

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 2, Number 56 (2020), 47 – 53

<https://doi.org/10.32014/2020.2224-526X.12>

UDC 615.371:616.921.5

A. S. Nurpeisova<sup>1</sup>, Zh. Kydyrbayev<sup>1</sup>, K. K. Tabynov<sup>2</sup>, A. Valdovska<sup>3</sup>,  
Y. M. Kozhamkulov<sup>1</sup>, D. A. Inkarbekov<sup>1</sup>, A. Mailybayeva<sup>1</sup>, K. K. Jekebekov<sup>1</sup>,  
R. T. Abitayev<sup>1</sup>, N. N. Assanzhanova<sup>1</sup>, M. M. Kassenov<sup>1</sup>, B. M. Khairullin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan;

<sup>2</sup>Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan;

<sup>3</sup>Latvia University of Life Sciences and Technologies, Jelgava, Latvia.

E-mail: nurai1005@gmail.com, Kydyr2@mail.ru, tabynov\_81@mail.ru, andavaldovska@inbox.lv, erken-76@mail.ru, mr.dake.84@mail.ru, majlybaevaigerim1@gmail.com, zhekebekov\_87@mail.ru, rusabitaiev@mail.ru, nuri.a.2013@mail.ru, kassenov\_mm@mail.ru, khirullin@mail.ru

## OPTIMIZING CONDITIONS FOR CULTURING SUBTYPE H7 INFLUENZA VIRUSES TO UPDATE THE STRAIN COMPOSITION OF A COMMERCIAL INACTIVATED EMULGATED VACCINE

**Abstract.** We have optimized conditions for culturing recombinant strains having similar antigenic and clade characteristics to environmental subtype H7 influenza viruses. We will use the results of the research to update the strain composition of existing commercial vaccines for subtype H7 avian influenza.

**Key words:** influenza virus, recombinant strain, culturing, vaccine.

**Introduction.** The global epizootic burden of the highly-pathogenic avian influenza (HPAI) remains extremely high. According to literature, HPAI is mainly caused by subtype H5 and subtype H7, which lead to epizootics [1,2]. Highly pathogenic variants of subtype H7 influenza A virus of different virulence have been identified in wild and domestic bird populations in virtually all European countries and a number of places in Africa, Asia and Middle East [3,4].

One of the HPAI panzootic's features since 2013 has been a wide diversity of circulating subtypes (H5N1, H5N8, H5N6, H7N9, etc.) and a higher rate of morbidity in domestic birds as compared to wild bird populations. Outbreaks with a variety of influenza virus subtypes have been reported by China, India, South Korea, South Africa, North and South America and Russia [5-7].

The wide diversity and uneven distribution of various virus lines circulating in the environment presents a significant obstacle to an effective choice of influenza vaccine [8,9]. Given the extreme danger of the disease, many of the world's major research centers have been focusing their efforts on developing recombinant strains with antigenic and clade characteristics similar to those in environmental avian influenza strains [10]. The quality of inactivated influenza vaccines is guaranteed in the world by the rules of the national regulatory authorities of WHO. Service laboratories in different countries prepare recombinant vaccine viruses that are distributed under WHO supervision among manufacturers to update the strain composition of existing inactivated vaccines for subtype H7 avian influenza or to develop new generation vaccines.

Kazakhstan is in need of developing a vaccine for the specific prevention of subtype H7 HPAI, since this virus is circulating actively in Europe and Asia at present. Therefore, to enhance safety against subtype H7 HPAI, Research Institute for Biological Safety Problems of the Ministry of Education and Science of Kazakhstan (RIBSP) acquired recombinant influenza virus strains from the National Institute for Biological Standards and Control, UK (NIBSC UK) in 2017. RIBSP conducted research to confirm the consistency of the recombinant strains' growth properties to their datasheet specifications and identify

methods to obtain a viral mass with a maximal infectious activity for preparing a pilot batch of inactivated emulgated vaccine for subtype H7 avian influenza.

The goal of this effort was to optimize conditions for cultivating recombinant subtype H7 avian influenza strains at RIBSP.

### Materials and Methods.

#### Viruses

We used the following influenza virus strains:

- NIBRG-267 (H7N9) recombinant influenza virus strain;
- NIBRG-268 (H7N9) recombinant influenza virus strain.

#### Culturing

We cultivated recombinant influenza virus strains following the technical guidance document for a previously developed inactivated emulgated AI vaccine and the strains' datasheet specifications.

#### Determining Viruses' Infectious Activity

We determined the viruses' infectious activity by titering them in embryonated chicken eggs following the generally accepted method [11]. We calculated the titer using the Kerber-Ashmarin method and expressed it in  $\log_{10}$  EID<sub>50</sub>/ml [12].

#### Determining Viruses' Hemagglutination Activity

We determined the viruses' hemagglutination activity following the standard methodology of drop hemagglutination assay (HA) using 1% rooster erythrocyte solution.

*Statistics.* In determining the average infectious and hemagglutinating activity of a sample, we considered  $P < 0.05$  as significant. We determined the significance of difference between data by using Graphpad Prism 6 (Graphpad Software Inc., CA, USA).

**Outcomes.** We cultured recombinant strains NIBRG-267 (H7N9) and NIBRG-268 in embryonated chicken eggs in a laboratory setting per appropriate datasheet specifications. We inoculated eggs by a 0.2 ml dose of  $10^{-4}$  and incubated them in standard conditions at 36°C and relative humidity of air of 55±5% for 48 hours. We collected virus-containing allantoic fluid after cooling the inoculated embryos and determined their infectious and hemagglutination activity and their sterility. The research results are presented in table 1.

Table 1 – Results of testing avian influenza recombinant strains' consistency with their datasheet specifications

Recombinant strain name	Hemagglutination activity	Infectious activity, ( $\log_{10}$ EID <sub>50</sub> )	Sterility
NIBRG-267 (H7N9)	1:256	8.86±0.08	Sterile
NIBRG-268 (H7N9)	1:256	8.83±0.16	Sterile

Our tests showed that the viruses' infectious and hemagglutination activity corresponds to the datasheet specifications. The virus-containing materials obtained had an infectious activity that was not lower than  $8.00 \log_{10}$  EID<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>.

We aimed to obtain a viral mass with a higher infectious activity, therefore to optimize the viruses' growth properties we used as incubation media chicken eggs from poultry farms in Kazakhstan that are free from type-A avian influenza. We determined the rate of virus accumulation depending on the embryos' age, the infective dose and incubation temperature.

The recombinant strain datasheets did not provide the age of chicken embryos to be used; and we had to determine the optimal embryo age at RIBSP. To do this, we conducted tests to determine the rate of virus accumulation depending on the age of chicken embryos. In our tests, we used embryonated chicken eggs 10, 11 and 12 days old. At the same time we conducted a trial to determine the effect of incubation temperature on the accumulation of recombinant strains. We held the trial three times where we also determined the hemagglutination and infectious activity of the virus-containing material. The test results are provided in figure 1 and table 2 below.

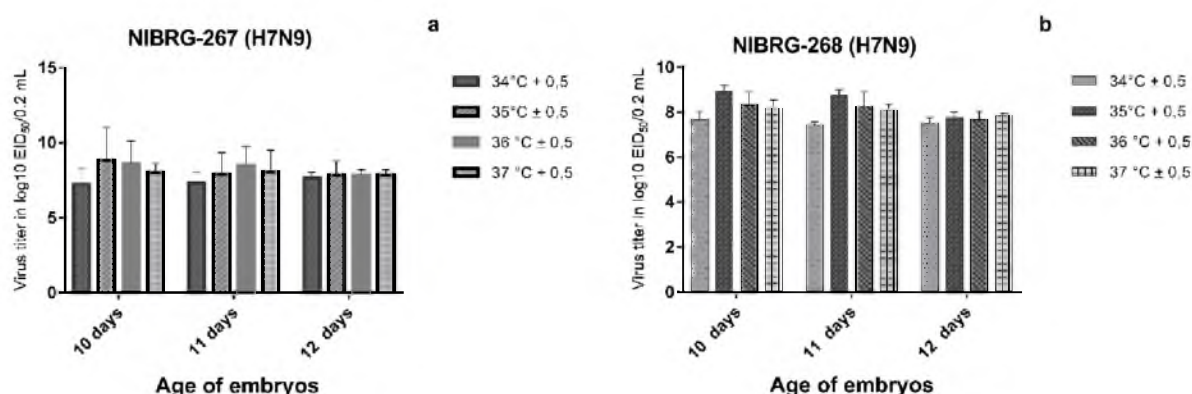


Figure 1 – Growth characteristics of recombinant strains in eggs (a, b). The viruses were inoculated into eggs and grown at  $34^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  -  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ . Infectious titers were measured as  $\text{EID}_{50}/\text{ml}$  (50% egg infectious dose per milliliter)

Table 2 – Infectious and hemmagglutination activity of influenza virus recombinant strains

NIBRG-267 (H7N9)								
Age of embryos	$(34^{\circ}\text{C}) \pm 0.5$		$(35^{\circ}\text{C}) \pm 0.5$		$36^{\circ}\text{C} \pm 0.5$		$37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$	
	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$
10 days	1:64	$7.23 \pm 0.24$	1:512	$8.83 \pm 0.06$	1:256	$8.54 \pm 0.22$	1:128	$8.00 \pm 0.07$
11 days	1:64	$7.33 \pm 0.16$	1:256	$7.91 \pm 0.33$	1:128	$8.51 \pm 0.15$	1:64	$8.20 \pm 0.07$
12 days	1:128	$7.66 \pm 0.08$	1:256	$7.83 \pm 0.22$	1:128	$7.87 \pm 0.15$	1:128	$7.85 \pm 0.15$
NIBRG-268 (H7N9)								
Age of embryos	$(34^{\circ}\text{C}) \pm 0.5$		$(35^{\circ}\text{C}) \pm 0.5$		$36^{\circ}\text{C} \pm 0.5$		$37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$	
	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$	Titer in HA	Virus titer in $\log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$
10 days	1:64	$7.58 \pm 0.30$	1:512	$8.90 \pm 0.06$	1:256	$8.41 \pm 0.22$	1:256	$8.20 \pm 0.07$
11 days	1:64	$7.41 \pm 0.22$	1:512	$8.78 \pm 0.15$	1:128	$8.28 \pm 0.15$	1:128	$8.11 \pm 0.07$
12 days	1:64	$7.50 \pm 0.14$	1:256	$7.78 \pm 0.07$	1:256	$7.50 \pm 0.15$	1:64	$7.80 \pm 0.15$

Data from figure 1 and table 2 shows that the various incubation temperatures selected did not have any notable effect on the viruses' accumulation rate or the recombinant strains' infective activity. We observed virtually no death of infected embryos during incubation. The higher virus accumulation rates occurred at the incubation temperature of  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  in 10-day old embryos. As a result, we chose the incubation temperature of  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  because NIBRG-267 (H7N9) had a high hemagglutination activity of 1:512 and an infectious activity of  $8.83 \pm 0.06 \log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$  at this incubation temperature. The hemagglutination activity of NIBRG-268 (H7N9) at  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  totaled 1:512 while its infectious activity was at  $8.90 \pm 0.06 \log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$ .

Further, we conducted tests to identify the optimal time for incubating inoculated chicken embryos. In these tests, we incubated infected embryos for 48 and 72 hours. The incubated embryos produced virus-containing materials with the same hemagglutination activity (1:128). Therefore, for further tests we chose the incubation time of 48 hours and incubation temperature of  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ .

The consequent tests aimed to determine the rate of virus accumulation depending on the infective dose. The tests relied on the growth conditions that we had identified as optimal: the temperature of  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ , relative air humidity of  $55 \pm 5\%$ , and age of embryonated chicken eggs of 10 days. We inoculated embryos via the allantoic cavity with the doses of 100, 1000, 10000, 50000 and 100000  $\text{EID}_{50}$  (figure 2).

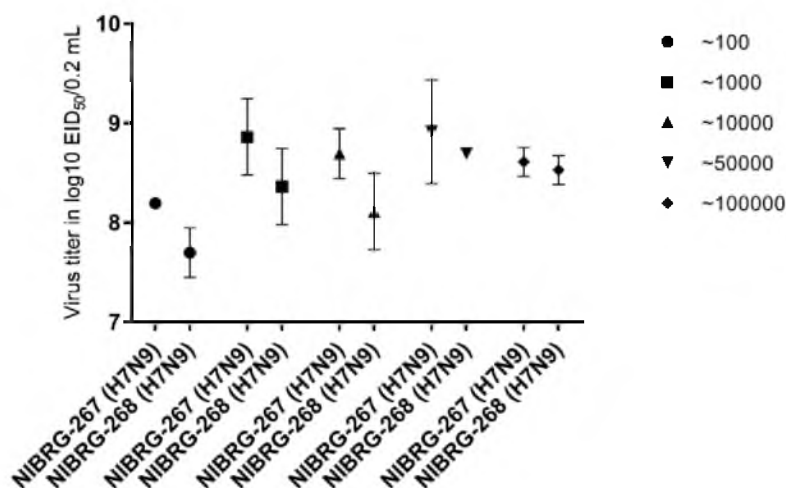


Figure 2 – The accumulation rate of influenza viruses depending on the infective dose (c)

Based on the test results, we determined that the optimal infective dose for recombinant strains NIBRG-267 (H7N9) and NIBRG-268 (H7N9) was 100000 EID<sub>50</sub>; this dose produces a highly active virus-containing material necessary for making semi-finished vaccine products.

**Discussion and Conclusion.** The recurrent outbreaks of subtype H7 influenza virus with a pandemic potential have led to renewed research to develop similar type HPAI vaccines or update the strain composition of existing commercial inactivated vaccines.

Data on culturing influenza virus recombinant strains NIBRG-267 (H7N9) and NIBRG-268 (H7N9) presented herein indicates that they can be used in developing subtype H7 highly-pathogenic avian influenza vaccines. The results of this research will serve as a basis for developing a new inactivated emulgated vaccine following the process previously used by RIBSP to design its commercial vaccine.

We applied the limiting dilution method to re-fresh NIBRG-267 (H7N9) and NIBRG-268 (H7N9) recombinant strains and prepared their stock and inoculation solutions that fully met quality and usability standards.

We identified the following optimal conditions for growing NIBRG-267 (H7N9) and NIBRG-268 (H7N9) recombinant strains in embryonated chicken eggs: the infective dose 1000-10000 EID<sub>50</sub>; the embryo age 10 days; the incubation temperature 35<sup>0</sup>C; and incubation time 48 hours.

А. С. Нурпейсова<sup>1</sup>, Ж. К. Қыдырбаев<sup>1</sup>, К. К. Табынов<sup>2</sup>, А. Валдовска<sup>3</sup>,  
Е. М. Қожамқулов<sup>1</sup>, Д. А. Инқарбеков<sup>1</sup>, А. Майлыбаева<sup>1</sup>, К. К. Джекебеков<sup>1</sup>,  
Р. Т. Абитаев<sup>1</sup>, Н. Н. Асанжанова<sup>1</sup>, М. М. Қасенов<sup>1</sup>, Б. М. Хайруллин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РМК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ҚР БҒМ ҒК,  
Гвардейский кенті, Қазақстан;

<sup>2</sup>Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан;

<sup>3</sup>Латвия жаратылыстану ғылымдары және технология университеті, Елгава, Латвия

#### КОММЕРЦИЯЛЫҚ ИНАКТИВТЕЛІШ ЭМУЛЬДЕНГЕН ВАКЦИНАНЫҢ ШТАМДЫҚ ҚҰРАМЫН ЖАҒАРТУ МАҚСАТЫНДА ҚҰС ТҰМАУЫ ВИРУСЫНЫҢ Н7 СУБТИПІН ӨСІРУ ЖАҒДАЙЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

**Аннотация.** Мақалада қазіргі таңда табиғатта айналымда жүрген тұмаудың жабайы штампына антигендік және клайдтық қасиеттері жағынан жақын тұмаудың Н7 субтипін қарсы рекомбинантты штампын өсіру жағдайы оңтайландырылды. Алынған зерттеу нәтижелері құс тұмауының Н7 субтипін қарсы коммерциялық инактивтелген эмульденген вакцинаның штамдық құрамын жаңалау мақсатында қолданылмақ.

NIBRG-267 (H7N9) және NIBRG-268 рекомбинантты штамдары құжаттық деректерге сәйкес тауық эмбриондарында өсірілді. Эмбриондарға  $10^{-4}$  дозада 0,2 мл көлемде вирус жұқтырылып, стандартты жағдайда  $36^{\circ}\text{C}$  температурада және ауаның  $55\pm 5\%$  салыстырмалы ылғалдылығында 48 сағат бойы инкубацияланды. Зерттеу нәтижесінде вирустардың инфекциялық, гемагглютининдік белсенділігінің көрсеткіштері құжаттық деректерге сәйкес келетіні анықталды. Алынған вирусы бар материалдардың инфекциялық белсенділігі  $8,00\text{lg}_{10}$  ЭИД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> төмен емес көрсеткішке ие болды.

Құс тұмауының А типінен таза Қазақстан Республикасының құс шаруашылықтарынан алынған тауық эмбриондарында вирусты өсіру үшін субстрат ретінде пайдаланып, инфекциялық белсенділігі жоғары вирустық массаны алу мақсатында біз вирустардың өсіру қасиеттерін оңтайландырдық.

Тұмау вирусының Н7 рекомбинантты штамдарының ілеспе құжатында тауық эмбриондарының жасы көрсетілмегендіктен БҚПФЗИ жағдайында эмбриондардың оңтайлы жасын анықтау қажет болды. Осы мақсатта 10, 11, 12 күндік тауық эмбриондары қолданылды. Рекомбинантты штамдардың өсуіне инкубациялау температурасының әсеріде бір мезгілде анықталды.

Таңдалған әртүрлі температуралық режимдер тұмау вирусының рекомбинантты штамдарының өсуіне және инфекциялық белсенділігіне айтарлықтай әсер етпеді. Инкубациялау барысында жұқтырылған эмбриондардың өлімі болған жоқ. Вирустардың жиналуының негүрлым жоғары көрсеткіштері 10 күндік эмбриондарды  $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  инкубациялау температурасында байқалды. Нәтижесінде, біз  $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  инкубациялау температурасын таңдап алдық, себебі осы температуралық режимде рекомбинантты штам NIBRG-267 (H7N9) инфекциялық белсенділігі  $8,83\pm 0,06\text{log}_{10}\text{EID}_{50}/0,2\text{mL}$  кезінде, 1:512 жоғары гемагглютининдік белсенділікті көрсетті. Рекомбинантты штамның NIBRG-268 (H7N9) гемагглютининдік белсенділігі  $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  инкубациялау температурасында 1:512, ал инфекциялық белсенділігі  $8,90\pm 0,06 \text{log}_{10}\text{EID}_{50}/0,2\text{mL}$  болды.

Әрі қарай, вирус жұқтырған эмбриондарды инкубациялаудың оңтайлы мерзімін анықтау үшін зерттеулер жүргізілді. Вирус жұқтырылған эмбриондар инкубациялауға 48 және 72 сағатқа қойылды. Инкубациялау нәтижесінде гемагглютининдік белсенділігі бірдей (1:128) вирусы бар материалдар алынды. Сондықтан одан әрі зерттеулер жүргізу үшін тұмау вирусын  $35 + 0,5^{\circ}\text{C}$  температурада 48 сағат инкубациялау уақыты пайдаланылды.

Ары қарай вирусты жұқтыру дозасына байланысты өсу деңгейі анықталды. Зерттеулер біз таңдаған өсіру параметрлерін қолдана отырып жүргізілді:  $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  температура, ауаның салыстырмалы ылғалдылығы  $55 \pm 5\%$ , тауық эмбриондары жасы 10 күндік. Эмбриондардың аллантоистық қуысына 100, 1000, 10000, 50000 және 100000 ЭИД<sub>50</sub> дозаларында жұқтырылды.

Алынған мәліметтерге сүйене отырып, рекомбинантты штамдарды оңтайлы жұқтыру дозасы 100000 ЭИД<sub>50</sub>, бұл вакцинаның жартылай шикізатын алу үшін қажетті, жоғары белсенді вирустық материалдарды жинауға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** тұмау вирусы, рекомбинантты штам, вирус өсіру, вакцина.

А. С. Нурпейсова<sup>1</sup>, Ж. К. Қыдырбаев<sup>1</sup>, К. К. Табынов<sup>2</sup>, А. Валдовска<sup>3</sup>,  
Е. М. Кожамқулов<sup>1</sup>, Д. А. Инкарбеков<sup>1</sup>, А. Майлыбаева<sup>1</sup>, К. К. Джекебеков<sup>1</sup>,  
Р. Т. Абитаев<sup>1</sup>, Н. Н. Асанжанова<sup>1</sup>, М. М. Касенов<sup>1</sup>, Б. М. Хайруллин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РГП Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности КН МОН РК,  
пгт. Гвардейский, Казахстан;

<sup>2</sup>Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан;

<sup>3</sup>Латвийский университет естественных наук и технологий, Елгава, Латвия

### ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСОВ ГРИППА СУБТИПА Н7 ДЛЯ АКТУАЛИЗАЦИИ ШТАММОВОГО СОСТАВА КОММЕРЧЕСКОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ

**Аннотация.** Оптимизированы условия культивирования рекомбинантных штаммов, близких по антигенным и клейдовым признакам к циркулирующим в природе диким штаммам вирусов гриппа субтипа Н7. Полученные результаты будут использованы при актуализации штаммового состава существующих коммерческих вакцин против гриппа птиц субтипа Н7.

Согласно паспортным данным в условиях лаборатории рекомбинантные штаммы NIBRG-267 (H7N9) и NIBRG-268 были выращены в куриных эмбрионах. Эмбрионы были инфицированы вирусами в дозе  $10^{-4}$  в

объеме 0,2 мл и инкубированы в стандартных условиях при температуре 36<sup>0</sup>С и относительной влажности воздуха 55±5% на протяжении 48 часов. В результате исследований установлено, что по показателю инфекционной, гемагглютинирующей активности вирусов соответствуют паспортным данным. Полученные вирусодержащие материалы имели инфекционную активность не ниже 8,00lg<sub>10</sub> ЭИД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

С целью получения вирусной массы с более высокой инфекционной активностью в условиях использования в качестве субстрата для выращивания куриных эмбрионов из благополучных по гриппу птиц типа А птицеводческих хозяйств Республики Казахстан, нами оптимизированы культуральные свойства вирусов.

В сопроводительном документе рекомбинантных штаммов Н7 вируса гриппа не указан возраст куриных эмбрионов и необходимо было определить оптимальный возраст эмбрионов в условиях НИИПББ. Для этой цели были использованы РКЭ 10, 11, 12 сут. возрастов. Одновременно определено влияние температуры инкубирования на накапливаемость рекомбинантных штаммов.

Выбранные температурные режимы инкубирования не оказывают заметного влияния на накапливаемость вирусов и инфекционную активность рекомбинантных штаммов вируса гриппа, выращенных при различных температурных режимах. Гибель инфицированных эмбрионов в процессе инкубирования практически отсутствует. Более высокие показатели накапливаемости вирусов отмечается при температуре инкубирования 35<sup>0</sup>С±0,5 на 10 суточных эмбрионах. В результате нами было выбрано 35<sup>0</sup>С±0,5 температуры инкубирования поскольку при данном температурном режиме рекомбинантный штамм NIBRG-267 (H7N9) показал высокую гемагглютинирующей активности 1:512 при инфекционной активности 8,83±0,06lg<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL. Гемагглютинирующая активность рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) при 35<sup>0</sup>С±0,5 составило 1:512, а инфекционная активность 8,90±0,06 lg<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL.

Далее были проведены исследования по определению оптимальных сроков инкубирования инфицированных эмбрионов. Зараженные эмбрионы были заложены для инкубирования на протяжении 48 и 72 часов. В результате инкубирования получены вирусодержащие материалы с одинаковой гемагглютинирующей активностью (1:128). Поэтому для дальнейшего исследования использованы сроки инкубирования вирусов гриппа в течение 48 часов при 35<sup>0</sup>С±0,5.

Определен уровень накопления вируса в зависимости от заражающей дозы. Исследования проводили с использованием выбранных нами параметров культивирования: температура 35<sup>0</sup>С±0,5, относительная влажность воздуха 55±5 %, возраст РКЭ 10 суток. Эмбрионы заражали в аллантоисную полость в дозах 100, 1000, 10000, 50000 и 100000 ЭИД<sub>50</sub>.

Исходя из полученных данных оптимальной заражающей дозой для рекомбинантных штаммов является 100000 ЭИД<sub>50</sub>, позволяющая наработать высокоактивный вирусодержащий материал, необходимой для получения вакцинного полуфабриката.

**Ключевые слова:** вирус гриппа, рекомбинантный штамм, культивирование, вакцина.

#### Information about authors:

Nurpeisova Ainur S., Master of Veterinary Science, Senior Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; nurai1005@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-7039-5621>

Kydyrbayev Zhailyaubay, Phd, Associate Professor, head of laboratory RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; Kydyr2@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9247-6273>

Tabynov Kaissar K., Phd, Professor, Kazakh national agrarian university, Almaty, Kazakhstan; tabynov\_81@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5823-1280>

Valdovska A. Phd, Professor, Latvia University of Life Sciences and Technologies, Jelgava city, Latvia; andavaldovska@inbox.lv; <https://orcid.org/0000-0003-2044-5042>

Kozhamkulov Yerkyn M., master, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; erken-76@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4105-2889>

Inkarbekov Dulat A., master, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; mr.dake.84@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6274-5874>

Mailybayeva A. master, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; majlybaevaagerim1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4722-0495>

Jekebekov Kuanysh K., master, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; zhekebekov\_87@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7801-6198>

Abitayev Rusln T. Junior Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; rus\_abitaev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5609-2491>

Assanzhanova Nurika N., Phd, Senior Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; nuri.a.2013@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7267-3931>

Kassenov Markhabat M., Phd, head of laboratory RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; kassenov\_mm@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6124-703X>

Khairullin Berik M., Phd, Professor, RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; khirullin@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7875-9717>

## REFERECES

[1] Senne D.A. (2010) Avian influenza in North and South America, the Caribbean, and Australia, 2006-2008 // *Avian Dis.*, 54: 179–186. DOI: 10.1637/8921-050809 (in Eng.).

[2] Brown I.H. (2010) Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, and Africa, 2006-2009, *Avian Dis.*, 54: 187–193. DOI: 10.1637/8949-053109-Reg.I (in Eng.).

[3] Swayne D.E., Suarez D.L. (2000) Highly pathogenic avian influenza, *Rev Sci Tech* 19(2): 463-82. DOI: 10.20506/rst.19.2.1230 (in Eng.).

[4] Spackman E., Gelb J.Jr., Preskenis L.A., Ladman B.S., Pope C.R., Pantin-Jackwood M.J., McKinley E.T. (2010) The pathogenesis of low pathogenicity H7 avian influenza viruses in chick ens, ducks and turkeys, *Virol J.*, 7: 331. doi: 10.1186/1743-422X-7-331 (in Eng.).

[5] Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranat hai C., Nguyen T.D., Estoepongastie A.T., Chaisingh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T., Webby R.J., Poon L.L., Chen H., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S. (2004) Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia, *Nature*, 430 (6996): 209-213. DOI: 10.1038/nature02746 (in Eng.).

[6] Imai M., Watanabe T., Kiso M., Nakajima N., Yamayoshi S., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., Yamada S., Ito M., Sakai-Tagawa Y., Shirakura M., Takashita E., Fujisaki S., McBride R., Thompson A.J., Takahashi K., Maemura T., Mitake H., Chiba S., Zhong G., Fan S., Oishi K., Yasuhara A., Takada K., Nakao T., Fukuyama S., Yamashita M., Lopes T.J.S., Neumann G., Odagiri T., Watanabe S., Shu Y., Paulson J.C., Hasegawa H., Kawaoka Y. (2017) A highly pathogenic avian H7N9 influenza virus isolated from a human is lethal in some ferrets infected via respiratory droplets, *Cell Host Microbe*, 22: 615–626. DOI: 10.1016/j.chom.2017.09.008 (in Eng.).

[7] Daniela S.J., Daniel R.P. (2018) Universal Vaccines and Vaccine Platforms to Protect against Influenza Viruses in Humans and Agriculture, *Front. Microbiol.*, 9: 11-21. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00123 (in Eng.).

[8] Anderson T.K., Macken C.A., Lewis N.S., Scheuermann R.H., Van Reeth K., Brown I.H., Swenson S.L., Simon G., Saito T., Berhane Y., Ciacci-Zanella J., Pereda A., Davis C.T., Donis R.O., Webby R.J., Vincent A.L. (2016) A Phylogeny-Based Global Nomenclature System and Automated Annotation Tool for H1 Hemagglutinin Genes from Swine Influenza A Viruses, *mSphere*, 1(6): pii: e00275-16. DOI: 10.1128/mSphere.00275-16 (in Eng.).

[9] Lewis N.S., Russell C.A., Langat P., Anderson T.K., Berger K., Bielejec F., Burke D.F., Dudas G., Fonville J.M., Fouchier R.A., Kellam P., Koel B.F., Lemey P., Nguyen T., Nuansrichy B., Peiris J.M., Saito T., Simon G., Skepner E., Takemae N., ESNIP consortium, Webby R.J., Van Reeth K., Brookes S.M., Larsen L., Watson S.J., Brown I.H., Vincent A.L. (2016) The global antigenic diversity of swine influenza A viruses, *Elife*, 5: e12217. DOI: 10.7554/eLife.12217 (in Eng.).

[10] Zhumatov K.Kh., Kydyrmanov A.I., Sayatov M.Kh. (2019) Influenza A/H9 viruses – important infectious pathogens of wild birds, mammals and human // *News of the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan series of biological and medical.* ISSN 2518-1629. Vol. 2, N 332. P. 49-55. DOI: 10.32014/2019.2519-1629.20 (in Eng.).

[11] de Jonge J., Isakova-Sivak I., van Dijken H., Spijkers S., Mouthaan J., de Jong R., Smolonogina T., Roholl P., Rudenko L. (2016) H7N9 Live Attenuated Influenza Vaccine Is Highly Immunogenic, Prevents Virus Replication, and Protects Against Severe Bronchopneumonia in Ferrets // *Molr Ther.* 24 (5): 991-1002. DOI:10.1038/mt.2016.23 (in Eng.).

[11] Prokopyeva E.A., Zinserling V.A., Bae Y.C., Kwon Y., Kurskaya O.G., Sobolev I.A., Kozhin P.M., Komissarov A., Fadeev A., Petrov V., Shestopalov A.M., Sharshov K.A. (2019) Pathology of A(H5N8) (Clade 2.3.4.4) Virus in Experimentally Infected Chickens and Mice // *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2019 Jul 4; 2019: 4124865. DOI: 10.1155/2019/4124865. eCollection (in Eng.).