переносимості/токсичності антибіотиків [15, 16].

Оптимальним для лікування хворих з НП повинен бути антибіотик, активний по відношенню до трьох основних збудників (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*), а також, по можливості, до атипових мікроорганізмів; з низьким рівнем набутої резистентності; ефективний та безпечний з точки зору принципів доказової медицини [15, 16, 24]. Таким вимогам відповідають найбільшою мірою препарати трьох класів – бета-лактами, нові макроліди та респіраторні фторхінолони [1, 15]. Рациональне застосування даних груп антибіотиків дозволяє досягти позитивних результатів лікування в більшості випадків та попередити розвиток резистентності збудників до антибактеріальних препаратів [182].

Варто зазначити, що, незважаючи на емпіричний вибір АБП для стартової терапії, у госпіталізованих пацієнтів, особливо при тяжкому перебігу НП, максимальні зусилля мають бути спрямовані на встановлення етіології НП з подальшою деескалацією АБТ і призначенням препаратів, найбільш активних щодо виявленого збудника [16]. У випадках НП із встановленою етіологією рекомендації призначення антибактеріальної терапії більш чіткі. Для лікування хворих на пневмококову НП препаратами вибору є β -лактами – амінопеніциліни (амоксицилін – перорально, ампіцилін – парентерально), зокрема інгібітор-захищені (амоксицилін/клавуланова кислота та ін.) і цефалоспорини II–III покоління (цефуроксиму аксетил, цефотаксим, цефтріаксон). При наявності алергії до β -лактамів альтернативними препаратами є макролідні антибіотики. Високою ефективністю (зокрема при НП, що викликана пеніцилінорезистентним пневмококом) характеризуються «респіраторні» фторхінолони (левофлоксацин, моксифлоксацин, геміфлоксацин), ванкоміцин та лінезолід. Аміноглікозиди (гентаміцин та ін.) клінічнозначущої активності по відношенню до *S. pneumoniae* не мають [1, 15, 16, 24].

Для лікування хворих на НП, що викликана *H. influenzae*, препаратами вибору є амінопеніциліни, амоксицилін/клавуланова кислота, цефалоспорини II–III покоління та фторхінолони II-IV покоління (ципрофлоксацин, офлоксацин,

левофлоксацин, моксифлоксацин, геміфлоксацин) [1, 24].

Щодо «атипових» збудників (таких як *M. pneumoniae* і *C. pneumoniae*) найбільшу природну активність мають макроліди, тетрацикліни (доксициклін) та «респіраторні» фторхінолони, які є препаратами вибору при НП мікоплазменої або хламідійної етіології [1, 12, 24]. Дані про наявність набутої резистентності у цих збудників до макролідів, тетрациклінів та фторхінолонів обмежені. При НП легіонельозної етіології препаратами вибору є макроліди (еритроміцин, кларитроміцин, азитроміцин). Високу ефективність також мають фторхінолони (левофлоксацин). Як альтернативний препарат може бути призначений доксициклін [1, 24].

У випадку НП, зумовленої метицилінчутливим стафілококом, препаратом вибору є оксацилін, а альтернативою можуть бути амоксицилін/клавуланова кислота, цефалоспорин I покоління (цефазолін), лінкозамід [1, 24]. У разі виявлення метицилінрезистентних штамів стафілокока рекомендують використання ванкоміцину, цефтароліну або лінезоліду [1, 24]. Активність проти *P. aeruginosa* мають піперацилін-тазобактам, цефепім, цефтазидим, азтреонам, меропенем, іміпенем [15]. Високу природну активність щодо представників родини *Enterobacteriaceae* мають амоксицилін/клавуланат, цефалоспорини III–IV покоління, карбапенеми, фторхінолони [1, 24].

1.5.2. Протівірусна хіміотерапія пацієнтів із негоспітальною пневмонією

Різноманітний спектр дії вірусів на організм людини, широке розповсюдження цих інфекцій, тяжкий перебіг та тяжкі ускладнення обумовлюють актуальність розробки засобів боротьби з ними, одним з яких є хіміотерапія, тобто застосування препаратів хімічного чи природного походження, здатних вибірково пригнічувати репродукцію вірусів в клітині макроорганізму [183].

Специфічна етіотропна терапія негоспітальної пневмонії, спричиненої багатьма респіраторними вірусами, поки що відсутня. Проте при деяких вірусних

інфекціях вона існує і досить непогано зарекомендувала себе в клінічній практиці. При тяжкому перебігу інфекції, спричиненої респіраторно-синцитіальним вірусом, можна призначати рибавірин. У лікуванні хворих з ураженням легень, спричиненим вірусом вітряної віспи, використовується ацикловір, а при ураженні легень, викликаному цитомегаловірусом, – ганцикловір, летенівір, валганцикловір. Перспективним лікуванням для пацієнтів з аденовірусною пневмонією в майбутньому може стати цидофовір [4, 184]. А для лікування хворих на коронавірусну інфекцію 22 жовтня 2020 р. FDA схвалило застосування ремдесивіру [4, 182–186]. Варто наголосити, що всі противірусні препарати і особливо рибавірин, ремдесивір, цидофовір та ганцикловір, здатні викликати досить серйозні побічні реакції, можливість яких треба враховувати при використанні. Наприклад, застосування рибавірину в аерозольній формі може становити небезпеку для здоров'я медичних працівників, також складність способу доставки речовини в організм не роблять його ідеальним лікарським засобом [95, 187].

Ефективними у лікуванні грипу є 2 групи лікарських засобів: адамантани та інгібітори вірусної нейрамінідази [95, 188]. Через вузький спектр дії (активні лише по відношенню до вірусу грипу А) адамантанів та широкий рівень резистентності до них вірусів грипу, CDC не рекомендує застосування амантадину та римантадину для лікування та профілактики грипу [189, 190]. Два інгібітори нейрамінідази (пероральний озельтамівір та інгаляційний занамівір) ліцензовані у багатьох країнах [95]. Крім того, внутрішньовенний перамівір призначається в Японії, Китаї, Південній Кореї, Канаді та США. Четвертий препарат цього класу, інгаляційний ланінамівір тривалої дії, ліцензований у Японії [95, 190]. 24 жовтня 2018р. FDA було схвалено новий препарат для лікування грипу, єдиний в своєму класі – балоксавіру марбоксил [191, 192]. Призначати противірусну терапію хворим на COVID-19 ВООЗ рекомендує лише за умови помірного (нірматрелвір-ритонавір) або високого (ремдесивір, молнупіравір) ризику госпіталізації, зважаючи на те, що потенційна шкода

здоров'ю може перевершити користь [193].

1.5.3. Антисептичні препарати в лікуванні вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії

В умовах відсутності ефективних противірусних препаратів прямої дії вкрай актуальною проблемою в усьому світі є пошук нових та вже відомих засобів з противірусною активністю. Перспективним у цьому напрямку є застосування четвертинних амонієвих сполук (ЧАС), які належать до групи поверхнево активних речовин (ПАР) і виявляють детергентні властивості, добре розчиняються у воді та здатні зменшувати поверхневий натяг клітинних мембран, що і обумовлює наявність у них бактерицидних і віруліцидних властивостей [194, 195].

Представником цієї групи є декаметоксин, який не всмоктується з поверхні слизових оболонок, не взаємодіє з клітинами людини, і тому відсутній ризик виникнення системних побічних ефектів. Також він не подразнює слизових оболонок, а отже, відсутні і місцеві побічні ефекти [195–197].

Антимікробний спектр декаметоксину вивчено на 350 штаммах мікроорганізмів [195]. Результати експериментальних досліджень показали, що цей антисептик має широкий спектр дії. Декаметоксин проявляє бактерицидний вплив у відношенні до грампозитивних (стафілококи, стрептококи, коринебактерії, капсульні бактерії) та грамнегативних мікроорганізмів (синьогнійна паличка, ешерихії, сальмонели, шигели, клебсієли, вібріони), має фунгіцидну дію (на дріжджоподібні гриби, збудники епідермофітії, трихофітії, мікроспорії, еритразми, деякі види пліснявих грибів (аспергіли, пеніцили)), протистоцидну дію (на трихомонади, лямблії) та віруліцидну дію (на складні ліпофільні віруси грипу А, В, простого герпесу, вірус везикулярного стоматита, ВІЛ-1, віруси гепатиту) [195–200]. Декаметоксин руйнує екзотоксини бактерій і знижує адгезію коринебактерій, сальмонел, стафілококів [196], [198]. Утворення стійких до декаметоксину форм мікроорганізмів при тривалому застосуванні відбувається повільно й не перевищує ефективних концентрацій препарату [195],

[196]. Декаметоксин потенціює дію різних груп антибіотиків (цефалоспорини, карбапенеми, аміноглікозиди, фторхінолони, поліміксини) [195], [201].

Доведена ефективність місцевого застосування декаметоксину у складі комплексного лікування пацієнтів гінекологічного профілю, при гнійно-запальних захворюваннях м'яких тканин та ЛОР-органів, для профілактики та лікування інфекційних гнійно-запальних ускладнень у хворих з важкою термічною травмою, а також при виконанні абдомінальних оперативних втручань. Декаметоксин успішно застосовується в лікуванні хворих з інфекційними загостреннями бронхіальної астми та хронічного бронхіту [195, 202–209].

Слід зазначити, що небулайзерна терапія є сучасним засобом доставки препаратів у ДШ, ефективність і безпека застосування якого науково обґрунтована, в тому числі у осіб з тяжкою соматичною патологією, пацієнтів похилого віку та дітей [210]. Застосування декаметоксину для лікування інфекцій нижніх дихальних шляхів є патогенетично обґрунтованим завдяки лікарській формі стерильного розчину для інгаляційного застосування за допомогою небулайзера. Інгаляційна доставка ліків дає можливість створити високу концентрацію безпосередньо у місці ураження і дає змогу мінімізувати системні ефекти [210, 211].

1.6. Профілактика розвитку вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії

Основні завдання профілактики: попередження різних патологічних станів, хронізації патологічних процесів і розвитку вторинних хвороб; зниження прогресування та ризиків ускладнень хвороб; загальне зміцнення здоров'я. Розрізняють профілактику суспільну та індивідуальну, специфічну та неспецифічну, первинну, вторинну, третинну та четвертинну [212, 213].

Первинна профілактика (радикальна) проводиться серед здорових осіб, спрямована на усунення причини хвороби та підвищення стійкості самого

організму до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища шляхом поліпшення умов праці та побуту (оздоровлення навколишнього середовища, організація здорового способу життя, гігієнічне нормування впливу факторів) [212–214].

Вторинна профілактика проводиться серед зовні здорових громадян для раннього виявлення та лікування преморбідних станів, спрямована на підвищення резистентності організму (лікувально-профілактичне харчування, засоби індивідуального захисту тощо) [212–214].

Третинна профілактика (реабілітація) – це заходи, які спрямовані на попередження ускладнень, рецидивів уже наявних захворювань, погіршення перебігу захворювання, переходу в хронічну форму [212–214].

Четвертинна профілактика – це заходи по зменшенню наслідків чи взагалі припиненню непотрібних або надмірних інтервенцій у здоров'я пацієнта, захист пацієнта від нових медичних втручань, запропонування пацієнту етично коректного лікування [213, 214].

На сьогодні у медицині конкурують й здійснюються два підходи до курації пацієнтів: персоніфікований (індивідуальний) та популяційний (когортний). Індивідуальна профілактика включає заходи щодо попередження хвороб, збереження та зміцнення здоров'я, які здійснює сама людина. На практиці зводиться до дотримання норм здорового способу життя, гігієни одягу, взуття, раціонального харчування й питного режиму, гігієнічного виховання підростаючого покоління, раціонального режиму праці та відпочинку, активного заняття фізкультурою та ін. Якщо профілактичні дії скеровані на населення в цілому, то мова йде про популяційну профілактику [212, 213].

У попередженні розвитку вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії найбільш вагома роль належить первинній профілактиці, що полягає у веденні здорового способу життя, дотриманні правил гігієни (мити руки з милом, використовувати одноразові серветки при чханні і кашлі), проведенні дезінфекції приміщень та особистих речей, компенсації хронічної патології. Потрібно

дотримуватись соціальної дистанції та, за можливості, уникати людей, які проявляють симптоми респіраторних захворювань, а також користуватися засобами індивідуального захисту. Вагому роль відіграє також відмова від паління. Адже відомо, що ризик виникнення НП у курців у 2 рази вищий, аніж у тих, хто ніколи не палив. Водночас колишні курці мали на 49 %, а пасивні – на 13 % більше шансів захворіти на НП, аніж особи, котрі ніколи не палили. До факторів ризику НП ще відносяться зловживання алкоголем, низький індекс маси тіла, регулярний контакт з дітьми та погана гігієна зубів [21].

До специфічних заходів первинної профілактики вірусно-бактеріальної НП належить імунопрофілактика, яка полягає у стимуляції формування імунітету до інфекційних хвороб шляхом введення біопрепаратів направленої (специфічної) дії. До таких препаратів відносяться вакцини, анатоксини, які формують активний імунітет, та сироватки (пасивний імунітет) [215]. На сьогодні розроблені вакцини проти *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, вірусів грипу А та В і SARS-CoV-2 [21, 216–222]. Проте вакцинація попереджує тяжкий перебіг на НП, але не виключає можливість захворіти.

До заходів неспецифічної профілактики, які спрямовані на сприйнятливий контингент (групи ризику), можна віднести елімінаційну терапію, яка забезпечує зниження числа як вірусних, так бактеріальних збудників інфекційних захворювань; використання лікарських засобів для місцевого застосування, що володіють бар'єрними функціями; а також методи медикаментозної профілактики [223–225]. Сьогодні FDA видано екстрений дозвіл на використання пемівібарту для доконтактної профілактики COVID-19 у дорослих і підлітків (віком від 12 років і вагою не менше 40 кілограмів), які мають помірний або тяжкий імунодефіцит та не були інфіковані SARS-CoV-2 [226].

Таким чином, проведений аналіз літературних даних свідчить про те, що НП досі є важливою проблемою в усьому світі. Цим питанням стурбовані фахівці різних спеціальностей – клініцисти, мікробіологи, фармакологи, економісти та

ін. недивлячись на сучасні досягнення в даній галузі, підходи до профілактики та лікування хворих з цими недугами ще потребують вдосконалення. Дані літератури свідчать про потребу оптимізувати етіотропну антимікробну хіміотерапію пацієнтів з НП та розробити методи профілактики цієї недуги. Використання нових засобів етіотропної та патогенетичної дії в лікуванні даної категорії пацієнтів потребує певної доказової бази – проведення контрольованих клінічних та фармакоекономічних досліджень. Ці питання й стали предметом даної дисертаційної роботи.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили в акредитованій клініці ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України» – акредитаційний сертифікат, вища категорія, серія МЗ, № 014999, дата видачі сертифікату Головною акредитаційною комісією при МОЗ України – 07 жовтня 2020 р., реєстраційний номер 11444. Термін дії сертифікату – з 05 вересня 2020 р. до 04 вересня 2023 р.

Вірусологічні дослідження проводили в лабораторії кафедри вірусології ДУ «Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика» (НУОЗ України імені П. Л. Шупика) (завідувачка кафедри, д-р мед. наук, проф. І. В. Дзюблик). Свідоцтво про атестацію (№ 001978, видане 27.01.2021 р., чинне до 26.01.2025 р.) засвідчує, що лабораторія відповідає критеріям атестації й атестована на проведення вимірювань у сфері поширення державного метрологічного нагляду в галузі охорони здоров'я. Дозвіл на роботу із збудниками III–IV груп патогенності при проведенні науково-дослідних робіт та здійсненні навчального процесу з використанням вірусологічних, молекулярно-генетичних та імуно-серологічних методів досліджень виданий Київською міською режимною комісією МОЗ України на 5 років (№ 30–12, чинний з 30.05.2021 р. до 29.05.2025 р.).

Всі засоби вимірювальної техніки, що використовувалися при виконанні НДР, пройшли державну повірку та експертизу. Відомості про повірку цих засобів вимірювальної техніки наведені у Додатку А («Додаток А. Експертний висновок метрологічної експертизи та перелік засобів вимірювальної техніки, які були застосовані при виконанні НДР») даного звіту. Реактиви та медикаменти, що використовували для виконання НДР, сертифіковані і мають відповідні паспорти.

2.1. Матеріали і методи вірусологічних досліджень

2.1.1. Характеристика препарату дослідження

Досліджували препарати: декаметоксин: 0,02 % і 0,1 % стерильні водні розчини декаметоксину виробництва НВО «Юрія-Фарм» у флаконах по 250 і 100 мл відповідно.

2.1.2. Культура клітин та поживні середовища

Курячі ембріони одержували із птахофабрики м. Полтави і інкубували при 37 °С та відповідній вологості впродовж 10 діб. Після овоскопіювання відбирали яйця із сформованими ембріонами, які використовували для одержання первиннотрипсинізованих культур клітин ФЕК та ФЕКс.

У роботі використовували перещеплювальні культури клітин аденокарциноми гортані людини (HEP-2) штаб Cincinnati, нирки собаки (MDCK) і сирійського хом'ячка (ВНК-21). Всі перещеплювальні культури одержані із Музею клітинних культур Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького АМН України (м. Київ).

Первинні культури клітин фібробластів ембріонів курки (ФЕК) та субкультури фібробластів (ФЕКс) одержували з 10-денних курячих ембріонів методом теплової трипсинізації [229].

У роботі використовували живильні середовища: RPMI-1640 з L-глютаміном і бікарбонатом натрію, Sigma, USA, R8758-500ML, термін придатності до 06.2020.; DMEM з 4500 мг/л глюкози, L-глютаміном і бікарбонатом натрію, Sigma, USA, D5796-500ML.

Середовище для культивування клітин (ростове середовище – РС) складалось із суміші рівних об'ємів живильних середовищ DMEM і RPMI-1640 з додаванням фетальної сироватки корів до 10% Sigma (США) та антибіотиків (100 МО/мл пеніциліну і 0,1 мг/мл стрептоміцину). Середовище для культивування вірусу, промивання клітинних культур і розведення декаметоксину (підтримуюче середовище – ПС) складалось із суміші живильних середовищ DMEM і RPMI-1640 з антибіотиками без сироватки.

Для аналізу життєздатності клітин колориметричним методом використовувався тест набір Cell Proliferation Kit I (MTT) Roshe Cat. No. 11 465 007 001.

Використовували розчини Версена 0,02 %, та трипсину 0,25 %, виробництва НВО БіоТестМед (м. Київ).

Культивування клітин на першому та другому етапах дослідження здійснювали у флаконах об'ємом 50 см³ (з поверхнею росту 75 см²) та мікропланшетах на 24 і 96 лунок з адгезивною поверхнею для культур клітин фірми „Sarstedt” (Німеччина), полістиролові наконечники для автоматичних дозаторів рідин фірми „Sarstedt” (Німеччина). На третьому етапі використовувались культуральні флакони об'ємом 50 см³ (поверхнею росту 25 см²) Nunc (Данія) та мікропланшети на 96 лунок з адгезивною поверхнею Cellstar Greiner Bio-One (Австрія).

Дослідження проводили у ламінарному боксі II класу безпеки фірми Jouan (Франція). Для мікроскопічних досліджень клітинних культур, візуалізації, фіксації і документування зображення використовували інвертований мікроскоп Primo Vert виробництва Karl Zeis, Німеччина. Колориметричні дослідження при аналізі життєздатності клітин виконувались на автоматичному спектрофотометрі ELISA-Rider Multiskan модель MR700 (Німеччина).

2.1.3. Тест-вірус

Для роботи було обрано прототипний штам коронавірусу – вірус інфекційного бронхіту птахів (Infection bronchitis virus) (IBV) – вакцинний штам вірусу інфекційного бронхіту курей «Н-120» у вигляді алантоїсної рідини з інфекційним титром 6,0 lg ЕІД₅₀/мл (IBV1); IBV, адаптований до культур клітин ФЕК, ФЕКс з інфекційним титром 5,0 log₂ ТЦД₅₀/0,1 мл (IBV2) та IBV, адаптований до культури клітини ВНК-21 інфекційним титром в цій культурі >5,5 lg ТЦД₅₀/0,1мл (IBV3) та з інфекційним титром 3,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл.

2.1.4. Метод визначення цитотоксичності препарату дослідження

Оцінку цитотоксичності декаметоксину в клітинних культурах проводилась шляхом застосування методу Кербера та МТТ-тесту.

При аналізі дії препарату на моношар клітин результати реєстрували методами світлової мікроскопії нативних і забарвлених препаратів. Розрахунки CD_{50} і МПК проводили за методом Кербера з урахуванням вихідної концентрації препарату, нанесеного на клітинні моношари.

Дослідження проводили у повній відповідності до вимог Фармакологічного комітету України, дослідження цитотоксичності декаметоксину проводили у повній відповідності до методичних рекомендацій [230, 231].

При аналізі життєздатності клітин з використанням МТТ-тесту визначення взаємозв'язку між оптичною густиною забарвленого МТТ розчину в лунках мікропланшета, та концентрацією декаметоксину у зразку проводилось на основі модифікованої моделі логістичної регресії:

$$OD(T_i) = a - \frac{b \cdot c \cdot \exp(d \cdot T_i)}{b + c \cdot (\exp(d \cdot T_i) - 1)}; \quad (1)$$

де $OD(T_i)$ – оптична густина культуральної рідини;

a, b, c, d – коефіцієнти логістичної моделі;

T_i – концентрація і-того тест-зразка.

Значення параметрів логістичної моделі визначались мінімізацією функції сумарної похибки Er за допомогою пакету Microsoft Excel: Дані → Пошук рішень:

$$Er(a, b, c, d) = \sum \left(a - \frac{b \cdot c \cdot \exp(d \cdot T_{in})}{b + c \cdot (\exp(d \cdot T_{in}) - 1)} - OD^*(T_{in}) \right) \rightarrow \min, \quad (2)$$

де Er – функція сумарної похибки;

a, b, c, d – коефіцієнти логістичної моделі;

T_{in} – концентрація і-того тест-зразка в n-ному розведенні;

$OD^*(T_{in})$ – виміряна оптична густина культуральної рідини, забарвленої за

методом МТТ (експериментально отримане значення).

У тому випадку, коли коефіцієнти логістичної регресії не могли бути знайдені, а саме – у випадку, коли залежність наближалася до лінійної, використовувалась, як доповнююча, модель лінійної регресії наступного вигляду:

$$OD(T_i) = a \cdot T_i + b; \quad (3)$$

де $OD(T_i)$ – оптична густина культуральної рідини;

a, b – коефіцієнти логістичної моделі;

T_i – концентрація i -того тест-зразка.

Значення параметрів лінійної моделі розраховувалось за допомогою пакету Microsoft Excel: лінійний тренд.

За отриманими моделями (1) або (3) розраховувалось значення CD_{50} – концентрація декаметоксину, що викликала зниження життєздатності клітин на 50 % у оброблених ним моношарах.

Така концентрація CD_{50} дорівнювала концентрації i -того тест-зразка T_i , яка відповідала 50%-му зменшенню оптичної густини культуральної рідини в порівнянні з контролем (без обробки декаметоксином) відповідного тест-зразка [230, 231].

2.1.5. Молекулярний докінг

Для проведення молекулярного докінга декаметоксину кристалічну структуру основної протеази вірусів IBV та SARS-CoV-2 було отримано з RCSB Protein Data Bank PDB ID:2Q6F [232] та PDB ID: 7L0D [233]. Фермент був підготовлений AutoDock Tools (ADT) 1.5.6 [234] і збережений у форматі PDBQT.

Структура декаметоксину була створена та збережена у форматі Mol за допомогою ChemAxon Marvin Sketch 5.3.735 [235]. Структура декаметоксину була оптимізована, а енергія була мінімізована за допомогою програми MORAC2016 [236].

Для основної протеази IBV та декаметоксину були розраховані часткові заряди за допомогою ADT та методу Гастейгера та збережені у форматі PDBQT.

Для молекулярного докінгу була застосована програма AutoDock Vina 1.1.2 [237]. Док-центр встановлено з координатами $x=24,017$; $y=-63,765$; $z=10,463$ і карта сітки $30*30*30$ точок з інтервалом сітки 1 \AA . Презентацію результатів та аналіз ліганд-білкового комплексу проводив Accelrys DS [238]. Інгібітор N3 є кокристалічною структурою в активному центрі основної протеази IBV [239].

2.2. Матеріали і методи клінічних досліджень

2.2.1. Характеристика обстежуваних хворих

У дослідження включали пацієнтів лише за умови їх добровільної згоди з метою та об'ємом запланованих обстежень, призначенням необхідної антиінфекційної терапії, а також можливими ризиками виникнення їх побічних ефектів.

Критерії включення досліджуваних (за сукупністю показників):

- є згода пацієнта на участь у дослідженні;
- пацієнти не молодше 18 років;
- наявність клінічних та рентгенологічних ознак вірусно-бактеріальної пневмонії, яка виникла в амбулаторних умовах.

Критерії невключення досліджуваних (за будь-яким одним із показників):

- відмова пацієнта від участі у дослідженні;
- наявна або передбачувана непереносимість препаратів дослідження;
- ураження легень, зумовлені SARS-CoV-2;
- проведення протівірусної та антибактеріальної терапії НП препаратами дослідження впродовж останніх 3 міс з приводу будь-якого захворювання;
- наявність у пацієнта хронічного запального процесу нижніх дихальних шляхів – хронічного бронхіту, бронхіальної астми, хронічного обструктивного захворювання легень, бронхоектатичної хвороби;
- наявність у хворого інших тяжких захворювань (туберкульозу, ВІЛ/СНІДу, декомпенсованої серцевої, печінкової або ниркової недостатності та ін.), які суттєво впливають на його стан, клінічні та лабораторні показники та лікування;

- неінфекційний характер запалення нижніх дихальних шляхів;
- тривале лікування системними глюкокортикостероїдами (прийом преднізолону в дозі 10 мг/добу та більше);
- вагітність або лактація.

Критерії виключення досліджуваних із дослідження (за будь-яким одним із показників):

- пацієнти, що не дотримуються рекомендацій лікаря;
- при виникненні надзвичайних або важких небажаних наслідків;
- відмова пацієнта на будь-якому етапі дослідження від участі у дослідженні;
- вагітність.

У випадку виключення пацієнта із дослідження здійснюється додатковий набір досліджуваних згідно з критеріями включення у дослідження.

Відповідно до наведених критеріїв у дослідження включили 70 хворих на вірусно-бактеріальну НП середньотяжкого перебігу, які отримували терапію у ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України» протягом 2020–2021 років. Діагноз НП встановлювали на основі клініко-рентгенологічних даних відповідно до адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика», затвердженої Президією Національної академії медичних наук України, протокол № 4/7 від 27.03.2019 р.

Серед обстежених хворих на НП переважали чоловіки віком від 18 до 56 років, середній вік яких становив $(26,3 \pm 1,6)$ року. На підставі аналізу даних клінічного, рентгенологічного та лабораторних методів дослідження відповідно до адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика», затвердженої Президією Національної академії медичних наук України, протокол № 4/7 від 27.03.2019 р. [1], в усіх

хворих визначена НП III клінічної групи і вони були госпіталізовані до стаціонару.

За даними рентгенологічного дослідження у $(20,0 \pm 4,8)$ % пацієнтів спостерігали двобічне, а у $(77,1 \pm 5,0)$ % – однобічне ураження легень. Супутні захворювання в жодного пацієнта виявлено не було.

Оцінку загального стану та клінічних ознак НП проводили до початку, через 48–72 год та по закінченню лікування антибіотиком, але не пізніше 15 днів. Визначали температуру тіла, ступінь вираженості задишки; оцінювали характер кашлю, харкотиння, дані аускультатії. До початку лікування та на 10–15-й день усім хворим проводили клінічний аналіз крові і сечі, біохімічне дослідження крові (визначали рівень білірубіну та креатиніну, активність трансаміназ), а також рентгенологічне обстеження (рентгенографія органів грудної клітки в 2-х проєкціях) та електрокардіографію.

При первинному огляді загальний стан оцінили як середньої тяжкості у 100,0 % пацієнтів. На задишку при звичайному фізичному навантаженні мали скарги 72,9 % обстежених пацієнтів. Сильний кашель відзначали 27,1 % пацієнтів, 41,4 % – помірний, решта – незначний. У 14,3 % хворих кашель був сухий, у 34,3 % мокротиння було слизовим, у 47,1 % – слизово-гнійним, у 4,3 % – гнійним. У 77,1 % хворих температура тіла була вище 38 °С, у 18,6 % – субфебрильною (37–38 °С), у решти – нормальною. При аускультатії сухі або вологі хрипи (дифузні або поодинокі) вислуховували майже в усіх хворих.

2.2.2. Методи обстеження хворих

Обстеження хворих на НП включало в себе загальноклінічні та спеціальні методи досліджень. За допомогою загальноклінічних методів детально вивчались:

- 1) анамнез захворювання (тривалість недуги, її перші ознаки, попереднє лікування, відношення до тютюнопаління та тривалість цього фактору ризику, визначення індексу «пачка/рік», наявність шкідливих виробничих факторів, супутньої патології);

- 2) скарги хворого;
- 3) дані фізикального обстеження хворих, у тому числі в динаміці;
- 4) результати лабораторних методів обстеження (загальне та біохімічне обстеження крові, загальний аналіз сечі та мокроти);
- 5) результати інструментальних методів обстеження – рентгенологічне (рентгенографія в прямій та боковій проекціях, а при необхідності – комп'ютерна томографія) і електрокардіографічне дослідження.

До спеціальних методів відносились дослідження ФЗД.

Дані клінічного аналізу крові не дозволяли встановити діагноз пневмонії або визначити збудника інфекції. Однак лейкоцитоз вище $10\text{--}12 \times 10^9/\text{л}$ свідчив про високу ймовірність бактеріальної інфекції, а лейкопенія нижче $3 \times 10^9/\text{л}$ або лейкоцитоз вище $25 \times 10^9/\text{л}$ були несприятливими прогностичними ознаками.

Біохімічні аналізи крові (функціональні тести печінки та нирок, глікемія та ін.) не надавали якої-небудь специфічної інформації, проте за наявності відхилень від нормальних значень свідчили про ураження ряду органів/систем, що мало певне клінічне та прогностичне значення.

Важливе місце в діагностиці хворих із НП займала рентгенографія органів грудної клітини (РОГК), яку виконували у всіх пацієнтів в двох проекціях (пряма та бокова). При невідомій локалізації запального процесу робили знімок у правій боковій проекції.

Рентгенологічне дослідження у пацієнтів із НП проводили на початку захворювання і на 10–14 день після початку антибактеріального лікування. Іноді виконували його і в більш ранні терміни – при виникненні ускладнень, або суттєвій зміні клінічної картини захворювання. Рентгенологічна картина НП не мала кореляції з її етіологією, ступенем тяжкості клінічного перебігу і не дозволяла визначити прогноз захворювання.

Для виключення наявності у пацієнта обструктивного захворювання дихальних шляхів (БА або ХОЗЛ) проводилась оцінка функції зовнішнього дихання шляхом проведення спірометрії. Зворотність бронхообструкції

визначали за допомогою фармакологічної проби з використанням 400 мкг сальбутамолу. За кривою «потік-об'єм» форсованого видиху розраховували наступні показники: життєву ємність легень (VC, % до належних значень), форсовану життєву ємність легень (FVC, % до належних значень), об'єм форсованого видиху за першу секунду (FEV₁, % до належних значень), показник FEV₁/FVC (%) та швидкість видиху на рівні 25 %, 50 % і 75 % FVC (відповідно MEF₂₅, MEF₅₀, MEF₇₅, % до належних значень).

У хворих з ознаками дихальної недостатності визначали насичення гемоглобіну артеріальної крові киснем (SpO₂).

Клінічну ефективність лікування оцінювали за критеріями, які наведені в Європейському посібнику з клінічної оцінки антимікробних лікарських засобів [227]:

- а) клінічне видужання – інтенсивність симптомів відповідає початковому рівню (тобто досягнення фази ремісії);
- б) клінічне покращання – зменшення інтенсивності симптомів захворювання та нормалізація температури тіла (тобто досягнення фази неповної ремісії);
- в) клінічна неефективність – відсутність позитивної динаміки.

Безпеку терапії оцінювали за частотою виникнення небажаних явищ: будь-якого несприятливого явища (в тому числі і клінічно значущого відхилення показників лабораторних досліджень), що виникало під час проведення дослідження.

Описова статистика (кількість спостережень, середнє значення, помилка середнього значення, частота, процент) наведена для усіх показників аналізу з урахуванням їх типу (кількісний, якісний) [228].

2.2.3. Медикаментозна терапія

Оснoву медикаментозної терапії хворих на НП складали антибактеріальні хіміопрепарати. За наявності супутніх захворювань хворим призначали/корегували відповідну медикаментозну терапію.

Об'єм терапевтичних заходів, шлях введення препаратів (інгаляційний, пероральний, парентеральний) та місце проведення лікування (амбулаторно, стаціонарно), визначали за ступенем тяжкості перебігу захворювання. Ступінь тяжкості перебігу недуги оцінювали за результатами аналізу анамнестичних даних, вираженості проявів клінічних симптомів та функціональних порушень дихання та кровообігу.

Пацієнтам призначалась раціональна антибіотикотерапія:

- амоксициліну/клавуланат (Амоксил-К, Arterium, Україна) у дозі 1,2 г 3 рази на добу внутрішньовенно впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумамед, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після досягнення позитивної клінічної динаміки антибактеріальну терапію продовжили пероральною формою амоксициліну/клавуланату (Амоксил-К, Arterium, Україна) у дозі 1000 мг 2 рази на добу незалежно від прийому їжі.

Або

- цефтріаксон (Цефтріаксон, Дарниця, Україна) у дозі 2 г 1 раз на добу парентерально (в/в або в/м) впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумамед, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після цього антибактеріальну терапію проводили пероральною формою цефуроксиму аксетилу (Зіннат, GSK, Велика Британія) у дозі 500 мг 2 рази на добу під час прийому їжі.

У якості противірусної терапії застосовували інгаляції (через небулайзер) антисептичного препарату декаметоксину (Декасан, Юрія-фарм, Україна) у дозі 2 мл 0,02 % розчину 2 рази на добу. Загальна тривалість противірусної терапії становила 5–7 днів, в усіх випадках вона була емпіричною (призначалась до отримання результатів культурологічного дослідження).

При виборі протиінфекційного препарату для кожного пацієнта враховували анамнестичні дані (тривалість захворювання, наявність алергічних реакцій на певні групи ліків, супутню патологію та вірогідну побічну дію препарату, попередню антибіотикотерапію та ін.) та наявні дані щодо ймовірних збудників інфекційного процесу і рівня їх резистентності до антибактеріальних препаратів [240–243].

Клінічну ефективність терапії визначали за результатами аналізу комплексу клініко-функціональних та лабораторних показників з урахуванням критеріїв, які наведені в Європейському посібнику з клінічної оцінки антимікробних лікарських засобів [227]. Клінічно ефективним лікування вважали, якщо після завершення дослідження повністю зникали (одужання) або значно зменшувались (покращення) вираженість симптомів та лабораторних ознак захворювання. При оцінці клінічної ефективності препаратів дослідження враховували результати лікування пацієнтів, які закінчили курс лікування препаратом дослідження, а також тих, що припинили прийом препаратів дослідження внаслідок їхньої неефективності та/або розвитку серйозних небажаних явищ.

Безпеку терапії оцінювали за частотою виникнення небажаних явищ, їх тяжкістю та появою клінічно значущих змін показників лабораторних досліджень. Небажаним вважали будь-яке несприятливе явище (в тому числі клінічно значуще відхилення даних лабораторних досліджень), яке виникло у пацієнта під час проведення клінічного дослідження незалежно від того, пов'язано воно чи ні з прийомом даного препарату. Для кожного небажаного явища у відповідності з визначеними критеріями оцінювали зв'язок з препаратом дослідження (сумнівний, можливий, ймовірний, неможливо оцінити, відсутній) та ступінь тяжкості (легкий, середній, тяжкий). Аналіз безпеки та переносимості препаратів дослідження проводили за результатами обстеження усіх пацієнтів, які прийняли хоча б одну дозу препарату, незалежно від того, закінчили вони дослідження чи ні.

Усі отримані результати досліджень внесені до електронної бази даних на основі програми «Excel», що дозволило проаналізувати отримані результати із використанням методів варіаційного аналізу. Збереження баз даних та їх математичну обробку проводили за допомогою ліцензійних програмних продуктів, що входять у пакет Microsoft Office Professional 2003, ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 17016297.

Описова статистика (кількість спостережень, середнє значення, помилка середнього значення, частота, відсоток) наведена для усіх показників аналізу з урахуванням їх типу (кількісний, якісний) [228].

Достовірність змін показників для кожної групи перевіряли з використанням парного t-критерію Стюдента (для незалежних спостережень і зв'язаних серій спостережень), критерію Фішера (для розподілень, далеких від нормальних, і за кількості спостережень менше 30), а також критерію Менна-Уїтні (при порівнянні якісних показників). Усі статистичні тести виконували для двобічного рівня статистичної значущості ($p < 0,05$) [228].

РОЗДІЛ 3. ДІАГНОСТИКА ЕТІОЛОГІЧНИХ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНО-БАКТЕРІАЛЬНОЇ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

3.1. Роль етіологічної діагностики при веденні хворих на негоспітальну пневмонію

Негоспітальна пневмонія – гостре інфекційне захворювання, схильне до швидкого прогресування, і тому потребує призначення етіотропних антимікробних лікарських засобів у якомога ранні терміни. З практичних міркувань розрізняють емпіричну антибіотикотерапію (якщо не визначено етіологію захворювання) і антибіотикотерапію хворих на НП із встановленою етіологією. Оскільки на даний час не існує достатньо ефективних методів етіологічної експрес-діагностики НП, в реальних умовах початкова етіотропна антибіотикотерапія практично завжди є емпіричною. Вибір антибіотика для етіотропної терапії хворих на НП здійснюється з урахуванням даних регіональної чутливості основних збудників захворювання до антибіотиків, які лежать в основі національних протоколів та рекомендацій щодо лікування хворих на НП [1].

Нераціональне призначення антибактеріальних препаратів – недоцільне призначення антибіотика, неефективні комбінації, часта заміна препарату, надмірна кількість антибіотиків та тривалість їх прийому тощо – сприяє поширенню антибіотикорезистентності.

Для емпіричної антибіотикотерапії застосовуються препарати широкого спектру дії у якості монотерапії або комбінацій, активні щодо потенційних етіопатогенів відповідної когорти хворих. Серед бактеріальних збудників НП у пацієнтів III клінічної групи зростає роль атипичних патогенів, тому препаратами вибору для них є захищений амінопеніцилін або цефалоспорин III покоління у поєднанні з макролідом, що забезпечує ширший спектр дії. Ідентифікація збудника НП може бути корисною у даній когорти пацієнтів для прийняття рішення про деескалацію антибіотикотерапії (перехід на монотерапію), що

зменшує ризик поширення резистентності та появи побічних ефектів при подвійній терапії. Особливо актуальним це є, беручи до уваги факт, що за даними мікробіологічного моніторингу в рамках міжнародної програми SOAR в Україні спостерігається послідовне зростання резистентності штамів *S. pneumoniae* стосовно макролідів (11,9 % та 21,8 – 23,1 % нечутливих ізолятів у 2011–2013 рр. та 2016–2017 рр. відповідно) та пероральних форм пеніциліну (12,7 % та 26,9 % нечутливих ізолятів у 2011–2013 рр. та 2016–2017 рр. відповідно) [88, 89, 268].

Беззаперечно, виявлення збудника НП значно покращить ефективність лікування НП, адже допоможе уникнути призначення надмірної або неефективної протимікробної терапії пацієнтам, зокрема інфікованим резистентними штамми мікроорганізмів (наприклад, *PRSP*, *MRSA*, *P. aeruginosa*), дасть змогу вчасно призначати противірусні препарати та забезпечить суворе дотримання інфекційного контролю. Таким чином, саме успішна етіологічна діагностика є ключовим фактором раціональної антимікробної терапії, а у низці випадків – визначає прогноз перебігу НП.

3.2. Основні вірусно-бактеріальні збудники негоспітальної пневмонії

За результатами дослідження, присвяченого вивченню етіології негоспітальної пневмонії, виконаного в ДУ "Національний інститут фтизіатрії та пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», основним проблемним бактеріальним збудником НП залишається *S. pneumoniae*, який зустрічався з частотою 40,9 % серед хворих з встановленою бактеріальною етіологією захворювання (рис. 3.1). Нерідко причиною пневмонії були *H. influenzae*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*, ідентифіковані у 14 – 15 % хворих [21].

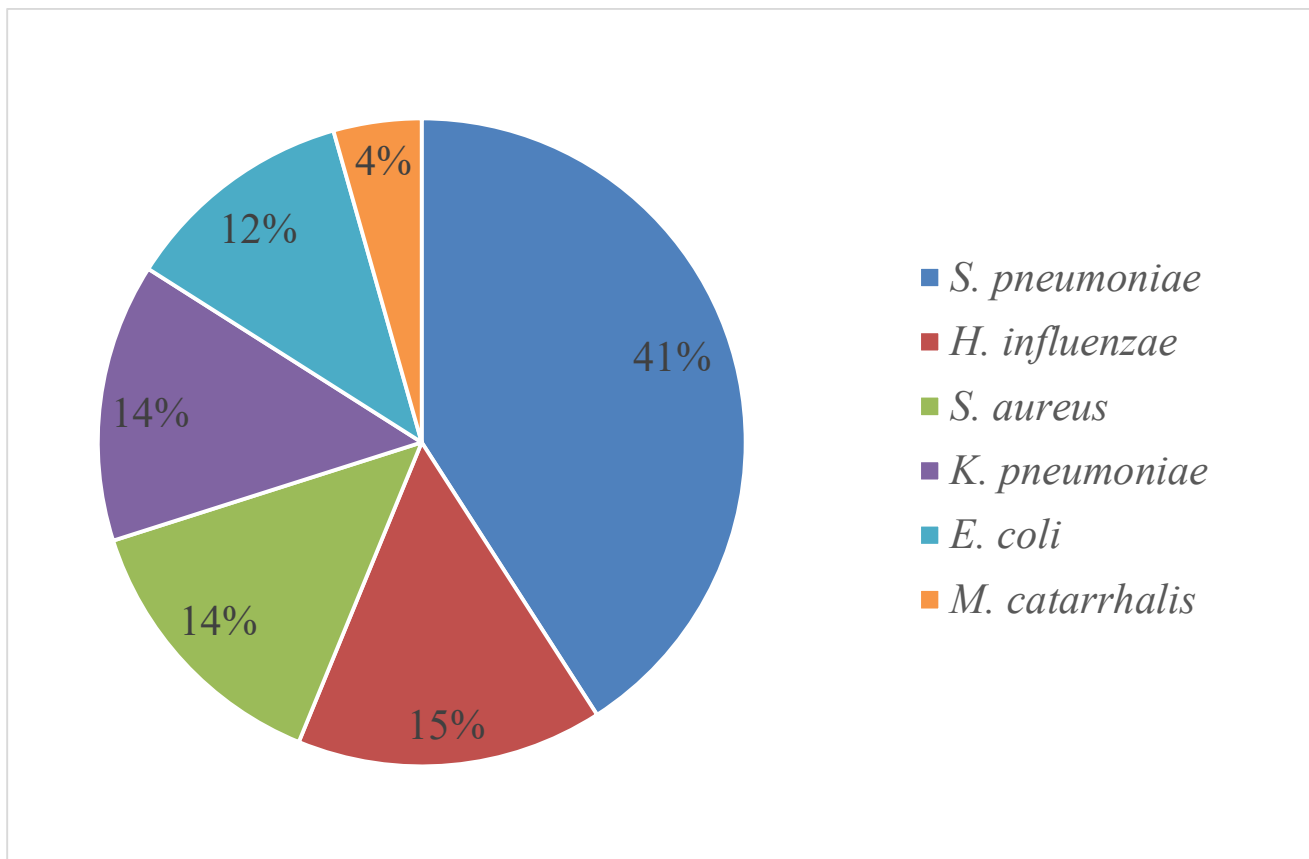


Рис. 3.1. Спектр бактеріальних збудників НП [21].

Вірусною етіологією зумовлено близько третини випадків НП. Серед респіраторних вірусних збудників в етіології пневмонії домінують віруси грипу та парагрипу, а також – аденовіруси (рис. 3.2). У 14 % пацієнтів було виявлено риновіруси. Значно рідше причиною пневмонії були коронавіруси, бокавірус, метапневмовірус та респіраторно-синцитіальний вірус [21, 24].

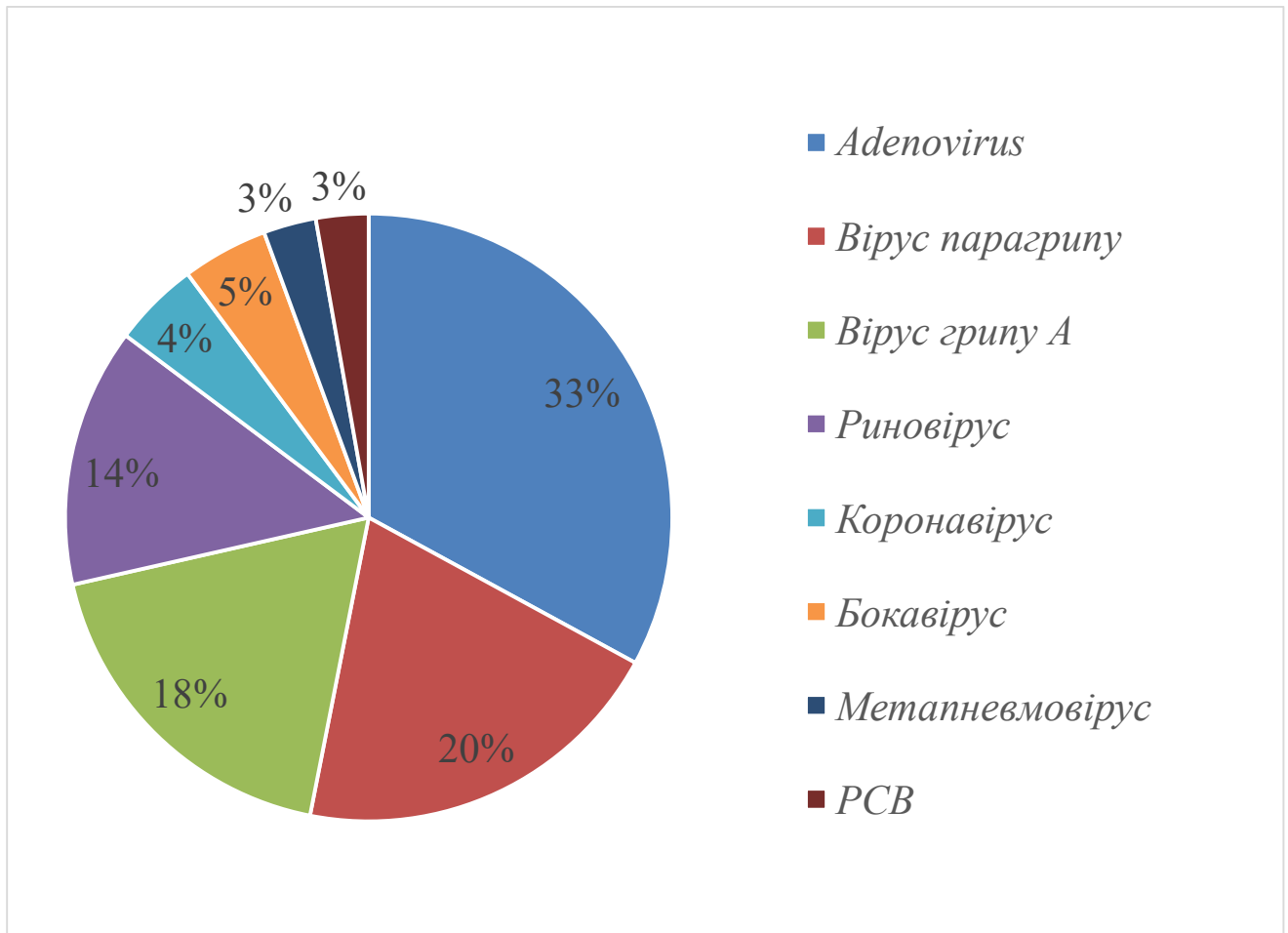


Рис. 3.2. Спектр вірусних збудників НП [24].

3.3. Схема ідентифікації основних вірусних та бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії

Для збільшення частки пацієнтів з встановленою етіологією НП у ході виконання дисертаційної роботи була розроблена схема ідентифікації основних вірусних та бактеріальних збудників НП, яка полягає у використанні сучасних діагностичних експрес-тестів на основі імунохроматографічного аналізу (ІХА) (ШТ) в поєднанні з молекулярно-біологічною (одним із методів ампліфікації нуклеїнових кислот (НААТ) – полімеразно-ланцюговою реакцією (ПЛР)) та класичною бактеріологічною діагностикою.

Підставою щодо включення окремих методів етіологічної діагностики у схему ідентифікації основних вірусних та бактеріальних збудників НП стало наступне.

На сьогодні еталонним методом ідентифікації респіраторної вірусної інфекції є молекулярно-біологічна діагностика, зокрема один із методів НААТ – ПЛР. Це сучасний, високоспецифічний, чутливий та швидкий метод діагностики вірусів, що може бути застосований як для поодиноких діагностичних досліджень, так і при великому їх потоці. За допомогою ПЛР-діагностики можливе виявлення геному збудника, починаючи з 3–6-ї доби від моменту інфікування, а також в період так званого «серологічного вікна», коли сероконверсія ще не відбулась. Перевагами методу є не тільки високі показники чутливості та специфічності, але й відтворюваність, експресність виконання, широкий спектр і малий об'єм досліджуваного матеріалу, автоматизація етапів проведення ПЛР та обліку результатів з можливістю їх відеодокументування. У той же час проведення ПЛР вимагає відповідних умов – спеціальної лабораторної бази, висококваліфікованого персоналу, додаткових коштовних реактивів та устаткування, що досить суттєво обмежує широке використання даного методу діагностики. До модифікації цього виду досліджень належить мультиплексна ПЛР у реальному часі, яка дозволяє протягом години виявляти генетичний матеріал більш ніж 20 збудників одночасно (атипові бактерії, грам-позитивні та грам-негативні бактерії, віруси та маркери резистентності), що економічно вигідно у порівнянні з моноплексною ПЛР, а у режимі реального часу – прискорити отримання результату, знизити небезпеку контамінації та ризик отримання псевдопозитивних результатів, а також визначити кількість інфекційного агенту в пробі вихідного матеріалу.

Швидкість, простота виконання, висока інформативність та відсутність потреби в додаткових коштовних реактивах та устаткуванні визначають перевагу ШТ на основі ІХА перед традиційними методами досліджень, такими як класична мікробіологічна, вірусологічна та серологічна діагностика. Вони є технічно простими у використанні, не потребують складної підготовки клінічного матеріалу та спеціальних умов обліку результатів (облік візуальний)

та значно дешевші порівняно з багатьма класичними та молекулярно-біологічними методами діагностики.

На сьогодні розроблені швидкі тести для діагностики коронавірусної інфекції – для виявлення антигену SARS-CoV-2, а також специфічних протикоронавірусних IgG та IgM, що знайшли широке застосування для скринінгу та експрес-тестування підозрілих випадків на COVID-19 в ситуації, за якої методи NAAT недоступні або їх використання клінічно недоцільне через тривалий час виконання. За рекомендаціями ВООЗ для діагностики інфекції, що викликана вірусом SARS-CoV-2, допускається застосування ШТ для виявлення антигену, що відповідають мінімальним характеристикам чутливості $\geq 80,0$ % та специфічності $\geq 97,0$ %, рівні яких визначені шляхом порівняння з референтним тестом NAAT [267].

У пульмонологічній практиці для етіологічної діагностики НП також можуть бути використані ШТ для виявлення АГ вірусів грипу А та В, респіраторно-синцитіального та аденовірусу, а також діагностиками для виявлення антигенів пневмокока і легіонели в сечі. Однак під час проведення швидких тестів потрібно пам'ятати, що вони залишаються позитивними протягом декількох тижнів після перенесеного епізоду НП, тому мають діагностичну цінність тільки за наявності клінічних проявів захворювання. Процедура швидкого тестування може здійснюватися як в умовах мікробіологічної лабораторії, так і «біля ліжка хворого» в стаціонарних (у приймальному відділенні, маніпуляційному кабінеті) або амбулаторних умовах.

Використання в схемі етіологічної діагностики НП поряд з NAAT-діагностикою і ШТ класичного бактеріологічного методу дослідження з мікроскопією мокротиння та посівом матеріалу на поживне середовище обумовлено значною роллю у виникненні пневмонії бактеріальних збудників, що вимагає проведення відповідної антибактеріальної терапії з урахуванням спектра резистентності виявлених патогенів.

Схема етіологічної діагностики НП наведена на рисунку 3.3.

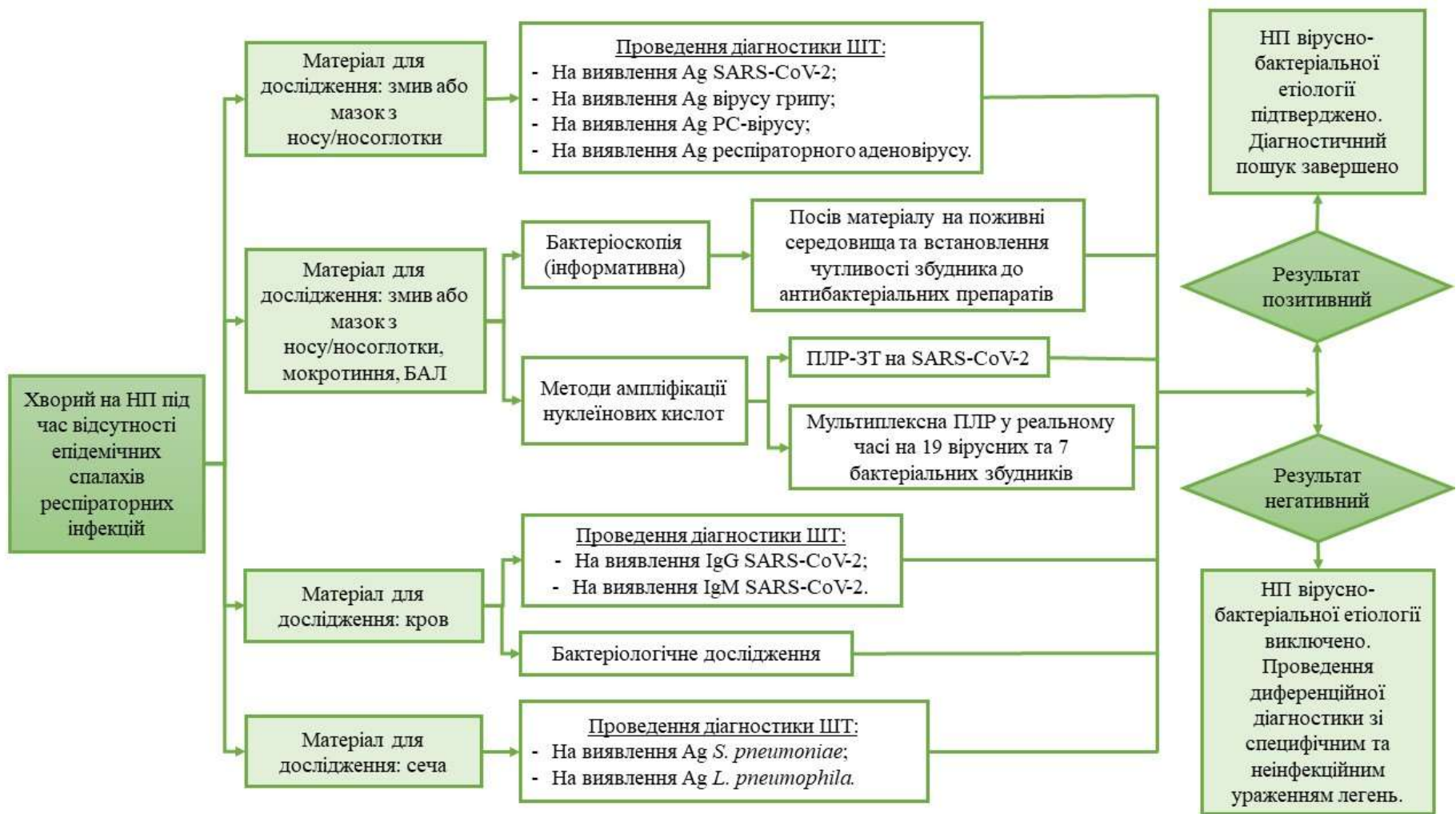


Рис. 3.3. Схема етіологічної лабораторної діагностики вірусно-бактеріальної НП поза епідемічних спалахів на ГРВІ

Отож, запропонована схема етіологічної діагностики НП передбачає, що матеріалом для проведення лабораторних досліджень можуть бути мазки чи змиви з носоглотки, мокротиння, БАЛ, сеча та кров, які отримані до початку курсу етіотропної терапії. Отриманий від хворого біологічний матеріал необхідно відправляти в мікробіологічну лабораторію, яка має дозвіл на роботу з високопатогенними збудниками (1–2 груп патогенності), для проведення відповідних бактеріологічних та молекулярно-біологічних методів досліджень.

У період спалахів ГРВІ одним з методів обмеження їх поширеності є епідемічний контроль, що включає в себе вчасне виявлення хворих та їх ізоляцію. Тому під час високої поширеності COVID-19 або грипу у пацієнтів з НП в першу чергу потрібно виключити або підтвердити наявність збудників цих інфекційних хвороб (рисунок 3.4).

Експрес-тестування слід проводити для первинного встановлення грипу (тест на антиген вірусів грипу А та В) або коронавірусної інфекції (тест на антиген SARS-CoV-2) та її гострої фази (позитивний тест на Ig M). Застосування швидких тестів, що дають можливість ідентифікувати інші респіраторні віруси, зокрема респіраторні аденовіруси та респіраторно-синцитіальний вірус, доцільно лише в умовах відповідної епідеміологічної ситуації (епідемії на ГРВІ) та негативного тесту на грип або COVID-19, а тестування на бактеріальні патогени *S. pneumoniae* та *L. pneumophila* – лише за наявності клініко-рентгенологічної підозри на таку інфекцію.

Бактеріологічний метод має включати в себе бактеріоскопію пофарбованих за Грамом мазків мокроти та посів цього матеріалу, за умови його інформативності, на відповідні поживні середовища (за тяжкого перебігу захворювання також необхідно проводити посів крові). Бактеріологічне дослідження слід проводити усім хворим на НП середньо-тяжкого та тяжкого перебігу захворювання незалежно від результатів тестування на COVID-19 або грип. У хворих з нетяжким перебігом коронавірусної інфекції та відсутністю хронічних запальних захворювань нижніх дихальних шляхів це дослідження не є

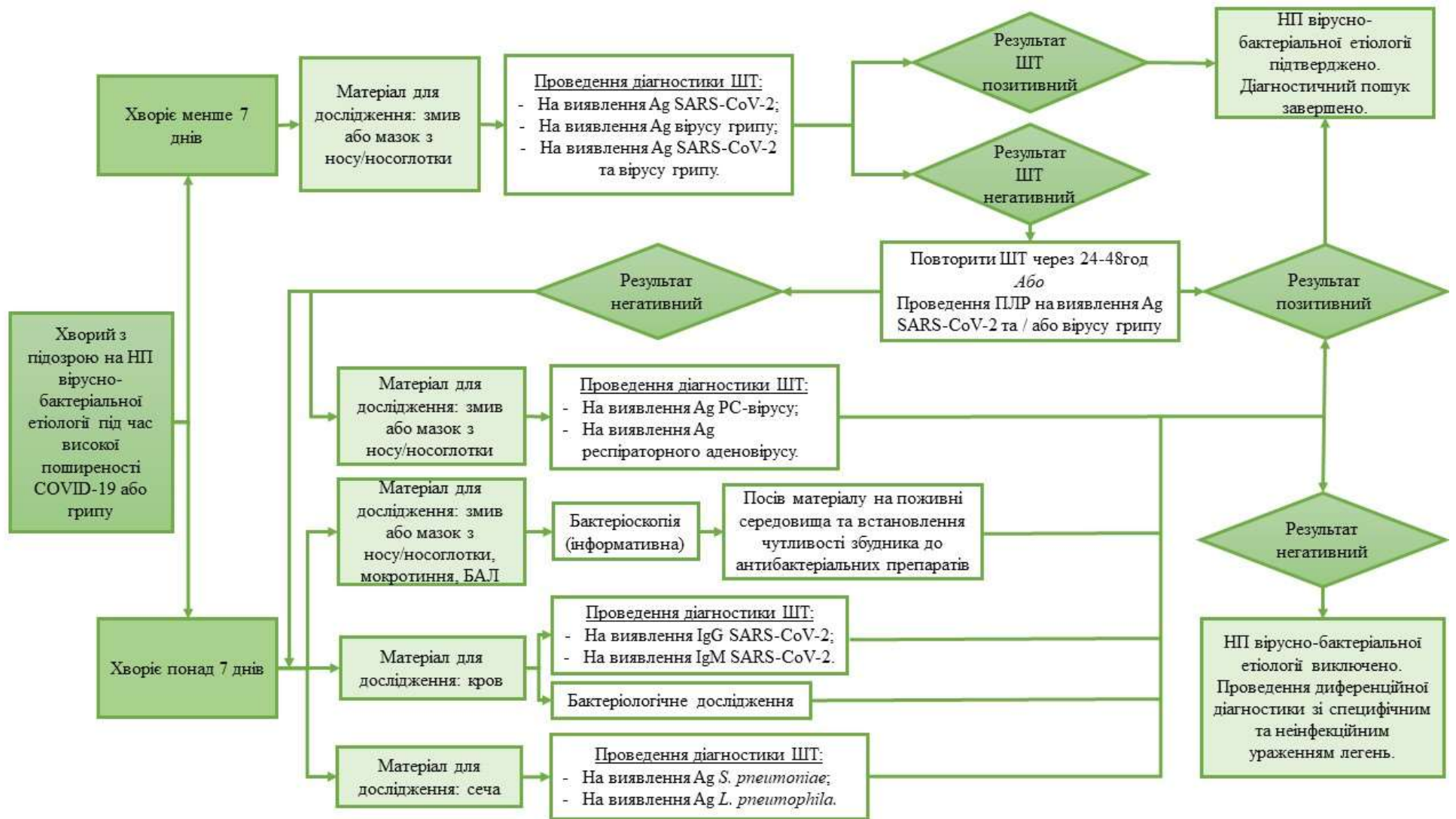


Рис. 3.4. Схема етіологічної лабораторної діагностики НРІ під час високої поширеності COVID-19 або грипу.

обов'язковим, тому що його діагностичне значення в цій ситуації мінімальне та практично не впливає на подальшу терапевтичну тактику.

Мультиплексну ПЛР у реальному часі слід застосовувати при обґрунтованій підозрі на бактеріальну або вірусну коінфекцію (за тяжкістю стану, відповідним змінами лабораторних показників, прогресуванням захворювання, відповіддю на лікування та ін.). Цей метод найбільш інформативний для діагностики атипичних бактеріальних збудників та інших респіраторних вірусів. Наприклад, за допомогою наборів Allplex Respiratory Full Panel проводиться мультиплексна ПЛР для одночасного визначення фрагментів нуклеїнових кислот 19 вірусних і 7 бактеріальних збудників: *Influenza A virus* (Flu A), *Influenza B virus* (Flu B), Flu A-H1, Flu A-H1pdm09, Flu A-H3, *Human respiratory syncytial virus A* (RSV A), *Human respiratory syncytial virus B* (RSV B), *Human adenovirus* (AdV), *Human enterovirus* (HEV), *Human parainfluenza virus 1* (PIV1), *Human parainfluenza virus 2* (PIV2), *Human parainfluenza virus 3* (PIV3), *Human parainfluenza virus 4* (PIV4), *Human metapneumovirus* (MPV), *Human bocavirus* (HBoV), *Human rhinovirus* (HRV), *Human coronavirus 229E*, *Human coronavirus NL63*, *Human coronavirus OC43*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *B. pertussis*, *B. parapertussis*.

За результатами проведених досліджень щодо ролі вірусних та бактеріальних збудників у розвитку, перебігу та ефективності лікування НП, саме одночасне застосування трьох різних методичних підходів – класичного бактеріологічного, «експрес»-тестування та молекулярно-біологічного для детекції респіраторних збудників – є найбільш ефективним для отримання остаточного результату та значно покращує етіологічну діагностику НП. Використання наведеної схеми має на меті збільшити частоту виявлення вірусної та вірусно-бактеріальної етіології НП, порівняно із застосуванням лише традиційних підходів. Окрім того, включення в схему високотехнологічної мультиплексної ПЛР надає важливу інформацію стосовно моно- та коінфекцій (вірусно-вірусних та вірусно-бактеріальних) за короткий проміжок часу (6–8

год), а у низці випадків застосування тільки швидких тестів дає можливість отримати етіологічний діагноз через 10–15 хв, що є надзвичайно важливим для своєчасного визначення подальшої терапевтичної тактики хворих на НП, особливо у хворих на коронавірусну інфекцію.

Таким чином, для встановлення етіології вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії слід використовувати одночасне застосування трьох різних методичних підходів – класичний бактеріологічний, експрес-тестування та молекулярно-біологічний, що дає можливість максимально підвищити ефективність ідентифікування респіраторних збудників.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях:

1. Дзюблик І.В., Боророва О.Л., Капітан Г.Б., Яковенко О.К. Алгоритми лабораторної діагностики COVID-19. Український пульмонологічний журнал. 2022; 30(2–3): 63-71. DOI: 10.31215/2306-4927-2022-30-2-63-71.
2. Боророва О.Л., Дзюблик Я.О., Ячник В.А. Сучасні методи етіологічної діагностики гострих негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів. Український пульмонологічний журнал. 2021;3:58–65.
DOI: 10.31215/2306-4927-2021-29-3-58-65

РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ТА МЕХАНІЗМУ ДІЇ ДЕКАМЕТОКСИНУ ЩОДО КОРОНАВІРУСІВ

Враховуючи труднощі виявлення етіологічного чинника НП, яким можуть виступати віруси або полімікробні асоціації, відсутності ефективних противірусних препаратів прямої дії, вкрай актуальною проблемою в усьому світі є пошук нових та вже відомих засобів з противірусною активністю з метою профілактики та лікування НП.

Представник четвертинних амонієвих сполук декаметоксин – вітчизняний препарат, який володіє широким спектром протимікробної дії, зокрема до основних збудників НП, руйнує екзотоксини бактерій та потенціює дію антибактеріальних лікарських засобів.

Проте детальний аналіз даних наукової літератури не виявив інформації щодо ефективності застосування декаметоксину при коронавірусній інфекції, роль якої у розвитку НП значно зросла з появою пандемії COVID-19.

Тому для доповнення знань про антимікробні властивості декаметоксину та можливості його застосування у складі профілактичних та лікувальних заходів у ході виконання дисертаційної роботи досліджено активність декаметоксину стосовно коронавірусів.

Оскільки через небезпеку для дослідників заборонено проводити прямі дослідження з пандемічним штамом коронавірусу SARS-CoV-2 у лабораторіях загального режиму, у ході проведення дослідження використовувався прототипний штам коронавірусу інфекційного бронхіту курей – IBV.

4.1. Дослідження цитотоксичності декаметоксину

Дослідження цитотоксичності декаметоксину оцінювали за дією на моношар культур клітин HEP-2, MDCK, ВНК-21, ФЕК та ФЕКс з відповідним визначенням показників CD_{50} та МПК спершу за методом Кербера, потім – з використанням МТТ-тесту.

На першому етапі досліджень для вивчення цитотоксичної дії декаметоксину в культурах клітин НЕР-2 MDCK готували послідовні дворазові серійні розведення вихідного розчину декаметоксину (0,02 %, з рівнем діючої речовини 200 мкг/мл) у підтримуючому середовищі (ПС) в концентраціях: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,780; 0,390; 0,195 мкг/мл.

При дослідженні цитотоксичної дії декаметоксину в культурах клітин ФЕК, ФЕКс і ВНК-21 використовували вихідний розчин препарату з концентрацією 0,1 % (1000 мкг/мл).

При дослідженні цитотоксичної дії декаметоксину в культурах клітин ФЕК і ФЕКс, вихідний (0,1 %) розчин попередньо розбавляли в 2,5 рази ПС до кінцевої концентрації діючої речовини 400 мкг/мл. Із нього готували послідовні серійні розведення, у яких кількість діючої речовини відповідала концентраціям: 200, 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,78; 0,390; мкг/мл.

При дослідженні цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин ВНК-21 використовували вихідний розчин препарату з концентрацією 0,1 % (1000 мкг/мл). Готували його дворазові і десятиразові серійні розведення у ПС.

При двократних серійних розведеннях концентрація декаметоксину у розчині становила: 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,82; 3,91; 1,95; 0,98; 0,49 мкг/мл.

При десятикратних серійних розведеннях концентрація декаметоксину у розчині становила: 100; 10; 1; 0,1; 0,01 мкг/мл.

Розчини декаметоксину у відповідних концентраціях наносили на сформовані попередньо відмиті клітинні моношари у лунках планшету. Для дослідження кожної концентрації препарату використовували по 4 клітинні моношари. Культури інкубували впродовж 24–72 годин при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂. Через 24, 48 і 72 години після нанесення зразків, визначали наявність або відсутність цитотоксичного ефекту в оброблених клітинних культурах. Остаточний результат оцінювали через 72 години після нанесення досліджуваних препаратів на клітинні моношари. Визначали концентрації діючої

речовини декаметоксину (мкг/мл), що відповідали CD_{50} та МПК у різних культурах через 24, 48 і 72 години культивування. Результати реєстрували методами світлової мікроскопії нативних і забарвлених препаратів. Розрахунки CD_{50} і МПК проводили за методом Кербера з урахуванням вихідної концентрації препарату, нанесеного на клітинні моношари.

CD_{50} (цитотоксична концентрація) визначали як таку концентрацію діючої речовини декаметоксину (мкг/мл), що викликала цитотоксичний ефект у половині з оброблених ним клітинних моношарів через 72 години спостереження.

МПК визначали як таку максимальну концентрацію діючої речовини препарату (мкг/мл), що не викликала цитотоксичну дію в жодному з оброблених клітинних моношарів впродовж 72 годин експозиції.

Показники цитотоксичної дії декаметоксину *in vitro* у різних культурах клітин наведена в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Показники цитотоксичної дії декаметоксину *in vitro* у культурах клітин

Культура клітин	CD_{50} , мкг/мл			МПК мкг/мл		
	24 год	48 год	72 год	24 год	48 год	72 год
HEP-2	3,2	3,4	3,5	1,563	1,5	1,6
MDCK	12,5	12,7	13,1	6,25	6,7	6,4
ВНК-21	390,6	400,0	402,3	181,67	200,0	210,0
ФЕК	98,0	100,0	102,2	40,00	41,8	42,0
ФЕКс	100,0	102,2	102,2	41,10	42,4	42,2

Розрахунок середніх цитотоксичних доз декаметоксину в культурі клітин HEP-2 показав, що його CD_{50} становила 3,2 мкг/мл і знаходилась у межах (2,6–3,7) мкг/мл. Відповідно МПК дорівнювала 1,6 мкг/мл і знаходилась у межах (1,3–1,8) мкг/мл (рис. 4.1).

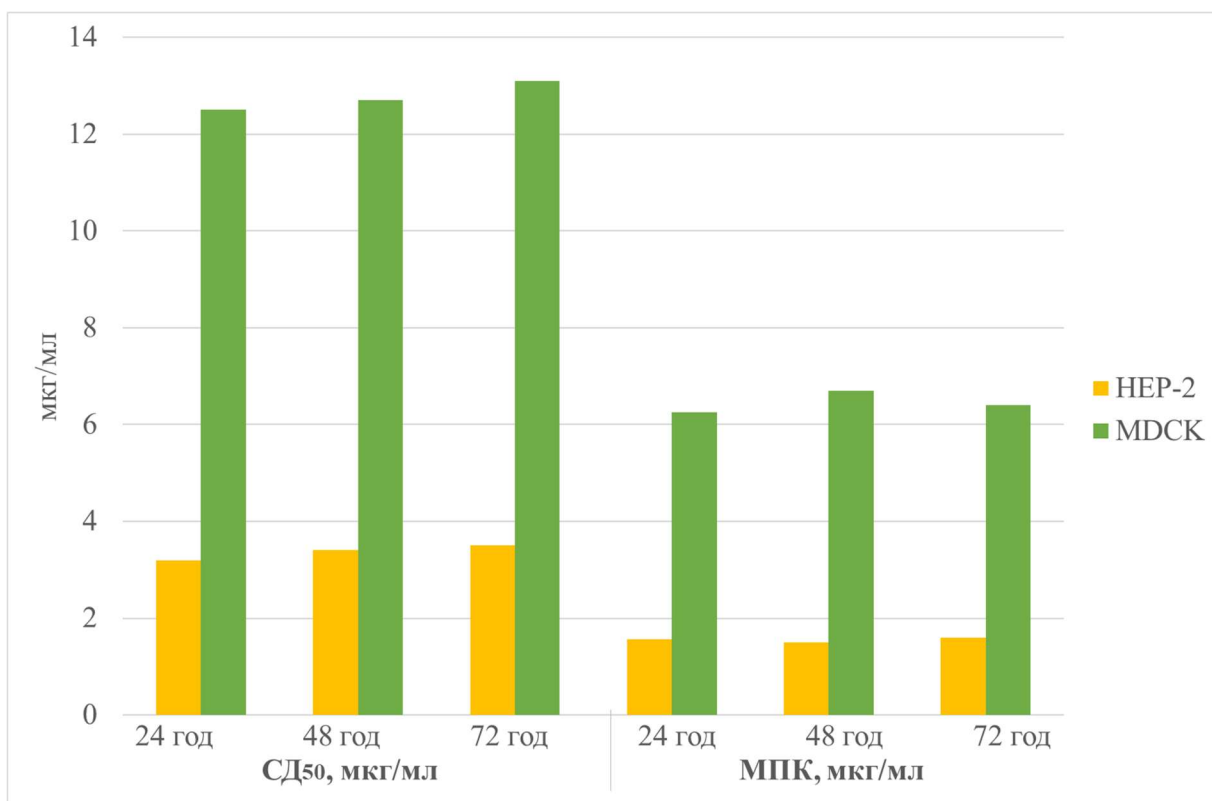


Рис. 4.1. Показники цитотоксичної дії декаметоксину *in vitro* у культурах клітин HEP-2 та MDCK

При дослідженні цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин MDCK встановлено, що CD_{50} складала 12,5 мкг/мл і знаходилась у межах (10,5–14,9) мкг/мл. МПК декаметоксину у цій культурі клітин становила 6,3 мкг/мл і знаходиться в межах (5,3–7,4) мкг/мл (рис. 4.1).

У первиннотрипсинізованій культурі клітин ФЕК і субкультурі ФЕКс CD_{50} декаметоксину становила 100 мкг/мл і знаходилась у межах (73–125) мкг/мл, відповідно МПК декаметоксину в цій культурі дорівнювала 41,8 мкг/мл і знаходилась у межах (31,2–62,5) мкг/мл (рис. 4.2).

У культурі клітин ВНК-21 CD_{50} декаметоксину складала 400 мкг/мл і знаходилась у межах (316,2–500) мкг/мл, відповідно МПК для декаметоксину становила 181,7 мкг/мл і знаходилась у межах (100–250) мкг/мл (рис. 4.2).

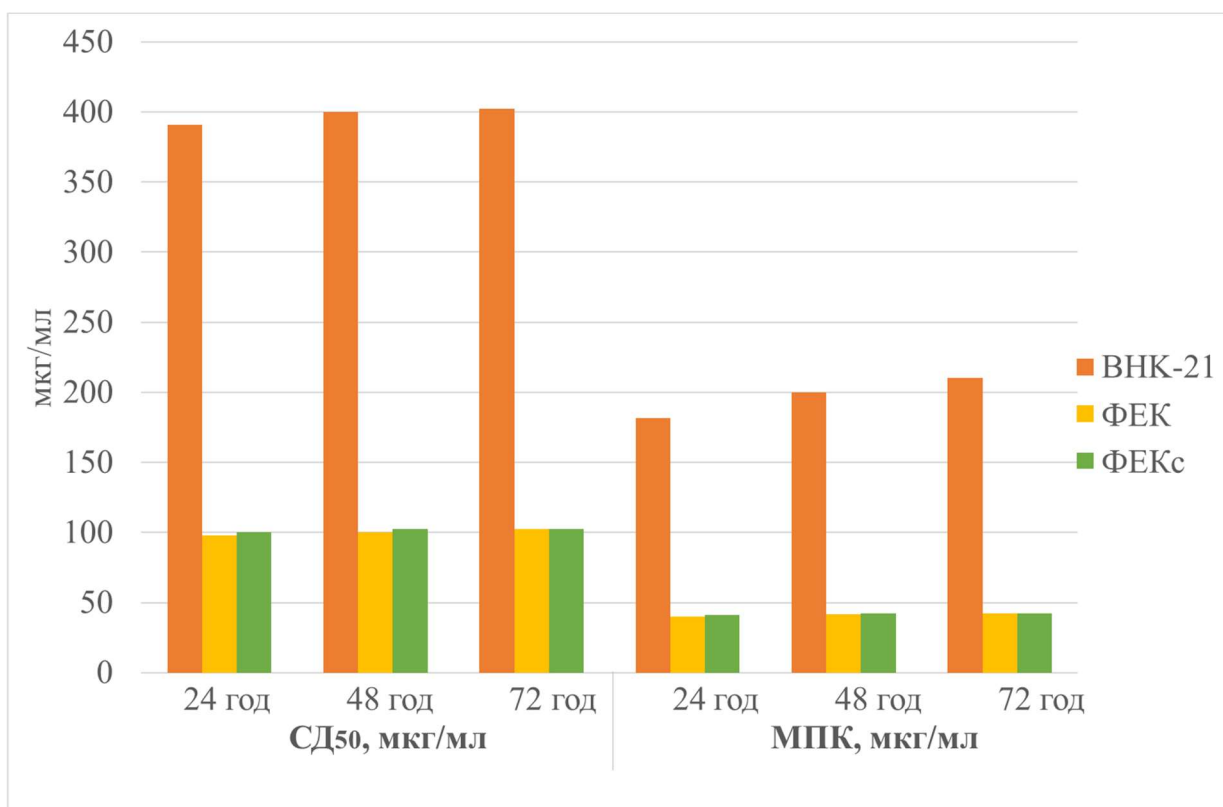


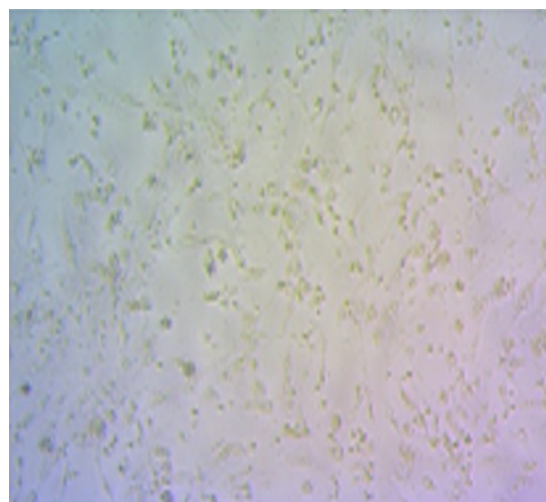
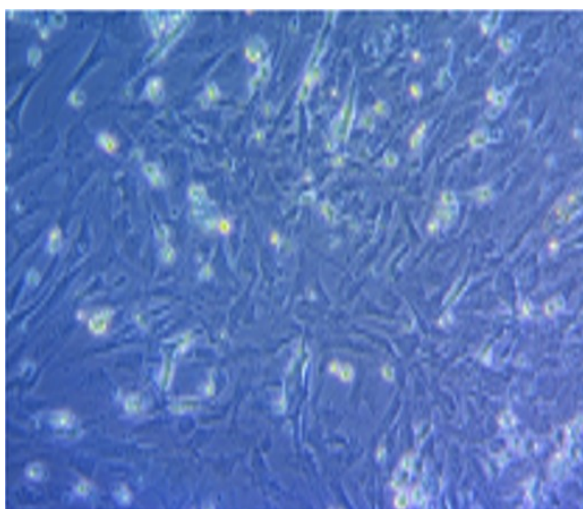
Рис. 4.2. Показники цитотоксичної дії декаметоксину *in vitro* у культурах клітин ФЕК, ФЕКс та ВНК-21

Методом світлової мікроскопії показано, що при МПК в інтервалі – 62,5–41,8 мкг/мл клітини культур ФЕК, нативний препарат, були не ушкоджені і за морфологією не відрізнялись від інтактних клітин в контролі.

При забарвленні за Романовським-Гімзою підтверджено нормальний морфологічний стан культури (рис. 4.3).

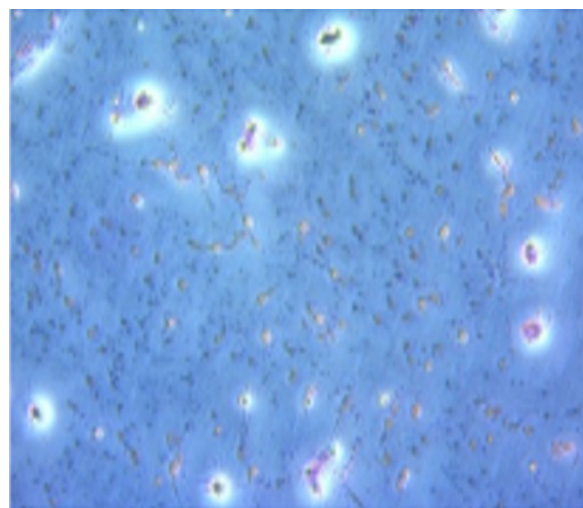
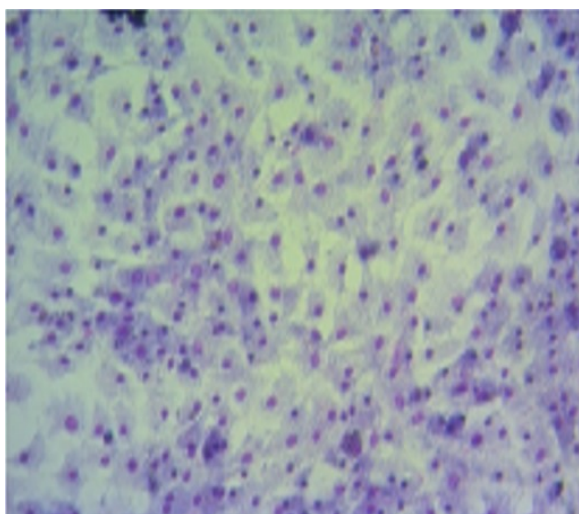
Результати, отримані в аналогічних дослідженнях цитотоксичної дії декаметоксину в культурі клітин ВНК-21, представлені на рис. 4.4. Показано, що при CD_{50} декаметоксину 400 мкг/мл, виявляється чітка цитотоксична дія препарату в половині оброблених клітинних культур.

Таким чином, встановлено, що цитотоксична дія декаметоксину в дослідженнях *in vitro* залежала від виду культури клітин, повністю реалізувалась через 24 години після його нанесення на клітинні моношари і залишалась незмінною впродовж всього періоду спостереження до 72 год.



Культура клітин, МПК (62,5-41,8 мкг/мл), нативний препарат (x20)

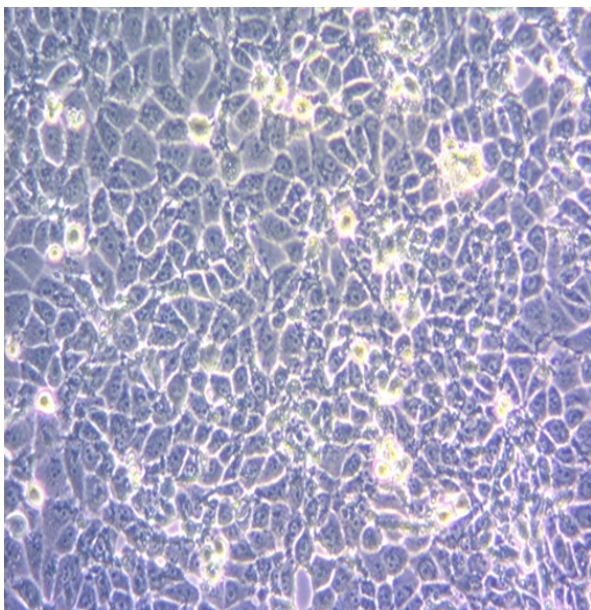
Цитотоксична дія декаметоксину, CD_{50} (100 мкг/мл), нативний препарат



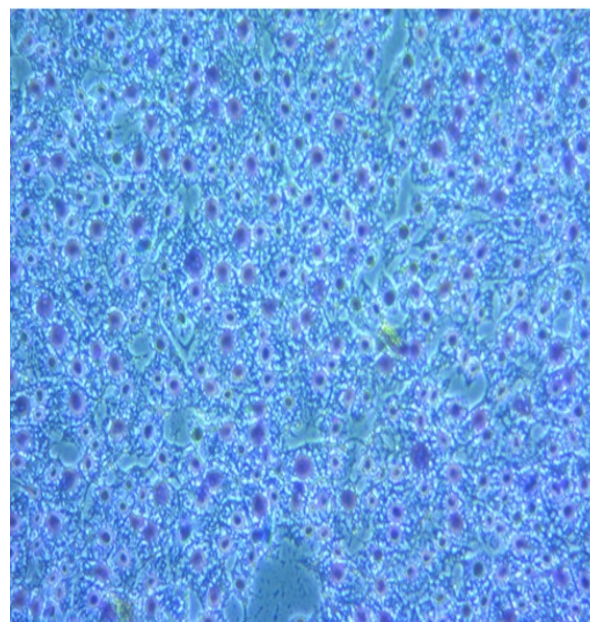
Культура клітин, МПК (62,5-41,8 мкг/мл), пофарбований препарат

Цитотоксична дія декаметоксину, CD_{50} (100 мкг/мл), пофарбований препарат (x20)

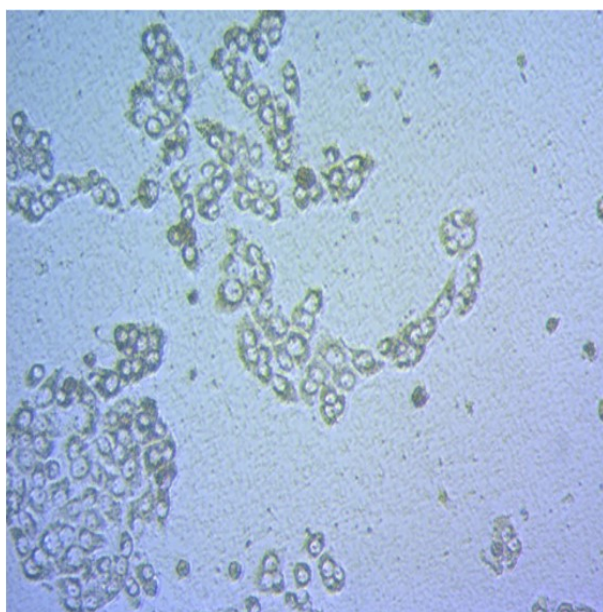
Рис. 4.3. Цитотоксична дія декаметоксину в культурі клітин ФЕК



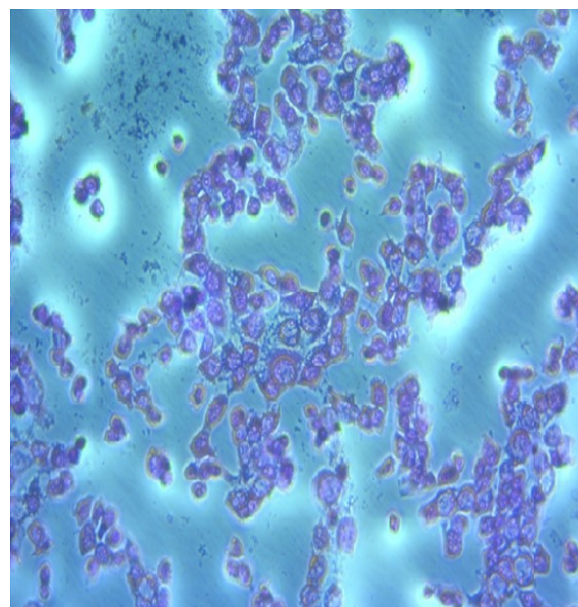
ВНК-21 (x20) Контрольна культура, нативний препарат



ВНК-21 (x20) Контрольна культура, фарбований препарат



ВНК-21 (x20) цитотоксична дія декаметоксину (1000 мкг/мл), нативний препарат



ВНК-21 (x20) Цитотоксична дія декаметоксину (1000 мкг/мл), фарбований препарат

Рис. 4.4. Цитотоксична дія декаметоксину в культурі клітин ВНК-21

При оцінці цитотоксичної дози декаметоксину при аналізі життєздатності клітин з використанням МТТ-тесту згідно з інструкцією по застосуванню користувалися наступними принципами:

Оптичну густина (OD – optical density) розчину в лунках планшетів вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 550 нм. При дослідженні цитотоксичної дії готувались дворазові серійні розведення у підтримуючому середовищі вихідного розчину декаметоксину з концентрацією 200 мкг/мл від 2^{-1} до 2^{-7} , які відповідали передбачуваним концентраціям: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563 мкг/мл. Одержані зразки вносились у лунки 96-лункового планшета на сформовані попередньо відмиті від РС клітинні моношари по 100 мкл на лунку, по 4 моношари на кожне розведення. Культури інкубувались при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂, життєздатність клітин визначалась через 24 і 48 годин культивування.

Значення CD₅₀ розраховувалось на основі моделей логістичної регресії.

За допомогою МТТ-тесту встановлено, що CD₅₀ декаметоксину через 24 год культивування, за моделлю логістичної регресії, дорівнювала 6,34 мкг/мл, а через 48 годин – 3,63 мкг/мл. (рис. 4.5, 4.6).



Рис. 4.5. Регресійний аналіз концентрації CD_{50} декаметоксину через 24 години впливу на клітинний моношар.

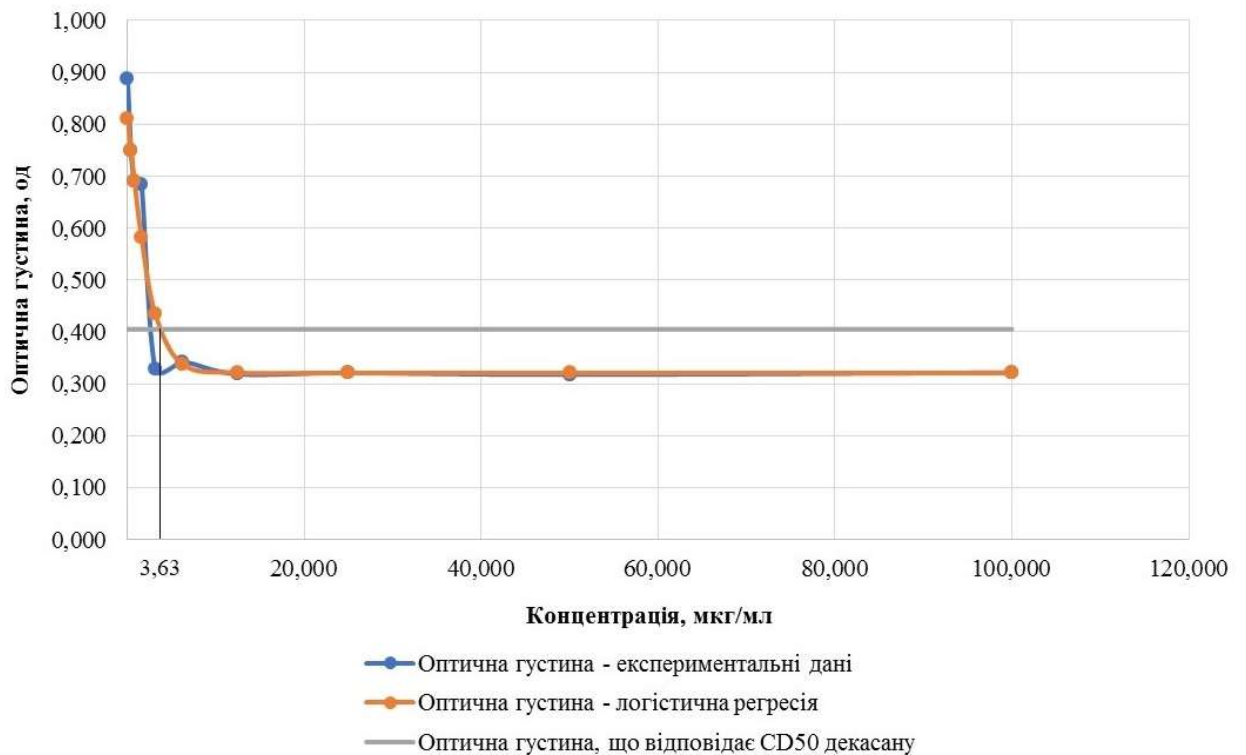


Рис. 4.6. Регресійний аналіз концентрації CD_{50} декаметоксину через 48 годин впливу на клітинний моношар

4.2. Визначення протівірусної дії декаметоксину по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV в культурах клітин ФЕК та ФЕКс

Для визначення протівірусної дії дезінфекційних засобів обрано та застосовано суспензійний метод. Саме він дозволяє забезпечити контакт досліджуваного дезінфікуючого засобу з концентрованим вірусомісним матеріалом у рідкому середовищі, надає можливість моделювати умови дезінфекції біологічних рідин і є відносно безпечний при виконанні для персоналу лабораторії.

При проведенні досліджень протівірусної дії готового до вживання декаметоксину, його використовували без розведення в концентраціях 0,02 – 0,1 %. У концентрації 0,02 % декаметоксин пропонується згідно з інструкцією до застосування. Обов'язково враховували час експозиції, та показники цитотоксичної дії на моношар клітин.

Після завершення контакту вірусомісної рідини з дезінфектантом готували послідовні десятиразові серійні розведення (від 10^{-1} до 10^{-10}) в підтримуючому живильному середовищі. Титр вірусу в них та залишкову інфекційність визначали за методом Кербера.

Враховувалось, що основним показником ефективності декаметоксину в заданих концентраціях і тривалості експозиції 30 хв була повна відсутність ознак репродукції вірусу у початковому титрі. Розраховувалось, що зниження інфекційного титру тест-вірусу має бути не менше ніж на 4 lg ТЦД₅₀/мл в порівнянні з контролем [230], хоча у скринінгових дослідженнях інших авторів, мінімальною величиною зниження інфекційного титру тест-вірусу за час експозиції, яка свідчить про наявність протівірусної дії, вважається 2 lg ТЦД₅₀/мл.

У роботі суспензію клітин ФЕК та субкультури ФЕКс у ростовому середовищі в посівній концентрації 10^6 кл/мл вносили у лунки планшетів і культивували 48 годин до формування клітинного моношару, якість якого контролювали під інвертованим мікроскопом. Ростове середовище із лунок

планшетів повністю видаляли, а клітини промивали підтримуючим середовищем без сироватки, після чого рідину із усіх лунок видаляли.

Використовували вибраний модельний штам коронавірусу IBV1 (у вигляді алантоїсної рідини) та модельний штам коронавірусу IBV2 культивували у клітинах ФЕК і ФЕКс впродовж кількох пасажувань з наступним визначенням інфекційного титру. Інфекційний титр IBV1 в культурах клітин ФЕК і ФЕКс дорівнював $4,0 \log_2$ ТЦД₅₀/0,1 мл, а у зразку IBV2 становив $7,0 \log_2$ ТЦД₅₀/0,1 мл.

У дві пробірки вміщували по 1 мл нерозведених IBV1 і IBV2, додавали декаметоксин до кінцевої концентрації 200 мкг/мл, що відповідало 2 МПК, визначеному у попередніх дослідженнях. Зразки інкубували при 37 °С впродовж 30 хв. Тривалість експозиції визначена вимогами інструкції до застосування декаметоксину, при обробці медичних інструментів та обладнання (трубок, загубників тощо), при зануренні їх у розчин препарату на 30 хвилин. Проведення випробувань супроводжувалось контролюями: контроль клітин, контроль інфекційної дози вірусу.

Після закінчення експозиції готували послідовні дворазові серійні розведення всіх одержаних зразків та контролів. Зразки наносили на попередньо відмиті клітинні моношари культур ФЕК та ФЕКс. Використовували по 4 моношари для дослідження кожного зразка та відповідних контролів. Планшети з інфікованими клітинними моношарами вміщували у термостат та інкубували при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂, щоденно контролюючи прояви цитопатичної дії вірусу у лунках. Остаточний результат досліджень враховували при повному прояві ЦПД в контролі вірусу, за відсутності порушення цілісності клітинних моношарів в контролі клітин. Остаточний облік результатів проводили через 72 годин. Результати дослідження протівірусної дії декаметоксину по відношенню до IBV1 і IBV2 представлені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

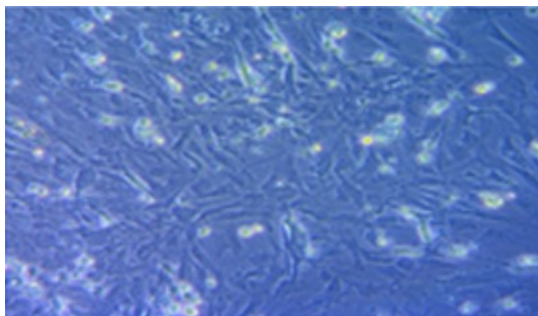
**Визначення протівірусної дії декаметоксину по відношенню до IBV1
та IBV2 в культурі клітин ФЕК**

Досліджуваний зразок	Інфекційний титр IBV, \log_2 ТЦД ₅₀ /0,1 мл		
	Тривалість спостереження		
	24 год	48 год	72 год
IBV1	2,5	4,0	4,0
IBV1 + декаметоксин, 200 мкг/мл	1,5	3,0	3,0
Зменшення інфекційного титру IBV1, \log_2 ТЦД ₅₀ /0,1 мл	1,0	1,0	1,0
IBV2	6,0	8,0	8,0
IBV2 + декаметоксин, 200 мкг/мл	3,0	4,75	5,25
Зменшення інфекційного титру IBV2, \log_2 ТЦД ₅₀ /0,1 мл	3,0	3,25	2,75

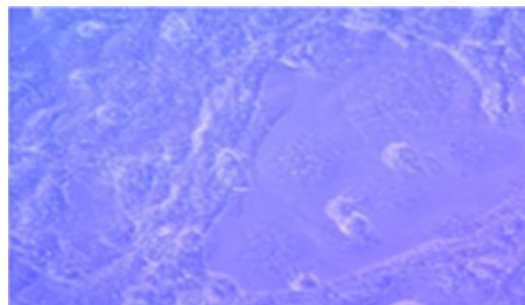
Протівірусна дія декаметоксину на коронавірус в культурі клітин ФЕК представлена на рис. 4.7.

За результатами трьох послідовних випробувань показано, що досліджуваний розчин декаметоксину в концентрації 200 мкг/мл, виявляє протівірусну дію по відношенню до IBV2, зменшуючи його інфекційний титр на 2,75–3,0 \log_2 ТЦД₅₀/0,1 мл. У той же час препарат по відношенню до IBV1 протівірусної дії в цій же концентрації не виявляє, що, можливо, пов'язано з великим вмістом білку в алантоїсній рідині.

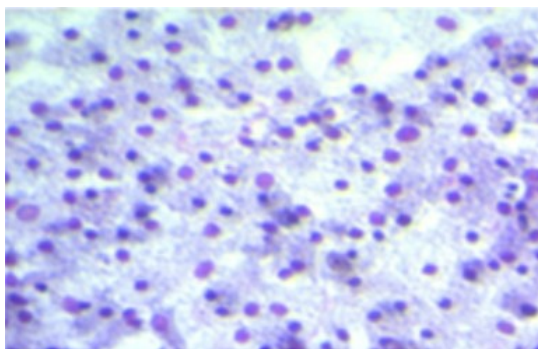
Таким чином, розчин декаметоксину в дозі 200 мкг/мл (0,02 % розчин) за показником протівірусної дії по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV2 може розглядатись як ефективний дезінфікуючий засіб у випадку відсутності значного білкового навантаження.



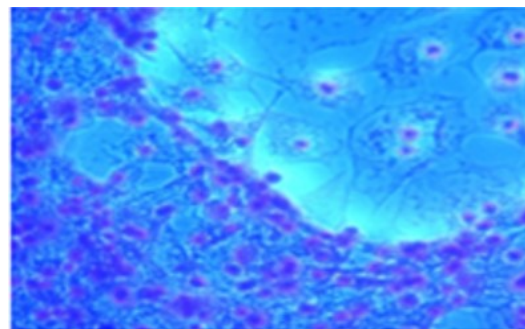
Культура клітин ФЕК, декаметоксин в дозі 100 мкг/мл, 100 ТЦД₅₀ IBV, нативний препарат (x40)



Контроль вірусу, Культура клітин ФЕК 100 ТЦД₅₀ IBV, нативний препарат (x40)



Культура клітин ФЕК, декаметоксин в дозі 100 мкг/мл, 100 ТЦД₅₀ IBV, пофарбований препарат (x40)



Контроль вірусу, 100 ТЦД₅₀ IBV, пофарбований препарат (x40)

Рис. 4.7. Протівірусна дія декаметоксину на коронавірус IBV2 в культурі клітин ФЕК

4.3. Визначення протівірусної дії декаметоксину по відношенню до прототипного штаму коронавірусу IBV в культурі клітин ВНК-21

Суспензію клітин ВНК-21 у ростовому середовищі в посівній концентрації $0,5 \times 10^6$ кл/мл вносили у лунки планшетів і культивували 48 годин до формування клітинного моношару, якість якого контролювали під інвертованим

мікроскопом. Ростове середовище із лунок планшету повністю видаляли, а клітини промивали підтримуючим середовищем без сироватки, після чого рідину з усіх лунок видаляли.

Прототипний штам коронавірусу IBV1 та IBV3 культивували у культурі клітин ВНК-21 впродовж кількох пасажувань з наступним визначенням інфекційного титру вірусу. Інфекційний титр у культурі клітин ВНК-21 складав для IBV1 $5,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$, а у зразку IBV3 – $6,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$.

У дві пробірки вміщували по 1 мл IBV1 та IBV3 у встановлених титрах, додавали декаметоксин до кінцевої концентрації 1000 мкг/мл, що відповідало приблизно 5 МПК. Зразки інкубували при 37 °С впродовж 30 хв. Після закінчення експозиції готували послідовні десятиразові серійні розведення всіх одержаних зразків та контролів (від 10^{-1} до 10^{-10}) у підтримуючому середовищі. Зразки наносили на відповідні попередньо відмиті клітинні моношари культури ВНК-21, використовуючи по 4 моношари для дослідження кожного з них та відповідних контролів.

Планшети з інфікованими клітинними моношарами інкубували при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂, щоденно контролюючи прояв цитопатичної дії вірусу в лунках. Остаточний результат враховували при повному прояві ТЦД в контролі вірусу і за відсутності порушення цілісності клітинних моношарів в контролі клітин. Облік результатів проводили через 72 години.

Результати дослідження противірусної дії декаметоксину по відношенню IBV представлені в таблиці 4.3.

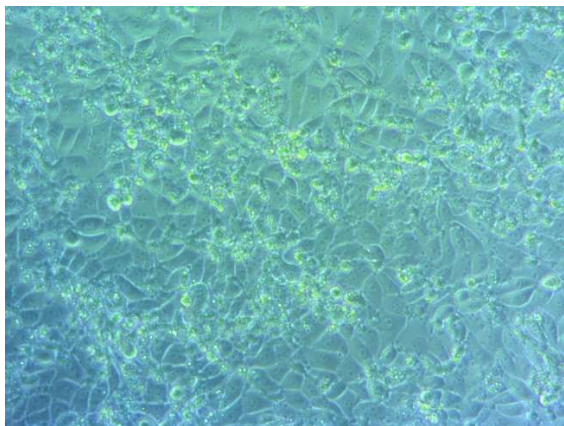
Таблиця 4.3

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

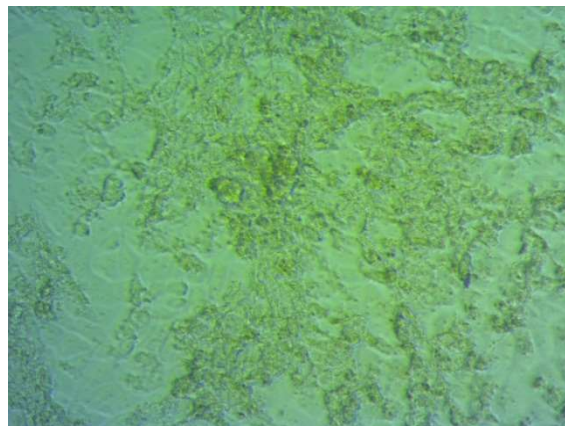
Досліджуваний зразок	Інфекційний титр IBV, lgТЦД ₅₀ /0,1 мл		
	Тривалість спостереження		
	24 год	48 год	72 год
IBV1	5,5	8,0	8,5
IBV1 + декаметоксин, 1000 мкг/мл	<0,5	1,5	3,0
Зменшення інфекційного титру IBV1, lgТЦД ₅₀ /0,1 мл	5,0	6,5	5,5
IBV3	6,0	8,0	8,0
IBV3 + декаметоксин, 1000 мкг/мл	1,5	2,5	3,0
Зменшення інфекційного титру IBV3, lgТЦД ₅₀ /0,1 мл	3,0	5,5	5,0

Протівірусна дія декаметоксину на коронавірус у культурі клітин ВНК-21 представлена на рис. 4.8.

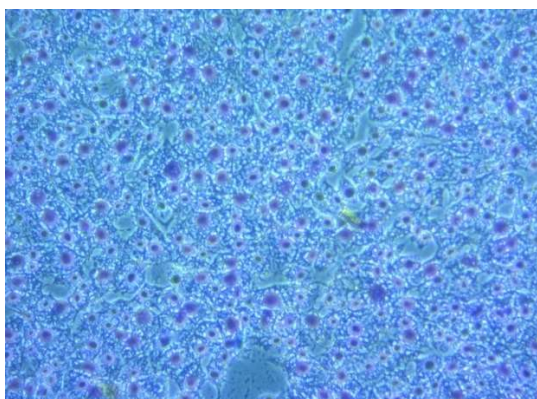
За результатами трьох послідовних випробувань показано, що досліджуваний розчин декаметоксину в концентрації 1000 мкг/мл, виявляє протівірусну дію по відношенню до IBV3, зменшуючи його інфекційний титр на 5,0–6,5 lg ТЦД₅₀/0,1 мл. По відношенню до IBV1 декаметоксин в дозі 1000 мкг/мл також виявляє протівірусну дію в зазначеній концентрації, знижуючи інфекційний титр IBV1, навіть при високому вмісті білку в зразку.



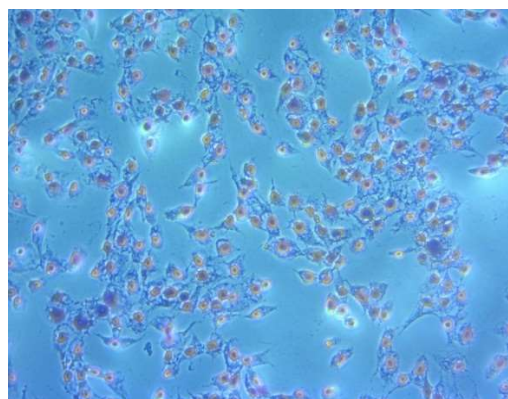
ВНК-21 (x20), контрольна культура,
нативний препарат



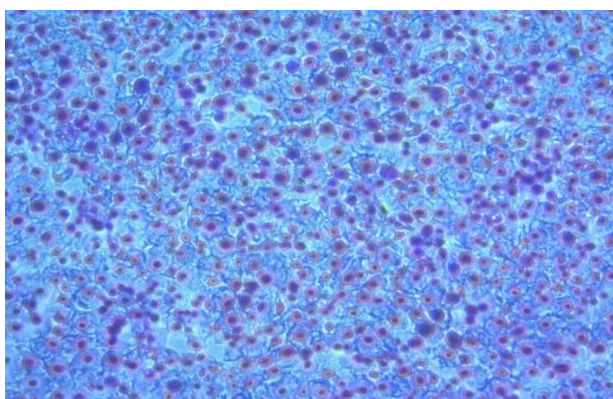
ВНК-21 (x20), інфікована IBV1
культура, нативний препарат



ВНК-21 (x20), контрольна культура,
фарбований препарат



ВНК-21 (x20), інфікована IBV1
культура, фарбований препарат



ВНК-21 (x20), культура оброблена IBV1 + декаметоксин (1000 мкг/мл),
фарбований препарат

Рис. 4.8. Протівірусна дія декаметоксину на IBV в культурі клітин ВНК-21

Попередні дослідження противірусної дії декаметоксину виконані згідно з методичними рекомендаціями [240], де було регламентовано режим інактивації вірусів впродовж 30–60 хвилин при 37 °С з наступним визначенням залишкового інфекційного титру вірусу. Проте в науковій літературі розглядаються більш короткотривалі режими впливу четвертинних амонієвих сполук, впродовж кількох хвилин, що в умовах пандемії COVID-19 набуває надзвичайної актуальності [241]. Це пов'язано з необхідністю ефективно знезаражувати медичні інструменти, що контактують з органами дихання пацієнтів, предметів догляду за хворими і поверхонь, контамінованих коронавірусами, засобів індивідуального захисту, дезінфікувати шкіру рук тощо. Особливого значення набуває короткотривале застосування антисептиків у клінічній отоларингологічній і пульмонологічній практиках для промивання носа, полоскання горла [242–244].

У роботі використовувались IBV з інфекційним титром 3,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл та не розбавлений фармацевтичний розчин декаметоксину, в якому концентрація декаметоксину, як діючої речовини, становила 0,2 мг/мл (200 мкг/мл). Для нейтралізації декаметоксину з метою миттєвої зупинки реакції та знешкодження цитотоксичної дії надлишку препарату застосовувався розчин сульфонулу.

У 3 пробірки вносилося по 1,0 мл зразку IBV і додавалось по 1 мл декаметоксину до кінцевої концентрації 100 мкг/мл. Час контакту вірусомісної рідини з декаметоксином становив 10, 20, 30, 60, 120 і 1800 с за кімнатної температури (18–24 °С). Після цього в кожену пробірку додавався рівний об'єм розчину нейтралізатора. Вміст пробірок перемішувався і осад, що утворився, ретельно відділявся центрифугуванням.

Готувались десятиразові серійні розведення надосадової рідини у ПС і вносились у лунки 96-лункового культурального планшета на сформовані попередньо відмиті клітинні моношари культури ВНК-21. По 4 моношари використовувалось на кожне розведення. Дослідження супроводжувались

відповідними контролями: життєздатності клітин, інфекційного титру вірусу, токсичності нейтралізатора та декаметоксину. Культури клітин ВНК-21 інкубувались при 37 °С в атмосфері CO₂ з контролем прояву ЦПД IBV через 24 і 48 годин під інвертованим мікроскопом. Залишковий інфекційний титр IBV в пробах розраховувався за методом Кербера. Обчислювалося зменшення інфекційного титру вірусу після інактивації декаметоксином (Δ) і розраховувалось за формулою:

$$\Delta = A_{\text{КВ}} - A_{\text{д}};$$

де:

Δ – Зменшення інфекційного титру IBV в культуральній рідині після експозиції з декаметоксином (lg ТЦД₅₀/0,1 мл)

$A_{\text{КВ}}$ – інфекційний титр вірусу при культивуванні без обробки препаратом (lg ТЦД₅₀/0,1 мл)

$A_{\text{д}}$ – інфекційний титр вірусу після експозиції з препаратом 30, 60 і 120 с (lg ТЦД₅₀/0,1 мл).

Результати, представлені в таблиці 4.4 свідчать, що IBV з інфекційним титром 3,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл повністю інактивувався розчином декаметоксину в концентрації 0,1 мг/мл (100 мкг/мл) при короткій експозиції – впродовж 30, 60 і 120 секунд при кімнатній температурі. Водночас за умов найменшої експозиції декаметоксину (10 і 20 с) спостерігається часткова противірусна активність антисептика, що становить 1 і 2 lg (TCID₅₀/0,1 мл) через 24 і 48 год культивування відповідно. У той же час у контролі (без обробки декаметоксином), інфекційний титр IBV при культивуванні в аналогічних умовах збільшувався з 3,0 до 4,5 і 5,5 lg ТЦД₅₀/0,1 мл через 24 і 48 год відповідно (рис. 4.9). У контролі клітин моношар культури ВНК-21 залишався без порушень цілісності і проявів осередків дегенерації. Не спостерігалось також проявів токсичної дії в контролях нейтралізатора та декаметоксину. Останнє свідчить про повну нейтралізацію декаметоксину в концентрації 100 мкг/мл сульфолом,

оскільки в цій концентрації він повністю інактивує IBV, але є токсичним для культури клітин ВНК-21.

Таблиця 4.4

Інактивація IBV декаметоксином в концентрації 100 мкг/мл

Характеристика Зразка	Початковий інфекційний титр, lg ТЦД ₅₀ /0,1 мл	Інфекційний титр IBV, lg ТЦД ₅₀ /0,1 мл через		Δ Зменшення інфекційного титру IBV, через	
		24 год	48 год	24 год	24 год
IBV, контроль (1)	3,0	4,5	5,5	-	-
IBV + декаметоксин (10 с) (2)	3,0	1,5	2,0	3,0	3,5
IBV + декаметоксин (20 с) (3)	3,0	1,0	1,5	3,5	4,0
IBV + декаметоксин (30 с) (4)	3,0	<0,5	<0,5	4,0	5,0
IBV + декаметоксин (60 с) (5)	3,0	<0,5	<0,5	4,0	5,0
IBV + декаметоксин (120 с) (6)	3,0	<0,5	<0,5	4,0	5,0
IBV + декаметоксин (1800 с) (7)	3,0	<0,5	<0,5	4,0	5,0

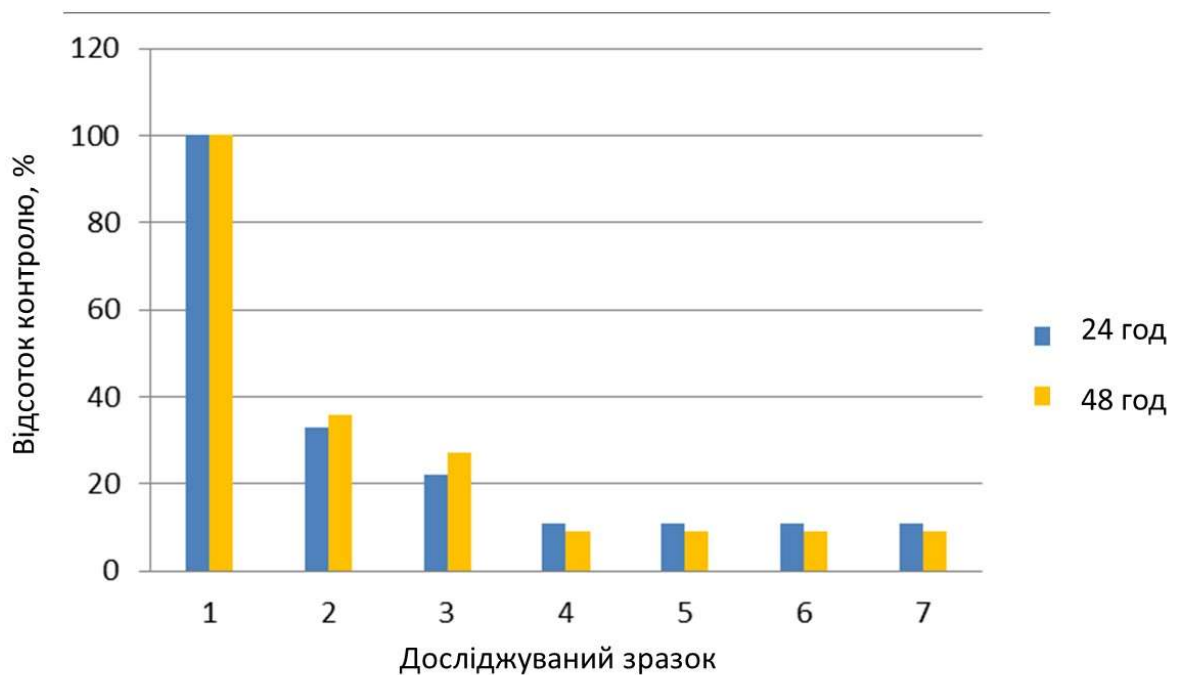
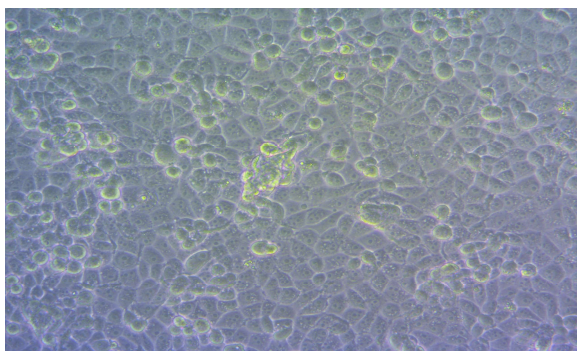


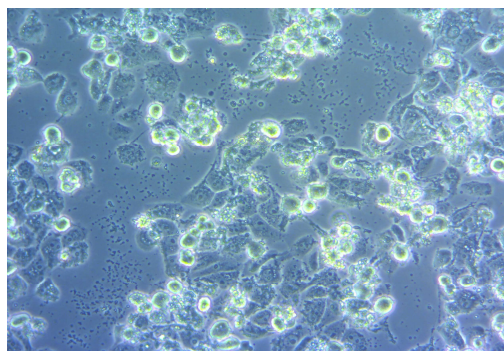
Рис. 4.9. Порівняльний аналіз результатів протівірусної активності декаметоксину *in vitro* за різних умов експерименту, відсоток до контролю

На рис. 4.10 представлені мікрофотографії культури клітин ВНК-21, інфікованої IBV після інактивації декаметоксином впродовж 30 с через 48 год культивування.

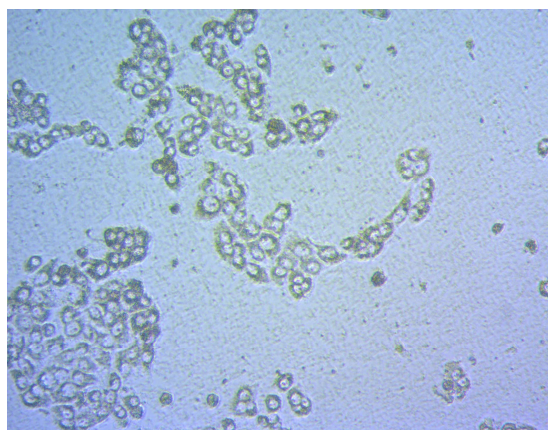
Одержані результати досліджень повністю узгоджуються з роботами по вивченню протівірусної дії водовмісних антисептиків. Так, методом граничних розведень у культурі клітин Vero 76 було показано, що $3,0 \lg$ ТЦД₅₀/0,1 мл SARS-CoV-2 повністю інактивувались ізотонічним розчином йод-повідону в концентрації 0,5 % при клінічно значущих контактах впродовж 15–30 секунд при кімнатній температурі [245].



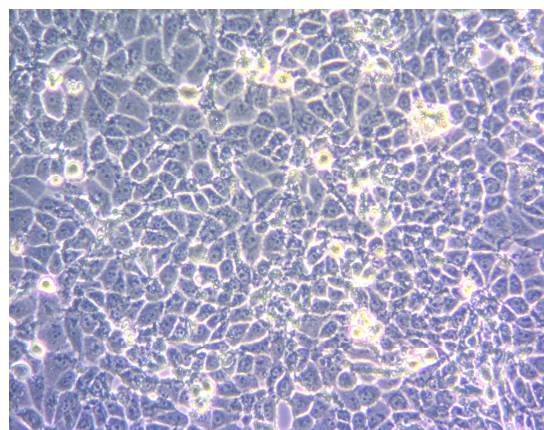
Культура клітин ВНК-21. Контроль (x20)



Культура клітин ВНК-21, інфікована IBV 3,0 lg ТЦД50/0,1 мл, 48 год культивування. (x20) Наявність ЦПД вірусу



Культура клітин ВНК-21, оброблена декаметоксином в концентрації 100 мкг/мл, 48 годин культивування. Наявність цитотоксичної дії декаметоксину.



Культура клітин ВНК-21, інфікована IBV 3,0 lg ТЦД50/0,1 мл інактивованого декаметоксином 100 мкг/мл впродовж 30 с, 48 год культивування. (x20) Відсутність ЦПД вірусу.

Рис. 4.10. Мікроскопічний аналіз клітинних моношарів

4.4. Дослідження *in silico* протівірусної активності декаметоксину

Для дослідження механізму віруліцидної активності декаметоксину було застосовано метод молекулярного докінгу – метод молекулярного моделювання (*in silico*), що дозволяє передбачити найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу орієнтацію та конформацію однієї молекули (ліганда) у сайті зв'язування іншої (рецептора). Докінг, будучи одним з етапів розробки лікарських препаратів, часто використовується для передбачення афінності та

активності невеликої молекули ліків по відношенню до білку-мішені та відіграє важливу роль у даному процесі. Однією з переваг молекулярного докінгу є можливість його автоматизації. У рамках завдання розробки препарату з'являється можливість скринінгу бібліотек низькомолекулярних сполук. Молекулярний докінг дозволяє визначити найбільш оптимальне з'єднання молекул, що взаємодіють, – лікарську сполуку з ряду близьких за складом аналогів, шляхом сканування бібліотек різних з'єднань, як низькомолекулярних, так і комплексних, і оцінювати їхню афінність [272].

У результаті докінгу генерується велика кількість потенційних положень лігандів, деякі з яких відразу відхиляються через наявність зіткнень з молекулою білка. Інші оцінюються з використанням функції оцінки, яка приймає поточне рішення, що вказує на ймовірність того, що рішення докінгу представляє сприятливу зв'язуючу взаємодію. Отже, можна оцінити ефективність зв'язування одного ліганду щодо другого [272].

Як відомо, декаметоксин за своєю хімічною структурою належить до четвертинних амонієвих сполук (ЧАС), що як і катіонні ПАР містять амфифільні молекули та мають широкий спектр антимікробної дії [246]. Їх хімічна структура включає чотири аліфатичні або ароматичні радикали, пов'язані з центральним атомом азоту. Антибактеріальну та протигрибкову активність ЧАС пов'язують з наявністю в їх алкільному ланцюзі від 12 до 16 атомів вуглецю [247].

При цьому антимікробний механізм дії ЧАС заснований на електростатичній взаємодії позитивно зарядженого катіонного елемента ЧАС з негативним зарядом цитоплазматичної мембрани бактерій або грибів, що призводить до дезорганізації мембрани та її аутолізу. У випадку SARS-CoV-2 руйнування ЧАС фосфоліпідного бішару відбувається легше через відсутність клітинної стінки у вірусу [248].

Основною/катіонною структурою ЧАС є четвертинний фрагмент азоту (рис. 4.11), який відіграє важливу біологічну роль у живих системах [249].

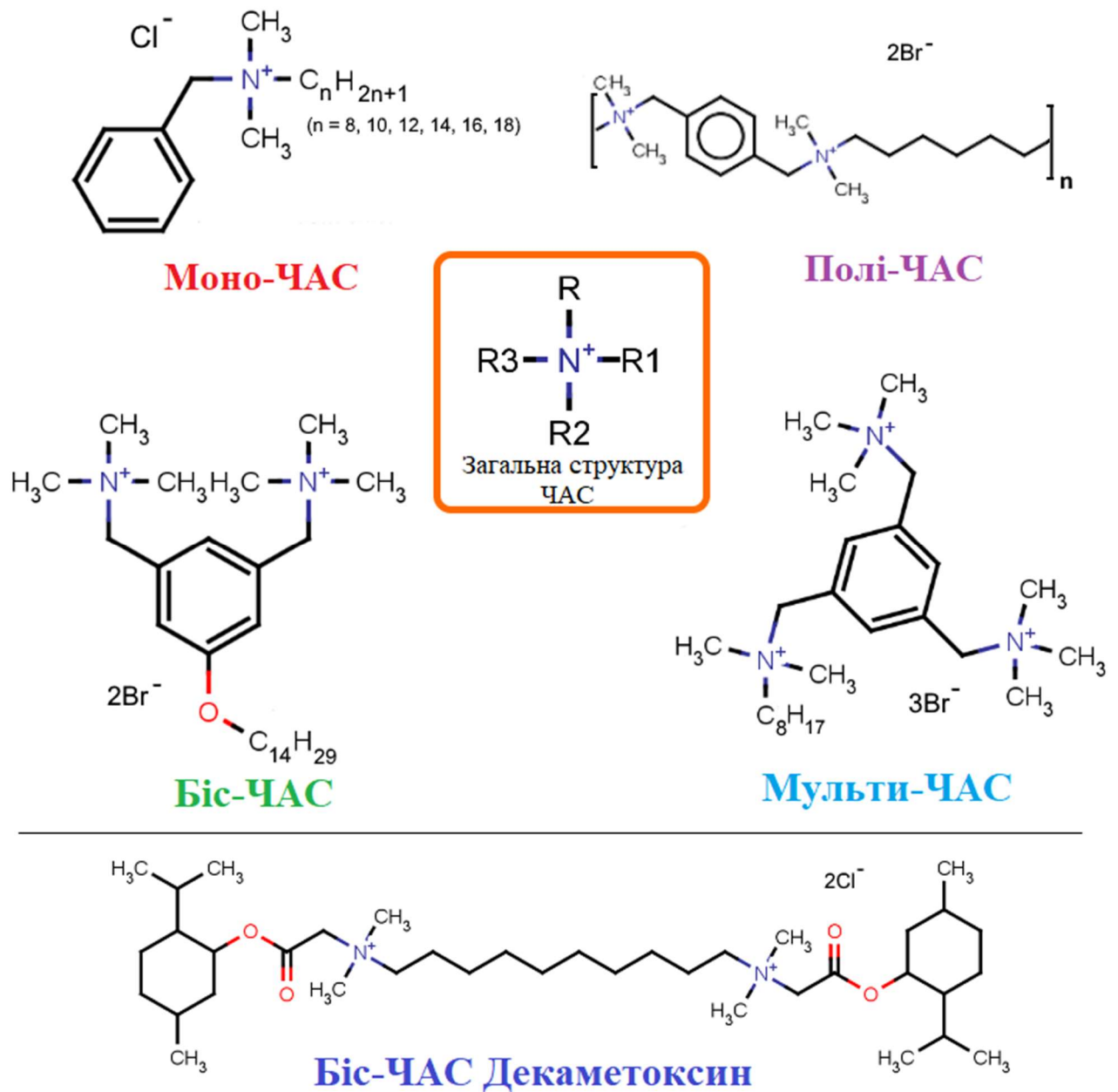


Рисунок 4.11. Структура декаметоксину та ЧАС.

Негативно заряджена аніонна частина (X^-) зазвичай є хлором або бромом і зв'язана з азотом, утворюючи сіль ЧАС. Таке структурне різноманіття дозволяє суттєво змінити/поліпшити ефективність ЧАС та розширити сферу застосування, зокрема при вірусних інфекціях [250]. Існуюча різноманітність структурних особливостей ЧАС дозволяє класифікувати їх на декілька підкласів: моно-, біс-, мульти- та поліпохідні за кількістю заряджених атомів азоту, зокрема в гетероциклічних сполуках (піперидин, піридин, імідазол та ін.) [246].

Противірусна активність ЧАС, зокрема анти-SARS-CoV-2 активність декаметоксину, становить науковий і практичний інтерес для широкого кола дослідників, особливо з точки зору потенційних молекулярних механізмів їх противірусної дії [251–257].

Відомо, що низка вірусних білків є основними мішенями для інгібіторів SARS-CoV-2, до яких належать спайковий S-білок, РНК-полімераза (RdRp) і основна протеаза (Mpro). Mpro, наявна у багатьох штамів, є ключовим ферментом у механізмі реплікації коронавірусу та відповідає за копіювання та відтворення генетичного матеріалу SARS-CoV-2. Тому Mpro часто розглядають як головну мішень у боротьбі з SARS-CoV-2, оскільки її блокування може бути ефективним підходом до запобігання реплікації вірусу. Крім того, Mpro інтенсивно досліджується як головна мішень не тільки для SARS-CoV-2, але й для SARS-CoV і MERS-CoV, а також ентеровірусів, риновірусів і норовірусів [258, 259].

Цистеїнова протеаза Mpro кодується вірусом і містить залишок глютаміну в положенні P1 [260]. Ця структурна особливість відсутня у споріднених протеазах господаря, що вказує на високу селективність Mpro як мішені. [261].

Характерною структурною особливістю інгібіторів Mpro є наявність реакційноздатних функціональних груп (β -кетоамідних, альдегідних, альдегідбісульфітних, акцепторів Міхаеля (N3)), що утворюють ковалентні зв'язки із залишком Cys145 у каталітичному центрі ферменту [262].

Для підтвердження молекулярного докінгу використовували повторне докування ліганду N3 в основні активні сайти протеази. На рисунку 4.12 показано розміщення ліганду N3 і декаметоксину в активному центрі основної протеази IBV. Отриманий ліганд-білковий комплекс показав оцінку енергії зв'язування -8,8 ккал/моль.

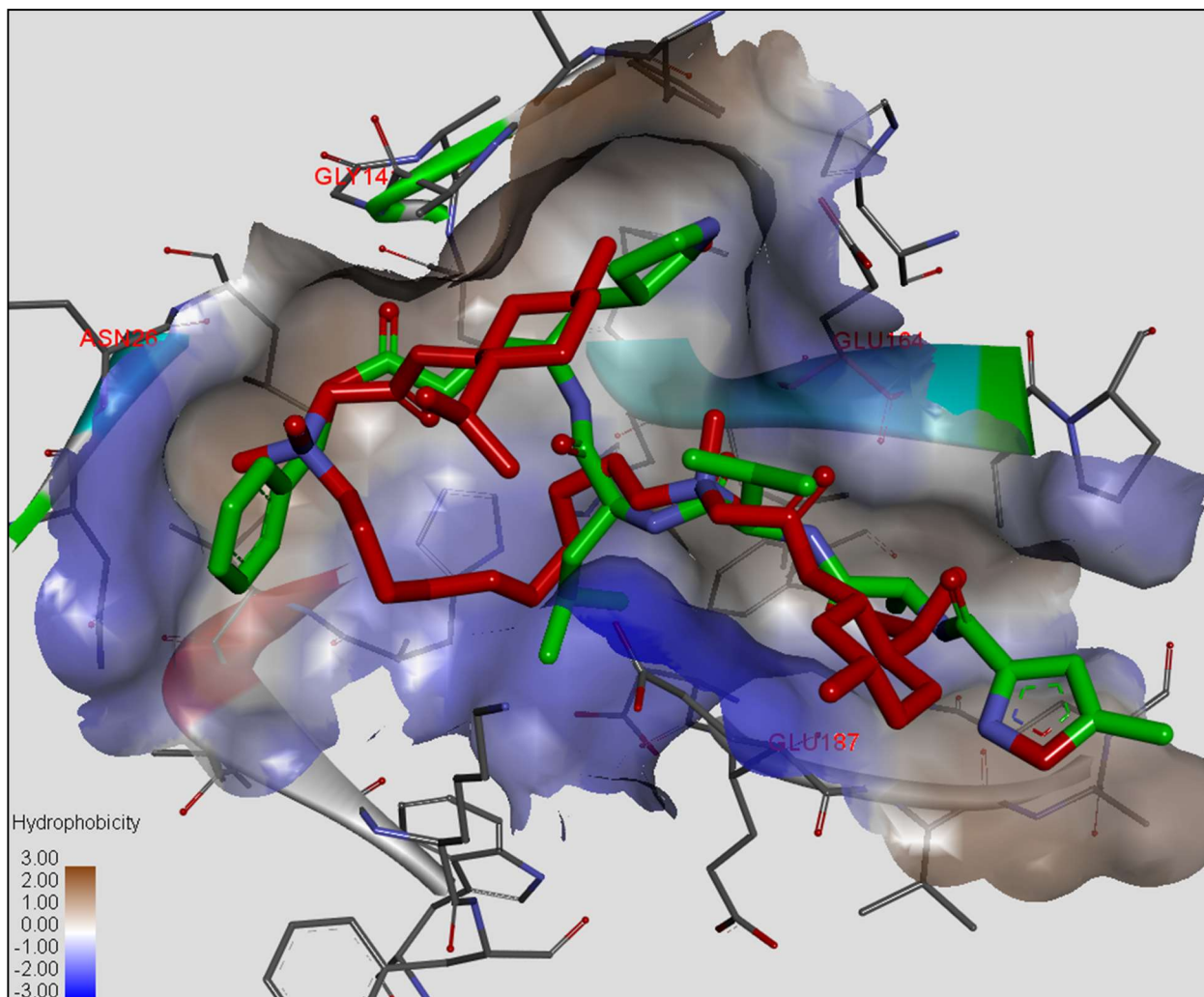


Рис. 4.12. Локалізація ліганду N3 і декаметоксину в активному центрі головної протеази IBV; зелений – інгібітор N3; червоний – декаметоксин.

Сайт зв'язування субстрату основної протеази IBV був використаний для процедури докінгу на основі даних структурного аналізу. Візуальна демонстрація молекулярного докінгу та міжмолекулярних взаємодій декаметоксину представлена на рис. 4.13.

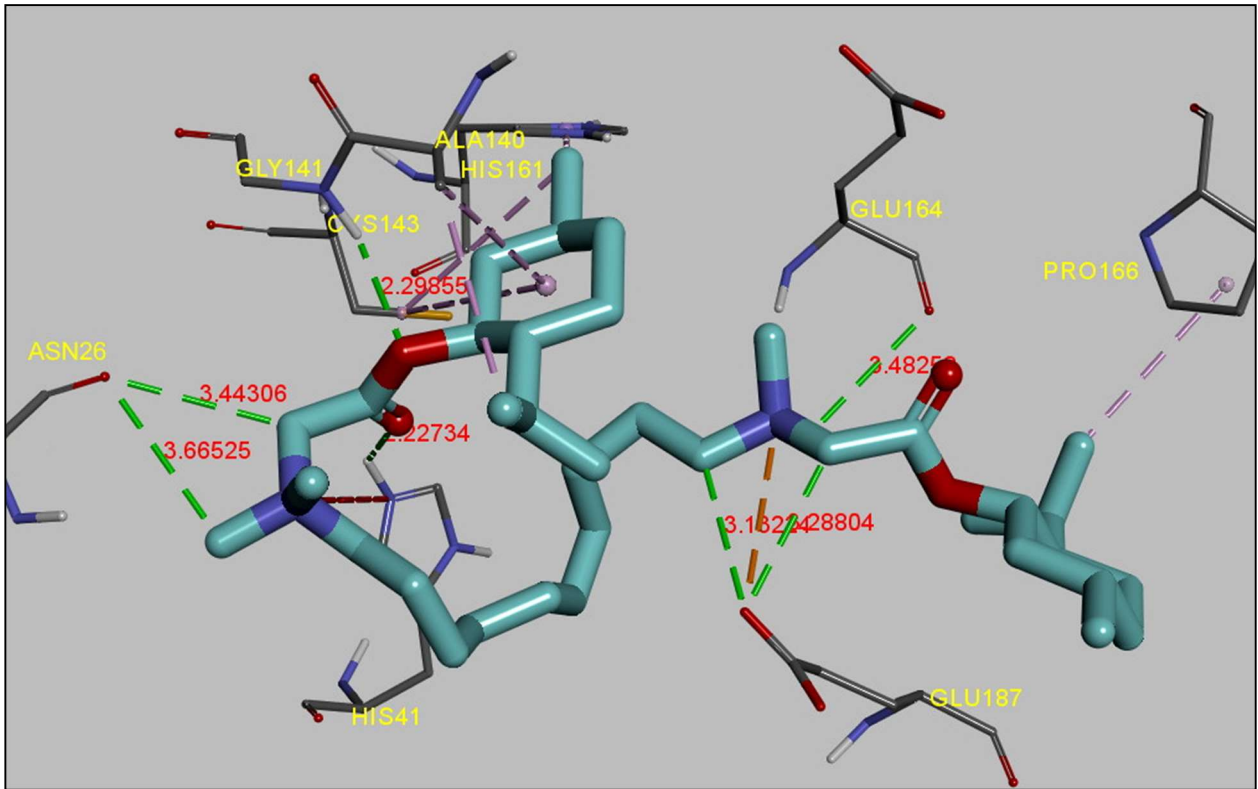


Рис. 4.13. Докінг декаметоксину в активному центрі основної протеази IBV.

Результати докінгу показують, що утворення комплексу ліганд-білок (рис. 4.13) супроводжувалося розрахунковою енергією зв'язування – 8,6 ккал/моль. Цей ліганд-білковий комплекс стабілізується шістьма водневими зв'язками (2,22–3,66Å) з амінокислотами ASN26, GLY141, GLU187 і GLU164, однією електростатичною взаємодією (3,75Å) з GLU187 і п'ятьма гідрофобними взаємодіями (53.189Å) з амінокислотними залишками ALA140, CYS143, HIS161 і PRO166.

Крім того, зв'язування декаметоксину в головному активному місці протеази IBV подібне до інгібітора N3. Амінокислоти ASN26, GLY141, GLU187, GLU164, ALA140, CYS143, HIS161 і PRO166 є ключовими в комплексоутворенні.

Вирівнювання послідовностей. На рис. 4.14 представлено порівняльний аналіз первинних структур основної протеази IBV (2Q6F) та основної протеази

SARS-CoV-2 (7C8B) [263] з використанням NCBI Protein BLAST [264]. Отримані результати (рис. 4.14) свідчать про значну схожість основних протеаз IBV і SARS-CoV-2 – 41 % ідентичності послідовностей і 55 % подібності послідовностей.

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
228 bits(580)	5e-78	Compositional matrix adjust.	129/316(41%)	175/316(55%)	19/316(6%)
Query 1		SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTTLNLGLWLDVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIR			60
		SGF+K+ PS VE C+V V+ LNGLWL D +YCPRHV+ + D+L			
Sbjct 3		SGFKKLVPSSAVEKCIIVSVSYRGNLNLGLWLGDSIYCPRHVLG---KFSGDQWGDVNL			59
Query 61		KSNHNFLVQAGN-VQLRVIGHSMQNCVLKLVDTANPKTPKYKVFRIQPGQTFSVLACYN			119
		+NH F V N V L V+ ++ VL L+ AN +TPKYKFV+ G +F++ Y			
Sbjct 60		ANNHEFEVVTQNGVTLNVVSRRLKGAVLILQTAVANAETPKYKFKVANCNGDSFTIACS			119
Query 120		GSPSGVYQCAMRPNFTIKGSFLNGSCGSGVGFNIIDYDCVDFCYMHHMELPTGVHAGTDLEG			179
		G+ G+Y MR N TI+ SFL G+CGSVGFNI+ V+F YMHH+ELP +H GTDL G			
Sbjct 120		GTVIGLYPVTMRNGTIRASFLAGACGSGVGFNIEKGVVNFYMHHLPLNALHTGTDLMG			179
Query 180		NFYGPFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWLYAAVI-----NGDRWFLNRFTTTLNDFNL			232
		FYG +VD + AQ D +T N++AWLYAA+I + +W L T ++ D+N			
Sbjct 180		EFYGGYVDEEVAQRVPPDNLVTNNIVAWLYAAIISVKESSFSQPKW-LESTTVSIEDYNR			238
Query 233		VAMKYNYEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRT--ILGSALLEDE			290
		A + P + + LSA TG+ D+C L+ ++ + ILG EDE			
Sbjct 239		WASDNGFTPFSTSTA--ITKLSAITGV---DVCKLLRTIMVKSQAQWGSQPILGQYFED			293
Query 291		FTPFDVVRQCSGVTFQ 306			
		TP V Q GV Q			
Sbjct 294		LTPESVFNQVGGVRLQ 309			

Рис. 4.14. Результати білкового BLAST основних протеаз IBV та SARS-CoV-2.

Активні сайти Mpro IBV та SARS-CoV-2 порівнювали за допомогою інструменту «Align» Universal Protein Resource (UniProt) для множинного вирівнювання послідовностей (рис. 4.15) [265].

Вторинні структури ферментів основних протеаз IBV та SARS-CoV-2 порівнювали за допомогою програми UCSF Chimera (рис. 4.16) [266].

Рис. 4.14–4.16 демонструють не тільки високий ступінь подібності досліджуваних ферментів, але й структурну подібність їх активних центрів. Таким чином, можна говорити про значну схожість первинної та вторинної структур основних протеаз коронавірусів IBV та SARS-CoV-2.

Далі було проведено молекулярний докінг декаметоксину в активний центр Mpro SARS-CoV-2 (рис. 4.17).

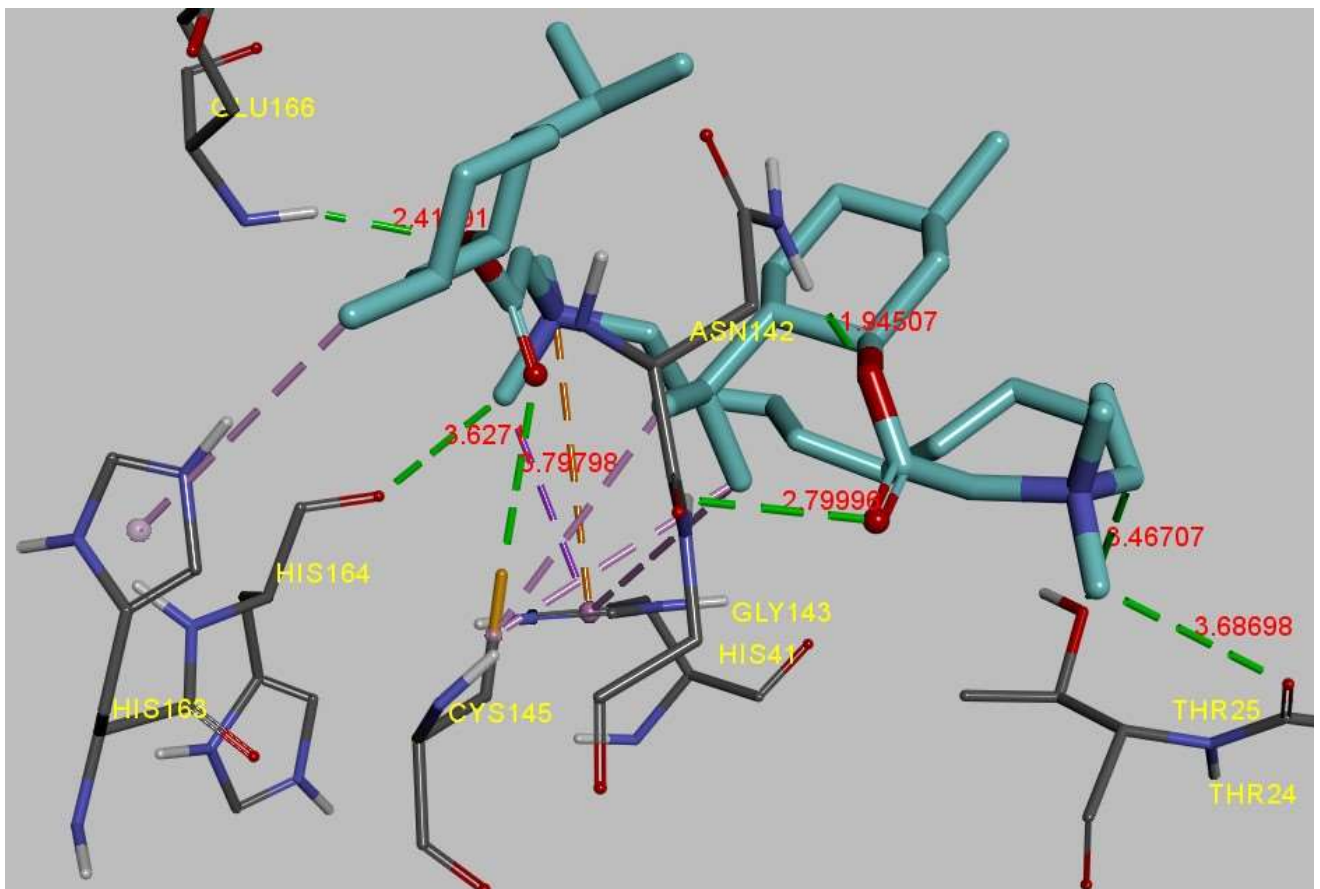


Рис. 4.17. Докінг декаметоксину в активному центрі основної протеази SARS-CoV-2

Результати докінгу демонструють утворення ліганд-білкового комплексу (рис. 4.17) за розрахунковою енергією зв'язку $-8,4$ ккал/моль. Цей комплекс ліганд-білок стабілізується сімома водневими зв'язками ($1,94 - 3,68\text{Å}$) з амінокислотами THR24, THR25, ASN142, GLY143, CYS145, HIS164, GLU166, однією електростатичною взаємодією ($4,84\text{Å}$) з HIS41 та п'ятьма гідрофобними

взаємодіями (3,81 – 4,81Å) з амінокислотними залишками HIS41, CYS145, HIS163. Слід підкреслити утворення водневих, електростатичних та гідрофобних зв'язків між декаметоксином та амінокислотами каталітичної діади HIS41 – CYS145 активного центру M_{pro}.

Таким чином, за допомогою методу молекулярного докінгу був досліджений механізм противірусної активності декаметоксину – встановлена його взаємодія з активним центром основної протеази (M_{pro}) IBV. Виявлений високий ступінь структурної подібності досліджуваних протеаз та їх активних центрів у IBV та SARS-CoV-2 – 41,0 % ідентичності послідовностей і 55,0 % подібності послідовностей – свідчить про значну схожість первинної та вторинної структур коронавірусів IBV та SARS-CoV-2.

Отже, вірус IBV можна розглядати як безпечну для людини модель вірусу SARS-CoV-2, що входять до однієї родини *Coronaviridae* з подібною складною структурою, схожими клітинами-мішенями, однакоvim типом імунологічної реактивності та подібними молекулярними мішенями дії противірусних препаратів, зокрема декаметоксину. Розраховані показники взаємодії декаметоксину в активних центрах IBV M_{pro} та SARS-CoV-2 M_{pro} можуть значно розширити можливості пошуку та аналізу нових противірусних препаратів різних хімічних класів з протикоронавірусною активністю.

Проведені дослідження свідчать, що механізм противірусної дії декаметоксину по відношенню до коронавірусів полягає в блокуванні основної протеази збудника за рахунок утворення стабільного ліганд-білкового комплексу між препаратом та M_{pro} вірусу за розрахунковою енергією зв'язку -8,4 ккал/моль, в результаті чого відбувається інгібування репродукції вірусу та запобігання стрімкого розвитку інфекційного захворювання в організмі пацієнта.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях:

1. Дзюблик О.Я., Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Боророва О.Л. Віруліцидна дія декаметоксину *in vitro* по відношенню до коронавірусу інфекційного бронхіту. Укр. пульмонол. журн. 2020;2:27–30.
DOI: 10.31215/2306-4927-2020-108-2-27-30
2. Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Соловійов С.О., Трохимчук В.В., Боророва О.Л., Яковенко О.К. Ефективність *in vitro* декаметоксину для швидкої інактивації респіраторного коронавірусу. Фармацевтичний журнал. 2022;77(2):87–101.
DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.22.09>
3. Semenyuta I.V., Trokhimenko O.P., Dziublyk I.V., Soloviov S.O., Trokhymchuk V.V., Bororova O.L., Hodyna D.M., Smetiukh M.P., Yakovenko O.K., Metelytsia L.O. Decamethoxin virucidal activity: *in vitro* and *in silico* studies. Ukr.Biochem.J. 2022;94(3):81–91.
DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj94.03.081>

РОЗДІЛ 5. АНТИМІКРОБНА ХІМІОТЕРАПІЯ ТА ВТОРИННА ПРОФІЛАКТИКА ВІРУСНО-БАКТЕРІАЛЬНОЇ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

5.1. Антимікробна хіміотерапія у хворих на негоспітальну пневмонію середньотяжкого перебігу

Обсяг терапевтичних заходів та місце проведення лікування (амбулаторно або в умовах стаціонару) пацієнтів з НП обумовлені ступенем тяжкості захворювання, наявністю у хворих супутньої патології (ХОЗЛ, цукровий діабет, застійна серцева недостатність, цереброваскулярні захворювання, захворювання печінки і нирок з порушеннями їх функції, хронічний алкоголізм та ін.), а також попередньою антибактеріальною терапією (прийом системних антибіотиків протягом ≥ 2 послідовних днів за останні 3 міс). Перераховані фактори вказують на спектр потенційних збудників НП та профіль їх антибіотикорезистентності.

Переважає більшість пацієнтів з легким або середньотяжким перебігом негоспітальної пневмонії з практичних та економічних міркувань не потребують рутинного визначення збудника захворювання, оскільки у 20 – 70 % випадків етіологічна діагностика не дає результату. За результатами мікробіологічних досліджень провідним збудником негоспітальної пневмонії залишається *S. pneumoniae*, рідше – інші типові та атипові бактеріальні збудники. Разом з тим спостерігається стійка тенденція до збільшення частки хворих на первинну вірусну або вторинну вірусно-бактеріальну пневмонію, коли у пацієнта до гострої респіраторної вірусної інфекції з ураженням легень приєднується бактеріальна суперінфекція.

Лікування негоспітальної пневмонії здійснюється із використанням антимікробних лікарських засобів, за показаннями проводиться респіраторна підтримка, симптоматична та патогенетична терапія. За сучасними нормативними документами [1, 6, 12, 15, 16, 181] основними препаратами для лікування пневмонії середнього ступеню тяжкості залишаються комбінації

антибактеріальних лікарських засобів широкого спектру дії, які призначаються емпірично, без визначення збудника захворювання. Така антимікробна терапія не здатна елімінувати вірусні збудники хвороби. Тому для досягнення мети дослідження – підвищення ефективності лікування хворих на НП – додатково до антибактеріальної терапії у цих пацієнтів був використаний інгаляційний антисептичний лікарський засіб декаметоксин. Вибір даного препарату обумовлений його широким спектром дії щодо низки вірусних та бактеріальних збудників та потенціюванням антибіотиків бета-лактамною, аміноглікозидною та фторхінолоновою речовини. Формування резистентності до декаметоксину відбувається повільно. Позитивне значення має відсутність взаємодії препарату з мембранами клітин людини, оскільки ліпіди клітинних мембран людини, маючи значно більшу довжину ліпідних радикалів, ніж мембрани мікроорганізмів, не піддаються гідрофобній взаємодії з декаметоксином.

Оптимізація протиінфекційного лікування хворих на НП була проведена за результатами дослідження 70 хворих, у яких була діагностована вірусно-бактеріальна НП середньотяжкого перебігу (III клінічна група). Відібрані пацієнти не мали супутніх захворювань та попередньо не отримували антибіотикотерапії.

Діагноз НП встановлювали згідно з Адаптованою клінічною настановою, заснованою на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб : етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика», 2019 р. [1] за наявності у хворого рентгенологічно підтвердженої нової вогнищевої інфільтрації легеневої тканини та не менше двох клінічних ознак із нижче наведених:

- гострий початок захворювання з температурою тіла вище 38 °С;
- кашель з виділенням мокротиння;
- фізикальні ознаки (притуплений або тупий перкуторний звук, ослаблене та/або жорстке бронхіальне дихання, фокус дзвінких дрібнопухирцевих хрипів та/або крепітації);

- лейкоцитоз (більше 10×10^9 /л) та/або паличкоядерний зсув (більше 10 %).

Тяжкість перебігу негоспітальної пневмонії оцінювали згідно з критеріями Американського товариства інфекціоністів/Американського торакального товариства, 2007 р. [1]. При цьому за наявності у пацієнта не менше одного «великого» або трьох «малих» критеріїв, його стан розцінювали як тяжкий. При відсутності жодного з критеріїв, запропонованих IDSA / ATS, перебіг негоспітальної пневмонії вважали легким. Стан пацієнтів, у яких відмічались один або два «малих» критерії, було розцінено як середньотяжкий.

При первинному огляді загальний стан оцінили як середньої тяжкості у 100,0 % пацієнтів. На задишку при звичайному фізичному навантаженні мали скарги 72,9 % обстежених пацієнтів. Сильний кашель відзначали 27,1 % пацієнтів, 41,4 % – помірний, решта – незначний. У 14,3 % хворих кашель був сухий, у 34,3 % мокротиння було слизовим, у 47,1 % – слизово-гнійним. У 77,1 % хворих температура тіла була вище 38°C , у 18,6 % – субфебрильною ($37\text{--}38^\circ\text{C}$), у решти – нормальною. При аускультатії сухі або вологі хрипи (дифузні або поодинокі) вислуховували майже в усіх хворих.

Відібрані для участі у дослідженні пацієнти були рандомізовано розподілені на 2 групи спостереження (таблиця 5.1).

Середній вік пацієнтів 1-ї групи спостереження складав ($25,8 \pm 1,6$) року (таблиця 5.1). Під час первинного огляду у ($13,3 \pm 6,2$) % хворих температура тіла не перевищувала 38°C та у ($86,7 \pm 6,2$) % – була вище 38°C . Задишка при звичайному повсякденному фізичному навантаженні турбувала ($73,3 \pm 8,1$) % хворих. Майже у всіх пацієнтів був кашель, який в ($43,3 \pm 9,0$) % випадків супроводжувався виділенням слизисто-гнійної або гнійної мокроти. Крепітуючі хрипи в легенях вислуховували у ($76,7 \pm 7,7$) % хворих над зоною проекції запальної інфільтрації в легенях. Кількість лейкоцитів в крові становила ($15,2 \pm 1,0$) $\times 10^9$ /л, а паличкоядерних лейкоцитів – ($13,5 \pm 1,3$) %. ШОЕ в групі дорівнювало ($23,0 \pm 2,2$) мм/год.

Таблиця 5.1

**Клінічна характеристика хворих на вірусно-бактеріальну НП
середньотяжкого перебігу до початку лікування**

Показники	Група хворих	
	1 група (основна) (n = 30)	2 група (контрольна) (n = 40)
Вік, роки	25,8 ± 1,6	28,5 ± 1,6
Стать		
- чоловіки (%)	100,0	92,5 ± 4,16
- жінки (%)	0,0	7,5 ± 4,16
Температура тіла		
> 37 °С ≤ 38 °С, % хворих	13,3 ± 6,2	22,5 ± 6,6
> 38 °С, % хворих	86,7 ± 6,2	70,0 ± 7,2
Задишка, % хворих	73,3 ± 8,1	72,5 ± 7,1
Кашель, % хворих	96,7 ± 3,3	95,0 ± 3,4
Виділення мокроти, % хворих		
Слизового характеру	33,3 ± 8,6	35,0 ± 7,5
Слизово-гнійного характеру	43,3 ± 9,0	50,0 ± 7,9
Крепінуючі хрипи в легенях, % хворих	76,7 ± 7,7	80,7 ± 6,2
Кількість лейкоцитів в крові, 10 ⁹ /л	15,2 ± 1,0	12,9 ± 0,9
Кількість паличкоядерних лейкоцитів, %	13,5 ± 1,3	14,1 ± 1,2
ШОЕ, мм/год	23,0 ± 2,2	20,3 ± 1,9

Примітка. Достовірних відмінностей показників між групами хворих немає (p > 0,05)

Середній вік пацієнтів 2-ї групи спостереження складав ($28,5 \pm 1,6$) року (таблиця 5.1). Під час первинного огляду у ($22,5 \pm 6,6$) % хворих температура тіла не перевищувала $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ та у ($70,0 \pm 7,2$) % – була вище $38\text{ }^{\circ}\text{C}$. Задишка при звичайному фізичному навантаженні турбувала ($72,5 \pm 7,1$) % хворих. Майже у всіх пацієнтів був кашель, який в ($50,0 \pm 7,9$) % випадків супроводжувався виділенням мокротиння слизово-гнійного характеру. У ($80,7 \pm 6,2$) % пацієнтів спостерігалися фізикальні дані ущільнення легеневої тканини. Кількість лейкоцитів в крові становила $(12,9 \pm 0,9) \times 10^9/\text{л}$, а паличкоядерних лейкоцитів – ($14,1 \pm 1,2$) %. ШОЕ в групі дорівнювало ($20,3 \pm 1,9$) мм/год.

Таким чином, наведені дані свідчать про повну співставність обох груп спостереження за всіма показниками дослідження: вік хворих, клініко-рентгенологічні дані, результати лабораторних аналізів.

Усі включені в дослідження пацієнти розпочали емпіричну антибіотикотерапію одразу після встановлення діагнозу негоспітальної пневмонії. Режими лікування 2 груп порівняння відрізнялися за об'ємом протиінфекційної терапії. У 1-й основній групі (30 пацієнтів) антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію поєднували з небулайзерною терапією із застосуванням інгаляційного антисептичного засобу декаметоксину, а в 2-й, контрольній, (40 пацієнтів) групі використовували лише антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію.

Пацієнтам обох груп призначали раціональну ступеневу антибіотикотерапію за однаковими режимами:

- амоксицилін / клавуланова кислота (Амоксил-К, Arterium, Україна) у дозі 1,2 г 3 рази на добу внутрішньовенно впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумаamed, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після досягнення позитивної клінічної динаміки антибактеріальну терапію продовжили пероральною формою амоксициліну / клавуланової кислоти (Амоксил-К, Arterium, Україна) у

дозі 1000 мг 2 рази на добу незалежно від прийому їжі.

Або

- цефтріаксон (Цефтріаксон, Дарниця, Україна) у дозі 2 г 1 раз на добу парентерально (в/в або в/м) впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумамед, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після цього антибактеріальну терапію проводили пероральною формою цефуроксиму аксетилу (Зіннат, GSK, Велика Британія) у дозі 500 мг 2 рази на добу під час прийому їжі.

Перехід із парентерального на пероральний прийом антибіотика здійснювали лише за умови стабілізації стану пацієнта [1]:

- відсутність лихоманки при двох вимірюваннях з інтервалом 8 год;
- зменшення вираженості задишки;
- відсутність порушення свідомості;
- позитивна динаміка інших симптомів захворювання;
- відсутність порушень всмоктування в травному тракті;
- згода пацієнта на пероральний прийом антибіотика.

Припиняли прийом антибактеріальних лікарських засобів за наявності у пацієнта наступних ознак [1]:

- температура тіла нижче 37,3 °С;
- відсутність симптомів інтоксикації;
- відсутність ознак дихальної недостатності (частота дихання менше 20/хв);
- відсутність гнійного мокротиння;
- кількість лейкоцитів в крові менше 10×10^9 /л, нейтрофільних гранулоцитів – менше 80 %, юних форм – менше 6 %;
- відсутність негативної динаміки за даними рентгенологічного дослідження.

Хворим 1-ї групи додатково до антибактеріальної терапії з першого дня

лікування призначали інгаляції через небулайзер антисептичного препарату декаметоксину (Декасан, Юрія-Фарм, Україна) у дозі 2 мл 0,02 % розчину 2 рази на добу впродовж 5–7 діб (в середньому 6,2 діб).

Оцінку ефективності призначеної антибактеріальної терапії проводили через 48–72 год від початку лікування. У всіх досліджуваних спостерігалася позитивна динаміка: зменшення вираженості інтоксикації, зниження температури тіла хворого, відсутність ознак дихальної недостатності, зниження рівня лейкоцитів, що дозволило перейти на пероральний прийом антибактеріальних препаратів.

Ефективність проведених режимів хіміотерапії була оцінена на 10–14 добу лікування за динамікою основних клінічних (термін нормалізації температури тіла, наявність задишки, кашлю, аускультативних змін в легенях), лабораторних (кількість лейкоцитів, рівень ШОЕ) та рентгенологічних проявів захворювання (таблиця 5.2)

Таблиця 5.2

Частота деяких клініко-лабораторних симптомів у хворих на вірусно-бактеріальну НП середньотяжкого перебігу в кінці лікування

Показники	Група хворих	
	1 група (основна) (n = 30)	2 група (контрольна) (n = 40)
Задишка, % хворих	3,3 ± 3,3	12,5 ± 5,2
Кашель, % хворих	13,3 ± 6,2	32,5 ± 7,4
Виділення мокротиння, % хворих	6,7 ± 4,6	10,0 ± 4,7
Крепитуючі хрипи в легенях, % хворих	3,3 ± 3,3	15,0 ± 5,6
Кількість лейкоцитів в крові, 10 ⁹ /л	6,8 ± 1,0	6,5 ± 0,9

Таблиця 5.2 (продовження)

Показники	Група хворих	
	1 група (основна) (n = 30)	2 група (контрольна) (n = 40)
Кількість паличкоядерних лейкоцитів, %	3,7 ± 1,3	6,4 ± 1,2
ШОЕ, мм/год	8,4 ± 2,2	9,0 ± 1,9

Примітка. Достовірних відмінностей показників між групами хворих немає ($p > 0,05$).

Як свідчать наведені дані, динаміка задишки, кашлю, виділення мокротиння та наявності крепітуючих хрипів в легенях була достатньо інтенсивною у всіх хворих після лікування, і ці симптоми зникли в переважній більшості пацієнтів обох груп спостереження ($p > 0,05$).

Позитивні клінічні зміни супроводжувались також покращанням показників клінічного аналізу крові. Після лікування достовірно ($p < 0,05$) зменшилась кількість лейкоцитів у хворих обох груп: у 1-й – до $(6,8 \pm 1,0) \times 10^9/\text{л}$ та в 2-й – до $(6,5 \pm 0,9) \times 10^9/\text{л}$ ($p > 0,05$) (таблиця 5.2). Такою ж значною була динаміка ШОЕ. Після лікування цей показник достовірно ($p < 0,05$) знизився у хворих обох груп: у 1-й – до $(8,4 \pm 2,2)$ та в 2-й – до $(9,0 \pm 1,9)$ мм/год ($p > 0,05$).

При оцінці безпеки та переносимості антимікробної терапії не виявили небажаних явищ під час лікування в жодного з пацієнтів обох груп.

Аналіз динаміки результатів клініко-лабораторних та рентгенологічних досліджень свідчить, що проведена емпірична ступенева антиінфекційна терапія сприяла досягненню позитивних результатів: в усіх випадках діагностовано одужання. У той же час терміни досягнення позитивних результатів в обох групах достовірно відрізнялись.

При спостереженні за динамікою зміни характеру мокротиння (рис. 5.1) було відмічено, що у пацієнтів основної групи довше за контрольну групу

зберігалося виділення мокротиння, проте достовірно швидше зникла його пурулентність ($p < 0,05$).

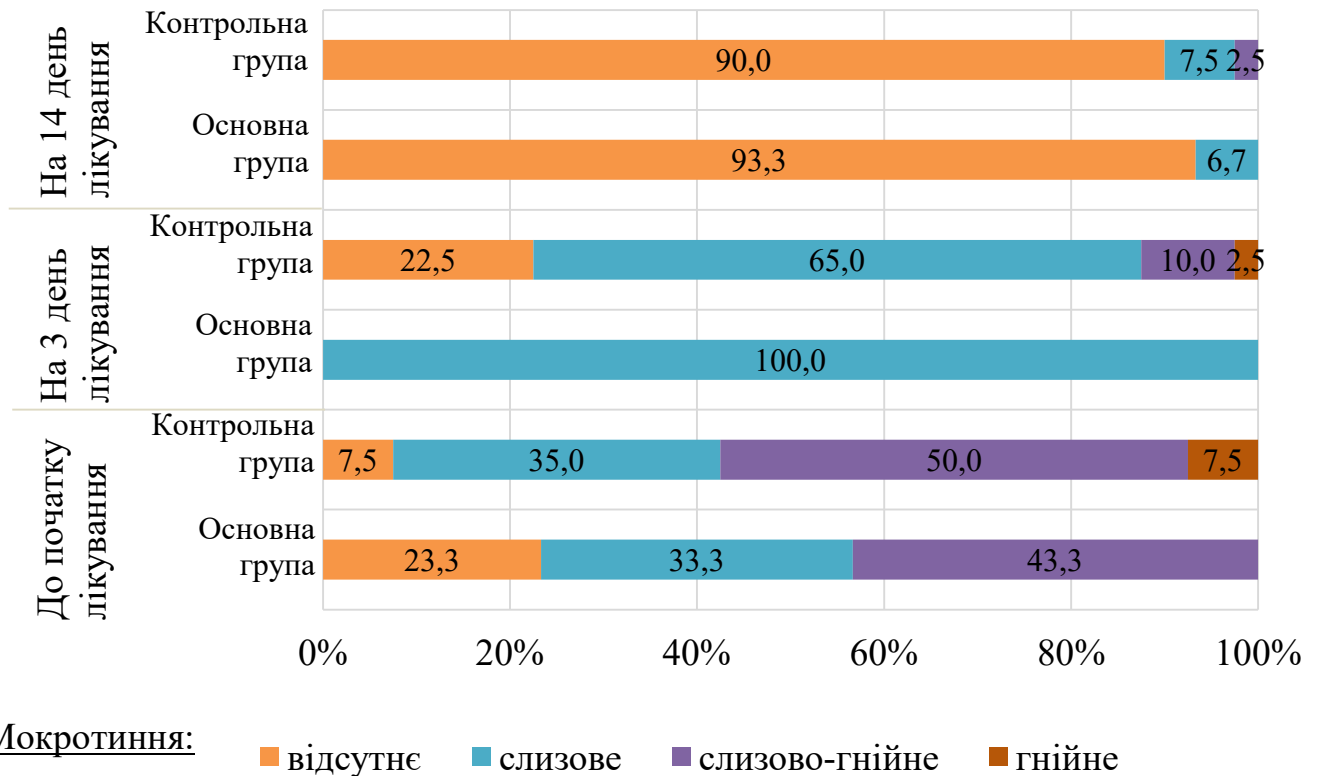


Рис. 5.1. Динаміка зміни характеру мокротиння у хворих на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію III клінічної групи до початку лікування, на 3 та 14 дні від початку терапії.

При рентгенологічному обстеженні на 14-й день від початку лікування повне зникнення інфільтративних змін в легенях виявили в 1-й підгрупі у $(93,3 \pm 4,6)$ % хворих – а в 2-й – у $(75,0 \pm 6,8)$ % ($p < 0,05$) (рис. 5.2).

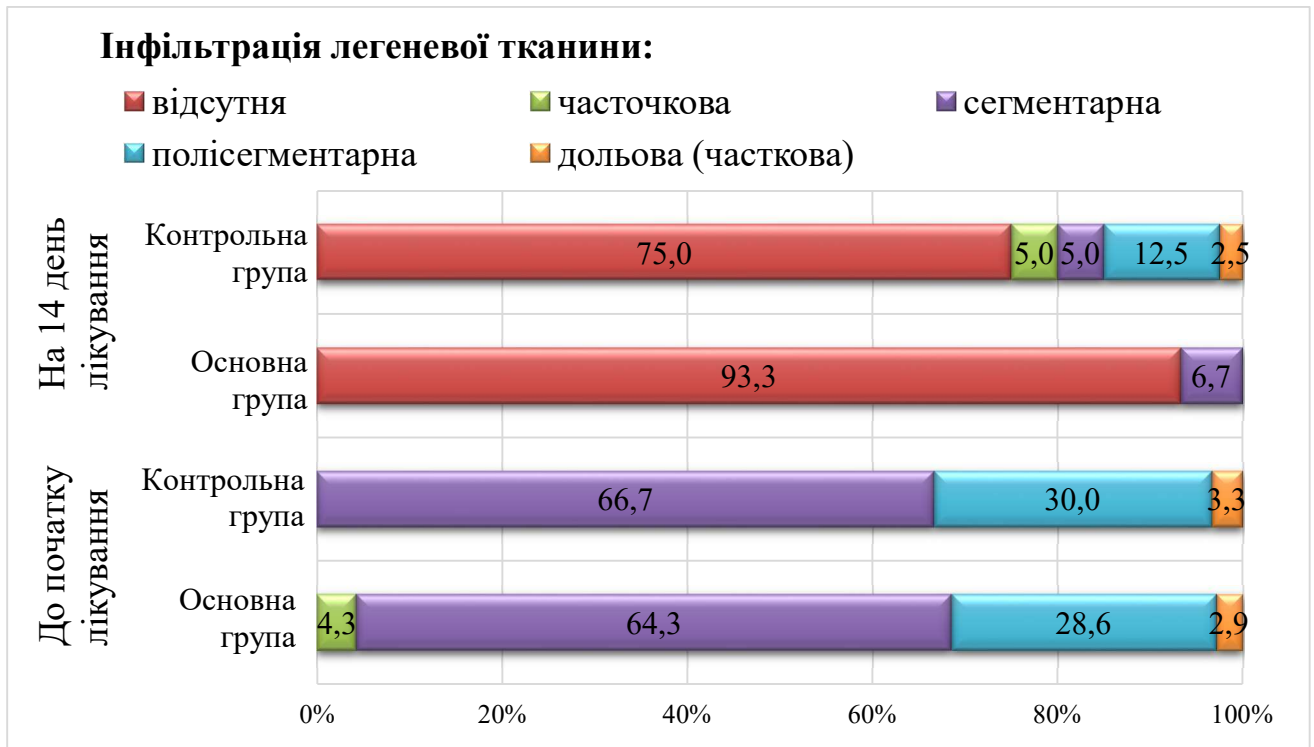


Рис. 5.2. Рентгенологічне обстеження пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи до початку антибіотикотерапії та на 14-й день від початку лікування.

Відрізнялась у основній і контрольній групах і середня тривалість використання антибактеріальних препаратів (відповідно $(9,4 \pm 0,6)$ та $(11,6 \pm 0,5)$ дня, $p < 0,05$). Таким чином, загальна тривалість госпіталізації була більшою для пацієнтів основної групи спостереження – $(12,2 \pm 0,8)$ дня, порівняно з контрольною – $(17,7 \pm 0,7)$, $p < 0,05$. (рис. 5.3).

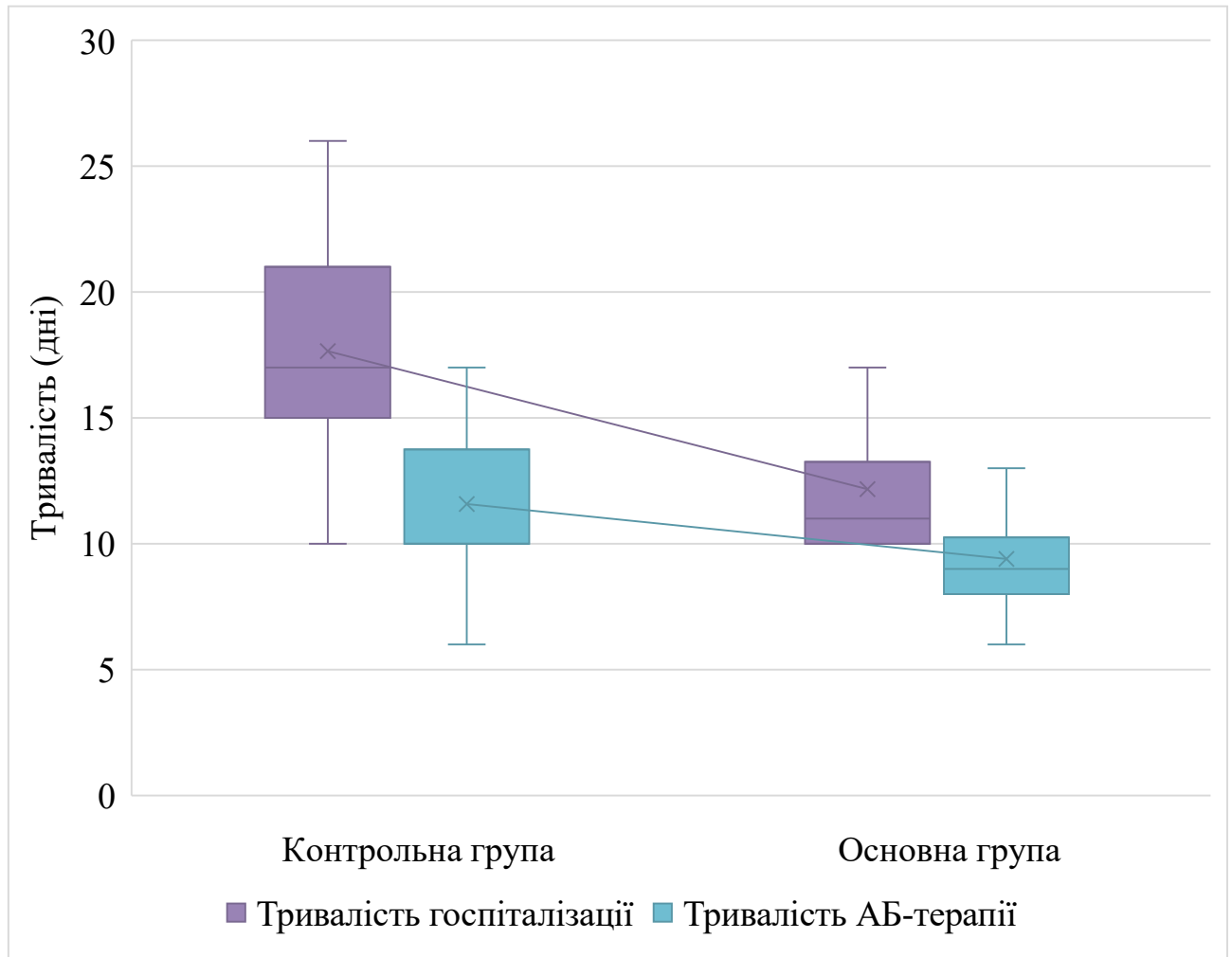


Рис. 5.3. Терміни досягнення позитивних результатів при лікуванні пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи.

Важливу роль у перебігу захворювання у пацієнтів відігравали інфекційні ускладнення. Так, крім НП, у 24 (60,0 %) хворих контрольної групи відмічали, головним чином, гострий ринофарингіт (38,0 % випадків), ангіну бічних валиків глотки (10,0 %) та синусити (8,0 %), всі інші ускладнення (отит, інфекційний ексудативний перикардит) – значно рідше. При цьому у 22 (55,0 %) випадків було одне ускладнення і у 2 (5,0 %) випадків – два ускладнення. У першій групі пацієнтів інфекційних ускладнень не було завдяки протимікробним властивостям декаметоксину, який шляхом інгаляцій проникає у верхні та нижні дихальні шляхи.

Отже, результати проведеного дослідження свідчать, що у хворих на вірусно-бактеріальну НП III клінічної групи додаткове включення до емпіричної ступеневої антибіотикотерапії інгаляцій з декаметоксином дозволяє достовірно зменшити частоту інфекційних ускладнень, тривалість антибіотикотерапії, а також термін досягнення позитивних результатів лікування.

5.2. Фармакоеконічний аналіз запропонованого способу лікування хворих на негоспітальну пневмонію середньотяжкого перебігу

З метою порівняння вартості застосованих режимів антимікробної терапії було проведено фармакоеконічний аналіз у 70 пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи, які були включені в дослідження та завершили лікування згідно з протоколом.

Складовими виконаного фармакоеконічного аналізу були:

- порівняльний аналіз клінічної ефективності;
- порівняльний аналіз безпеки;
- порівняльний аналіз вартості антибактеріальної терапії;
- аналіз вартості інгаляційної терапії;
- порівняльний аналіз загальної вартості лікування.

Результати проведеного дослідження клінічної ефективності антимікробної хіміотерапії хворих на вірусно-бактеріальну НП III клінічної групи свідчать, що у хворих цієї категорії додаткове включення до емпіричної ступеневої антибіотикотерапії антисептичного препарату декаметоксину дозволяє достовірно зменшити частоту інфекційних ускладнень, тривалість антибіотикотерапії, а також термін досягнення позитивних результатів лікування. При цьому загальна ефективність, безпека та переносимість лікування хворих на НП у кожній групі спостереження були співставними ($p > 0,05$). Це дозволило обрати метод «аналіз мінімізації витрат» для проведення фармакоеконічного аналізу антимікробної хіміотерапії хворих на НП. Вибір цього методу аналізу був зумовлений відсутністю статистично достовірних

відмінностей в клінічній ефективності та безпеці порівняльних режимів антимікробної хіміотерапії [267].

Мета «аналізу мінімізації витрат» полягає у тому, щоб порівняти загальну вартість лікування в обох групах дослідження і, таким чином, підтвердити перевагу більш дешевого методу лікування за умови однакової ефективності, що дозволяє заощадити кошти.

Підрахунок загальної вартості лікування хворих кожної групи проводився за рівнями (рис. 5.4):

а) рівень I – вартість всієї антимікробної терапії, яка включала середню вартість антимікробних препаратів, а також вартість додаткової антимікробної терапії у випадку неефективного лікування засобами дослідження;

б) рівень II – вартість трудових витрат;

в) рівень III – загальна вартість лікування, яка включала всі витрати на лікування пацієнта.

Статистичний аналіз вартості госпіталізації та медикаментозної терапії хворих на НП, що увійшли в дослідження, були розраховані на основі даних, отриманих від економічного відділу ДУ "Національний інститут фтизіатрії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України» та середніх цін на лікарські засоби аптечних мереж України станом на січень 2023 р.

Отримані дані (рис. 5.4) демонструють, що найбільш вагоме значення в обсягу загальної вартості лікування пацієнту належить саме вартості госпіталізації. Отже, заощадити кошти на лікування хворого на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію у першу чергу дозволить саме скорочення терміну перебування у стаціонарі. Такий результат можна отримати за умови скорочення тривалості антибіотикотерапії та зменшення частоти розвитку ускладнень та небажаних явищ терапії.

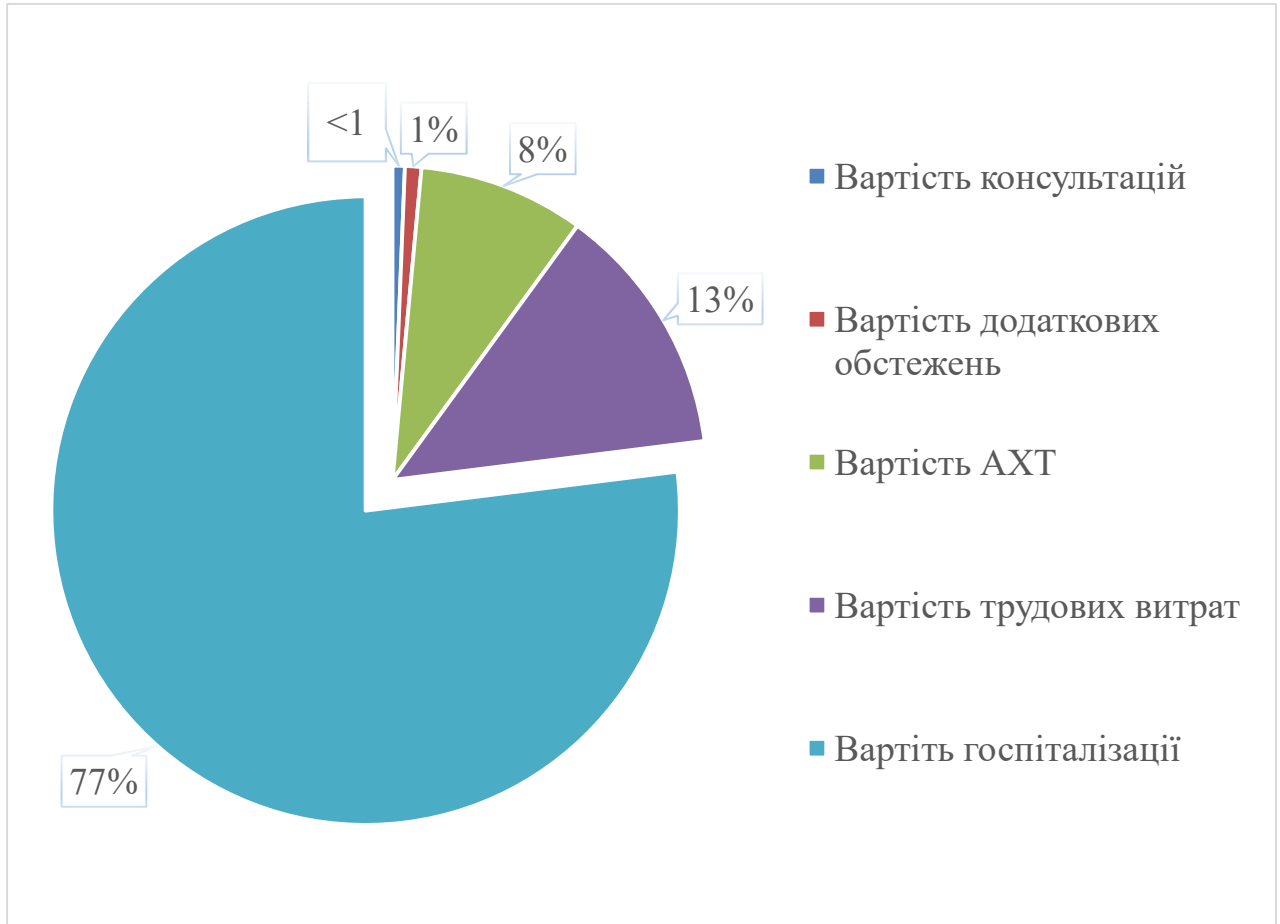


Рис. 5.4. Загальна вартість лікування хворого на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію III клінічної групи.

З метою порівняння застосованих схем лікування негоспітальної пневмонії було проведено розрахунки за методом «аналіз мінімізації витрат» за формулою:

$$CMA = DC1 - DC2,$$

де

CMA – показник різниці у витратах між двома методами лікування;

DC1 –витрати при застосуванні першого методу лікування;

DC2 –витрати при застосуванні другого методу лікування.

Дані виконаних підрахунків наведені в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

**Показники вартості лікування одного хворого на вірусно-бактеріальну
НП III клінічної групи, (M ± m), грн**

Види витрат	Група хворих	
	1 група (основна) (n = 30)	2 група (контрольна) (n = 40)
Вартість антибіотикотерапії	673,7 ± 32,0	792,9 ± 26,3*
Вартість трудових затрат	983,4 ± 61,7	1396,5 ± 53,2*
Вартість інгаляційної терапії	137,4 ± 10,1	—*
Вартість всієї антимікробної терапії	811,1 ± 30,4	792,9 ± 26,3
Вартість консультацій спеціалістів	—	58,3 ± 0,0*
Вартість госпіталізації	5840,0 ± 421,3	8248,7 ± 363,3*
Загальна вартість лікування	7696,5,5 ± 489,1	10563,2 ± 421,8*

Примітка. * – достовірна різниця показника між хворими 1-ї та 2-ї групи (p < 0,05).

Оцінка прямих медичних витрат продемонструвала, що витрати на антибіотики в основній групі на 15,03 % менше за групу контролю за рахунок скорочення терміну лікування (p < 0,05). Додаткові витрати на інгаляційну терапію в основній групі призвели до того, що вартість всієї антимікробної терапії достовірно не відрізнялась в обох групах. У той же час вартість трудових затрат на лікування значно перевищувала у пацієнтів контрольної групи, що пов'язано з більшою тривалістю застосування лікарських препаратів (рис. 5.5).

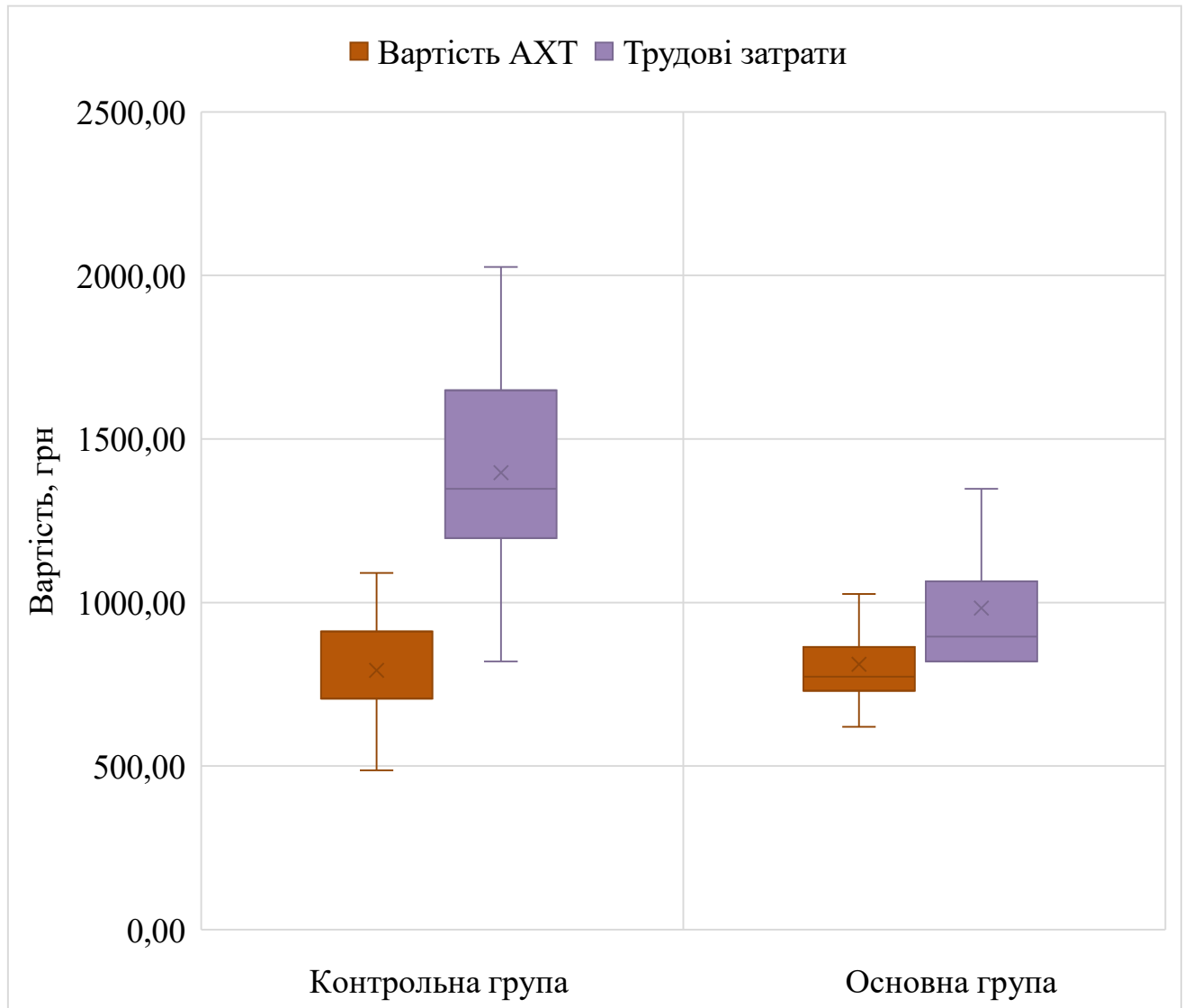


Рис. 5.5. Прямі медичні витрати на лікування одного хворого на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію III клінічної групи

Витрати на консультації були достовірно вище у 2-й (контрольній) групі спостереження, що обумовлено більшою частотою інфекційних ускладнень у даних пацієнтів.

Встановлено, що у загальній вартості лікування найбільша частка належить саме вартості госпіталізації. Оскільки у пацієнтів контрольної групи спостереження термін перебування у стаціонарі суттєво перевищував ($p < 0,05$) відповідний показник у хворих основної групи, то і витрати, пов'язані з госпіталізацією, для пацієнтів 2-ї групи спостереження виявились значно вищими.

Додаткове застосування небулайзерної інгаляційної терапії дозволило достовірно знизити вартість антибіотикотерапії на 15,0 % ($p < 0,05$). І хоча загальна вартість антимікробної терапії достовірно не відрізнялась, загальна вартість лікування пацієнтів контрольної групи спостереження на 27,1 % перевершувала загальну вартість лікування пацієнтів основної групи, внаслідок виявлених особливостей.

Таким чином клінічна ефективність, показники безпеки та фармакоекономічні дані свідчать про доцільність призначення хворим на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію III клінічної групи з перших днів захворювання інгаляційного антисептичного препарату декаметоксину разом з проведенням адекватної ступеневої антибактеріальної терапії. Доведено, що запропонований метод лікування негоспітальної пневмонії дозволяє достовірно скоротити тривалість застосування антибактеріальних препаратів та знизити частоту появи інфекційних ускладнень, що в результаті веде до суттєвого зменшення термінів перебування пацієнтів у стаціонарі, та достовірно знизити загальну вартість лікування.

5.3. Принцип вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії із застосуванням декаметоксину

Накращий спосіб боротьби з хворобою – її профілактика. Превентивні заходи поділяються на специфічні, направлені на формування специфічного імунітету, та неспецифічні.

Згідно з позицією ВООЗ, вакцинація – єдиний спосіб істотно вплинути на захворюваність і смертність унаслідок НП. Розроблені ефективні вакцини проти основних (віруси грипу А та В, *SARS-CoV-2*, *S. pneumoniae*) та менш значимих (*H. influenzae*, *Bordetella pertussis*, вірусів кору, вітряної віспи та *RSV*) збудників НП. Проте кількість визначених видів мікроорганізмів, здатних викликати НП сягає більше 200 видів та постійно зростає.

Вакцинація не запобігає виникненню НП, але здатна попередити тяжкий перебіг захворювання. Вакцинація протипоказана особам з підвищеною чутливістю до діючих речовин та до будь-якої з допоміжних речовин вакцини, а також особам з гострими, тяжкими фебрильними захворюваннями. Суттєвим обмеженням вакцинації є те, що для формування специфічного імунітету потрібно близько двох тижнів після її проведення, тобто даний превентивний метод не підходить для постконтактної профілактики НП. Контактним особам з метою попередження розвитку хвороби можна рекомендувати елімінаційну терапію, яка забезпечує зниження числа як вірусних, так бактеріальних збудників інфекційних захворювань; використання лікарських засобів для місцевого застосування, що володіють бар'єрними функціями; а також методи медикаментозної профілактики.

Для проведення вторинної профілактики НП оптимальним є лікарський засіб, який за протимікробною дією охоплює широкий спектр потенційних збудників, та є безпечним для людини. Таким характеристикам відповідає представник ЧАС – декаметоксин. За результатом проведеного у ході виконання дисертаційної роботи вірусологічного дослідження протівірусної дії декаметоксину на прототипний штам коронавірусу IBV та SARS-CoV-2, а також за даними мікробіологічних досліджень щодо впливу декаметоксину на вірусні, бактеріальні та грибові етіопатогени респіраторних інфекційних захворювань – НП, інфекційного загострення ХБ/ХОЗЛ та БА тощо, – цей лікарський засіб володіє широким спектром антисептичної дії та гарним профілем безпеки.

В Україні зареєстровані препарати декаметоксину у вигляді розчинів для зовнішнього, внутрішньопорожнинного та інгаляційного застосування, очних/вушних крапель і таблеток для сублінгвального розсмоктування. Широкий вибір лікарських форм препарату дозволяє охопити всі вхідні ворота респіраторних інфекцій та нижні дихальні шляхи. Застосування лікарських засобів місцевої дії має оптимальний фармакокінетичний профіль та дозволяє мінімізувати розвиток системних побічних ефектів.

Тому для вирішення одного із завдань дисертаційної роботи був розроблений принцип неспецифічної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії шляхом обробки шкіри та слизових оболонок декаметоксином. Застосування декаметоксину у комплексній постконтактній профілактиці негоспітальної вірусно-бактеріальної пневмонії слід проводити наступним чином.

1. З метою попередження передачі збудника інфекції контактним шляхом – регулярна обробка рук р-ном декаметоксину (0,2 або 0,25 мг/мл) – 3–5 мл розчину ретельно розподілити по внутрішній і зовнішній поверхні кисті, міжпальцевих проміжках і навколонігтевих ділянках, нижній третині передпліччя протягом 1–2 хв. Після цього шкіру висушити. Кратність обробки – якнайчастіше.

2. З метою захисту слизової оболонки ока від проникнення етіологічного чинника – закапувати у кон'юнктивальний мішок по 2–3 краплі розчину декаметоксину (0,2 мг/мл) 4–6 разів на добу протягом періоду епідеміологічної небезпеки.

3. З метою захисту слизової оболонки носу та ротоглотки від проникнення інфекційного агента:

– полоскати порожнину рота і зівя розчином декаметоксину (0,2 мг/мл) по 25–50 мл 2–3 рази на день. Після полоскання протягом 1 год утримуватися від прийому їжі та пиття.

– закапувати розчин декаметоксину (0,2 мг/мл) по 3–5 крапель в кожний носовий хід 2–3 рази на день.

4. З метою захисту дихальних шляхів від проникнення збудника інфекції – інгаляції за допомогою небулайзера по 2 мл розчину декаметоксину (0,2 мг/мл) 2–3 рази на добу.

Аналіз літературних джерел, а також результати попереднього застосування декаметоксину у пацієнтів з вірусно-бактеріальною НП III клінічної групи дозволяє припустити, що запропонований принцип неспецифічної

профілактики дозволить знизити ризик розвитку та/або тяжкий перебіг вірусно-бактеріальної НП.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях:

1. Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. *Інфузія & Хіміотерапія* 2021;1:15–21.
DOI: 10.32902/2663-0338-2021-1-15-21
2. Дзюблик Я.О., Боророва О.Л., Патюк Ю.О. Доцільність та безпека застосування небулайзерної терапії у пацієнтів з інфекційними захворюваннями дихальних шляхів у період пандемії COVID-19. *Український пульмонологічний журнал*. 2021;1:31–38.
DOI: 10.31215/2306-4927-2021-29-1-31–38
3. Боророва О.Л. Коронавірусна інфекція: види, клінічні особливості, шляхи профілактики. *Астма та алергія*. 2021;1:49-57.
DOI: 10.31655/2307-3373-2021-1-49-57

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гострі негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів відносяться до числа найбільш розповсюджених захворювань в Україні і світі [1]. За рівнем смертності вони посідають друге місце серед інфекційних хвороб та четверте – серед усіх захворювань [32]. У 5,0–12,0 % пацієнтів з інфекцією нижніх дихальних шляхів діагностується пневмонія. Не дивлячись на широкий вибір антибіотиків та наявність вакцин (проти вірусів грипу, SARS-CoV-2, *S. pneumoniae*, *H. influenzae b*), НП залишається лідером за рівнем смертності серед інфекційних захворювань [3–5]. Щороку, за оцінкою ATS, НП зумовлює 2,8 млн смертей по всьому світу, переважно вражаючи дітей молодше 5 років та людей похилого віку [5].

Повітряний шлях передачі збудника, висока сприйнятливість населення практично до всіх збудників ГРІ зумовлюють основну епідеміологічну особливість – швидкість та широту їхнього розповсюдження [53].

Етіологія НП вивчена досить добре, проте епідеміологічні дослідження і далі тривають, постійно додаючи нову інформацію. Кількість визначених видів мікроорганізмів, здатних викликати НП, сягає більше 200 видів та постійно зростає як наслідок появи новітніх технологій мікробіологічної діагностики та перегляду ролі окремих патогенів в розвитку запалення нижніх дихальних шляхів [57, 58].

НП може бути викликана бактеріями, вірусами, грибами та паразитами [9–11]. Нерідко виявляється декілька різних видів мікроорганізмів одночасно у одного пацієнта. З усіх випадків НП, у яких вдається ідентифікувати етіологічний чинник, у 30 % випадків знаходять полімікробні асоціації [12–16]. Зустрічаються бактеріальні, вірусні та вірусно-бактеріальні асоціації [10, 13, 17].

Респіраторні віруси посідають одне із провідних місць у структурі збудників НП. З появою вакцин від пневмококу та гемофільної палички, а також – активними розробками нових антибактеріальних препаратів частка пневмоній,

викликаних бактеріальним агентом поступово знижується [9, 11, 15]. Вірусною етіологією зумовлено 10–50 % випадків НП у дорослих осіб [3, 18–20]. На сьогодні відома значна кількість збудників ГРВІ, які переважно належать до 9 різних груп вірусів – грип, парагрип, адено-, РС- (респіраторно-синцитіальний), пікорна-, корона-, рео-, ентеро- та герпесвіруси [53]. Найбільш значущими серед респіраторних вірусів є вірус грипу, коронавірус, риновірус [10, 25, 96–99], які зумовлюють близько 1/3 від усіх випадків розвитку пневмонії у дорослих осіб [64].

ГРВІ обумовлюють як первинну вірусну так і вторинну бактеріальну пневмонію. Найтяжчим проявом первинного вірусного ураження легень є гострий респіраторний дистрес-синдром, що може призвести до летального кінця через 4–5 днів від початку захворювання [102]. За рахунок погіршення мукоциліарного кліренсу та імунного бар'єру дихальних шляхів респіраторні віруси нерідко сприяють приєднанню вторинної бактеріальної флори [9, 13, 104].

Ідентифікація збудника НП дає змогу своєчасно застосовувати цілеспрямовану етіотропну терапію, яка мінімізує побічні ефекти, скорочує тривалість лікування, зменшує ризики розвитку ускладнень та зменшує вартість лікування [22, 23]. Та на практиці у 50,0–70,0 % хворих виявити збудник інфекції не вдається через відсутність можливості отримати матеріал з нижніх дихальних шляхів (у 20,0–30,0 % пацієнтів непродуктивний кашель), нечутливі діагностичні тести на відомі збудники, відсутність тестів на інші визнані збудники, забір матеріалу на тлі прийому АБП [7, 10, 14, 20, 24–28]. Діагностика ГРВІ може бути ускладненою ще й через те, що більшість вірусів, крім вірусу грипу та метапневмовірусу, у 70 % випадків можуть контамінувати слизову оболонку дихальних шляхів людини, не викликаючи жодної симптоматики; 10 % серед позитивних зразків містять кілька вірусних збудників [105].

Діагноз НП – абсолютне показання до призначення антибіотиків, які є основою лікування у таких хворих [1, 12]. Але, як відомо, антибактеріальні препарати не мають противірусної дії. Разом з тим, специфічна етіотропна

терапія негоспітальної пневмонії, спричиненої багатьма респіраторними вірусами, поки що відсутня.

Вакцини проти основних збудників НП (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, вірусів грипу А та В і SARS-CoV-2) розроблені та дозволяють попередити тяжкий перебіг хвороби, але не виключають можливість захворіти, що потребуватиме призначення антибіотиків. Методи постконтактної хіміопрофілактики на даний час відсутні.

Все це обумовило мету дослідження – підвищити ефективність лікування хворих на негоспітальну пневмонію шляхом оптимізації антимікробної хіміотерапії із застосуванням інгаляційного антисептика.

Завдання дослідження:

1. Розробити схему етіологічної діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.
2. Дослідити противірусну активність декаметоксину *in vitro* по відношенню до прототипного штаму коронавірусу інфекційного бронхіту курки.
3. Визначити механізм противірусної активності декаметоксину методом *in silico* по відношенню до коронавірусів.
4. Оптимізувати антимікробну терапію хворих на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію.
5. Вивчити фармакоеконімічні аспекти антибактеріальної та противірусної терапії у хворих на негоспітальну пневмонію.
6. Запропонувати принцип вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії із використанням антисептичного препарату декаметоксину.

Завдання – розробити схему етіологічної діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії.

На основі даних літератури з урахуванням можливостей системи охорони здоров'я України з метою збільшення частки пацієнтів з встановленою етіологією НП, що додатково підвищить ефективність лікування НП шляхом раціоналізації антимікробної терапії, було запропоновано схему етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП та її модифікацію – для виявлення етіопагогену НП під час високої поширеності COVID-19 або грипу. Запропонована схема діагностики включає в себе одночасне застосування трьох різних методичних підходів – класичного бактеріологічного, експрес-тестування та молекулярно-біологічного, що дає можливість максимально підвищити ефективність ідентифікування респіраторних збудників.

Завдання – дослідити протівірусну активність декаметоксину *in vitro* по відношенню до прототипного штаму коронавірусу інфекційного бронхіту курки.

За результатами проведеного вірусологічного дослідження встановлено, що цитотоксична дія декаметоксину в дослідженнях *in vitro* залежала від виду культури клітин, повністю реалізувалась через 24 години після його нанесення на клітинні моношари і залишалась незмінною впродовж всього періоду спостереження до 72 год.

При оцінці цитотоксичної дози декаметоксину при аналізі життєздатності клітин з використанням МТТ-тесту встановлено, що CD_{50} декаметоксину через 24 год культивування, за моделлю логістичної регресії, дорівнювала 6,34 мкг/мл, а через 48 годин – 3,63 мкг/мл.

Для визначення протівірусної дії дезінфекційних засобів обрано та застосовано суспензійний метод. Саме він дозволяє забезпечити контакт досліджуваного дезінфікуючого засобу з концентрованим вірусовмісним матеріалом у рідкому середовищі, надає можливість моделювати умови

дезінфекції біологічних рідин і є відносно безпечний при виконанні для персоналу лабораторії.

На перших етапах дослідження вивчено протівірусну дію декаметоксину, керуючись методичними рекомендаціями, де було регламентовано режим інактивації вірусів впродовж 30–60 хвилин при 37 °С з наступним визначенням залишкового інфекційного титру вірусу.

За таких умов результати трьох послідовних випробувань показали, що досліджуваний розчин декаметоксину в концентрації 200 мкг/мл, виявляє протівірусну дію по відношенню до IBV2 в культурах клітин ФЕК і ФЕКс, зменшуючи його інфекційний титр на 2,75–3,0 \log_2 ТЦД₅₀/0,1 мл. У той же час препарат по відношенню до IBV1 протівірусної дії в цій же концентрації не виявляє, що, можливо, пов'язано з великим вмістом білку в алантоїсній рідині.

За результатами трьох послідовних випробувань показано, що досліджуваний розчин декаметоксину в концентрації 1000 мкг/мл, виявляє протівірусну дію по відношенню до IBV3 в культурі клітин ВНК-21, зменшуючи його інфекційний титр на 5,0–6,5 lg ТЦД₅₀/0,1 мл. По відношенню до IBV1 декаметоксин в дозі 1000 мкг/мл також виявляє протівірусну дію в зазначеній концентрації, знижуючи інфекційний титр IBV1, навіть при високому вмісті білку в зразку.

Оскільки зараз в науковій літературі розглядаються більш короткотривалі режими впливу четвертинних амонієвих сполук, впродовж кількох хвилин, що в умовах пандемії COVID-19 набуває надзвичайної актуальності, в наступних дослідженнях протівірусної дії декаметоксину на IBV в культурі клітин ВНК-21 час контакту вірусомісної рідини з декаметоксином становив 10, 20, 30, 60, 120 і 1800 с за кімнатної температури (18–24 °С).

Отримані результати свідчать, що IBV з інфекційним титром 3,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл повністю інактивувався розчином декаметоксину в концентрації 0,1 мг/мл (100 мкг/мл) при короткій експозиції – впродовж 30, 60 і 120 секунд при кімнатній температурі. Водночас за умов найменшої експозиції

декаметоксину (10 і 20 с) спостерігається часткова противірусна активність антисептика, що становить 1 і 2 lg (TCID₅₀/0,1 мл) через 24 і 48 год культивування відповідно. У той же час у контролі (без обробки декаметоксином), інфекційний титр IBV при культивуванні в аналогічних умовах збільшувався з 3,0 до 4,5 і 5,5 lg ТЦД₅₀/0,1 мл через 24 і 48 год відповідно. У контролі клітин моношар культури ВНК-21 залишався без порушень цілісності і проявів осередків дегенерації. Не спостерігалось також проявів токсичної дії в контролях нейтралізатора та декаметоксину. Останнє свідчить про повну нейтралізацію декаметоксину в концентрації 100 мкг/мл сульфанолам, оскільки в цій концентрації він повністю інактивує IBV, але є токсичним для культури клітин ВНК-21.

Завдання – визначити механізм противірусної активності декаметоксину методом in silico по відношенню до коронавірусів.

З метою оцінки противірусної дії декаметоксину щодо SARS-CoV-2 було досліджено *in silico* подібність первинних та вторинних структур основної протеази IBV та основної протеази SARS-CoV-2 та проведено молекулярний докінг декаметоксину в активний центр M_{pro} SARS-CoV-2.

Виконано порівняльний аналіз первинних структур основної протеази IBV (2Q6F) та основної протеази SARS-CoV-2 (7C8B) [263] з використанням NCBI Protein BLAST [264]. Встановлено значну схожість основних протеаз IBV і SARS-CoV-2 – 41 % ідентичності послідовностей і 55 % подібності послідовностей.

Активні сайти M_{pro} IBV та SARS-CoV-2 порівнювали за допомогою інструменту «Align» Universal Protein Resource (UniProt) для множинного вирівнювання послідовностей [265]. Вторинні структури ферментів основних протеаз IBV та SARS-CoV-2 порівнювали за допомогою програми UCSF Chimera [266]. Було продемонстровано не тільки високий ступінь подібності досліджуваних ферментів, але й структурну подібність їх активних центрів.

Проведено молекулярний докінг декаметоксину в активний центр Mpro SARS-CoV-2. Результати докінгу демонструють утворення ліганд-білкового комплексу за розрахунковою енергією зв'язку -8,4 ккал/моль. Цей комплекс ліганд-білок стабілізується сімома водневими зв'язками (1,94 – 3,68Å) з амінокислотами THR24, THR25, ASN142, GLY143, CYS145, HIS164, GLU166, однією електростатичною взаємодією (4,84Å) з HIS41 та п'ятьма гідрофобними взаємодіями (3,81 – 4,81Å) з амінокислотними залишками HIS41, CYS145, HIS163. Слід підкреслити утворення водневих, електростатичних та гідрофобних зв'язків між декаметоксином та амінокислотами каталітичної діади HIS41 – CYS145 активного центру Mpro.

Вірус IBV використовується як безпечна для людини модель вірусу SARS-CoV-2, що входить до однієї родини Coronaviridae з подібною складною структурою, схожими клітинами-мішенями, подібним типом патології та імунологічною реактивністю, що дозволяє припустити наявність подібних молекулярних мішеней для дії декаметоксину. Розраховані показники взаємодії декаметоксину в активних центрах IBV Mpro та SARS-CoV-2 Mpro можуть значно розширити можливості пошуку та аналізу нових противірусних препаратів різних хімічних класів як інгібіторів Mpro вірусу SARS-CoV-2.

Таким чином, механізм противірусної дії декаметоксину проти SARS-CoV-2, який встановлений методом *in silico*, полягає в блокуванні основної протеази збудника шляхом утворення стабільного ліганд-білкового комплексу між препаратом та Mpro вірусу за розрахунковою енергією зв'язку -8,4 ккал/моль, що призводить до інгібування репродукції вірусу та запобігання стрімкого розвитку інфекційного захворювання в організмі пацієнта.

Завдання – *оптимізувати антимікробну терапію хворих на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію.*

Оптимізація протиінфекційного лікування хворих на НП була проведена за результатами аналізу лікування 70 хворих, у яких була діагностована вірусно-бактеріальна НП середньотяжкого перебігу (III клінічна група).

У дослідження включали хворих лише за умови їх добровільної згоди, а також відповідності їх критеріям включення і відсутності критеріїв виключення.

Діагноз НП встановлювали на основі клініко-рентгенологічних даних відповідно до адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика», затвердженої Президією Національної академії медичних наук України, протокол № 4/7 від 27.03.2019 р.

Серед обстежених хворих на НП переважали чоловіки віком від 18 до 56 років, середній вік яких становив $(26,3 \pm 1,6)$ року. На підставі аналізу даних клінічного, рентгенологічного та лабораторних методів дослідження відповідно до адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика», затвердженої Президією Національної академії медичних наук України, протокол № 4/7 від 27.03.2019 р. [1], в усіх хворих визначена НП III клінічної групи і вони були госпіталізовані до стаціонару.

За даними рентгенологічного дослідження у $(20,0 \pm 4,8)$ % пацієнтів спостерігали двобічне, а у $(77,1 \pm 5,0)$ % – однобічне ураження легень. Супутні захворювання в жодного пацієнта виявлено не було.

Оцінку загального стану та клінічних ознак НП проводили до початку, через 48–72 год та по закінченню лікування антибіотиком, але не пізніше 15 днів. Визначали температуру тіла, ступінь вираженості задишки; оцінювали характер кашлю, харкотиння, дані аускультатії. До початку лікування та на 10–15-й день усім хворим проводили клінічний аналіз крові і сечі, біохімічне дослідження

крові (визначали рівень білірубіну та креатиніну, активність трансаміназ), а також рентгенологічне обстеження (рентгенографія органів грудної клітки в 2-х проекціях) та електрокардіографію.

При первинному огляді загальний стан оцінили як середньої тяжкості у 100,0 % пацієнтів. На задишку при звичайному фізичному навантаженні мали скарги 72,9 % обстежених пацієнтів. Сильний кашель відзначали 27,1 % пацієнтів, 41,4 % – помірний, решта – незначний. У 14,3 % хворих кашель був сухий, у 34,3 % мокротиння було слизовим, у 47,1 % – слизово-гнійним, у 4,3 % – гнійним. У 77,1 % хворих температура тіла була вище 38 °С, у 18,6 % – субфебрильною (37–38 °С), у решти – нормальною. При аускультатії сухі або вологі хрипи (дифузні або поодинокі) вислуховували майже в усіх хворих.

Для вирішення завдань дисертаційної роботи усі включені в дослідження пацієнти були розподілені на 2 групи порівняння залежно від об'єму протиінфекційної терапії. В 1-й основній групі (30 пацієнтів) антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію поєднували з інгаляційним протимікробним засобом декаметоксином, а в 2-й, контрольній, (40 пацієнтів) – використовували лише антибактеріальну, патогенетичну та симптоматичну терапію. Перша та друга групи за усіма показниками дослідження (вік хворих, клініко-рентгенологічні дані, результати лабораторних аналізів) були повністю співставні.

Пацієнтам призначалась раціональна антибіотикотерапія:

- амоксициліну/клавуланат (Амоксил-К, Arterium, Україна) у дозі 1,2 г 3 рази на добу внутрішньовенно впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумамед, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після досягнення позитивної клінічної динаміки антибактеріальну терапію продовжили пероральною формою амоксициліну/клавуланату (Амоксил-К, Arterium, Україна) у дозі 1000 мг 2 рази на добу незалежно від прийому їжі.

Або

- цефтріаксон (Цефтріаксон, Дарниця, Україна) у дозі 2 г 1 раз на добу парентерально (в/в або в/м) впродовж 3–4 діб в комбінації з пероральною формою азитроміцину (Сумамед, Тева, Ізраїль) у дозі 500 мг 1 раз на добу за 1,5 години до прийому їжі протягом 3 діб. Після цього антибактеріальну терапію проводили пероральною формою цефуроксиму аксетилу (Зіннат, GSK, Велика Британія) у дозі 500 мг 2 рази на добу під час прийому їжі.

У якості противірусної терапії застосовували інгаляції (через небулайзер) антисептичного препарату декаметоксину (Декасан, Юрія-фарм, Україна) у дозі 2 мл 0,02 % розчину 2 рази на добу. Загальна тривалість противірусної терапії становила 5–7 днів, в усіх випадках вона була емпіричною.

Клінічну ефективність терапії визначали за результатами аналізу комплексу клініко-функціональних та лабораторних показників з урахуванням критеріїв, які наведені в Європейському посібнику з клінічної оцінки антимікробних лікарських засобів [227]. Клінічно ефективним лікування вважали, якщо після завершення дослідження повністю зникали (одужання) або значно зменшувались (покращення) вираженість симптомів та лабораторних ознак захворювання. При оцінці клінічної ефективності препаратів дослідження враховували результати лікування пацієнтів, які закінчили курс лікування препаратом дослідження, а також тих, що припинили прийом препаратів дослідження внаслідок їхньої неефективності та/або розвитку серйозних небажаних явищ.

Безпеку терапії оцінювали за частотою виникнення небажаних явищ, їх тяжкістю та появою клінічно значущих змін показників лабораторних досліджень. Небажаним вважали будь-яке несприятливе явище (в тому числі клінічно значуще відхилення даних лабораторних досліджень), яке виникло у пацієнта під час проведення клінічного дослідження незалежно від того, пов'язано воно чи ні з прийомом даного препарату. Для кожного небажаного

явища у відповідності з визначеними критеріями оцінювали зв'язок з препаратом дослідження (сумнівний, можливий, ймовірний, неможливо оцінити, відсутній) та ступінь тяжкості (легкий, середній, тяжкий). Аналіз безпеки та переносимості препаратів дослідження проводили за результатами обстеження усіх пацієнтів, які прийняли хоча б одну дозу препарату, незалежно від того, закінчили вони дослідження чи ні. При оцінці безпеки та переносимості антимікробної терапії не виявили небажаних явищ під час лікування в жодного з пацієнтів обох груп.

Аналіз динаміки результатів клініко-лабораторних та рентгенологічних досліджень свідчить, що проведена емпірична ступенева антиінфекційна терапія сприяла досягненню позитивних результатів: в усіх випадках діагностовано одужання.

У той же час терміни досягнення позитивних результатів в обох групах достовірно відрізнялись на користь основної групи:

1. Частка пацієнтів з слизово-гнійним чи гнійним характером мокротиння на 3-й день від початку лікування в контрольній групі становила 12,5 %, в основній групі у цей період у всіх пацієнтів мокротиння було слизовим ($p < 0,05$).

2. При рентгенологічному обстеженні на 14-й день від початку лікування повне зникнення інфільтративних змін в легенях виявили в основній групі у $(93,3 \pm 4,6)$ % хворих, а в контрольній – у $(75,0 \pm 6,8)$ % ($p < 0,05$)

3. Середня тривалість використання антибактеріальних препаратів в основній групі склала $(9,4 \pm 0,6)$ дня, в контрольній – $(11,6 \pm 0,5)$ дня, $p < 0,05$.

4. Загальна тривалість госпіталізації в основній групі він склала $(12,2 \pm 0,8)$ дня, а в контрольній – $(17,7 \pm 0,7)$, $p < 0,05$.

Важливу роль у перебігу захворювання у пацієнтів відігравали інфекційні ускладнення. Так, крім НП, у 24 (60,0 %) хворих 2-ї групи відмічали, головним чином, гострий ринофарингіт (38,0 % випадків), ангіну бічних валиків глотки (10,0 %) та синусити (8,0 %), всі інші ускладнення (отит, інфекційний ексудативний перикардит) – значно рідше. При цьому у 22 (55,0 %) випадків

було одне ускладнення і у 2 (5,0 %) випадків – два ускладнення. У першій групі пацієнтів інфекційних ускладнень не було завдяки протимікробним властивостям декаметоксину, який шляхом інгаляцій проникає у верхні та нижні дихальні шляхи.

Завдання – вивчити фармакоеконімічні аспекти антибактеріальної та противірусної терапії у хворих на вірусно-бактеріальну негоспітальну пневмонію.

З метою порівняння вартості застосованих режимів антимікробної терапії було проведено фармакоеконімічний аналіз у 70 пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи, які були включені в дослідження та завершили лікування згідно з протоколом. Оскільки загальна ефективність, безпека та переносимість лікування хворих на НП у кожній групі були співставними ($p > 0,05$), застосовано метод «мінімізації вартості».

За методом аналізу «мінімізація вартості» проводили порівняння загальної вартості лікування в обох групах дослідження. Загальна вартість лікування хворих кожної групи була поділена на відповідні рівні:

а) рівень I – вартість всієї антимікробної терапії, яка включала середню вартість антимікробних препаратів, а також вартість додаткової антимікробної терапії у випадку неефективного лікування засобами дослідження;

б) рівень II – вартість трудових витрат;

в) рівень III – загальна вартість лікування, яка включала всі витрати на медикаментозну терапію, а також на консультації фахівців.

Визначено, що включення в комплексне лікування вірусно-бактеріальної НП інгаляційної терапії декаметоксином знизило витрати на антибіотики в основній групі на 15,0 % за рахунок скорочення терміну лікування ($p < 0,05$). Додаткові витрати на інгаляційну терапію в основній групі призвели до того, що вартість всієї антимікробної терапії достовірно не відрізнялась в обох групах. У той же час вартість трудових затрат на лікування перевищувала у пацієнтів 2-ї

групи, що пов'язано з більшою тривалістю застосування даних лікарських препаратів.

Витрати на консультації були достовірно вищими в 2-й групі, що обумовлено більшою частотою ускладнень. Оскільки в контрольній групі термін перебування в стаціонарі був суттєво більший ($p < 0,05$), ніж у 1-й, то і витрати, пов'язані з госпіталізацією, виявились значно вищими. Внаслідок виявлених особливостей, загальна вартість лікування в контрольній групі була на 27,1 % більше ($p < 0,05$), ніж в основній.

Таким чином, клінічна ефективність, показники безпеки та фармакоекономічні дані свідчать про доцільність призначення хворим на НП з перших днів захворювання інгаляційного антисептичного препарату декаметоксину разом з адекватною антибактеріальною терапією, що дозволяє скоротити терміни перебування хворого в стаціонарі, зменшити частоту інфекційних ускладнень та достовірно знизити загальну вартість лікування хворих.

Завдання – запропонувати принципи вторинної профілактики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії із використанням антисептичного препарату декаметоксину.

За результатом проведеного *in vitro* та *in silico* вірусологічного дослідження противірусної дії декаметоксину на прототипний штам коронавірусу IBV та SARS-CoV-2, а також за даними мікробіологічних досліджень щодо впливу декаметоксину на вірусні, бактеріальні та грибкові етіопатогени респіраторних інфекційних захворювань – НП, інфекційного загострення ХБ/ХОЗЛ та БА тощо, – встановлено, що він володіє широким спектром антисептичної дії та є безпечним для застосування. Тому для вирішення завдання дисертаційної роботи був запропонований принцип неспецифічної профілактики вірусно-бактеріальної НП шляхом обробки шкіри та слизових оболонок декаметоксином, що полягає у регулярній обробці шкіри рук

та слизових оболонок очей, носа та ротоглотки 0,02 % розчином декаметоксину. Запропонований принцип неспецифічної профілактики дозволяє знизити ризик розвитку вірусно-бактеріальної НП.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі результатів клінічних, інструментальних, мікробіологічних, функціональних та математичних методів дослідження наведено теоретичне узагальнення та нове рішення актуальної проблеми пульмонології – удосконалення підходів до діагностики вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії шляхом використання сучасних молекулярно-біологічних технологій ідентифікації збудників за допомогою полімеразної ланцюгової реакції із зворотною транскрипцією в реальному часі, експрес-діагностики швидкими тестами та класичними бактеріологічними методами, оптимізація ефективності лікування цього контингенту пацієнтів за рахунок застосування інгаляційного антисептику декаметоксину, а також визначення доцільності проведення вторинної профілактики захворювання даним препаратом.

1. Для встановлення етіології вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії слід використовувати одночасне застосування трьох різних методичних підходів – класичний бактеріологічний, експрес-тестування та молекулярно-біологічний, що дає можливість максимально підвищити ефективність ідентифікування респіраторних збудників.

2. Встановлено, що декаметоксин *in vitro* виявляє протівірусну активність по відношенню до прототипного штаму коронавірусу інфекційного бронхіту курки: в концентрації 100 мкг/мл повністю інактивує 1000 інфекційних доз IBV при клінічно значущих контактах впродовж 30, 60 і 120 секунд за температури 18–24 °С, а в концентраціях від 200 мкг/мл до 1000 мкг/мл – 1000–10000 інфекційних доз вірусу при тривалості експозиції 30 хв за температури 37 °С.

3. Механізм противірусної дії декаметоксину проти SARS-CoV-2, який встановлений методом *in silico*, полягає в блокуванні основної протеази збудника шляхом утворення стабільного ліганд-білкового комплексу між препаратом та Mpro вірусу за розрахунковою енергією зв'язку $-8,4$ ккал/моль, що призводить до інгібування репродукції вірусу та запобігання стрімкого розвитку інфекційного захворювання в організмі пацієнта.

4. Додаткове включення у схему лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією інгаляційного протимікробного засобу декаметоксину, дозволяє достовірно зменшити частоту інфекційних ускладнень, тривалість антибіотикотерапії ($(9,4 \pm 0,6)$ дня в основній групі та $(11,6 \pm 0,5)$ – в контрольній, $p < 0,05$), а також термін досягнення позитивних результатів лікування (відповідно – $(12,2 \pm 0,8)$ та $(17,7 \pm 0,7)$ дня, $p < 0,05$). Продемонстровано, що запропонована схема лікування призводить до швидшого зникнення інфільтративних змін у легенях (у $(93,3 \pm 4,6)$ % хворих в основній групі та у $(75,0 \pm 6,8)$ % – у контрольній, $p < 0,05$).

5. Додавання інгаляційного протимікробного засобу декаметоксину до емпіричної ступеневої антибіотикотерапії знижує загальну вартість лікування на 27,1 % за рахунок зменшення трудових витрат, скорочення тривалості антибіотикотерапії, термінів перебування у стаціонарі та зниження витрат на консультації, порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).

6. Встановлена доцільність використання вторинної профілактики негоспітальної пневмонії шляхом обробки шкіри та слизових оболонок 0,02 % розчином декаметоксину, що дозволяє знизити ризик розвитку вірусно-бактеріальної НП.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Вірус IBV можна використовувати як безпечну для людини модель вірусу SARS-CoV-2, що входить до однієї родини Coronaviridae з подібною складною структурою, схожими клітинами-мішенями, подібним типом патології та імунологічною реактивністю, що дозволяє припустити наявність подібних молекулярних мішеней для дії противірусних лікарських засобів.

2. Розраховані показники взаємодії декаметоксину в активних центрах IBV M_{pro} та SARS-CoV-2 M_{pro} можуть значно розширити можливості пошуку та аналізу нових противірусних препаратів різних хімічних класів як інгібіторів M_{pro} вірусу SARS-CoV-2.

3. Виявлені противірусні властивості декаметоксину у фармакопейно допустимих концентраціях по відношенню до коронавірусу дозволяють рекомендувати його як дезінфікуючий засіб при розробці методів неспецифічної профілактики коронавірусної інфекції та вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії у дорослих людей.

4. Для підвищення ефективності виявлення етіопатогену НП рекомендовано використовувати розроблену в роботі оптимальну схему етіологічної лабораторної діагностики збудників у хворих на НП та її модифікацію – для виявлення етіопатогену НП під час високої поширеності COVID-19 або грипу, які базуються на одночасному застосуванні трьох різних методичних підходів – класичного бактеріологічного, «експрес»-тестування та молекулярно-біологічного для детекції респіраторних збудників, що є найбільш ефективним для отримання остаточного результату та значно покращує етіологічну діагностику НП.

5. Пацієнтам з середньотяжким перебігом НП (III клінічна група) рекомендовано у склад комплексної терапії (додатково до емпіричної ступеневої антибіотикотерапії, симптоматичної та патогенетичної терапії) з першого дня

лікування призначали інгаляції через небулайзер антисептичного препарату декаметоксину у дозі 2 мл 0,02 % розчину 2 рази на добу впродовж 5–7 діб.

6. З метою зниження ризику розвитку вірусно-бактеріальної негоспітальної пневмонії у дорослих осіб пропонується оптимальний принцип вторинної профілактики шляхом обробки шкіри та слизових оболонок антисептичним препаратом декаметоксином.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах «Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб : етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антимікробна терапія та профілактика». Київ : Національна академія медичних наук України. 2019. 94 с.
2. Негоспітальна та госпітальна (Нозокоміальна) пневмонія у дорослих осіб : етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія : методичний посібник / Ю. І. Фещенко та ін. Київ. Національна академія медичних наук України. 2013. 112 с.
3. Chapter 18. Acute lower respiratory infections. ERS white book. 2013. P. 210–223. URL: https://www.erswhitebook.org/files/public/Chapters/18_ALRIs.pdf (дата звернення: 23.05.2020).
4. Dandachi D., Rodriguez-Barradas M. C. Viral pneumonia: etiologies and treatment // Journal of Investigative Medicine. 2020. Volume 66, Issue 6. URL : <https://jim.bmj.com/content/66/6/957> (дата звернення: 28.05.2020)
5. World Pneumonia Day is Nov. 12, 2017; Stop Pneumonia: Strengthen Strategies to Protect, Prevent and Treat. URL : <https://www.thoracic.org/about/newsroom/press-releases/journal/2017/world-pneumonia-day-is-nov-12-stop-pneumonia-strengthen-strategies-to-protect-prevent-and-treat.php> (дата звернення: 05.06.2020).
6. Pneumonia in adults: diagnosis and management. NICE Clinical Guidelines, No. 191 // London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2019. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK552669/> (дата звернення: 23.05.2020).
7. Дзюблик Я. О. Обґрунтований вибір антибіотикотерапії у хворих на негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів бактеріальної етіології // Укр. пульмонолог. журн. 2012. № 3. С. 60–64.

8. Ferreira-Coimbra J., Sarda C., Rello J.. Burden of Community-Acquired Pneumonia and Unmet Clinical Needs // *Adv Ther.* 2020. № 37. P. 1302–1318.

9. Noviello S., Huang D. B. The Basics and the Advancements in Diagnosis of Bacterial Lower Respiratory Tract Infections // *Diagnostics* 2019. № 9 (37). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627325/> (дата звернення: 28.05.2020).

10. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U. S. adults / S. Jain et al. // *N. Engl. J. Med.* 2015. № 373, P. 415–427.

11. Clinical role of viral identification by a polymerase chain reaction-based diagnostic panel in adults hospitalized with community-acquired pneumonia / Filippo Lagi et al. // *Internal and Emergency Medicine.* 2020. URL : <https://link.springer.com/article/10.1007/s11739-020-02282-7> (дата звернення: 28.05.2020)

12. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections / M. Woodhead et al. // *Clinical microbiology and infection.* 2011. Vol. 17, Suppl. 6. P. E1–E59.

13. Viral–bacterial interactions in the respiratory tract / C. Bellinghausen et al. // *Journal of General Virology.* 2016. Vol. 97 (12). URL : <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000627#R5> (дата звернення: 29.05.2020).

14. Prevalence and clinical impact of Viral Respiratory tract infections in patients hospitalized for Community-Acquired Pneumonia: the VIRCAP study / P. Tatarelli et al. // *Internal and Emergency Medicine.* 2019. URL : <https://doi.org/10.1007/s11739-019-02243-9> (дата звернення: 01.06.2020)

15. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America / J. P. Metlay et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2019. Volume 200, Issue 7. URL :

<https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.201908-1581ST> (дата звернення: 03.06.2020).

16. Внебольничная пневмония : Клинические рекомендации. 2018. URL : <https://spulmo.ru/obrazovatelnye-resursy/federalnye-klinicheskie-rekomendatsii/> (дата звернення: 09.06.2020)

17. Viral pneumonia / Olli Ruuskanen et al. // The Lancet. 2011. Vol. 377, ISSUE 9773, P. 1264–1275.

18. Battle against Respiratory Viruses (BRaVe) initiative / World Health Organisation. URL : https://www.who.int/influenza/patient_care/clinical/brave/en/ (дата звернення: 22. 05.2020)

19. Клінічна настанова, заснована на доказах «Грип та гострі респіраторні інфекції». Київ. Національна академія медичних наук України. 2018. 141 с.

20. Incidence, etiology, and outcomes of community-acquired pneumonia: a population-based study / Bjarnason A, Westin J, Lindh M, et al. // Open Forum Infect Dis. 2018. №5 (2). P. ofy010. URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29479548/> (дата звернення: 01.06.2020).

21. Фещенко Ю. І., Дзюблик О. Я., Дзюблик Я. О. Негоспітальна пневмонія. Київ : «Саммит-Книга», 2020. С. 467.

22. Community acquired pneumonia: the need to broaden our diagnostic armamentarium / Rubeshan Perumal // African Journal of Thoracic and Critical Care Medicine. 2020. № 26(1). P. 2–3.

23. Рачина С. А., Иванчик Н. В., Козлов Р. С. Особенности микробиологической диагностики при внебольничной пневмонии у взрослых // Практическая пульмонология. 2016. № 4. С. 40–47.

24. Дзюблик Я. О. Негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів: монографія. Вінниця : ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2016. С. 255.

25. Ramsey C. D., Kumar A. Influenza and endemic viral pneumonia // Crit. Care Clin. 2013. Vol. 29, № 4. P. 1069–1086.

26. Детекция возбудителей внегоспитальных инфекций нижних дыхательных путей с помощью новейших инструментальных молекулярно-биологических методов / О. В. Обертинская и др. // Материалы 8-й научно-практической конференции. М., 2014. С. 329–330.

27. Дзюблик Я. О., Обертинська О. В. Алгоритм етіологічної діагностики негоспітальних інфекцій нижніх дихальних шляхів // Укр. пульмонол. журн. 2013. № 3. С. 112–113.

28. Musher D. M., Abers M. S., Bartlett J. G. Evolving understanding of the causes of pneumonia in adults, with special attention to the role of pneumococcus // *Clin Infect Dis.* 2017. № 65 (10). P. 1736–1744.

29. Інформаційний бюлетень «Грип та ГРВІ в Україні» за 6 тиждень (3–9.02.2020). Київ. 2020. С. 2–6.

30. Predictors of one year mortality among immunocompetent adults hospitalized for community-acquired pneumonia / P. F. Saldías et al. // *Rev. Med. Chil.* 2013. Vol. 141, Suppl. 2. P. 143–152.

31. Coenen S. Infectious diseases in primary care; managing the interface between the person and the community // *Eur. J. Gen. Pract.* 2012. Vol. 18, Suppl. 2. P. 117–121.

32. Global, Regional, and National Age-Sex-Specific Mortality for 282 Causes of Death in 195 Countries and Territories, 1980-2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 /GBD 2017 Causes of Death Collaborators // *Lancet Inf. Dis.* 2018. № 10. 392(10159). P. 1736–1788.

33. Bacterial etiology of community-acquired pneumonia in immunocompetent hospitalized patients and appropriateness of empirical treatment recommendations: an international point-prevalence study / M. Carugati et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 2020. URL : <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-020-03870-3#Sec1> (дата звернення: 15.06.2020).

34. Acute lower respiratory infections / European Lung Foundation (ELF). URL : <https://www.europeanlung.org/en/lung-disease-and-information/lung-diseases/acute-lower-respiratory-infections> (дата звернення: 28.05.2020)
35. Feldman C., Shaddock E. Epidemiology of lower respiratory tract infections in adults // *Expert Review of Respiratory Medicine Journal*. 2019. Vol. 13. P. 63–77.
36. Incidence of community-acquired lower respiratory tract infections and pneumonia among older adults in the United Kingdom: a population-based study / Millett E. R. et al. // *PLoS One*. 2013. №8 (9). P. e75131. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3770598/> (дата звернення: 01.06.2020).
37. Role of Atypical Pathogens and the Antibiotic Prescription Pattern in Acute Bronchitis: A Multicenter Study in Korea / Sunghoon Park et al. // *J Korean Med Sci*. 2015. № 30 (10). P. 1446–1452.
38. National Audit Report: Adult Community Acquired Pneumonia Audit 2018–2019 / Wei Shen Lim, Hannah Lawrence // *British Thoracic Society Reports*. 2019. Vol 10, Issue 4. 13 P.
39. Early mobilisation of patients with community-acquired pneumonia reduce length of hospitalisation—a pilot study / Dorte Melgaard et al. // *J. Phys. Ther. Sci*. 2018. № 30. P. 926–932.
40. Trends in hospitalizations for community-acquired pneumonia in Spain: 2004 to 2013 / Javierde Miguel-Díez et al. // *European Journal of Internal Medicine*. 2017. Volume 40. P. 64–71.
41. National Hospital Care Survey Demonstration Projects: Pneumonia Inpatient Hospitalizations and Emergency Department Visits / Sonja Williams et al. // *National Health Statistics Reports*. 2018. 11 P.
42. Incidence, direct costs and duration of hospitalization of patients hospitalized with community acquired pneumonia: A nationwide retrospective claims database analysis / M. H. Rozenbaum et al. // *Vaccine*. 2015. Volume 33, Issue 28. P. 3193–3199.

43. Overview of community-acquired pneumonia in adults / Julio A Ramirez // UpToDate. 2020. URL : https://www.uptodate.com/contents/overview-of-community-acquired-pneumonia-in-adults?search=community%20acquired%20pneumonia&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1 (дата звернення: 23.05.2020).

44. Incidence rate of community-acquired pneumonia in adults: a population-based prospective active surveillance study in three cities in South America / Lopardo G. D. et al. // BMJ Open. 2018. № 8 (4). P. e019439. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5898349/> (дата звернення: 02.06.2020)

45. Morbidity and mortality of pneumonia in adults in six Latin American countries / Buzzo A. R. et al. // JM Int J Infect Dis. 2013. № 17 (9). P. e673–7.

46. Disease burden of hospitalized community-acquired pneumonia in South Korea: analysis based on age and underlying medical conditions / Choi M. J., Song J. Y., Noh J.Y. et al. // Medicine (Baltimore). 2017. № 96 (44). P. e8429. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5682800/> (дата звернення: 02.06.2020)

47. Assessing the burden of pneumonia using administrative data from Malaysia, Indonesia, and the Philippines / Azmi S., Aljunid S. M., Maimaiti N., et al. // Int J Infect Dis. 2016. № 49. P. 87–93.

48. Contemporary situation of community-acquired pneumonia in china: a systematic review / Zhu Y. G. et al. // J Transl Int Med. 2018. № 6 (1). P. 26–31.

49. Community-acquired syndromes causing morbidity and mortality in Australia / Sharma S. et al. // Commun Dis Intell Q Rep. 2017. № 41 (1). P. E49–57.

50. Song J. H., Huh K., Chung D. R. Community-acquired pneumonia in the Asia-Pacific region // Semin Respir Crit Care Med. 2016. № 37 (6). P. 839–854.

51. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь-декабрь 2018г. / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. URL :

<https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/> (дата звернення: 02.06.2020)

52. Смертность от болезней органов дыхания в 2014 – 2015 гг. и пути ее снижения / Т. Н. Биличенко и др. // Пульмонология. 2016. № 26 (4). С. 289–397.

53. Уніфікований клінічний протокол первинної медичної допомоги дорослим та дітям на «Гострі респіраторні інфекції» : Наказ МОЗ України від 16.07.2014 р. № 499. Київ, 2016. 25 с.

54. NICE guideline : Cough (acute) : antimicrobial prescribing. NICE. 2020. P. 4–37. URL : <https://www.nice.org.uk/guidance/ng120/resources/cough-acute-antimicrobial-prescribing-pdf-66141652166341> (дата звернення: 20.05.2020)

55. Epidemiology and management of common pulmonary diseases in older persons / К. М. Akgün et al. // J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2012. Vol. 67A, Suppl. 3. P. 276–291.

56. Mortality indicators in community-acquired pneumonia requiring intensive care in Turkey / Н. Erdem et al. // Int. J. Infect. Dis. 2013. Vol. 17, Suppl. 9. P. 768–772.

57. Спектр вірусних збудників у хворих на негоспітальну пневмонію / О. Я. Дзюблик та ін. // Укр. пульмонол. журн. 2010. № 1. С. 27–30.

58. Сидоренко С. В. Изменения этиологической структуры инфекционных болезней и тенденции распространения антибиотикорезистентности. URL : [http : //www.rmj.ru/articles_738.htm](http://www.rmj.ru/articles_738.htm) (дата звернення: 20.05.2020).

59. Community-acquired pneumonia during the first post-pandemic influenza season: a prospective, multicentre cohort study / D. Viasus et al. // J. Infect. 2013. Vol. 67, Suppl. 3. P. 185–193.

60. Comparison of clinical features and outcomes of hospitalized adult patients with novel influenza A (H1N1) pneumonia and other pneumonia / С. Н. Sohn et al. // Acad. Emerg. Med. 2013. Vol. 20, Suppl. 1. P. 46–53.

61. Рачина С. А., Козлов Р. С. Современные подходы к микробиологической диагностике при внебольничной пневмонии // Пульмонология. 2010. № 1. С. 5–14.

62. Детекция возбудителей негоспитальных инфекций нижних дыхательных путей с помощью новейших инструментальных молекулярно-биологических методов / О. В. Обертинская та ін. // Материалы 8-й науч.-практ. конференции. М., 2014. С. 329–330.

63. Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia / W. H. Self et al. // The Journal of Infectious Diseases. 2016. Volume 213, Issue 4, P. 584–591.

64. Community-acquired pneumonia / Elena Prina et al. // The Lancet. 2015. Vol. 386, ISSUE 9998, P. 1097–1108.

65. The aetiology and antibiotic management of community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review / Torres A. et al. // Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014. № 33 (7). P. 1065–1079.

66. CHAPTER 45. Infections of the lower respiratory tract / Lionel A.Mandell, Robert C.Read // Antibiotic and Chemotherapy (Ninth Edition). 2010. P. 574–588.

67. Biggest Threats and Data. 2019 AR Threats Report. Centers for disease control and prevention. URL : <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html> (дата звернення: 13.03.2020)

68. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019 / Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019. URL : <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> (дата звернення: 02.06.2020).

69. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых / Чучалин А. Г. и др. // Клинический журнал антимикробной химиотерапии. 2015. Том 17. №2. С. 84–126.

70. WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation. / Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 128 p.

71. Antimicrobial Resistance Tackling the Burden in the European Union / OECD. 2019. URL : <https://www.oecd.org/health/health-systems/AMR-Tackling-the-Burden-in-the-EU-OECD-ECDC-Briefing-Note-2019.pdf> (дата звернення: 29.05.2020).

72. Stemming the Superbug Tide. Just a few dollars more / Paris: OECD Publishing. 2018. 224 p.

73. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. URL : <https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (дата звернення: 16.04.2020)

74. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 / Stockholm: ECDC; 2019. 99 P.

75. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів: механізми розвитку і шляхи запобігання / М. В. Бондар та ін. // Медицина неотложных состояний. 2016. № 3 (74). С. 11–17.

76. Гуменюк М. І., Денисов О. С., Фещенко Ю. І Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи вирішення // Український хімотерапевтичний журнал. 2010. №1–2 (23). С 4–10.

77. Surveillance atlas of infectious disease. URL : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4> (дата звернення: 06.03.2020).

78. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019.

79. Антибиотикорезистентность клинических штаммов Streptococcus pneumoniae в России: результаты многоцентрового эпидемиологического

исследования «ПЕГАС 2014–2017» / Иванчик Н.В. и др. // КМАХ. 2019. Том 21. № 3. С. 229–237.

80. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Haemophilus influenzae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования ПЕГАС (2014–2017 гг.) / Иванчик Н. В. и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019. № 21 (4). С. 317–323.

81. GSK – Survey of Antibiotic Resistance (SOAR). URL : <https://www.amrindustryalliance.org/case-study/gsk-survey-of-antibiotic-resistance-soar/> (дата звернения: 02.06.2020)

82. SOAR (Survey of Antibiotic Resistance). URL : <https://gskpro.com/en-eg/therapy-areas/anti-infective/soar/> (дата звернения: 02.06.2020)

83. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014–16 in the Czech Republic / D. Torumkuney et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2018. Volume 73, Issue suppl 5. P. v22–v27.

84. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014–16 in Bulgaria, Romania, Serbia and Croatia / D. Torumkuney et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2018. Volume 73, Issue suppl. 5. Pages v2–v13.

85. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2015–17 in the Middle East (Kuwait, Lebanon and Saudi Arabia): data based on CLSI, EUCAST (dose-specific) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) breakpoints / D. Torumkuney et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2020. Volume 75, Issue Supplement 1. P. i60–i75.

86. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2015–17 in Latin America (Argentina, Chile and Costa Rica): data based on CLSI, EUCAST (dose-specific) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) breakpoints / D. Torumkuney et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2020. Volume 75, Issue Supplement_1. P. i43–i59.

87. ABCs Report: Streptococcus pneumoniae, 2017 / Centers for Disease Control and Prevention. 2017. URL : <https://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/spneu17.html> (дата звернення: 02.06.2020).

88. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2011–13 in Ukraine / Y. Feshchenko et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2016. Volume 71, Issue Supplement 1. P. i63–i69.

89. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2014–16 in Ukraine and the Slovak Republic / D. Torumkuney et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2018. Volume 73, Issue suppl 5. Pages v28–v35.

90. Дзюблик І. В., Самборська І. Ф., Соловійов С. О. Швидкі тести та їх місце в етіологічній діагностиці гострих кишкових вірусних інфекцій // Здоров'я суспільства. 2013. Т. 2, № 2. С. 50–57.

91. Коронавіруси людини та захворювання органів дихання / І. В. Дзюблик та ін. // Здоров'я суспільства. 2015. № 1–2. С. 39–47.

92. Coronaviruses: a paradigm of new emerging zoonotic diseases / C. Salata et al. // Pathogens and Disease. 2020. Vol. 77, Issue 9. URL : <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa006> (дата звернення: 22.03.2022)

93. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak / URL : <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (дата звернення: 06.03.2020 р.).

94. Актуальні респіраторні віруси як індуктори бронхообструктивних захворювань у дітей і можливості антивірусної терапії / О. М. Охотнікова та ін. // Астма та алергія. 2016. № 2. С. 29–38.

95. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections / C. L. Charlton et al. // Clin Microbiol Rev. 2019. № 32 (1). P. e00042–18.

96. Clinical impact of human coronaviruses 229E and OC43 infection in diverse adult populations / E. E. Walsh et al. // J. Infect. Dis. 2013. Vol. 208, Suppl. 10. P. 1634–1642.

97. Drysdale S. B., Milner A. D., Greenough A. Respiratory syncytial virus infection and chronic respiratory morbidity – is there a functional or genetic predisposition? // *Acta Paediatr.* 2012. Vol. 101, Suppl. 11. P. 1114–1120.
98. Novel Influenza A (H1N1) Study Group of the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Changes in epidemiology, clinical features and severity of influenza A (H1N1) 2009 pneumonia in the first postpandemic influenza season / D. Viasus et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. Vol. 18. P. 55–62.
99. Guideline for Antibiotic Use in Adults with Community-acquired Pneumonia / Mi Suk Lee et al. // *Infect Chemother.* 2018. № 50 (2) P. 160–198.
100. Інформаційний бюлетень «Грип та ГРВІ в Україні» за 20 тиждень (11–17.05.2020). Центр Громадського Здоров'я. Київ. 2020. С. 2–6.
101. Influenza (Seasonal). URL : [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (дата звернення: 15.04.2024).
102. Спектр вірусних збудників у хворих на не госпітальну пневмонію / О. Я. Дзюблик та ін. // *Український пульмонологічний журнал.* 2010. № 1. С. 27–30.
103. Epidemiology, microbiology, and treatment considerations for bacterial pneumonia complicating influenza / M. L. Metersk et al. // *International Journal of Infectious Diseases.* 2012. Volume 16, Issue 5, P. 321–331.
104. Hendaus M., Jomha F., Alhammadi A. Virus-induced secondary bacterial infection: a concise review // *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2015. Vol 11. P. 1265—1271.
105. Rates of asymptomatic respiratory virus infection across age groups / Galanti M. et al // *Epidemiology and Infection.* 2019. № 147, e176, P. 1–6.
106. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development / Enjuanes L. et al. // *Adv Virus Res.* 2016. № 96. P. 245–286.
107. Hudson C. B., Beaudette F. R.. Infection of the cloaca with the virus of infectious bronchitis // *Science.* 1932. Vol. 76 (1958). P. 34. URL :

<https://science.sciencemag.org/content/76/1958/34.2.long> (дата звернення: 27.07.2020)

108. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses / Shuo Su et al. // *Trends Microbiol.* 2016. № 24 (6). P. 490–502.

109. Host Factors in Coronavirus Replication / A. H. de Wilde et al. // *Curr Top Microbiol Immunol.* 2018. № 419. P. 1–42.

110. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). URL : <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/> (дата звернення: 10.08.2020)

111. Timeline: WHO's COVID-19 response. URL : <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline#!> (дата звернення: 10.08.2020)

112. Virus Taxonomy: 2019 Release. URL : <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (дата звернення: 20.08.2020)

113. Mechanisms of Coronavirus Cell Entry Mediated by the Viral Spike Protein / S. Belouzard et al. // *Viruses.* 2012. № 4 (6). P. 1011–1033.

114. Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses / V. M. Corman et al. // *Adv Virus Res.* 2018. № 100. P. 163–188.

115. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease / A. T. Huang et al. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7217088/> (дата звернення: 02.08.2020)

116. Schoeman D., Fielding B. C. Coronavirus envelope protein: current knowledge // *Virology Journal.* 2019. №16 (69). URL : <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-019-1182-0> (дата звернення: 21.07.2020)

117. Ruch T. R., Machamer C. E.. The coronavirus E protein: assembly and beyond // *Viruses.* 2012. № 4 (3). P. 363–382.

118. The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1–PKB/Akt signaling / Ho Tsoi et al. // *Biochem J.* 2014. № 464 (3). P. 439–447.

119. Yoshimoto F. K. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19 // *The Protein Journal.* 2020. Vol. 39. P. 198–216.

120. The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1-PKB/Akt signalling / Tsoi H. et al. // *Biochem J.* 2014. № 464 (3). P. 439–447.

121. Gralinski L. E., Baric R. S.. Molecular pathology of emerging coronavirus infections // *J Pathol.* 2015. № 235 (2). P. 185–195.

122. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents / G. Kampf et al. // *J Hosp Infect.* 2020. № 104(3). P. 246–251.

123. Corona Virus (SARS-COV-2) Induced Inflammatory Lung Disease a Review on the Role of Renin–Angiotensin System and the Angiotensin Converting Enzyme-2 / Sanjeev Arya et al. // *American Journal of Internal Medicine* 2020. № 8 (4). P. 159–171.

124. Channappanavar R., Perlman S.. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology // *Semin Immunopathol.* 2017. № 39 (5). P. 529–539.

125. Human Coronavirus Types. URL : <https://www.cdc.gov/coronavirus/types.html> (дата звернення: 27.07.2020)

126. Epidemiology of Seasonal Coronaviruses: Establishing the Context for the Emergence of Coronavirus Disease 2019 / Sema Nickbakhsh et al. // *The Journal of Infectious Diseases.* 2020. Vol. 222 (1). P. 17–25.

127. National Trends for Common Human Coronaviruses // *The National Respiratory and Enteric Viruses Surveillance System (NREVSS).* URL : <https://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/coronavirus/natl-trends.html> (дата звернення: 24.07.2020)

128. Human coronavirus circulation in the United States 2014–2017 / M. E. Killerby et al. // *J Clin Virol*. 2018. № 101. P. 52–56.

129. Epidemiology characteristics of human coronaviruses in patients with respiratory infection symptoms and phylogenetic analysis of HCoV-OC43 during 2010–2015 in Guangzhou / Su-fen Zhang et al. // *PLoS One*. 2018. № 13 (1). P. e0191789. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5788356/> (дата звернення: 24.07.2020).

130. Human Coronavirus in Hospitalized Children With Respiratory Tract Infections: A 9-Year Population-Based Study From Norway / Inger Heimdal et al. // *J Infect Dis*. 2019. № 219 (8). P. 1198–1206.

131. Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1 / Nehemya Friedman et al. // *Viruses*. 2018. № 10 (10). P. 515.

132. Nevio Cimolai. Environmental and decontamination issues for human coronaviruses and their potential surrogates // *Journal of medical virology*. 2020. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.26170#jmv26170-bib-0003> (дата звернення: 28.07.2020)

133. Coronavirus infections and immune responses / Geng Li et al. // *J Med Virol*. 2020. № 92. P. 424–432.

134. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development / L. Enjuanes et al. // *Adv Virus Res*. 2016. № 96. P. 245–286.

135. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. URL : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses> (дата звернення: 07.08.2020)

136. Yepeng Luan, Wenfang Xu. The Structure and Main Functions of Aminopeptidase N // *Current Medicinal Chemistry*. 2007. № 14 (6). P. 639–647.

137. Pathogenesis of Middle East respiratory syndrome coronavirus / Judith MA van den Brand et al. // *The Journal of pathology*. 2015. Vol. 235 (2). P. 175–184.

138. To Sing Fung, Ding Xiang Liu. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction // *Annual Review of Microbiology*. 2019. № 73 (1). P. 529–557.

139. Zhang H., Baker A. Recombinant human ACE2: acing out angiotensin II in ARDS therapy // *Crit Care*. 2017. № 21. P. 305.

140. The Potential Role of Renin Angiotensin System (RAS) and Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) in COVID-19: Navigating the Uncharted / Hayder M. Al-Kuraishy et al. URL : <https://doi.org/10.5772/intechopen.92837> (дата звернення: 20.03.2022).

141. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China / Wen Zhang et al. // *Clinical Immunology*. 2020. Vol. 214. 108393. URL : <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108393> (дата звернення: 20.03.2022).

142. Into the Eye of the Cytokine Storm / J. R. Tisoncik et al. // *Microbiol Mol Biol Rev*. 2012. № 76 (1). 16–32. P. doi:10.1128/MMBR.05015-11 (дата звернення: 20.03.2022).

143. Коронавірусна інфекція: поліморфізм клінічних симптомів / Дуда О.К. та ін. // *Профілактична медицина*. 2014. № 3–4 (23). С. 50.

144. Охотнікова О. М., Дзюблик І. В., Руденко С. М. Актуальні респіраторні віруси як індуктори бронхообструктивних захворювань у дітей і можливості антивірусної терапії // *Астма та алергія*. 2016. №2. С.29–39.

145. Clinical characteristics of COVID-19. URL : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/clinical> (дата звернення: 06.08.2020)

146. Follow-up study of the pulmonary function and related physiological characteristics of COVID-19 survivors three months after recovery / Yu-miao Zhao et al. // *EClinicalMedicine*. 2020. URL : <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100463> (дата звернення: 20.03.2022).

147. Негоспітальна пневмонія, асоційована з COVID-19: погляд на лікування / Ю. І. Фещенко та ін. // Український пульмонологічний журналю 2020. №2. С. 5–12.

148. Застосування ліків при COVID-19. URL : <http://covid19.dec.gov.ua/#rec188570508> (дата звернення: 08.08.2020)

149. Швидкі ІХА–тести для етіологічної діагностики інфекційних захворювань людини : методичні рекомендації / І. В. Дзюблик та ін. Київ, 2013. 94 с.

150. Laboratory Detection of Respiratory Viruses by Automated Techniques / Mercedes Pérez-Ruiz et al. // The Open Virology Journal. 2020. Vol. 14. URL : <https://benthamopen.com/FULLTEXT/TOVJ-6-151> (дата звернення: 07.06.2020).

151. Холодок Г. Н., Морозова Н. В. Современные методы и возможности этиологической верификации бронхолегочных заболеваний у детей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. № 60. С. 125–130.

152. Molecular methods for antimicrobial resistance (AMR) diagnostics to enhance the Global Antimicrobial Resistance Surveillance System / Geneva: World Health Organization. 2019. 64 p.

153. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки. Наказ МОЗ України від 05.04.2007 р. № 167. Київ, 2007. URL : <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=6958> (дата звернення: 17.03.2022).

154. Establishment of Biosafety Level-3 (BSL-3) laboratory: Important criteria to consider while designing, constructing, commissioning & operating the facility in Indian setting / Devendra T. Mourya et al. // Indian J Med Res. 2014. № 140 (2). P. 171–183.

155. Роль радіоімунологічного аналізу в клінічній практиці / Довгич Т. А. та ін. // Український радіологічний журнал. 2015. № 23 (3). С. 55–57.

156. Характеристика можливостей імуноферментного аналізу / Н. П. Шемедюк // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького. 2016. Т. 18, № 2 (66). С. 212–216.

157. Етіологія і фактори ризику позалікарняної пневмонії / О. С. Більченко та ін. // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. 2016. Вип. 27. С. 99–105.

158. Перцева Т. О., Кіреєва Т. В., Белослудцева К. О. Маски тяжких пневмоній: алгоритми діагностики та лікування : практичний посібник. Дніпропетровськ: «Герда». 2014. 64 С.

159. Доан С. І., Голубка О. С., Оніщенко О. В. Лабораторні дослідження в системі епідеміологічного нагляду за грипом і ГРВІ // Профілактична медицина. 2012. № 1. С. 10–14.

160. SAS™ Rapid Diagnostic Tests. URL : <http://www.sascientific.com/products/sas-rapid-diagnostic-tests/diseases/infectious-diseases> (дата звернення: 08.06.2020)

161. M. R. Couturier, E. H. Graf, A. T. Griffin. Urine Antigen Tests for the Diagnosis of Respiratory Infections Legionellosis, Histoplasmosis, Pneumococcal Pneumonia // Clin Lab Med. 2014. № 34. P. 219–236.

162. Soler L., Russell D.. Clinical Performance of the Uni-Gold™ Legionella Urinary Antigen PLUS. URL : <https://www.trinitybiotech.com/wp-content/uploads/2015/03/Legionella-White-Paper-ARTWORK.pdf> (дата звернення: 08.06.2020)

163. Alere BinaxNOW™ S. pneumoniae Antigen Card. URL : <https://www.alere.com/en/home/product-details/binaxnow-streptococcus-pneumoniae.html> (дата звернення: 08.06.2020)

164. BinaxNOW™ S. pneumoniae Antigen Card. URL : [HTTPS://WWW.ALERE.COM/EN/HOME/PRODUCT-DETAILS/BINAXNOW-STREPTOCOCCUS-PNEUMONIAE-WW.HTML](https://www.alere.com/en/home/product-details/binaxnow-streptococcus-pneumoniae-ww.html) (дата звернення: 11.06.2020).

165. Абдурашитов М. А., Нетесова Н. А. Определение вирусных нуклеиновых кислот в крови человека // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2018, Т. 18, № 4. URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-virusnyh-nukleinovyh-kislot-v-krovi-cheloveka/viewer> (дата звернення: 07.06.2020).

166. Дзюблик І. В., Соловійов С. О., Ковалюк О. В. Етіологічна діагностика гострих вірусних інфекцій: роль у сучасній системі охорони здоров'я та економічна ефективність // Інфекційні хвороби. 2018. № 1 (91). С. 46–53.

167. Умови проведення полімеразної ланцюгової реакції у лабораторній практиці (методичні аспекти) / М. С. Калачнюк та ін. // Біологія тварин. 2012. Том 14, № 1–2. С. 660–667.

168. ПЦР в реальном времени. URL : <https://med-gen.ru/otcentre/struktura/tcentr-kollektivnogo-pol-zovaniia-genom/ptcr-v-real-nom-vremeni/> (дата звернення: 08.06.2020)

169. Особливості мікробіологічної діагностики атипичних форм бактеріальних пневмоній / Бендас В. В., Міхєєв А. О. // Wyksztakenie i nauka bez granic. 2014. Volume 23. P. 26–28.

170. Легионеллезная пневмония: проблемы клинической практики на сегодня / Т. А. Перцева и др. // Актуальні питання медичної науки та практики. 2016. Випуск 83. Т. 1. Кн. 1. С. 118–130.

171. Диференціальний діагноз, забір зразків та діагностичні тести : Тренінг з надання екстреної допомоги при важкій гострій респіраторній вірусній інфекції (ГРВІ) / Центр Громадського здоров'я. 2020. URL: https://new.meduniv.lviv.ua/uploads/repository/dep/dep_medical_1/00._COVID_2019_інформація/Inormaciya_vid_centru_Gromadskogo_zdorov%27ya/5_Diagnostics.pptx.pdf (дата звернення: 09.06.2020)

172. Multiplex quantitative PCR for detection of lower respiratory tract infection and meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and

Neisseria meningitidis / G. M. K. Abdeldaim et al. // *BMC Microbiology* . 2010. Volume 10, Article number: 310. URL: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2180-10-310> (дата звернення: 09.06.2020)

173. Изотермическая петлевая амплификация: эффективный метод экспресс-диагностики в онкологии / Ю. А. Макарова и др. // *Онкоурология*. 2018. № 14. С. 88–99.

174. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of microorganisms / Y.-P. Wong et al. // *J Appl Microbiol*. 2018. № 124 (3). P. 626–643.

175. Тесты молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами для выявления лекарственно- устойчивого туберкулеза : Руководство по интерпретации и отчетности для лабораторного персонала и врачей. URL: http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/LPA_test_Russian.pdf (дата звернення: 08.06.2020)

176. Selux diagnostics. URL : <https://seluxdx.com/> (дата звернення: 08.06.2020)

177. Patel R. MALDI-TOF MS for the Diagnosis of Infectious Diseases // *Clinical Chemistry*. 2015. Volume 61. Issue 1. P. 100–111.

178. EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance // EUCAST. 2017. 43 p.

179. Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб : етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія : проект клінічних настанов. Частина II. / Ю. І. Фещенко та ін. // *Укр. пульмонол. журн*. 2013. № 1. С. 5–21.

180. Принципи антибіотикотерапії. Загальна хірургія з клінічною психологією. URL : https://pidruchniki.com/73528/meditsina/printsipi_antibiotikoterapiyi (дата звернення: 09.06.2020).

181. Annotated BTS Guideline for the management of CAP in adults (2009) Summary of recommendations. 2015. URL : <https://www.brit-thoracic.org.uk/quality-improvement/guidelines/pneumonia-adults/> (дата звернення: 09.06.2020)

182. Predictors of one year mortality among immunocompetent adults hospitalized for community-acquired pneumonia / P. F. Saldías et al. // *Rev. Med. Chil.* Vol. 2013, Vol. 141, Suppl. 2. P. 143–152.

183. Діагностика, лікування та профілактика грипу / І. В. Дзюблик та ін. // Київ: Медкнига. 2011. 190 с.

184. Innovation and trends in the development and approval of antiviral medicines: 1987-2017 and beyond / Shuvam Chaudhuri et al. // *Antiviral research.* 2018. Vol. 155. P. 76–88.

185. FDA Approves First Treatment for COVID-19. URL : <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-covid-19> (last accessed: 16.03.2021)

186. WHO Solidarity trial consortium, Pan H et al. Repurposed antiviral drugs for COVID-19 – interim WHO SOLIDARITY trial results. *MedRxiv.* 2020. URL : <https://doi.org/10.1101/2020.10.15.20209817> (last accessed: 16.03.2021).

187. VIRAZOLE® (Ribavirin for Inhalation Solution, USP). URL : <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=adf16e64-345f-469a-b987-3fbdd17e0ac2&type=display> (дата звернення: 07.06.2020).

188. Діагностика та лікування грипу: сучасні клініко-патогенетичні аспекти / Москалюк В.Д., Сидорчук А.С. // *Інфекційні хвороби.* 2016. № 2 (84). С. 5–14.

189. Influenza (Flu) Antiviral Drugs and Related Information. URL : <https://www.fda.gov/drugs/information-drug-class/influenza-flu-antiviral-drugs-and-related-information#ApprovedDrugs> (дата звернення: 07.06.2020).

190. Antiviral Agents Against Respiratory Viruses / Michael G.IsonFrederick G.Hayden // *Infectious Diseases (Fourth Edition).* 2017. Volume 2, P. 1318–1326.e2. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702062858001544> (дата звернення: 07.06.2020)

191. FDA approves new drug to treat influenza. URL : <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-drug-treat-influenza> (дата звернення: 07.06.2020)

192. Одноворов А. И., Гребенникова Т. В., Плетенева Т. В. Специфическая терапия гриппа: современное состояние и перспективы // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2020. Т. 9, № 1. С. 83–91.

193. WHO updates guidelines on treatments for COVID-19. URL : [WHO updates guidelines on treatments for COVID-19](#)

194. Панчук С. І., Трохименко О. П. Характеристики цитотоксичної дії декаметоксину в різних культурах клітин // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2014. № 2. С. 69–73.

195. Гуменюк М. І., Гуменюк Г. Л., Опімах С. Г. Ефективність декаметоксину проти складних вірусів, незалежно від їх антигенної будови: перспективи використання при сучасних вірусних захворюваннях дихальних шляхів // Актуальна інфектологія. 2020. Том 8. № 1. URL : <http://www.mif-ua.com/archive/article/48771> (дата звернення: 04.06.2020)

196. Халеева О. Л., Печенізька Л. О. Перспективи використання солей четвертинних амонієвих основ у м'яких лікарських препаратах для лікування дерматомікозів // Український біофармацевтичний журнал. 2012. № 3 (20). С. 28–32.

197. Інструкція для медичного застосування препарату ДЕКАСАН® (DECASANUM): затв. наказом МОЗ від 22.12.2016 р. № 1391. URL : <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=41615> (дата звернення: 04.06.2020)

198. Обґрунтування медичного застосування антимікробних засобів, що містять декаметоксин / В. Г. Палій та ін. // Буковинський медичний вісник. 2017. Том 21, № 1 (81). С. 100–105.

199. Віруліцидна дія декаметоксину по відношенню до вірусних тригерів інфекційного загострення бронхіальної астми / С. І. Панчук та ін. // Український пульмонологічний журнал. 2014. № 2, С. 48–51.

200. Визначення *in vitro* віруліцидної дії декаметоксину на моделях простих і складних вірусів – як можливих тригерів інфекційного загострення бронхіальної астми / О. П. Трохименко та ін. // Профілактична медицина. 2013. № 3–4 (21). С. 78–84.

201. Мікробіологічне обґрунтування доцільності комбінованого застосування антибіотиків і Декасану / Ковальчук В. П. та ін. // Медицина невідкладних станів. 2017. № 8 (87). С. 39–42.

202. Сулима В. П. Використання декасану для інтраопераційного попередження гнійно-запальних ускладнень при абдомінальних втручаннях в проктології // Український хіміотерапевтичний журнал. 2012. №3 (26). С. 225–226.

203. Назарчук О. А., Нагайчук В. І. Оцінка ефективності застосування декасану, декаметоксину та його композиції у пацієнтів з важкою термічною травмою // Annals of Mechnikov Institute. 2015. № 2. С. 184–190.

204. Комплексне лікування гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки / Барило О. С. та ін. // Вісник морфології. 2014. №2, Т.20. С. 504–509.

205. Применение 0,02 % раствора декаметоксина при малоинвазивных пункционно-дренирующих вмешательствах по поводу жидкостных образований поджелудочной железы и абсцессов печени / В. М. Ратчик и др. // Хірургія України. 2014. № 3. С. 62–66.

206. Способ профилактики тазовых перитонеальных спаек в оперативной гинекологии / С. С. Лубяная и др. // Здоровье женщины. 2012. №1 (67). С. 164.

207. Игнатьева В. И., Гуменюк Г. Л., Капитан Г. Б. Эффективность антисептика декасан в комплексном лечении больных с обострением хронического полипозно-гнойного гайморозтмоидита // Український хіміотерапевтичний журнал. 2010. № 1–2 (23). С. 54–56.

208. Декаметоксин: допомога хворим з інфекційними загостреннями бронхіальної астми / Гуменюк М. І. та ін. // Укр. пульмонол. журнал. 2019. № 2. С. 25–32.

209. Ефективність та безпека інгаляційного застосування декаметоксину в лікуванні хворих з інфекційним загостренням хронічного бронхіту / Дзюблик О. Я. та ін. // Астма та алергія. 2015. № 4. С. 22–27.

210. Небулайзерна терапія: практичні аспекти / Д. В. Добрянський та ін. // Астма та алергія. 2018. № 3. С. 54–62.

211. Декаметоксин: небулайзерна терапія інфекційного загострення хронічного бронхіту / Гуменюк М. І. та ін. // Астма та алергія. 2019. № 3. С. 17–28.

212. Сілаєва Л. Ф. Профілактика в медицині // Велика українська енциклопедія. URL : <https://vue.gov.ua/Профілактика в медицині> (дата звернення: 27.06.2021).

213. Профілактичні заходи в практиці лікарів “Загальної практики-Сімейної медицини” частина II “Профілактика в практиці лікаря-інтерніста” : навчальний посібник. Запоріжжя 2016. 223 с.

214. Kisling L. A., M. Das J. Prevention Strategies. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537222/> (дата звернення: 13.03.2022)

215. Широбоков В. П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 С.

216. У чому небезпека гемофільної інфекції і як захиститися. URL : <https://moz.gov.ua/article/immunization/u-chomu-nebezpeka-gemofilnoi-infekcii-i-jak-zahistitisja> (дата звернення: 13.03.2022)

217. Influenza vaccination coverage and effectiveness. URL : www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/vaccination/influenza-vaccination-coverage-and-effectiveness (дата звернення: 13.03.2022).

218. Different Types of Flu Vaccines. URL : <https://www.cdc.gov/flu/prevent/different-flu-vaccines.htm> (дата звернення: 13.03.2022).

219. Frequently Asked Influenza (Flu) Questions: 2021-2022 Season. URL : www.cdc.gov/flu/season/faq-flu-season-2021-2022.htm#coadmin (дата звернення: 13.03.2022).

220. Approved vaccines. URL : <https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/approved/> (дата звернення: 13.03.2022).

221. COVID-19 vaccines: authorised. URL : <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-authorised> (дата звернення: 13.03.2022).

222. Comirnaty and Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. URL : <https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/coronavirus-disease-2019-covid-19/comirnaty-and-pfizer-biontech-covid-19-vaccine> (дата звернення: 13.03.2022).

223. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. URL : <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> (дата звернення: 30.10.2020)

224. Marik P. EVMS critical care covid-19 management protocol. URL : https://www.evms.edu/media/evms_public/departments/internal_medicine/EVMS_Critical_Care_COVID-19_Protocol.pdf (дата звернення: 30.10.2020)

225. Be well: A potential role for vitamin B in COVID-19 / Shakoор H. et al. // Maturitas. 2020. URL : <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.08.007> (дата звернення: 13.03.2022).

226. FDA Roundup: March 22, 2024. URL : <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-roundup-march-22-2024>.

227. Европейское руководство по клинической оценке противомикробных лекарственных средств : пер. с англ. / под ред. А. Г. Чучалина, Л. С. Страчунского. Смоленск : Амипресс, 1996. 320 с.

228. Лапач С. М., Чубенко А. В., Бабич П. М. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : МОРИОН, 2000. 320 с.

229. Дзюблик І. В., Трохименко О. П., Соловійов С. О. Культура клітин у медичній вірусології: навчально-методичний посібник. Вінниця: ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2015. 144 с.

230. Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів : методичні рекомендації. Затверджені наказом МОЗ України №231 від 08.04.09. / В. Ф. Марієвський та ін. URL : <http://zakon.nau.ua/dok/?uid=1039.9281.0> (дата звернення: 20.03.2020)

231. Испытание и определение эффективности действия дезинфицирующих средств на вирусы // Журнал Федеративного здравоохранения – Исследование – Защита здоровья. 2004. № 47. С. 62–66

232. Crystal structure of the IBV main protease. (2022). URL : <https://www.rcsb.org/structure/2Q6F> (дата звернення: 15.01.2022).

233. Crystal structure of the SARS-CoV-2 main protease. (2020). URL : <https://www.rcsb.org/structure/7L0D> (дата звернення: 15.01.2022).

234. Sanner M. F. Python: A programming language for software integration and development // J Mo. Graph Model. 1999. № 17 (1). С. 57–61.

235. Marvin Sketch was used for drawing, displaying and optimization chemical structures, Marvin Sketch 5.3.735, 2022, ChemAxon. URL : <https://www.chemaxon.com> (дата звернення: 15.01.2022).

236. MOPAC2016, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, URL : <http://openmopac.net/> (дата звернення: 15.01.2022).

237. Trott O. Olson A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // *J Comput Chem*. 2010. № 31. P. 455–461.

238. Dassault Systèmes BIOVIA. Discovery Studio Visualizer, v4.0.100.13345. San Diego: Dassault Systèmes; 2022.

239. Structures of two coronavirus main proteases: implications for substrate binding and antiviral drug design / Xue X. Et al. // *J Virol*. 2008. № 82 (5). P. 2515–2527.

240. Щербінська А.М., Дяченко Н.С., Рибалко С.Л., Носач Л.М. та ін. Вивчення антивірусної дії потенційних лікарських засобів : методичні рекомендації. Київ, 2000 р. 38 с.

241. Chemical disinfection of non-porous inanimate surfaces experimentally contaminated with four human pathogenic viruses / Sattar S. A. et al. // *Epidemiol. Infect.* 1989. № 102. 493–505.

242. Tessema B., Frank S., Bidra A. SARS-CoV-2 viral inactivation using low dose povidone-iodine oral rinse—immediate application for the prosthodontic practice // *J Prosthodont*. 2020. № 29 (6). P. 459.

243. Topical preparations to reduce SARS-CoV-2 aerosolization in head and neck mucosal surgery / Parhar H. S., Tasche K., Brody R.M. et al. // *Head Neck*. 2020. № 42 (6). P. 1268-1272.

244. Povidone iodine / Challacombe S. J. et al. // *Br Dent J*. 2020. № 228 (9). P. 656–657.

245. In Vitro Efficacy of a Povidone-Iodine Nasal Antiseptic for Rapid Inactivation of SARS-CoV-2 / Samantha F. et al. // *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020. № 146 (11). P. 1054–1058.

246. Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials / Vereshchagin A. N. et al. // *Int. J. Mol. Sci*. 2021. № 22 (13). P. 6793.

247. Synthesis, surface and antimicrobial activity of piperidine-based sulfobetaines / Wieczorek D. et al. // *Journal of surfactants and detergents*. 2017. № 20 (1). P. 151–158.

248. Increased use of disinfectants during the COVID-19 pandemic and its potential impacts on health and safety / Dewey H. M. et al. // *ACS Chemical Health & Safety*. 2021. № 29 (1). P. 27–38.

249. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 / Gorbalenya A. E. et al. // *Nat Microbiol*. 2020. № 5. P. 536–544.

250. Gerba C. P. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application // *Appl Environ Microbiol*. 2015. № 81 (2). P. 464–469.

251. Evaluating the virucidal activity of four disinfectants against SARS-CoV-2 / Huang Y. et al. // *American journal of infection control*. 2022. № 50 (3). P. 319–324.

252. Repurposing Quaternary Ammonium Compounds as Potential Treatments for COVID-19 / Baker N. et al. // *Pharm Res*. 2020. № 37 (6). P. 104.

253. Schrank C. L., Minbiole K. P., Wuest W. M. Are quaternary ammonium compounds, the workhorse disinfectants, effective against severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2? // *ACS infectious diseases*. 2020. № 6 (7). P. 1553–1557.

254. Halushko O. A clinical view on the possibility and feasibility of using decamethoxin during the COVID-19 pandemic // *Perioperaciina Medicina*. 2021. № 4 (1). P. 30–38.

255. The efficacy of the decamethoxin against simple and complex viruses / Gumeniuk G. et al. // *European Respiratory Journal*. 2020. № 56. P. 2388.

256. Influence of alkyl chain substitution of ammonium ionic liquids on the activity and stability of tobacco etch virus protease / Attri P. et al. // *Int J Biol Macromol*. 2020. № 155. P. 439–446.

257. Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. *Інфузія & Хіміотерапія*, 2021, №1, С. 15-21.

258. Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses // *Nature reviews microbiology*. 2019. № 17 (3). P. 181–192.
259. SARS-CoV-2 Mpro inhibitors: Identification of anti-SARS-CoV-2 Mpro compounds from FDA approved drugs / Bharadwaj S. et al. // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022. № 40 (6). P. 2769–2784.
260. Substrate specificity profiling of SARS-CoV-2 main protease enables design of activity-based probes for patient-sample imaging / Rut W. et al. // *BioRxiv*. 2020. URL : <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.07.981928v2> (дата звернення: 15.01.2022).
261. Ullrich S., Nitsche C. The SARS-CoV-2 main protease as drug target // *Bioorg Med Chem Lett*. 2020. № 30 (17). P. 127377.
262. Boceprevir, GC-376, and calpain inhibitors II, XII inhibit SARS-CoV-2 viral replication by targeting the viral main protease / Ma C. et al. // *Cell Res*. 2020. № 30 (8). P. 678–692.
263. Crystal structure of the SARS-CoV-2 main protease. (2022). URL : <https://www.rcsb.org/structure/7C8B> (дата звернення: 15.01.2022).
264. Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool / Altschul S. F. et al. // *J Mol Biol*. 1990. № 215 (3). С. 403–410.
265. Pundir S., Martin M. J., O'Donovan C. UniProt Consortium. UniProt tools. *Current protocols in bioinformatics*. 2016. № 53 (1). P. 1–29.
266. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis / Pettersen E. F. et al. // *J Comput Chem*. 2004. № 25 (13). P. 1605–1612.
267. Фармакоэкономика : учебное пособие для студентов высших учебных заведений / под ред. Л. В. Яковлевой. Харьков: Изд-во НФаУ; 2014. 123 с.
268. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2016–17 in Ukraine: data based on CLSI, EUCAST (dose-specific) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) breakpoints / D. Torumkuney et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020. Volume 75, Issue Supplement_1. Pages i100–i111.

269. Культура клітин в медичній вірусології: навчально-методичний посібник / І. В. Дзюблик та ін. Вінниця, 2005. 144 с.

270. Скарга-Бандурова І. С., Фейгіна Д. І. Застосування методу логістичної регресії в медичних дослідженнях : дис. // Сумський державний університет. 2014. URL : https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream-download/123456789/39121/1/Skarga-Bandurova_logistic%20regression.pdf (дата звернення: 08.11.2021)

271. Василенко О. А., Сенча І. А. Математично-статистичні методи аналізу в прикладних дослідженнях : навчальний посібник. 2012. URL : <http://ir.nmapo.edu.ua:8080/bitstream/lib/284/1/Математично-статистичні%20методи%20аналізу%20в%20прикладни.pdf> (дата звернення: 08.10.2022).

272. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design / P.H.M. Torres et al. // International Journal Of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20, №. 18. P.2324

ДОДАТОК 1**АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ДИСЕРТАЦІЇ**

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор

Комунального підприємства
«Волинська обласна клінічна
лікарня» Волинської обласної ради



[Handwritten signature]
О. Дудар
12 2022 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ФТИЗИАТРІЇ І
ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ІМ. Ф. Г. ЯНОВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"**

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Схема ідентифікації основних вірусних та бактеріальних збудників негоспітальної пневмонії, що викликана коронавірусами або поєднанням їх з бактеріальними збудниками».

2. Установа-розробник: Державна установа "Національний інститут фізичної реабілітації і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України", 10, вулиця Миколи Амосова, м. Київ, 03038, тел. (044) 275-04-02.

Укладачі: Дзюблик О. Я.; Гуменюк М. І.; Капітан Г. Б.; Ячник В. А.; Сухін Р. Є.; Денисова О. В.; Боророва О. Л.; Дзюблик І. В.; Яковенко О. К.

3. Джерело інформації: Алгоритм етіологічної лабораторної діагностики збудників негоспітальної пневмонії під час епідемії COVID-19 або грипу : інформаційний лист / О. Я. Дзюблик та ін. НІФП НАМН. Київ, 2022, 4 с.

4. Де і коли впроваджено: пульмонологічне відділення КП «Волинська обласна клінічна лікарня»

за період липень–грудень 2022 р.

5. Ефективність впровадження: застосування схеми дозволило підтвердити етіологію у близько 90,0 % хворих на НІП коронавірусної етіології за короткий проміжок часу (від 10–15 хв при застосуванні швидких тестів), що сприяло вчасному призначенню етіотропної терапії та позитивно вплинуло на ефективність лікування хворих та зменшило навантаження на лабораторну службу.

6. Зауваження: немає.

Завідувач пульмонологічного
відділення

09.12. 2022 р.



О. Яковенко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»,



Д. мед. н., професор

Микола ОПАНАСЕНКО

05 _____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи.
2. **Ким та коли запропонований, адреса, виконавці:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра фтизіатрії і пульмонології, д.мед.н., Я.О. Дзюблик, д.фармн., С.О. Соловійов, О.Л. Боророва, 04112 Україна, Київ, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації:** Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. Інфузія & Хіміотерапія 2021. № 1. С. 15–21.
4. **Де і коли впроваджено (назва лікувального закладу):** Відділення неспецифічних захворювань легень у хворих на туберкульоз ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»
5. **Загальна кількість спостережень – 28**
6. **Строки впровадження:** з 06 березня 2023 по 11 березня 2024 рр.
7. **Ефективність впровадження:** вилікування було досягнуто у 100 % пацієнтів.
8. **Зауваження, пропозиції:** Не висувалися

Відповідальний за впровадження:
зав. відділення неспецифічних
захворювань легень у хворих на
туберкульоз
д. мед. н., професор

Олександр ДЗЮБЛИК

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Головний лікар ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»,

д. мед. н., професор

Микола ОПАНАСЕНКО

05 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи.
2. **Ким та коли запропонований, адреса, виконавці:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра фтизіатрії і пульмонології, д.мед.н., Я.О. Дзюблик, д.фарм.н., С.О. Соловійов, О.Л. Боророва, 04112 Україна, Київ, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації:** Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. Інфузія & Хіміотерапія 2021. № 1. С. 15–21.
4. **Де і коли впроваджено (назва лікувального закладу):** Відділення диференційної діагностики туберкульозу та НЗЛ ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»
5. **Загальна кількість спостережень – 20**
6. **Строки впровадження:** з 06.11.2023 по 29.03.2024 рр.
7. **Ефективність впровадження:** 95 %.
8. **Зауваження, пропозиції:** Не висувалися

Відповідальний за впровадження:

зав. відділення диференційної діагностики туберкульозу та НЗЛ

Наталія ВЛАСОВА



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Національного
університету охорони здоров'я України
імені П.Л. Шупика член-кор. НАМНУ,
мед. н., професор

Ю.П. Вдовиченко

" 16 " вересня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи.
2. **Ким та коли запропонований:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра фтизіатрії і пульмонології, д.мед.н., Я.О. Дзюблик, д.фармн., С.О. Соловйов, О.Л. Боророва, 04112 Україна, Київ, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації:** Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. Інфузія & Хіміотерапія 2021. № 1. С. 15–21.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:**
5. **Термін впровадження:** 2023-2024 рр.
6. **Форма впровадження:** у навчально-педагогічний процес.
7. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань здобувачів освіти під час практичних занять щодо принципів лікування негоспітальної пневмонії.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає

Відповідальна за впровадження особа:
професор кафедри фтизіатрії і
пульмонології, д.мед.н.

 Галина ГУМЕНЮК



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб лікування пацієнтів з вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи.
2. **Ким та коли запропонований, адреса, виконавці:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра фтизіатрії і пульмонології, д.мед.н., Я.О. Дзюблик, д.фармн., С.О. Соловійов, О.Л. Боророва, 04112 Україна, Київ, вул. Дорогожицька, 9.
3. **Джерело інформації:** Боророва О.Л. Ефективність і безпека застосування декаметоксину в комплексному лікуванні пацієнтів із вірусно-бактеріальною негоспітальною пневмонією III клінічної групи. Інфузія & Хіміотерапія 2021. № 1. С. 15–21.
4. **Де і коли впроваджено (назва лікувального закладу):** КНП «МКЛ №13» ХМР, 1-е пульмонологічне відділення
5. **Загальна кількість спостережень** – 24
6. **Строки впровадження:** 2023–2024 рр
7. **Ефективність впровадження:** вилікування було досягнуто у 98 % пацієнтів.
8. **Зауваження, пропозиції:** Не висувалися

Відповідальний за впровадження:
завідувач 1-го пульмонологічного
відділення

Едуард ХОДОШ