

## В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021



### Интерференогенная активность штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*)

Никитина Н.В., Леонов И.К., Явдошак Л.И.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук, 198412, Санкт-Петербург – Ломоносов, Россия

**Введение.** Вирусный гепатит утят типа I (ВГУ-I) – малоизученное контагиозное заболевание, возбудителем которого является РНК-содержащий вирус гепатита уток (*Anatinae*) I типа (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*). Болезнь широко распространена во многих странах, включая Россию, и наносит значительный ущерб промышленному утководству. В решении проблемы разработки эффективных средств для борьбы с этой инфекцией среди прочего большое значение имеет изучение интерференогенной активности штаммов её возбудителя.

**Материал и методы.** В исследованиях использован штамм ВН-3 вируса гепатита уток I типа, выделенный из печени больных утят. Он адаптирован к развивающимся 10–12-суточным утиным эмбрионам, культурам куриных и утиных фибробластов. Данный штамм депонирован в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (ФНИЦЭМ). Эксперименты проводились с применением стандартного метода тканевых культур.

**Результаты и обсуждение.** Представлены данные относительно способности вакцинного штамма ВН-3 к индукции интерферона (ИФН) и его чувствительности к действию экзогенного ИФН в культуре утиных фибробластов. Показано, что интерференогенная активность штамма находится в прямой зависимости от множественности заражения. Максимальный показатель индукции (1 : 256 ЦЭПД<sub>50</sub>) отмечен при внесении вируса в дозе 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл через 72–96 ч после инокуляции культуры клеток. Экзогенный ИФН в титре 1 : 128 полностью подавлял цитопатический эффект возбудителя и предотвращал гибель утиных эмбрионов при инфицировании дозой, равной 100 ТЦД<sub>50</sub>/кл.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют утверждать, что вакцинный штамм ВН-3 вируса гепатита уток I типа обладает выраженной интерференогенной активностью и чувствительностью к действию экзогенного ИФН. Это может иметь значение для работ по созданию эффективных терапевтических препаратов против ВГУ-I.

**Ключевые слова:** вирус гепатита уток I типа, штамм ВН-3, интерферон, интерференогенная активность

**Для цитирования:** Никитина Н.В., Леонов И.К., Явдошак Л.И. Интерференогенная активность штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(2): 162-166. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-43>

**Для корреспонденции:** Никитина Нина Васильевна, канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии и опухолевых болезней птиц им. Р.Н. Коровина ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук.  
E-mail: [vnivip.nikitina@yandex.ru](mailto:vnivip.nikitina@yandex.ru)

**Участие авторов:** Никитина Н.В. – написание текста, подготовка резюме, общая редакция статьи; Леонов И.К. – проведение экспериментальных исследований, обработка материала; Явдошак Л.И. – проведение экспериментальных исследований, обработка материала.

**Финансирование.** Работа проведена за счёт ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН (ВНИТИП) в рамках тематики научно-исследовательских работ № 0599-2019-0024.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Редакционной политикой Журнала и Consensus author guidelines for animal use.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.01.2021  
Принята к печати 27.03.2021

## Interferonogenic activity of the strain BH-3 duck hepatitis virus type I (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*)

Nina V. Nikitina, Il'ya K. Leonov, Larisa I. Yavdoshak

FSBRI «All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» – Branch of the FSBRI FSC «All-Russian Research and Technological Poultry Institute» of Russian Academy of Sciences, 198412, St. Petersburg – Lomonosov, Russia

**Introduction.** Duck viral hepatitis type I (DVH-I) is a poorly studied contagious disease caused by RNA-containing duck (*Anatinae*) hepatitis virus type I (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*). This infection is widespread in many countries, including Russia, and causes significant damage to industrial duck breeding. The study of interferonogenic activity of its etiologic agent strains is of great importance in solving the problem of developing effective means to control the disease.

**Material and methods.** Strain BH-3 of duck hepatitis virus type I isolated from the liver of sick ducklings was used in the study. The strain was adapted to developing 10–12 day old duck embryos, to the cell culture of chicken and duck fibroblasts and deposited in the State Collection of Viruses of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of FSBI «National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia. Experiments were performed using the standard tissue culture method.

**Results and discussion.** Data on the ability of the viral strain BH-3 to induce interferon (IFN) and its sensitivity to the action of exogenous interferon in the culture of duck fibroblasts are presented. It has been shown that the interferonogenic activity of this strain of the hepatitis virus is in direct proportion to the multiplicity of infection. The maximum induction of IFN (1 : 256 CEPD<sub>50</sub>) was observed at a dose of 1.0 TCD<sub>50</sub>/cell in 72–96 hrs after inoculation of the cell culture. Exogenous IFN at a dose of 1 : 128 completely suppressed the cytopathic effect and death of duck embryos infected with hepatitis virus at a dose of 100 TCD<sub>50</sub>/cell.

**Conclusion.** The data obtained allow us to state that the vaccine strain BH-3 of duck hepatitis virus type I has a pronounced interferonogenic activity and sensitivity to the action of exogenous IFN. This may have implications for the development of effective therapeutic agents against DVH-I.

**Key words:** duck hepatitis virus type I, BH-3 strain, interferon, interferonogenic activity

**For citation:** Nikitina N.V., Leonov I.K., Yavdoshak L.I. Interferonogenic activity of the strain BH-3 duck hepatitis virus type I (*Picornaviridae: Avihepatovirus: Avihepatovirus A*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2021; 66(2): 162-166 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-43>

**For correspondence:** Nikitina Nina Vasil'evna, Ph.D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher of the Department of Virology and Tumor Diseases of Poultry named after R.N. Korovin, FSBRI «All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» – Branch of the FSBRI FSC «All-Russian Research and Technological Poultry Institute» of Russian Academy of Sciences. E-mail: [vnivip.nikitina@yandex.ru](mailto:vnivip.nikitina@yandex.ru)

### Information about the authors:

Nikitina N.V., <http://orcid.org/0000-0002-7500-3172>

Leonov I.K., <http://orcid.org/0000-0002-5342-1912>

Yavdoshak L.I., <http://orcid.org/0000-0002-4715-1263>

**Contribution:** Nikitina N.V. – writing of the text, preparing of resume, general edition of the article; Leonov I.K. – performing of experimental research, material processing; Yavdoshak L.I. – performing of experimental research, material processing.

**Acknowledgment.** The work was carried out at the expense of FSBRI «All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» – Branch of the FSBRI FSC «All-Russian Research and Technological Poultry Institute» of Russian Academy of Sciences, within the framework of the research topic No. 0599-2019-0024.

Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with the editorial policy of the Journal and Consensus author guidelines for animal use.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

Received 25 January 2021

Accepted 27 March 2021

## Введение

Вирусный гепатит утят типа I (ВГУ-I) – малоизученная сверхострая контагиозная болезнь утят до 6-недельного возраста (латентно протекающая у взрослых особей), характеризующаяся поражением печени и высокой смертностью среди молодняка (95%) [1–3]. Возбудителем её является РНК-содержащий вирус гепатита уток (*Anatinae*) I типа (*Avihepatovirus A*), относящийся к семейству *Picornaviridae*, роду *Avihepatovirus*. Заболевание широко распространено во многих странах мира, в том числе в Российской

Федерации. Оно серьёзно угрожает промышленному утководству, вызывая большие экономические потери [4–6]. Санитарным кодексом Всемирной организации по охране здоровья животных (МЭБ) ВГУ-I включён в перечень особо опасных болезней.

Для специфической профилактики этой инфекции применяются аттенуированные вирусные вакцины и инактивированные препараты. Однако в последние годы на фоне относительно стабильного благополучия по ВГУ-I постоянно возникают спорадические вспышки, что связано с нарушением ветеринарных,

зоотехнических и особенно противозооотических мероприятий без учёта биологических особенностей патогена.

В отечественной и зарубежной литературе имеются данные по изменчивости возбудителя заболевания как при циркуляции в естественных условиях, так и при длительных пассажах в организме восприимчивых особей [7–9].

Известно, что метод тканевых культур служит важным звеном в изучении биологических свойств вируса и в ходе многократных лабораторных пассажей позволяет провести оценку стабильности вакцинных штаммов инфекционного агента. Способность индуцировать *in vivo* или *in vitro* в определённых типах клеток выработку интерферона (ИФН) является генетически закреплённым признаком вируса [10–11] и наряду с другими наследственными характеристиками позволяет оценить однородность популяции аттенуированных штаммов, используемых в производстве вакцинных препаратов. В связи с этим исследования, направленные на изучение биологических (в том числе интерферогенных) и культуральных свойств новых регистрируемых вакцинных штаммов вируса гепатита уток I типа, остаются в настоящее время актуальными.

С учётом изложенного целью работы явилось изучение интерферогенной активности вакцинного штамма ВН-3 рассматриваемого инфекционного агента наряду с определением его чувствительности к действию экзогенного ИФН.

### Материал и методы

**Вирус.** В экспериментах использовали вакцинный штамм ВН-3 вируса гепатита уток I типа, выделенный из печени больных утят. Он адаптирован к развивающимся 10–12-суточным утиным эмбрионам, культурам фибробластов утиных эмбрионов (ФЭУ). Данный штамм депонирован в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (ФНИЦЭМ). Исходный титр вируса был равен  $6,75 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  (ТЦД – тканевая цитопатическая доза).

**Интерферон** получали на 48-часовом монослое культуры клеток утиных эмбрионов, выращенном в пробирках и пластиковых стерильных (PS) флаконах объёмом по 2 и 220 см<sup>3</sup> соответственно, в стационарных условиях при температуре  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ . Начальная концентрация клеточных элементов в суспензии составляла 600–650 тыс. кл/см<sup>3</sup>. Культуру заражали вакцинным штаммом вируса гепатита уток I типа в дозах 0,01; 0,1; 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл. Через каждые 24 ч после инокуляции вируса отбирали пробы культуральной жидкости одновременно с контрольным образцом, после чего центрифугировали при 1000 g в течение 15 мин и термоинактивировали на протяжении 60 мин при температуре 60 °C. Образованные таким образом пробы использовали в качестве готовых препаратов ИФН. Полноту инактивации

возбудителя проверяли заражением культуры ФЭУ неразведённым препаратом ИФН.

**Определение титра интерферона** выполняли в указанной культуре методом двукратных разведений на питательной среде Игла МЕМ при температуре  $(37,5 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ . ИФН в каждом из разведений в объёме 1,0 см<sup>3</sup> вносили в 4 пробирки с культурой клеток, предварительно удалив ростовую среду. Контролем служила нормальная культуральная жидкость. Через 24 ч в опытные и контрольные пробирки с клеточной культурой вносили по 0,2 см<sup>3</sup> (100 ТЦД<sub>50</sub>) индикаторного вируса везикулярного стоматита (VSV, vesicular stomatitis virus). Активность ИФН учитывали спустя 48 ч после внесения вируса-индикатора на фоне полной дегенерации контрольных культур. Наблюдение вели с использованием инвертируемого микроскопа ЛОМО ХС0928 («ЛОМО», Россия) при увеличениях от  $\times 40$  до  $\times 400$ . Ингибирующее действие ИФН характеризовали по подавлению вирусного цитопатогенного действия (ЦПД) в опытных и контрольных пробирочных культурах с отчётливо выраженной клеточной дегенерацией.

Титром ИФН считали последнее разведение, ингибирующее ЦПД индикаторного вируса в 50% клеточных культур. Чувствительность вакцинного штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа к экзогенному ИФН определяли по ингибирующему действию последнего в отношении данного штамма в культуре ФЭУ и 10–12-суточных утиных эмбрионах.

Полученные результаты подвергали статистическому анализу с применением критерия Стьюдента, считая их достоверными при  $p < 0,05$  [12]. Графическое построение данных выполняли при помощи программного обеспечения Microsoft Office Excel.

### Результаты и обсуждение

Для проведения инокуляции штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа в культуру утиных фибробластов вирусосодержащий материал был разведён до значений 0,01; 0,1; 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл. Через каждые 24 ч эксперимента из PS флаконов с испытуемым штаммом брали по 3,0 см<sup>3</sup> культуральной жидкости, которую замещали равным объёмом поддерживающей среды (Игла МЕМ + питательная среда 199), после чего определяли титр ИФН.

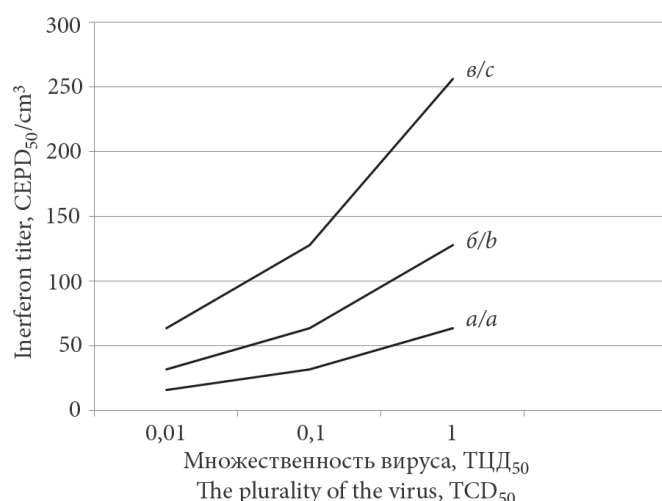
Результаты оценки способности вакцинного штамма ВН-3 к индукции ИФН представлены в **таблице**. Как можно видеть, выработка этого вещества зависит от множественности заражения вирусного штамма-индуктора и времени от момента инокуляции культуры. При этом имеющаяся зависимость носит прямой корреляционный характер. Через 24 ч после инокуляции при множественности заражения 0,01 и 0,1 ТЦД<sub>50</sub>/кл продукция ИФН отсутствовала, а в дозе 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл его титр составил 1 : 8 ЦЭПД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> (ЦЭПД<sub>50</sub> – средняя доза вещества, подавляющая цитопатический эффект вируса). С увеличением временного промежутка показатель концентрации ИФН возрастал, находясь спустя 48 ч в диапазоне от 1 : 16 до 1 : 64 ЦЭПД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

**Интерферогенная активность штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа****Interferonogenic activity of the duck hepatitis virus type I strain ВН-3**

Множественность заражения, ТЦД <sub>50</sub> Multiplicity of infection, TCD <sub>50</sub>	Сроки исследования проб, ч Time points for sample testing, hrs					Значение <i>p</i> <i>p</i> value
	Титр интерферона, ЦЭПД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> Interferon titer, CEPD <sub>50</sub> /cm <sup>3</sup>					
	24	48	72	96	120	
0,01	0	1 : 16	1 : 64	1 : 64	1 : 32	<0,05
0,1	0	1 : 32	1 : 128	1 : 128	1 : 64	<0,05
1,0	1 : 8	1 : 64	1 : 256	1 : 256	1 : 128	<0,05

**Примечание.** ЦЭПД<sub>50</sub> – средняя доза интерферона, подавляющая вирусный цитопатический эффект.

**Note.** CEPD<sub>50</sub> is the average dose of interferon that suppresses the viral cytopathic effect.



Интерферогенная активность вируса гепатита уток I типа в культуре утиных фибробластов в зависимости от его множественности и времени после инфицирования: *a* – 48 ч; *b* – 120 ч; *в* – 72–96 ч.

**Примечание.** ЦЭПД<sub>50</sub> – средняя доза интерферона, подавляющая вирусный цитопатический эффект.

Interferonogenic activity of duck hepatitis virus type I in the culture of duck fibroblasts depending on the virus plurality and the time after infection: *a* – 48 hrs; *b* – 120 hrs; *c* – 72–96 hrs.

**Note.** CEPD<sub>50</sub> is the average dose of interferon that suppresses the viral cytopathic effect.

Через 72 ч после инфицирования индукция ИФН была максимальной; в зависимости от дозы внесённого вируса (0,01; 0,1; 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл) титр вещества был равен 1 : 64; 1 : 128 и 1 : 256 ЦЭПД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> соответственно, что находится в рамках латентной фазы вирусного ЦПД. Активность выработки ИФН спустя 96 ч культивирования не изменялась, а затем по мере дегенерации и гибели клеток монослоя его образование уменьшалось. В ходе исследований показано, что наибольшее количество ИФН продуцируется через 72–96 ч от момента заражения клеточной культуры, а интерферогенная активность штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа находится в прямой зависимости от дозы возбудителя (см. рисунок).

Установленный характер процесса образования ИФН в культуре утиных фибробластов совпадает с полученными ранее данными относительно про-

дукции максимального его количества через 48–72 ч после инокуляции клеток другими штаммами вируса гепатита уток [13].

При определении чувствительности штамма ВН-3 к ингибирующему действию экзогенного ИФН в монослой культуры утиных фибробластов вещество вносили в дозе 1 : 128 ЦЭПД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> и после 24-часовой экспозиции добавляли вирус (100 ТЦД<sub>50</sub>). Результаты экспериментов показали, что экзогенный ИФН в указанном титре полностью подавлял цитопатический эффект внесённой дозы возбудителя с предотвращением гибели утиных эмбрионов. Это, в свою очередь, свидетельствует о чувствительности вакцинного штамма ВН-3 вируса гепатита уток I типа к ингибирующему действию экзогенного ИФН.

**Заключение**

На основании результатов проведённых исследований можно заключить, что вакцинный штамм ВН-3 вируса гепатита уток I типа обладает выраженной интерферогенной активностью в культуре утиных фибробластов и высокой чувствительностью к действию экзогенного ИФН. Установлена прямая зависимость степени индуцированного вирусным штаммом накопления вещества от множественности инфицирования клеток и времени после инокуляции культуры. Итоги экспериментов могут иметь значение для работ по созданию эффективных терапевтических препаратов против ВГУ-I.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Gu C.Q., Xie C.Q., Hu X.Y., Zhang W.P., Bi D.R., Cheng G.F. Cytokine gene expression in the liver of ducklings infected with duck hepatitis virus – 1JX strain. *Poult. Science*. 2012; 91(3): 583–91. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01743>.
- Князев В.П. Вирусный гепатит утят (уток). В кн.: Князев В.П. *Болезни водоплавающих птиц*. Владимир, 2013: 70–87.
- Mao S., Wang M., Ou X., Sun D., Cheng A., Zhu D., et al. Virologic and immunologic characteristics in mature ducks with acute duck hepatitis A virus 1 infection. *Front. Immunol.* 2017; 8: 1574. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01574>.
- Li J., Bi Y., Chen C., Yang L., Ding C., Liu W. Genetic characterization of duck hepatitis A viruses isolated in China. *Virus Res.* 2013; 178(2): 211–6. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.10.007>.
- Erfan A.M., Selim A.A., Moursi M.K., Nassef S.A., Abdelwhab E.M. Epidemiology and molecular characterisation of duck hepatitis A virus from different duck breeds in Egypt. *Vet. Microbiol.* 2015; 177(3–4): 347–52. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.03.020>.
- Bayoumie H.A.A., Abd-El Samie L.K. Molecular characterization of a duck virus hepatitis isolated from Sharkia governorate. *Assiut. Vet. Med. J.* 2015; 61(147): 56–65.

7. Норкина С.Н., Гребенникова Т.В., Плотников Н.А., Алипер Т.И. Вирусный гепатит утят. В кн.: *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. Москва: МИА; 2013; 1197–8.
8. Chen L.L., Xu Q., Zhang R.H., Yang L., Li J.X., Xie Z.J., et al. Improved duplex RP-PCR assay for differential diagnosis of mixed infection of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 in ducklings. *J. Virol. Methods*. 2013; 192(1–2): 12–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.04.012>.
9. Wen X.J., Cheng A.C., Wang M.S., Jia R.Y., Zhu D.K., Chen S., et al. Detection, differentiation, and VP1 sequencing of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 by a 1-step duplex reverse-transcription PCR assay. *Poult. Sci.* 2014; 93(9): 2184–92. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04024>.
10. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Использование индукторов интерферона при вирусных инфекциях. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 5–10.
11. Полосков В.В., Ершов Ф.И. Активаторы синтеза эндогенных интерферонов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017; 1(18): 188–92.
12. Белоусова Р.В., Троценко Н.И., Преображенская Э.А. *Практикум по ветеринарной вирусологии*. Москва: Колос; 2013.
13. Бубашко О.А. Маркерные свойства штамма вирусного гепатита утят КМИЭВ-16. *Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария*. 2005; (1): 46–9.
4. Li J., Bi Y., Chen C., Yang L., Ding C., Liu W. Genetic characterization of duck hepatitis A viruses isolated in China. *Virus Res.* 2013; 178(2): 211–6. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.10.007>.
5. Erfan A.M., Selim A.A., Moursi M.K., Nasef S.A., Abdelwhab E.M. Epidemiology and molecular characterisation of duck hepatitis A virus from different duck breeds in Egypt. *Vet. Microbiol.* 2015; 177(3–4): 347–52. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.03.020>.
6. Bayoumie H.A.A., Abd-El Samie L.K. Molecular characterization of a duck virus hepatitis isolated from Sharkia governorate. *Assiut. Vet. Med. J.* 2015; 61(147): 56–65.
7. Norkina S.N., Grebennikova T.V., Plotnikov N.A., Aliper T.I. Viral hepatitis of ducklings. In: *Guide to Virology. Viruses and Viral Infections in Humans and Animals [Virusnyy gepatit utyat. V kn.: Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013; 1197–8 (in Russian).
8. Chen L.L., Xu Q., Zhang R.H., Yang L., Li J.X., Xie Z.J., et al. Improved duplex RP-PCR assay for differential diagnosis of mixed infection of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 in ducklings. *J. Virol. Methods*. 2013; 192(1–2): 12–7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.04.012>.
9. Wen X.J., Cheng A.C., Wang M.S., Jia R.Y., Zhu D.K., Chen S., et al. Detection, differentiation, and VP1 sequencing of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 by a 1-step duplex reverse-transcription PCR assay. *Poult. Sci.* 2014; 93(9): 2184–92. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04024>.
10. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N. Usage of interferon inducers during viral infections [*Ispol'zovaniye induktorov interferona pri virusnykh infektsiyakh*]. *Voprosy virusologii*. 2015; (2): 5–10 (in Russian).
11. Poloskov V.V., Ershov F.I. Activation of synthesis of endogenous interferon (review) [*Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv (obzor)*]. 2017; 1(18): 188–92 (in Russian).
12. Belousova R.V., Trotsenko N.I., Preobrazhenskaya E.A. *Workshop on Veterinary Virology [Praktikum po veterinarnoy virusologii]*. Moscow: Kolos; 2013 (in Russian).
13. Bubashko O.A. Marker properties of the strain of viral hepatitis in ducklings KMIEV-16 [*Markernye svoystva shtamma virusnogo gepatita utyat KMIEV-16*]. *Epizootologiya, immunologiya, farmakologiya i sanitariya*. 2005; (1): 46–9 (in Russian).

### References

1. Gu C.Q., Xie C.Q., Hu X.Y., Zhang W.P., Bi D.R., Cheng G.F. Cytokine gene expression in the liver of ducklings infected with duck hepatitis virus – 1JX strain. *Poult. Science*. 2012; 91(3): 583–91. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01743>.
2. Knyazev V.P. Viral hepatitis of ducklings (ducks). In: *Diseases of Waterfowl [Virusnyy gepatit utyat (utok). V kn.: Bolezni vodoplavayushchikh ptits]*. Vladimir; 2013: 70–87 (in Russian).
3. Mao S., Wang M., Ou X., Sun D., Cheng A., Zhu D., et al. Virologic and immunologic characteristics in mature ducks with acute duck hepatitis A virus 1 infection. *Front. Immunol.* 2017; 8: 1574. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01574>.