

УДК 582.284.5; 615.281; 578.832

ЭКСТРАКТЫ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ПОДАВЛЯЮТ РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ А(H5N1) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO И IN VIVO

Филиппова Е.И., Кабанов А.С., Скарнович М.О., Мазурков О.Ю., Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Макаревич Е.В., Ибрагимова Ж.Б., Трошкова Г.П., Шишкина Л.Н., Мазуркова Н.А.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия, e-mail: filippova_ei@vector.nsc.ru

Исследована противовирусная активность водных экстрактов высших базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus* (трутовик серно-желтый), *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский) и *Inonotus obliquus* (трутовик скошенный, чага) на перевиваемой линии клеток MDCK и мышах Balb/c. Выявлено, что все исследованные грибные экстракты подавляют размножение высокопатогенного вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в культуре клеток MDCK на 4,0-5,5 lg, что сравнимо с эффектом референс-препарата Тамифлю® в этих же экспериментах. В опытах in vivo при пероральном введении экстрактов базидиомицетов *Inonotus obliquus* и *Laetiporus sulphureus* мышам, инфицированным вирусом гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) по лечебной схеме, наблюдается уменьшение продукции вируса в легких. Наибольшее по сравнению с контролем достоверное снижение концентрации вируса в легких наблюдалось у мышей, получавших экстракт *Inonotus obliquus* (09-24), которое составило 1,95 lg. При оценке выживаемости, коэффициента защиты и средней продолжительности жизни (СПЖ) мышей в опыте и контроле после их заражения высокопатогенным вирусом гриппа птиц установлено, что по всем трем показателям наибольший защитный эффект на инфицированных мышах показал экстракт *Inonotus obliquus* (09-24), эффект был сравним с таковым для коммерческого противогриппозного препарата Тамифлю®.

Ключевые слова: базидиальные грибы, водные экстракты, вирус гриппа птиц, культура клеток MDCK, мыши Balb/c, токсичность, противовирусная активность.

EXTRACTS OF BASIDIOMYCETES SUPPRESS REPRODUCTION OF THE VIRUS OF BIRD FLU A(H5N1) IN EXPERIMENTS IN VITRO AND IN VIVO

Filippova E.I., Kabanov A.S., Skarnovich M.O., Mazurkov O.Y., Teplyakova T.V., Kosogova T.A., Makarevich E.V., Ibragimova Z.B., Troshkova G.P., Shishkina L.N., Mazurkova N.A.

State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, 630559, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia, e-mail: filippova_ei@vector.nsc.ru

Aqueous extracts of higher fungi basidiomycetes *Laetiporus sulphureus*, *Ganoderma applanatum* и *Inonotus obliquus* were investigated with respect to antiviral activity for cell culture MDCK and mice Balb/c. All investigated specimens fungal extracts reduced the infectivity of virus of bird flu strain A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) in MDCK cells about 4,0 - 5,5 lg, that was comparable with the use of Tamiflu® in these experiments. In experiments in vivo in medical scheme by per oral administration of basidiomycetes *Inonotus obliquus* and *Laetiporus sulphureus* extracts to mice infected with the bird flu strain A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) there is a reduction of its products in the lungs of animals. The largest compared with the control of authentically reducing the virus concentration in lung homogenates was observed in mice treated with basidiomycete *Inonotus obliquus* extract (09-24), that was 1,95 lg. When assessing the survival, coefficient of protection and average life expectancy (ALE) of mice in the experimental and control after their infection with highly pathogenic bird flu virus it is established that for all three indicator the greatest protective effect on the infected mice found extract *Inonotus obliquus* (09-24), that was comparable with that of the commercial antifu drug Tamiflyu®.

Key words: basidiomycetes, aqueous extracts, virus of bird flu, cell culture MDCK, Balb/c mice, toxicity, antiviral activity.

Введение

Вирусы гриппа А, обладающие высокой степенью изменчивости генома, являются этиологическими агентами опасных инфекционных заболеваний человека и животных, способных протекать в форме обширных эпизоотий, эпидемий и пандемий с высокой

смертностью [9]. Преодолевая межвидовые барьеры, вирусы гриппа способны проникать в популяции новых потенциальных хозяев, адаптироваться и циркулировать среди них достаточно продолжительное время. Вероятность преодоления вирусом межвидового барьера и формирования нового пандемического варианта резко возрастает в период обширных эпизоотий. Внимание исследователей привлекает современная эпизоотия высокопатогенного вируса субтипа H5N1, которая началась ещё в 1997 г. в Юго-Восточной Азии. Распространение вируса H5N1 может иметь катастрофические последствия в случае появления у этого вируса пандемического потенциала, так как, во-первых, у человечества отсутствует коллективный иммунитет к вирусам гриппа с гемагглютинином H5, а во-вторых, летальность заболевших в результате заражения этим вирусом достигает 60%.

Другой стороной этой проблемы является возникновение лекарственной устойчивости у штаммов вируса гриппа, что делает необходимым постоянное тестирование современных гриппозных штаммов на устойчивость к препаратам и требует проведения противовирусной терапии при помощи нескольких препаратов с различными механизмами противовирусного действия для исключения формирования лекарственно устойчивых штаммов вируса гриппа.

Поэтому вопрос о необходимости разработки и поиска новых антигриппозных препаратов представляется крайне важным и особо актуальным.

Препараты природного происхождения, по сравнению с синтетическими лекарственными средствами, обладают мягким терапевтическим действием и низкой токсичностью, вследствие чего могут применяться в течение длительного времени [1; 14; 18].

Полученные из базидиальных грибов разные классы биологически активных веществ способны ингибировать репродукцию вирусов в организме, что делает их перспективными объектами для разработки на их основе противовирусных препаратов. Активными в отношении вирусов оказались полисахариды, белки, водорастворимые лигниноподобные соединения, гликозиды, гликопротеины, изопреноиды и другие [10-13].

Капич А.Н. и др. [4] приводит данные о каротиноидах, которые были выделены из *Laetiporus sulphureus*, обладающих антиоксидантной, радиопротекторной и противовирусной активностью.

Показано подавление ВИЧ-1 экстрактом *Trametes versicolor*, содержащим гликопротеины [11]. Из мицелиальной культуры получен коммерческий препарат «Крестин», поддерживающий клетки-киллеры иммунной системы. Помимо иммуностимуляции, комплексы полисахаридов с белками проявляют непосредственную противовирусную активность, а именно: во-первых, ингибируют прикрепление белка gp120 ВИЧ-1 к поверхностному CD4-рецептору клетки, а во-вторых, подавляют обратную транскриптазную активность вируса [12].

Pirano F. [14] создал на основе водного экстракта гриба *Rozites caperata* препарат белковой природы, препятствующий процессу репликации вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловирусов, респираторного синциального вируса и вируса гриппа типа А.

Mothana R.A.A. et al. [13] установили, что основными противовирусными компонентами экстрактов *Ganoderma pfeifferi* в отношении вируса гриппа типа А и вируса простого герпеса 1 типа были тритерпеноиды: ганодермадиол, луцидодиол, апланоксиновая кислота G.

Вещества хиспидин и хисполон, имеющие изопреноидную природу и найденные в этанольном экстракте гриба *Inonotus hispidus*, проявляли активность в отношении вируса гриппа типов А и В [10]. Противовирусную активность проявляли как экстракты плодовых тел, так и мицелиальные экстракты. В России подобные исследования только начинаются. Установлено, что каротиноиды из гриба *Laetiporus sulphureus* обладают антиоксидантной, радиопротекторной и антигерпетической активностью [4]. Первые исследования, проведенные нами, показали перспективность поиска продуцентов противовирусных соединений среди базидиальных грибов [3].

В связи с этим целью данной работы является изучение противовирусной активности экстрактов, выделенных из базидиальных грибов, в отношении высокопатогенного вируса

гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) на культуре клеток MDCK и лабораторных животных.

Материалы и методы

Экстракты базидиальных грибов. В работе использовали водные экстракты, полученные из плодовых тел базидиомицетов *Ganoderma applanatum* (09-11), *Laetiporus sulphureus* (09-12) и склероция *Inonotus obliquus* (09-20, 09-24 и 09-26), способы подготовки которых приведены в таблице 1.

Вирус гриппа (ВГ). Для оценки противовирусной активности водных экстрактов базидиальных грибов в культуре клеток MDCK и на лабораторных животных, использовали штамм вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», наработанный на 10-суточных куриных эмбрионах (КЭ). Концентрацию вируса в исследуемых образцах определяли путем титрования в клетках MDCK [5], рассчитывали и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ (десятичных логарифмах 50%-ных тканевых цитопатических доз в мл) по методу Спирмана-Кербера [2].

Культура клеток. Определение токсичности и противовирусной активности грибных экстрактов в монослое перевиваемой линии клеток MDCK, полученных из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», проводили как описано в [8].

Препарат сравнения. В качестве референс-препарата использовали Тамифлю® («Ф. Хоффманн - Ля Рош Лтд.», Швейцария). Препарат вносили в культуральную среду через 1 ч после адсорбции вируса на клетках. Конечная концентрация в среде культивирования была подобрана предварительно и составляла 100 мг/мл. Мышам Тамифлю® вводили 2 раза в сутки перорально в дозе 10 мкг/г массы в объеме 0,2 мл сразу после заражения и далее в течение 4 сут после заражения вирусом гриппа.

Лабораторные животные. В работе были использованы мыши Balb/c массой 14-16 г, полученные из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Мышей содержали на стандартном рационе с достаточным количеством воды, подвергали эвтаназии в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях [6].

Изучение токсичности экстрактов базидиальных грибов. Мышам перорально вводили экстракты базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus*, *Ganoderma applanatum* и *Inonotus obliquus* в разных концентрациях в объеме 200 мкл/гол. 2 раза в день в течение 5 сут, после чего за мышами наблюдали в течение 2-х недель. В каждой группе было по 4 животных.

Изучение противогриппозного действия экстрактов в лечебной схеме на лабораторных мышах. Мышей инфицировали интраназально под легким эфирным наркозом при введении в обе ноздри суммарно 40 мкл штамма вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в дозе 10 ЛД₅₀ (50%-ные летальные дозы *in vivo*). Мышам перорально вводили экстракты базидиальных грибов в максимальных концентрациях в объеме 200 мкл/гол. сразу после заражения вирусом гриппа и далее 2 раза в день в течение 4 сут. В каждой группе было по 14 животных. Определение концентрации ВГ в легких 4-х животных каждой группы проводили через 4 сут после заражения вирусом гриппа при титровании гомогенатов легких мышей в культуре клеток MDCK, рассчитывали по методу Спирмана-Кербера и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ [2]. За остальными животными (по 10 мышей в каждой группе) из этого эксперимента вели наблюдение в течение 16 дней, учитывая их гибель. В конце эксперимента высчитывали процент гибели мышей, коэффициент защиты и среднюю продолжительность их жизни (СПЖ).

Статистическая обработка данных. При расчетах 50%-ной летальной дозы и титров вируса гриппа в биологических образцах использовали метод Спирмана-Кербера [2]. Для нескольких повторов определяли среднее значение показателя (M) и ошибку среднего (m), достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента [2].

Результаты и обсуждение

Водные экстракты, полученные из плодовых тел базидиомицетов *Ganoderma applanatum* (09-11), *Laetiporus sulphureus* (09-12) и склероция *Inonotus obliquus* (09-20, 09-24 и 09-26) с концентрациями сухого вещества 4,11; 9,67; 17,33; 20,17 и 11,50 мг/мл соответственно, были приготовлены как описано в таблице 1.

Таблица 1

Получение экстрактов базидиальных грибов

№ п/п	Номер образца	Наименование гриба, вид биомассы	Способ получения экстрактов грибов	Масса сухого вещества, мг/мл
1.	09-11	<i>Ganoderma applanatum</i> , плодовое тело	15 г измельченного на кофемолке сырья суспендировали в 240 мл стерильной дистиллированной воды (1:17), выдержали на водяной бане в течение 20 мин, после остывания профильтровали через капроновый фильтр и ткань, отжали	4,11
2.	09-12	<i>Laetiporus sulphureus</i> , плодовое тело	200 г измельченного на кофемолке замороженного плодового тела суспендировали в 400 мл стерильной дистиллированной воды (1:2) и выдержали на кипящей водяной бане в течение 30 мин., освободили от осадка фильтрованием через капроновый фильтр и ткань, отжали	9,67
3.	09-20	<i>Inonotus obliquus</i> , природный склероций	5 г измельченного природного сырья чаги после механохимической обработки * с 5% карбоната натрия на мельнице РМ-1 до частиц размером 70-80 мкм суспендировали в 100 мл стерильной дистиллированной воды (1:20) и выдержали в термостате при температуре 50 °С в течение 24 ч, освободили от осадка центрифугированием при 4000 об/мин в течение 15 мин	17,33
4.	09-24	<i>Inonotus obliquus</i> , природный склероций	5 г измельченного природного сырья чаги после механохимической обработки * с 5% карбоната натрия на мельнице РМ-1 до частиц размером 70-80 мкм суспендировали в 100 мл стерильной дистиллированной воды (1:20) и выдержали в термостате при температуре 50 °С в течение 48 ч, освободили от осадка центрифугированием при 4000 об/мин в течение 15 мин	20,17
5.	09-26	<i>Inonotus obliquus</i> , природный склероций	5 г природного сырья чаги, измельченного на мельнице ИКА MF-10 до частиц размером 2 мм, суспендировали в 100 мл стерильной дистиллированной воды (1:20) и выдержали в термостате при температуре 50 °С в течение 48 ч, освободили от осадка центрифугированием при 4000 об/мин в течение 15 мин	11,50

Примечание: *- разработка Института химии твердого тела и механохимии СО РАН

Первичный скрининг противовирусной активности экстрактов базидиальных грибов в отношении вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) был проведен в культуре клеток MDCK. Показано, что все исследованные экстракты в нетоксичных концентрациях подавляют репликацию вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) (индексы нейтрализации (ИН) вируса гриппа составляли от 4,0 до 5,5 lg ТЦД₅₀) (таблица 2).

Таблица 2

Противовирусная активность экстрактов базидиомицетов в культуре клеток MDCK, инфицированных штаммом вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)

Опытные и контрольные образцы	Концентрация образцов по сухому веществу in vitro (мг/мл)	Инфекционность вируса в культуре клеток MDCK (ИД ₅₀ в lg ТЦД ₅₀ /мл)	Индекс нейтрализации ИД ₅₀ контроль - ИД ₅₀ опыт (lg)
(09-11) <i>Ganoderma applanatum</i>	1,4	2,5	5,0
(09-12) <i>Laetiporus sulphureus</i>	3,2	2,5	5,0
(09-20) <i>Inonotus obliquus</i>	0,2	3,5	4,0
(09-24) <i>Inonotus obliquus</i>	2,0	2,5	5,0
(09-26) <i>Inonotus obliquus</i>	3,8	2,0	5,5
Тамифлю®	0,1	2,0	5,5
Контроль без препарата	-	7,5	0

Наибольшим индексом нейтрализации вируса гриппа обладал экстракт (09-26) *Inonotus obliquus*, приготовленный из измельченных на кофемолке частиц гриба до диаметра 2 мм, который подавлял инфекционность вируса in vitro на 5,5 lg. Противовирусная активность этого экстракта была сравнима с таковой для коммерческого противогриппозного препарата Тамифлю (таблица 2). И хотя для достижения аналогичного для Тамифлю® противовирусного эффекта потребовалась большая (в 38 раз) концентрация грибного экстракта, состоящего из нескольких биологически активных веществ (БАВ), концентрация индивидуального БАВ, ответственного за противовирусное действие, в составе этого экстракта может быть меньше эффективной концентрации Тамифлю®. По сравнению с экстрактом (09-26) противовирусная активность еще двух экстрактов (09-20 и 09-24) на основе этого же гриба, приготовленных с использованием механохимической технологии получения микрочастиц гриба с диаметром 70-80 мкм, была незначительно ниже. Так, по сравнению с экстрактом (09-26) ИН экстракта (09-20) был ниже на 1,5 lg при концентрации, в 19 раз меньшей, а ИН экстракта (09-24) был ниже всего на 0,5 lg при концентрации, в 1,9 раза меньшей (таблица 2). Противовирусная активность экстрактов, полученных на основе других базидиомицетов *Ganoderma applanatum* (09-11) и *Laetiporus sulphureus* (09-12), была также

незначительно ниже (на 0,5 lg) при более высоких их концентрациях (1,4 и 3,2 мг/мл соответственно) по сравнению с Тамифлю® и при более низких концентрациях по сравнению с экстрактом (09-26) (таблица 2).

В дальнейших экспериментах на лабораторных животных мы исследовали токсичность и способность грибных экстрактов подавлять продукцию вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в легких у инфицированных мышей (таблица 3). Исследование на лабораторных мышцах, как описано в разделе **Материалы и методы**, токсичности экстрактов грибов *Ganoderma applanatum*, *Laetiporus sulphureus* и *Inonotus obliquus* в разных концентрациях не обнаружило токсических свойств этих экстрактов.

Таблица 3

Титр вируса гриппа (ВГ) A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в легких у мышей через 4 сут после инфицирования при пероральном введении грибных экстрактов или Тамифлю в сравнении с контролем (лечебная схема)

Опытные и контрольные образцы	Суточная доза сухого вещества образцов (мкг/г массы мыши)	Титры ВГ (в lgТЦД ₅₀ /мл, М±m) в легких инфицированных мышей, получавших препараты (n=4)
(09-11) <i>Ganoderma applanatum</i>	55,6	6,05±0,17 [#]
(09-12) <i>Laetiporus sulphureus</i>	129,0	5,00±0,18* [#]
(09-20) <i>Inonotus obliquus</i>	234,5	6,10±0,17 [#]
(09-24) <i>Inonotus obliquus</i>	273,0	4,05±0,05* [#]
(09-26) <i>Inonotus obliquus</i>	155,6	6,05±0,13 [#]
Тамифлю®	20,0	3,15±0,16*
Контроль без препарата	-	6,33±0,20 [#]

Примечание: * - достоверное отличие от контрольной группы (p≤0,05); # - достоверное отличие от показателей у мышей, получавших Тамифлю® (p≤0,05); М – среднее, m – ошибка среднего; n – число животных.

Изучение способности грибных экстрактов подавлять продукцию ВГ в лечебной схеме показало, что через 4 сут после заражения достоверное снижение титра вируса в легких по сравнению с контрольной группой наблюдали в группах у мышей, получавших экстракты *Laetiporus sulphureus* (09-12) и *Inonotus obliquus* (09-24) и Тамифлю® (снижение концентрации вируса в легких животных при введении экстрактов и Тамифлю® составило 1,0; 1,95 и 2,85 lg соответственно) (таблица 3).

В дальнейших исследованиях нами были использованы наиболее показательные критерии защиты животных от вирусной инфекции – выживаемость, коэффициент защиты и средняя продолжительность жизни (СПЖ) мышей в опыте и контроле после их заражения высокопатогенным вирусом гриппа птиц. Установлено, что по всем трем показателям защитный эффект на инфицированных мышах обнаружили только два грибных экстракта *Laetiporus sulphureus* (09-12) и *Inonotus obliquus* (09-24). При этом экстракт (09-24) обнаружил наибольший противовирусный эффект, который был сравним с таковым для коммерческого противогриппозного препарата Тамифлю® (таблица 4).

На основании полученных данных установлено, что исследованные водные экстракты базидиальных грибов *Ganoderma applanatum*, *Laetiporus sulphureus* и *Inonotus obliquus* подавляют размножение высокопатогенного вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в культуре клеток MDCK и в легких лабораторных мышей. Наибольший противовирусный эффект *in vivo* наблюдается для двух экстрактов *Laetiporus sulphureus* (09-12) и *Inonotus obliquus* (09-24). Наблюдаемое нами отличие противовирусных эффектов *in vivo* экстрактов (09-20), (09-24) и (09-26), полученных на основе одного и того же гриба *Inonotus obliquus*, может быть связано с различными технологиями приготовления этих экстрактов. Поскольку для интенсификации процесса экстрагирования важна степень измельченности сырья [7], а также длительность процесса извлечения БАВ, нами проведена оценка противовирусного эффекта грибных экстрактов *Inonotus obliquus*, приготовленных из плодового тела гриба с разной степенью измельченности и при разной длительности процесса экстрагирования. В результате проведенных исследований установлено, что предпочтительнее был процесс экстрагирования при 50 °С в течение 48 ч по сравнению с 24 ч, а степень измельченности грибного сырья - до частиц диаметром 70-80 мкм по сравнению с частицами диаметром 2000 мкм.

Таблица 4

Противовирусная активность экстрактов грибов в экспериментах на мышах, инфицированных 10 ЛД₅₀ вируса гриппа A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1), в лечебной схеме

Группы мышей, получавших экстракты грибов и контрольный препарат	Суточная доза сухого вещества образцов (мкг/г массы мыши)	Показатели выживаемости мышей, зараженных 10 ЛД ₅₀ вируса гриппа		
		Количество и (%) выживших	Коэффициент защиты (КЗ)	СПЖ (сут) M±S _m
09-11 (n=10)	55,6	1 (10%)	1,7%	9,20±2,57
09-12 (n=10)	129,0	3 (30%)	21,7%	11,40±3,47
09-20 (n=10)	234,5	1 (10%)	1,7%	9,00±2,62
09-24 (n=10)	273,0	5 *	41,7%	13,00±3,33 ^{&}

		(50%)		
09-26 (n=10)	155,6	1 (10%)	1,7%	8,90±2,69
Тамифлю (n=12)	20,0	7 * (58,3%)	50,0%	13,58±3,12 &
Контроль ВГ без препаратов (n=12)	-	1 (8,3%)	-	8,92±2,57

Примечание: коэффициент защиты (КЗ)=% гибели в контроле -% гибели в опыте; * - отличие от контроля по критерию χ^2 при $p \leq 0,05$; & - отличие от контроля по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,006$; СПЖ рассчитывали, принимая за максимальный срок жизни выживших животных 16 сут; М – среднее, S_m – стандартное отклонение; n – число животных.

В целом противовирусное действие исследованных грибных экстрактов может быть обусловлено активностью какого-то одного биологически активного вещества (БАВ): полисахарида, белка, тритерпена и др. или активностью композиций нескольких БАВ.

Заключение

Водные экстракты, выделенные из высших базидиомицетов, обладающие противовирусным эффектом в отношении высокопатогенного вируса гриппа птиц (субтип А/Н5N1) на перевиваемой линии клеток MDCK и лабораторных мышах, могут быть использованы в качестве основы при разработке препаратов против гриппа.

Список литературы

1. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология. – 2004. – Т. 38. – № 2. – С. 1-7.
2. Закс Л. Статистическое оценивание. - М. : Статистика, 1976. – С. 598.
3. Кабанов А.С., Шишкина Л.Н., Теплякова Т.В. и др. Изучение противовирусной эффективности экстрактов, выделенных из базидиальных грибов, в отношении вируса гриппа птиц // Достижения современной биотехнологии : сб. науч. трудов. – Новосибирск, 2008. – С. 111-119.
4. Капич А.Н., Гвоздкова Т.С., Квачева З.Б. и др. Антиоксидантные, радиопротекторные и антивирусные свойства мицелиального экстракта гриба *Laetiporus sulphureus* // Успехи медицинской микологии : сб. науч. тр. / под ред. Сергеева Ю.В. - М., 2004. - № 3. – 146 с.
5. Мейхи Б. Вирусология. Методы. - М. : Мир, 1988. - 344 с.
6. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. - Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. – 138.
7. Трошкова Г.П., Костина Н.Е., Проценко М.А., Скарнович М.А. Оптимизация технологии получения сухого экстракта из гриба *Fomes fomentarius* // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 4. – URL: www.science-education.ru/104-6885.

8. Филиппова Е.И., Мазуркова Н.А., Кабанов А.С. и др. Противовирусные свойства водных экстрактов, выделенных из высших базидиомицетов, в отношении пандемического вируса гриппа А(Н1N1)2009 // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 2. - URL: www.science-education.ru/108-8920.
9. Щелканов М.Ю. Эволюция высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в экосистемах Северной Евразии (2005–2009 гг.) : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2010. – 53 с.
10. Ali N.A.A., Jansen R., Pilgrim H. et al. Hispolon, a yellow pigment from *Inonotus hispidus* // Phytochemistry. - 1996. – V. 41. – No. 3. – P. 927-929.
11. Collins R.A., Ng T.B. Polysaccharopeptide from *Trametes versicolor* has potential for use against human immunodeficiency virus type 1 infection // Life Science. - 1997. - V. 60. - No. 25. - P. 383-387.
12. Jianbin W.A., Wang H.X., Ng T.B. Peptide with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the medicinal mushroom *Russula paludosa* // Peptides. - 2007. - V. 28. - No. 3. - P. 560-565.
13. Mothana R.A.A., Awadh A.N.A., Jansen R. et al. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma preifferi* // Fitoterapia. - 2003. – V. 74. – P. 177-180.
14. Pirano F.F. The Development of the Antiviral Drug RC 28 from *Rozites caperata* (Pers.: Fr.) P. Karst. (Agaricomycetidae) // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2005. – V. 7. – P. 356.
15. Stamets P. MycoMedicinals. An Informational Treatise on Mushrooms: Printed in China - 2002. - 96 P.
16. Tochikura T.S., Nakashima H., Hirose K., Yamamoto N. A biological response modifier, PSK, inhibits human immunodeficiency virus infection in vitro // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1987. - V. 148. - P. 726-733.
17. Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Microbiol Biotechnol. – 2002. – V. 60. – No. 3. – P. 258-274.
18. Zaidman B.Z., Yassin M., Mahajna J. Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics // Microbiol Biotechnol. – 2005. – V. 67. – No. 4. – P. 453-468.

Рецензенты:

Рябчикова Е.И., д.б.н., профессор, руководитель группы микроскопических исследований, ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск.

Белявская В.А., д.б.н., профессор, заведующая сектором отдела научно-методической подготовки персонала по работе с возбудителями особо опасных инфекций, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская область, п. Кольцово.