

ISSN 2518-1467 (Online),  
ISSN 1991-3494 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

# Х А Б А Р Ш Ы С Ы

---

---

**ВЕСТНИК**

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**THE BULLETIN**

THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

PUBLISHED SINCE 1944

6

NOVEMBER – DECEMBER 2020

---

---

ALMATY, NAS RK

---

*NAS RK is pleased to announce that Bulletin of NAS RK scientific journal has been accepted for indexing in the Emerging Sources Citation Index, a new edition of Web of Science. Content in this index is under consideration by Clarivate Analytics to be accepted in the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index, and the Arts & Humanities Citation Index. The quality and depth of content Web of Science offers to researchers, authors, publishers, and institutions sets it apart from other research databases. The inclusion of Bulletin of NAS RK in the Emerging Sources Citation Index demonstrates our dedication to providing the most relevant and influential multidiscipline content to our community.*

*Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясы "ҚР ҰҒА Хабаршысы" ғылыми журналының Web of Science-тің жаңаланған нұсқасы Emerging Sources Citation Index-те индекстелуге қабылданғанын хабарлайды. Бұл индекстелу барысында Clarivate Analytics компаниясы журналды одан әрі the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index және the Arts & Humanities Citation Index-ке қабылдау мәселесін қарастыруда. Web of Science зерттеушілер, авторлар, баспашылар мен мекемелерге контент тереңдігі мен сапасын ұсынады. ҚР ҰҒА Хабаршысының Emerging Sources Citation Index-ке енуі біздің қоғамдастық үшін ең өзекті және беделді мультидисциплинарлы контентке адалдығымызды білдіреді.*

*НАН РК сообщает, что научный журнал «Вестник НАН РК» был принят для индексирования в Emerging Sources Citation Index, обновленной версии Web of Science. Содержание в этом индексировании находится в стадии рассмотрения компанией Clarivate Analytics для дальнейшего принятия журнала в the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index и the Arts & Humanities Citation Index. Web of Science предлагает качество и глубину контента для исследователей, авторов, издателей и учреждений. Включение Вестника НАН РК в Emerging Sources Citation Index демонстрирует нашу приверженность к наиболее актуальному и влиятельному мультидисциплинарному контенту для нашего сообщества.*

Б а с р е д а к т о р ы

х.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі

**М.Ж. Жұрынов**

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

**Абиев Р.Ш.** проф. (Ресей)  
**Абылкасымова А.Е.** проф., академик (Қазақстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Аппель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймұқанов Д.А.** проф., академик (Қазақстан)  
**Баймұратов У.Б.** проф., академик (Қазақстан)  
**Байтанаев Б.А.** проф., академик (Қазақстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Қазақстан)  
**Банас Иозеф** проф. (Польша)  
**Берсимбаев Р.И.** проф., академик (Қазақстан)  
**Велесько С.** проф. (Германия)  
**Велихов Е.П.** проф., РҒА академигі (Ресей)  
**Кабульдинов З.Е.** проф. (Қазақстан)  
**Қажыбек Е.З.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Қалимолдаев М.Н.** проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары  
**Қамзабекұлы Д.** проф., академик (Қазақстан)  
**Қойгелдиев М.К.** проф., академик (Қазақстан)  
**Лупашку Ф.** проф., корр.-мүшесі (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Ресей)  
**Поняев А.И.** проф. (Ресей)  
**Сагиян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Таймагамбетов Ж.К.** проф., академик (Қазақстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Шәукенова З.К.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., РҒА академигі (Ресей)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Тәжікстан)

**«Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының Хабаршысы».**

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы»РҚБ (Алматы қ.).

Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникациялар министрлігінің Ақпарат комитетінде 12.02.2018 ж. берілген № 16895-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Тақырыптық бағыты: *іргелі ғылымдар саласындағы жаңа жетістіктер нәтижелерін жария ету.*

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 2000 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,  
<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

---

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «NurNaz GRACE», Алматы қ., Рысқұлов көш., 103.

Г л а в н ы й р е д а к т о р  
д.х.н., проф. академик НАН РК  
**М.Ж. Журинов**

Р е д а к ц и о н н а я к о л л е г и я:

**Абиев Р.Ш.** проф. (Россия)  
**Абылкасымова А.Е.** проф., академик (Казахстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Апель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймуканов Д.А.** проф., академик (Казахстан)  
**Баймуратов У.Б.** проф., академик (Казахстан)  
**Байтанаев Б.А.** проф., академик (Казахстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Казахстан)  
**Банас Иозеф** проф. (Польша)  
**Берсимбаев Р.И.** проф., академик (Казахстан)  
**Велесько С.** проф. (Германия)  
**Велихов Е.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Кабульдинов З.Е.** проф. (Казахстан)  
**Кажыбек Е.З.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Калимолдаев М.Н.** академик (Казахстан), зам. гл. ред.  
**Камзабекулы Д.** проф., академик (Казахстан)  
**Койгельдиев М.К.** проф., академик (Казахстан)  
**Лунашку Ф.** проф., чл.-корр. (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Россия)  
**Поняев А.И.** проф. (Россия)  
**Сагьян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Таймагамбетов Ж.К.** проф., академик (Казахстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Шаукенова З.К.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., академик РАН (Россия)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Таджикистан)

«Вестник Национальной академии наук Республики Казахстан».

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы).

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации Министерства информации и коммуникаций и Республики Казахстан № **16895-Ж**, выданное 12.02.2018 г.

Тематическая направленность: *публикация результатов новых достижений в области фундаментальных наук.*

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 2000 экземпляров.

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18.

<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

---

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020

Адрес типографии: «NurNazGRACE», г. Алматы, ул. Рыскулова, 103.

Editor in chief

doctor of chemistry, professor, academician of NAS RK

**M.Zh. Zhurinov**

Editorial board:

**Abiyev R.Sh.** prof. (Russia)  
**Abylkasymova A.E.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Avramov K.V.** prof. (Ukraine)  
**Appel Jurgen,** prof. (Germany)  
**Baimukanov D.A.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Baimuratov U.B.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Baitanaev B.A.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Baitullin I.O.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Joseph Banas,** prof. (Poland)  
**Bersimbayev R.I.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Velesco S.,** prof. (Germany)  
**Velikhov Ye.P.** prof., academician of RAS (Russia)  
**Kabuldinov Z.E.** prof. (Kazakhstan)  
**Kazhybek E.Z.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Kalimoldayev M.N.** prof., academician (Kazakhstan), deputy editor in chief  
**Kamzabekuly D.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Koigeldiev M.K.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Lupashku F.** prof., corr. member (Moldova)  
**Mohd Hassan Selamat,** prof. (Malaysia)  
**Nowak Isabella,** prof. (Poland)  
**Ogar N.P.** prof., corr. member (Kazakhstan)  
**Poleshchuk O.Kh.** prof. (Russia)  
**Ponyaev A.I.** prof. (Russia)  
**Sagiyani A.S.** prof., academician (Armenia)  
**Tajmagambetov Zh.K.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Khripunov G.S.** prof. (Ukraine)  
**Shaukenova Z.K.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Yuldashbayev Y.A.,** prof., academician of RAS (Russia)  
**Yakubova M.M.** prof., academician (Tadjikistan)

**Bulletin of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.**

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty).

The certificate of registration of a periodical printed publication in the Committee of information of the Ministry of Information and Communications of the Republic of Kazakhstan No. **16895-Ж**, issued on 12.02.2018.

Thematic focus: *publication of the results of new achievements in the field of basic sciences.*

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 2000 copies.

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,

<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

---

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

Address of printing house: «NurNaz GRACE», 103, Ryskulov str, Almaty.

UDC 578.832.1: 571.27

**A. Mailybayeva<sup>1</sup>, A. S. Nurpeisova<sup>1</sup>, N. N. Assanzhanova<sup>1</sup>,  
Y. M. Kozhamkulov<sup>1</sup>, D. A. Inkarbekov<sup>1</sup>, R. T. Abitaev<sup>1</sup>,  
K. K. Jekebekov<sup>1</sup>, S. Sh. Nurabayev<sup>1</sup>, M. M. Kassenov<sup>1</sup>,  
B. M. Khairullin<sup>1</sup>, Zh. Kydyrbayev<sup>1</sup>, A. Valdovska<sup>2</sup>, K. D. Zakarya<sup>1</sup>.**

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

<sup>2</sup>Latvia University of Life Sciences and Technologies, Jelgava city, Latvia.

E-mail: majlybaevaagerim1@gmail.com, nurai1005@gmail.com, nuri.a.2013@mail.ru,  
erken-76@mail.ru, mr.dake.84@mail.ru, rusabitaiev@mail.ru, zhekebekov\_87@mail.ru,  
sergazy-75@mail.ru, kassenov\_mm@mail.ru, khirullin@mail.ru, Kydyr2@mail.ru,  
andavaldivska@inbox.lv, ribsp@biosafety.kz.

## OPTIMIZATION OF CULTIVATION CONDITION OF SUBTYPE H5 FLU VIRUS

**Abstract.** This study looks into optimal conditions for cultivating the recombinant strains of subtype H5 influenza virus. The study results in establishing optimal conditions (inoculation dose, incubation temperature, incubation time, and chicken embryos' age) for growing the influenza virus.

This study establishes optimum conditions for cultivating the A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A and A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A subtype H5 influenza virus recombinant strains in embryonated chicken eggs.

Data on culturing influenza virus recombinant strains presented herein indicates that they can be used in developing subtype H5 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.

These optimum conditions are an infective dose of 10000 EID<sub>50</sub>/0.2 cm<sup>3</sup>, an incubation temperature of 36±0.5°C, an embryo age of 10 days for cultivating the recombinant strain A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A. Using these culturing conditions allows a stable production of virus-containing materials with an infectivity level of not less than 8.45±0.24 log EID<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>, which is fully consistent with requirements for producing inactivated vaccines for avian influenza. And optimal conditions for growing recombinant strain A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A in 10 days embryonated chicken eggs with the infective dose 100000 EID<sub>50</sub> in the incubation temperature 35°C. These optimum conditions are helping culturing a stable production of virus-containing materials with an infectivity level of not less than 8.74±0.06 log EID<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>, which is fully consistent with requirements for producing inactivated vaccines for recombinant strain A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A.

An optimum incubation time of 48 hours, and relative air humidity of 55±5% for cultivating both recombinant strains.

**Key words:** influenza virus, recombinant strain, cultivation.

**Introduction.** The highly-pathogenic avian influenza (HPAI) is an extremely contagious pantropic disease affecting various species of poultry and wild birds that can take the form of epizootics and inflict major harm on poultry farming and trade [1]. To date, HPAI outbreaks caused by H5N1, H5N2, H5N6, H5N8, H9N2, H7N9 and other subtypes continue to occur in different regions of the world. A disease caused simultaneously by different viral subtypes is characteristic for recent avian influenza cases around the world [2-4]. Therefore, the strain composition of inactivated vaccines developed by various countries in early 2000s is considered lacking in relevance in terms of clade features compared with the epizootic strains of avian influenza virus of various pathogenicity levels circulating in the environment [5,6]. Thus,

it is important to update the strain composition of existing commercial avian influenza vaccines as part of measures to control this dangerous infectious disease. Major WHO service laboratories have started the production of recombinant strains to be used in manufacturing vaccines to prevent avian influenza.

In 2007, the Research Institute of Biological Safety Problems of the Science Committee under the Ministry of Education and Science of Kazakhstan (RIBSP) developed a technology for producing inactivated emulgated vaccine for clade 2.2, subtype H5 avian influenza. The Institute has an established production of inactivated emulgated vaccines for A/H5N1 avian influenza virus that is used for the specific prevention of subtype H5 avian influenza [7,8].

However, addressing only one clade and subtype of the influenza virus, as it is done at present, is not sufficient for the specific prevention and control of the highly-pathogenic avian influenza in Kazakhstan, given its vast territory. Therefore, like many other vaccine manufacturers throughout the world, we performed studies to establish optimal culturing properties of a range of recombinant viruses produced in service laboratories.

**Materials and Methods.** Our experiments used recombinant strains:

- A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A;

- A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A.

*Virus Cultivation*

We used standard methodology to inoculate 10-, 11- and 12-day old chicken embryos [9]. We cultivated the recombinant strains in accordance with their data sheet information and RIBSP's existing technical guidance for inactivated emulgated AI vaccine. We incubated inoculated embryos for 48 and 72 hours at different temperatures ( $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ,  $36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  and  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ).

*Assessing Viruses' Infectious Activity*

We used common methodology in assessing the viruses' infectious activity. We calculated titration results based on L. Reed & H. Muench method and expressed them in decimal logarithms  $\text{EID}_{50}/\text{cm}^3$  [10].

*Statistic Processing*

In calculating the average value of studied parameters, we considered  $P < 0.05$  as significant.

**Study Results.** At the initial phase of the study we inoculated 10-days' old embryos with 0.2 ml of  $10^{-4}$  viral dilution and incubated them for 48 hours at  $36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  and a relative air humidity of  $55\pm 5\%$ . We collected virus-containing allantoic fluid (VAF) once inoculated embryos had cooled and assessed their infective and hemagglutination activity and sterility. The study results are shown in table 1.

Table 1 – Control of the recombinant strains subtype H5 influenza virus strains of for consistency with its data sheet information

Strain Name	Hemagglutination activity	Infective Activity, ( $\log_{10} \text{EID}_{50}$ )	Sterility
A/Sichuan/26221	1:128	$8.45\pm 0.14$	Sterile
A/gyrfalcon/Washington/41088-6	1:1024	$8.74 \pm 0.06$	Sterile

As seen in table 1, the recombinant strains are consistent with its data sheet on all characteristics controlled.

The recombinant strains insert did not specify the age of chicken embryos for virus cultivation; and we had to assess the optimal age for virus cultivation at RIBSP. To do that, we tested chicken embryos that were 10, 11 and 12 days old. We incubated virus-inoculated embryos at various temperatures ( $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ,  $36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  and  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ). We did this at a relative air humidity of  $55 \pm 5\%$  (figure, tables 2 and 3).

Table 2 – Quantity build-up of the A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A strain depending on chicken embryo age and incubation temperature

Embryo age	$35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$		$36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$		$37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$	
	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$
10	1:128	$7.81 \pm 0.06$	1:512	$8.12 \pm 0.22$	1:256	$8.61 \pm 0.07$
11	1:256	$7.95 \pm 0.15$	1:256	$8.87 \pm 0.15$	1:256	$8.53 \pm 0.07$
12	1:256	$7.78 \pm 0.07$	1:256	$7.87 \pm 0.15$	1:128	$9.12 \pm 0.15$

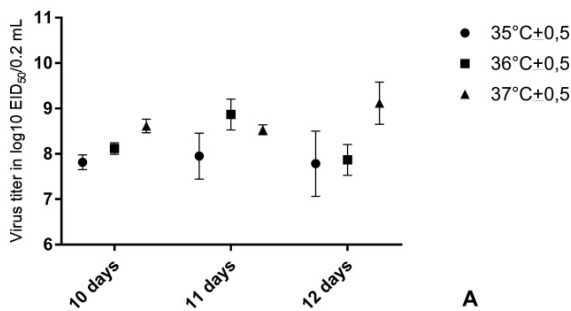
As seen from table 2, the virus is well-adapted to the embryos, and the inoculated embryos do not die at incubation. The highest viral quantities are produced by incubating 10-day-old embryos at  $36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .

Table 3 – Quantity build-up of the A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A strain depending on chicken embryo age and incubation temperature

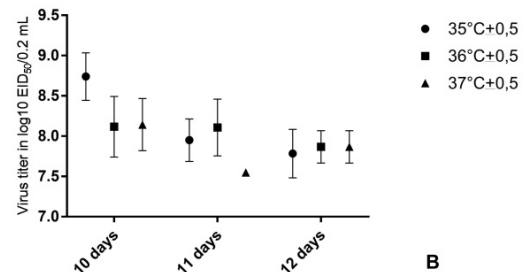
Embryo age	$35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$		$36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$		$37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$	
	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$	Titer in hemagglutination test	Infective activity, $\log \text{EID}_{50} / \text{cm}^3$
10	1:1024	$8.74 \pm 0,06$	1:128	$8.12 \pm 0,22$	1:128	$8.14 \pm 0,07$
11	1:128	$7.95 \pm 0,15$	1:256	$8.11 \pm 0,11$	1:64	$7.55 \pm 0,07$
12	1:256	$7.78 \pm 0,07$	1:128	$7.87 \pm 0,15$	1:32	$7.87 \pm 0,15$

As seen from table 3, the highest viral quantities are produced by incubating 10-day-old embryos at  $34\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .

A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A



A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A



Growth characteristics of recombinant strains in eggs (A, B).

Infectious titers were measured as  $\text{EID}_{50}/\text{ml}$  (50% egg infectious dose per milliliter)

Data from figure 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  $36^{\circ}\text{C}\pm 0.5$  in 10-day old embryos, as a result, we chose the incubation temperature of  $35^{\circ}\text{C}\pm 0.5$  because A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A had a high hemagglutination activity of 1:512 and an infectious activity of  $8.12 \pm 0.22 \log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$  at this incubation temperature. The hemagglutination activity of A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A at  $35^{\circ}\text{C}\pm 0.5$  totaled 1:1024 while its infectious activity was at  $8.74 \pm 0,06 \log_{10} \text{EID}_{50}/0.2 \text{ ml}$ .

Then we performed an experiment to assess the optimal incubation time for inoculated embryos. We incubated inoculated embryos for 48 and 72 hours. During the incubation, we used a relative air humidity of  $55 \pm 5\%$ .

Further on, we assessed the quantities of viral build-up depending on the infective dose, the aim being to increase the virus's infectivity. We performed our experiments at standard culturing conditions: a temperature of  $36\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  for recombinant strain A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A and  $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  for recombinant strain A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A, relative air humidity of  $55\pm 5\%$ , with chicken embryos 10 days old. We introduced the virus into embryos' allantoic cavity in doses of 10 to 1000000  $\text{EID}_{50}$ . As we incubated the inoculated embryos, we performed their ovoscopy every 3 hours. We recorded times of embryos' death. We assessed the quantities of viral build-up based on the infective and hemagglutinative activity. The results are shown in tables 4 and 5.



Table 4 – Build-up quantities of the A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A recombinant strain depending on the infective dose ( $X \pm m$ ), n=3)

Infective dose, EID <sub>50</sub>	Number of dead / total chicken embryos in experiment	Activity	
		Hemagglutinative	Infective, log <sub>10</sub> EID <sub>50</sub> /ml
~10	0/30	1:64	8.45 ± 0.14
~100	0/30	1:128	8.70 ± 0.08
~1000	2/30	1:128	8.70 ± 0.17
~10000	0/30	1:128	8.45 ± 0.24
~100000	2/30	1:128	8.20 ± 0.2
~1000000	1/30	1:256	7.46 ± 0.12

As shown in table 4, almost no embryos died during incubation. The highest viral build-up is seen in embryos inoculated in doses from 1000 to 10000 EID<sub>50</sub>. Viral hemagglutinative activity was stable, although much higher in the VAF taken from embryos inoculated with a dose of 1000000 EID<sub>50</sub>.

Table 5 – Build-up quantities of the A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A recombinant strain depending on the infective dose ( $X \pm m$ ), n=3)

Infective dose, EID <sub>50</sub>	Number of dead / total chicken embryos in experiment	Activity	
		Hemagglutinative	Infective, log <sub>10</sub> EID <sub>50</sub> /ml
~10	0/30	1:32	6.45 ± 0.14
~100	0/30	1:64	7.70 ± 0.08
~1000	2/30	1:128	7.70 ± 0.17
~10000	0/30	1:256	8.17 ± 0.11
~100000	2/30	1:512	8.74 ± 0.06
~1000000	1/30	1:512	7.46 ± 0.12

As shown in table 5, almost no embryos died during incubation. The highest viral build-up is seen in embryos inoculated in doses 100000 EID<sub>50</sub>. Viral hemagglutinative activity was stable 1:512.

Thus, we determined that the optimal infective doses of the A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A influenza recombinant strain for chicken embryos range from 1000 to 10000 EID<sub>50</sub>; these dosages enable the development of a virus-containing material with a high infective and hemagglutinative activity. And optimal infective doses of the A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A influenza recombinant strain for chicken embryos range 100000 EID<sub>50</sub>; these dosages enable the development of a virus-containing material with a high infective and hemagglutinative activity.

**Discussion and Conclusion.** Our study establishes optimum conditions for cultivating the A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A and A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A subtype H5 influenza virus recombinant strains in embryonated chicken eggs. Data on culturing influenza virus recombinant strains presented herein indicates that they can be used in developing subtype H5 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.

These optimum conditions are: an infective dose of 10000 EID<sub>50</sub>/0.2 cm<sup>3</sup>, an incubation temperature of 36±0.5°C, an embryo age of 10 days, an incubation time of 48 hours and a relative air humidity of 55±5% for cultivating the recombinant strain A/Sichuan/26221/2014(H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A. Using these culturing conditions allows a stable production of virus-containing materials with an infectivity level of not less than 8.45±0.24 log EID<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>, which is fully consistent with requirements for producing inactivated vaccines for avian influenza.

We identified the following optimal conditions for growing A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A recombinant strain in embryonated chicken eggs: the infective dose

100000 EID<sub>50</sub>; the embryo age 10 days; the incubation temperature 35<sup>0</sup>C, and incubation time 48 hours. These optimum conditions are helping culturing a stable production of virus-containing materials with an infectivity level of not less than 8.74±0.06 log EID<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>, which is fully consistent with requirements for producing inactivated vaccines for recombinant strain A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A.

**А. Майлыбаева<sup>1</sup>, А. С. Нурпейсова<sup>1</sup>, Н. Н. Асанжанова<sup>1</sup>, Е. М. Қожамқулов<sup>1</sup>,  
Д. А. Инкарбеков<sup>1</sup>, Р. Т. Абитаев<sup>1</sup>, К. К. Джекебеков<sup>1</sup>, С. Ш. Нурабаев<sup>1</sup>, Б. М. Хайруллин<sup>1</sup>,  
Ж. Қыдырбаев<sup>1</sup>, А. Валдовска<sup>2</sup>, М. М. Қасенов<sup>1</sup>, К. Д. Закарья<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>Латвия жаратылыстану ғылымдары және технология университеті, Елгава, Латвия

### **ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ Н5 СУБТИПІН ӨСІРУ ЖАҒДАЙЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ**

**Аннотация.** Мақалада Н5 субтипті тұмау вирусының A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A және A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A рекомбинантты штамм өсірудің оңтайлы параметрлері ұсынылған. Нәтижесінде тұмау вирусын өсірудің оңтайлы параметрлері (жұқтыру мөлшері, инкубация температурасы, инкубация мерзімі және тауық эмбриондарының жасы) анықталған.

Зерттеудің бастапқы кезеңінде, штамм паспортына сәйкес 10 тәуліктік эмбриондарға 0,2 мл көлемде 10<sup>-4</sup> есе сұйылтылған вирус жұқтырылып, 48 сағат бойы түрлі температурада және ауаның салыстырмалы ылғалдылығы 55±5% инкубацияланды. Вирусқұрамды аллантоис сұйықтығын (ВАС) жинау инфекция жұқтырылған эмбриондар салқындағаннан кейін жүргізілді және олардың инфекциялық және гемагглютиндеуші белсенділігі, сондай-ақ ВАС зарарсыздығы анықталды.

Осылайша A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A және A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A рекомбинантты штамм көрсеткіштері бойынша паспортта көрсетілген деректермен сәйкес келеді.

Рекомбинантты штамм алуда ілеспе құжатта вирус өсіру үшін тауық эмбриондарының жасы көрсетілмеген және БҚПФЗИ жағдайында эмбриондардың рекомбинантты штамм өсірудің оңтайлы жасын анықтау қажеттігі шықты. Осы мақсатта 10, 11 және 12 тәуліктік ТЭ сынақтан өткізілді. Инфекцияланған эмбриондар түрлі температура режимінде (35, 36 және 37±0,50 С) инкубацияланды. Ауаның салыстырмалы ылғалдылығы 55 ± 5 % құрады.

Зерттеу нәтижелері бойынша вирус эмбриондарға бейімделіп, инфекция жұқтырылған эмбриондар алдыңғы тәжірибедегідей инкубациялау кезінде эмбриондар өлімі тіркелмеді. Вирустың жиналу деңгейінің жоғары көрсеткіші жұқтырылған эмбриондарды 35±0,5<sup>0</sup>C және 36±0,5<sup>0</sup>C температурада инкубациялау кезінде 10 тәуліктік тауық эмбрионында байқалды және зиянсыз.

Мұнан кейін инфекция жұқтырылған эмбриондарды инкубациялаудың оңтайлы мерзімін анықтау бойынша зерттеулер жүргізілді. Зарарланған эмбриондар 48 және 72 сағат бойы инкубациялауға салынды. Ауаның салыстырмалы оңтайлы ылғалдылығы 55±5% құрады. Инкубациялау нәтижесінде гемагглютиндеуші белсенділігі 1:128 A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A рекомбинантты штаммын вирусқұрамды материалдар алынды. Осы себептен одан әрі зерттеу үшін тұмау вирусын 36<sup>0</sup>C+0,5 кезінде 48 сағат бойы инкубациялау мерзімі пайдаланылды. Ал A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A рекомбинантты штамм үшін оптималды инкубациялау мерзімі 48 сағат оңтайлы 35<sup>0</sup>C+0,5 температура режимінде гемагглютиндеуші белсенділігі 1:1024 вирусқұрамды материал алынды.

Вирустың инфекциялық белсенділігін арттыру мақсатында кейінгі тәжірибеде вирустың жұқтырушы дозаға байланысты жиналу деңгейі анықталды. Зерттеулер жалпы қабылданған өсіру параметрлерін пайдалану арқылы жүргізілді, яғни температура 36±0,50<sup>0</sup>C, ауаның салыстырмалы ылғалдылығы 55±5%, тауық эмбрионының (ТЭ) жасы 10 тәулік екені анықталды. Эмбриондар аллантоис қуысына 10-нан 100000 ЭИД<sub>50</sub>-ге дейінгі мөлшерде жұқтырылды. Инфекция жұқтырылған эмбриондарды инкубациялау барысында әрбір 3 сағат сайын овоскоптау жүргізілді, сонымен қатар эмбриондардың өлу уақыты тіркелді. Жоғары инфекциялық және гемагглютиндеуші белсенділігі бар жоғары белсенді вирусқұрамды материалды көбейтуге мүмкіндік беретін 1000-нан 10000 ЭИД<sub>50</sub>-ге дейінгі дозасы тұмау вирусының A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A ТЭ үшін тиімді жұқтырғыш дозасы болып саналады. A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A рекомбинантты штамм үшін ТЭ жұқтыру дозасы 100000 EID<sub>50</sub> болып анықталды, сонымен қатар аталмыш доза жоғары инфекциялық және гемагглютиндігі белсенді вирусқұрамды материал алуға болатындығы дәлелденді.

**Түйін сөздер:** тұмау вирусы, рекомбинанттық штамм, өсіру.

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

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

<sup>2</sup>Латвийский университет естественных наук и технологий, Елгава, Латвийская Республика

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСОВ ГРИППА СУБТИПА H5

**Аннотация.** В данной работе представлены оптимальные параметры культивирования рекомбинантных штаммов A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A и A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A вируса гриппа субтипа H5. В результате чего установлены оптимальные параметры культивирования (доза заражения, температура инкубации, срок инкубации и возраст куриных эмбрионов) вируса гриппа. На начальном этапе исследований, согласно паспортных данных штаммов, куриные эмбрионы (КЭ) 10 сут возраста были заражены вирусом в разведении  $10^{-4}$  в объеме 0,2 мл и инкубированы при различных температурах и относительной влажности воздуха  $55 \pm 5\%$  на протяжении 48 часов. Сбор вирусосодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) проводили после охлаждения инфицированных эмбрионов и определяли их инфекционную и гемагглютинирующую активность, а также стерильность ВАЖ.

Таким образом, рекомбинантные штаммы A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A и A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A по всем показателям соответствует паспортным данным.

При получении рекомбинантных штаммов в сопроводительном документе не были указаны возраст КЭ для культивирования вируса и необходимо было определить оптимальный возраст эмбрионов в условиях НИИПББ. Для этого были апробированы КЭ 10, 11 и 12 сут. возрастов. Инфицированные эмбрионы инкубировали при различных температурных режимах (35, 36 и  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ). Относительная влажность воздуха составляла  $55 \pm 5\%$ .

Согласно результатам исследования вирус адаптирован к КЭ, инфицированные эмбрионы не погибают при инкубировании как в предыдущем опыте. Более высокие показатели накопляемости вируса отмечаются при температуре инкубирования инфицированных эмбрионов  $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$  и  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  на 10 сут. КЭ и являются безвредными.

Далее были проведены исследования по определению оптимальных сроков инкубирования инфицированных КЭ. Зараженные КЭ были заложены для инкубирования на протяжении 48 и 72 часов. Относительная влажность воздуха составляла  $55 \pm 5\%$ . В результате инкубирования получены вирусосодержащие материалы с одинаковой гемагглютинирующей активностью (1:128). Поэтому для дальнейшего исследования использованы сроки инкубирования вирусов гриппа в течение 48 часов при  $36^\circ\text{C} + 0,5$  для рекомбинантного штамма A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A. А для рекомбинантного штамма A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A оптимальные сроки инкубирования 48 часов, температура инкубирования была  $35^\circ\text{C} + 0,5$ , при этом гемагглютинирующая активность составила 1:1024.

С целью повышения инфекционной активности вируса определяли уровень накопления вируса в зависимости от заражающей дозы. Исследования проводили с использованием общепринятых параметров культивирования – температура  $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , относительная влажность воздуха  $55 \pm 5\%$ , возраст КЭ 10 суток. КЭ инфицировали в аллантоисную полость в дозах от 10 до 1000000 ЭИД<sub>50</sub>. В процессе инкубирования инфицированным КЭ через каждые 3 часа проводили овоскопирование. Регистрировали время гибели КЭ. Таким образом, оптимальной заражающей дозой рекомбинантного штамма A/Sichuan/26221/2014 (H5N6)-PR8-IDCDC-RG42A вируса гриппа для КЭ является доза от 1000 до 10000 ЭИД<sub>50</sub>, а также оптимальная заражающая доза для КЭ является доза 100000 ЭИД<sub>50</sub> позволяющая наработать высокоактивный вирусосодержащий материал с высокой инфекционной и гемагглютинирующей активностью. Для получения оптимальной инфекционной дозы рекомбинантного штамма гриппа A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8)-PR8-IDCDC-RG43A для КЭ составляют доза заражения 100000 ЭИД<sub>50</sub>; Эти дозировки позволяют создать вирусосодержащий материал с высокой инфекционной и гемагглютинирующей активностью.

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

### Information about authors:

Mailybayeva A., master, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; majlybaevaigerim1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4722-0495>

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

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

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>

Abitaev Ruslan 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>

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>

Nurabayev Sergazy Sh., head of laboratory, Researcher RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; sergazy-75@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0843-1983>

Kassenov Markhabat M., Phd, Deputy General Director 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>

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

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

Zakarya K.D., Phd, Professor, Director General RSE Research Institute for Biological Safety Problems KN MES RK, Gvardeyskiy, Kazakhstan; ribsp@biosafety.kz; <https://orcid.org/0000-0003-2186-7706>

## REFERENCES

[1] 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.).

[2] Wessels U., Abdelwhab E.M., Veits J., Hoffmann D., Mamerow S., Stech O., Hellert J., Beer M., Mettenleiter T.C., Stech J. (2018) A Dual Motif in the Hemagglutinin of H5N1 Goose/Guangdong-Like Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Strains Is Conserved from Their Early Evolution and Increases both Membrane Fusion pH and Virulence // *J Virol.* 92 (17). pii: e00778-18. DOI: 10.1128/JVI.00778-18 (in Eng.).

[3] Tabynov K., Kydyrbayev Zh., Sansyzybay A., Khairullin B., Ryskeldinova Sh., Assanzhanova N., Kozhamkulov Y., Inkarbekov D. (2012) Immunogenic and protective properties of the first Kazakhstan vaccine against pandemic influenza A (H1N1) pdm09 in ferrets // *Virologica Sinica*, 27 (6): 345-352. DOI: 10.1007/s12250-012-3272-7 (in Eng.).

[4] Barnes B., Scott A., Hernandez-Jover M., Toribio J.A., Moloney B., Glass K. (2019) Modelling high pathogenic avian influenza outbreaks in the commercial poultry industry // *Theor Popul Biol.* 126: 59-71. DOI: 10.1016/j.tpb.2019.02.004 (in Eng.).

[5] Bertelsen M.F., Klausen J., Holm E., Grøndahl C., Jørgensen P.H. (2007) serological response to vaccination against avian influenza in zoo-birds using an inactivated H5N9 vaccine // *Vaccine.* 25 (22): 4345-9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.03.043 (in Eng.).

[6] Swayne D.E., Lee C.W., Spackman E. (2006) Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus // *Avian Pathol.* 35 (2): 141-6. DOI: 10.1080/03079450600597956 (in Eng.).

[7] Nurpeisova A., Kassenov M., Rametov N., Tabynov K., Volgin Ye., Sagymbay A., Makbuz A., Sansyzybay A., Khairullin B. (2019) Analysis of Efficacy of Adjuvant-based Inactivated Pandemic H5N1 Influenza Virus Vaccine // *Archives of Virology* 164 (4): 1027-1036. DOI: 10.1007/s00705-019-04147-7 (in Eng.).

[8] Nurpeisova A.S., Kydyrbayev Zh., Tabynov K.K., Valdovska A., Kozhamkulov Y.M., Inkarbekov D.A., Mailybayeva A., Jekebekov K.K., Abitayev R.T., Assanzhanova N.N., Kassenov M.M., Khairullin B.M. (2020) Optimizing conditions for culturing subtype H7 influenza viruses to update the strain composition of a commercial inactivated emulgated vaccine // *News of the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan series of agrarian sciences.* ISSN 2224-526X. Vol. 2, N 56. P. 47-53. DOI: 10.32014/2020.2224-526X.12 (in Eng.).

[9] Khalili I., Ghadimipour R., Sadigh Etteghad S., Fathi Najafi M., Ebrahimi M.M., Godsian N., Sefidi Heris Y., Khalili M.T. (2015) Evaluation of Immune Response Against Inactivated Avian Influenza (H9N2) Vaccine, by Using Chitosan Nanoparticles // *Jundishapur J Microbiol.* 8(12):e27035. DOI: 10.5812/jjm.27035 (in Eng.).

[10] 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.).

---

---

**Publication Ethics and Publication Malpractice  
in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct ([http://publicationethics.org/files/u2/New\\_Code.pdf](http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf)). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

[www.nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

ISSN 2518-1467 (Online), ISSN 1991-3494 (Print)

<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

Редакторы *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, А. Ахметова*  
Верстка на компьютере *Д. А. Абдрахимовой*

Подписано в печать 10.12.2020.  
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.  
23,6 п.л. Тираж 500. Заказ 6.