

## ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ



Научная статья

УДК 619:616.98:578.834.1:578.835.1:616-078

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2023-22-4-12-18>**Антигенная активность штамма «Рич» вируса коронавирального энтерита собак в опытах с кроликами, хорьками и морскими свинками**

А.А. Комарова , Т.С. Галкина

Федеральный центр охраны здоровья животных, г. Владимир, Российская Федерация

[komarova\\_aa@arriah.ru](mailto:komarova_aa@arriah.ru)**Аннотация**

**Введение.** Коронавирусный энтерит собак — распространенная инфекция, особенно опасная для щенков до 12 недель, содержащихся в приютах и питомниках. Возбудитель Alphacoronavirus 1 обладает высокой мутационной изменчивостью. Зарубежные источники неоднократно сообщали о выделении и изучении новых штаммов коронавиральной инфекции собак, в том числе пантропных, вызывающих системную патологию и гибель животных. В этом случае выпускаемые вакцины недостаточно эффективны. Представленное исследование призвано обосновать одно из решений проблемы. Цель работы — оценить антигенный потенциал штамма «Рич» вируса коронавирального энтерита собак с точки зрения его надежности при включении в состав ассоциированных вакцин против вирусных болезней собак.

**Материалы и методы.** В работе использовали очищенную культуральную суспензию штамма «Рич» вируса коронавирального энтерита собак с титром инфекционной активности  $4,0 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  (ТЦД — тканевые цитопатогенные дозы). Антигенные свойства изучали на лабораторных животных: кроликах, хорьках и морских свинках. Титр вируснейтрализующих антител к вирусу коронавирального энтерита собак в сыворотках крови подопытных животных определяли посредством реакции нейтрализации с рабочей дозой вируса  $100 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  в культуре клеток почки кошки. Материал получили из сектора культуры клеток Федерального центра охраны здоровья животных.

**Результаты исследования.** У изначально серонегативных к вирусу животных через 7 суток после однократного введения суспензии штамма «Рич» вируса коронавирального энтерита собак фиксируется прирост титра вируснейтрализующих антител (ВНА) к ССоV. С течением времени его уровень увеличивается и достигает максимального значения на 21-е сутки. Средний показатель в группе кроликов —  $4,08 \pm 0,36 \log_2 \text{SN}_{50}$ , хорьков —  $3,72 \pm 0,35 \log_2 \text{SN}_{50}$  и  $3,77 \pm 0,63 \log_2 \text{SN}_{50}$ , морских свинок —  $4,12 \pm 0,34 \log_2 \text{SN}_{50}$ . Затем значения титра вируснейтрализующих антител уменьшаются, однако остаются на довольно высоком уровне в течение 35 суток (время наблюдения). При этом физиологическое состояние животных не меняется.

**Обсуждение и заключение.** Итоги опытов в целом согласуются с выводами других авторов. Новые результаты получены при изучении антигенных свойств штамма на хорьках. Введенный им штамм показал выраженную антигенную активность и не вызывал общей или местной патологической ответной реакции организма. «Рич» перспективен для дальнейшего изучения и может быть включен в состав ассоциированных вакцин против вирусных болезней собак и других животных.


**Ключевые слова:** коронавирусный энтерит собак, штамм «Рич» вируса коронавирального энтерита собак, вакцины против вирусных болезней собак, титр вируснейтрализующих антител к ССоV

**Для цитирования.** Комарова А.А., Галкина Т.С. Антигенная активность штамма «Рич» вируса коронавирального энтерита собак в опытах с кроликами, хорьками и морскими свинками. *Ветеринарная патология*. 2023;22(4):12–18. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2023-22-4-12-18>

## Antigenic Activity of Canine Enteric Coronavirus Strain "Rich" in Experiments with Rabbits, Ferrets and Guinea Pigs

Anna A. Komarova  , Tatyana S. Galkina 

Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russian Federation

 [komarova\\_aa@arriah.ru](mailto:komarova_aa@arriah.ru)

### Abstract

**Introduction.** Canine enteric coronavirus is a widespread infection, especially dangerous for the puppies of up to 12 weeks old kept in shelters and breeding kennels. The causative agent Alphacoronavirus 1 has a high mutational variability. Foreign sources have repeatedly reported on the isolation and study of the new strains of canine coronavirus infection, including the pantropic ones, causing systemic pathology and death of animals. In this regard, the currently produced vaccines are not effective enough. The present research is intended to substantiate one of the solutions to the problem. The aim of the work is to evaluate the antigenic potential of the canine enteric coronavirus strain "Rich" in terms of its reliability for being included in the combined vaccines against canine viral diseases.

**Materials and Methods.** A purified suspension culture of the canine enteric coronavirus strain "Rich" with the infectivity titers  $4.0 \pm 0.25 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$  (TCID — Tissue Culture Infectious Dose) was used in the work. Antigenic properties were studied in laboratory animals: rabbits, ferrets and guinea pigs. The virus neutralising antibody titers for the canine enteric coronavirus in the blood serum of the experimental animals was determined by a neutralisation test using the "standard" viral dose of  $100 \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$  in the feline kidney cell culture. The material for the test was obtained from the Cell Culture Bank of the Federal Centre for Animal Health.

**Results.** In animals initially seronegative to the virus, an increase in the CCoV virus-neutralising antibodies (VNA) titers has been recorded 7 days after a single injection of the suspension of the canine enteric coronavirus strain "Rich". Over the time, the level has been increasing and has reached its maximum value on the 21st day. The mean value in the group of rabbits has been  $4.08 \pm 0.36 \log_2 \text{SN}_{50}$ , ferrets —  $3.72 \pm 0.35 \log_2 \text{SN}_{50}$  and  $3.77 \pm 0.63 \log_2 \text{SN}_{50}$ , guinea pigs —  $4.12 \pm 0.34 \log_2 \text{SN}_{50}$ . Then the values of the virus neutralising antibody titers have decreased, but remained at a fairly high level for 35 days (observation time). At the same time, the physiological state of the animals has not changed.

**Discussion and Conclusion.** In general, the results of the experiments are consistent with the conclusions of the other authors. New data has been obtained by studying the antigenic properties of the strain in ferrets. The strain injected into them has demonstrated the clearly expressed antigenic activity and did not cause a general or local pathological response of the body. The "Rich" is promising for further study and can be included in the combined vaccines against canine and other animal viral diseases.

**Keywords:** canine enteric coronavirus, canine enteric coronavirus strain "Rich", vaccines against canine viral diseases, CCoV virus neutralising antibody titers

**For citation.** Komarova AA, Galkina TS. Antigenic Activity of Canine Enteric Coronavirus Strain "Rich" in Experiments with Rabbits, Ferrets and Guinea Pigs. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2023;22(4):12–18. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2023-22-4-12-18>

**Введение.** Согласно классификации Международного комитета по таксономии вирусов, возбудитель коронавирусного энтерита собак принадлежит к семейству Coronaviridae, роду Alphacoronavirus, виду Alphacoronavirus 1 (CCoV — Canine coronavirus). Заболевание поражает в основном щенков в возрасте до 12 недель [1]. Первоначально считалось, что коронавирусный энтерит собак сопровождается симптомами гастроэнтерита легкой или умеренной степени и требует ветеринарного вмешательства только в случаях развития сочетанной инфекции [2–4]. Однако с момента открытия в 1971 году возбудитель генетически значительно изменился. Неоднократно выявлялись высоковирулентные штаммы CCoV, ставшие причиной летального исхода [5–7]. Международная ветеринарная ассоциация мелких животных не рекомендует вакцинацию против коронавирусного энтерита собак, однако большое количество исследований подтверждает, что тропизм CCoV меняется, вирулентность растет. Как следствие, часто возникает необходимость специфической профилактики данного заболевания, особенно

среди собак, проживающих в приютах и питомниках, где высок риск заражения [8–11]. Существующие вакцины показали ограниченную эффективность против пантропных (поражающих несколько систем организма) штаммов коронавируса собак. Этим обусловлена актуальность разработки более совершенных средств специфической профилактики данного заболевания.

Цель работы — оценить экспериментальным путем антигенный потенциал штамма «Рич» вируса коронавирусного энтерита собак с точки зрения перспективности его включения в состав ассоциированных вакцин против вирусных болезней собак.

### Материалы и методы

**Вирус.** В исследованиях использовали штамм «Рич» вируса коронавирусного энтерита собак (CCoV). Его выделили в 2021 году из материала, полученного от щенка с симптомами энтерита, погибшего во Владимирской областной общественной организации «Центр животных "Валента"». Последовательными пассажами штамм «Рич» адаптировали к репродукции в перевиваемой культуре клеток почки кошки. В исследованиях ис-

пользовали вирус 4-го пассажа с титром инфекционной активности  $4 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Для осаждения клеточного детрита его 30 мин прокручивали в центрифуге при скорости 4000 об./мин.

**Титрование вируса.** Титр инфекционной активности определяли общепринятым методом в культуре клеток почки кошки, выращенной в 96-луночных планшетах «Костар» (Costar)<sup>1</sup>. Планшеты ежедневно просматривали под микроскопом, отмечая количество лунок с характерным цитопатическим действием (ЦПД) вируса (рис. 1, 2). Титр вируса рассчитывали по методу Кербера и выражали в  $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ .

**Животные.** Для изучения антигенных свойств штамма «Рич» ССоV использовали кроликов (*Oryctolagus cuniculus*) массой 2,5–3 кг, хорьков (*Mustela putorius furo*) весом 1,5 кг и морских свинок (*Cavia porcellus*) весом 300–400 г. Во время исследований их изолированно содержали в виварии Федерального центра охраны здоровья животных.

Эксперименты проводились в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и ГОСТом 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Кроме того, соблюдались требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2012 по охране животных, используемых в научных целях.

**Схема опыта.** Для изучения антигенных свойств ССоV сформировали две группы кроликов по 4 особи в каждой (опытная и контрольная группы), три группы хорьков по 5 особей (две опытные и контрольная) и две группы морских свинок по 10 особей (опытная и контрольная). Кроликам вирусосодержащий материал (ВСМ) вводили внутримышечно в среднюю часть бедра, хорькам — внутримышечно в среднюю часть бедра (группа № 1) и подкожно в область холки (группа № 2), морским свинкам — подкожно в область холки. Объем введенного ВСМ — 1,0 см<sup>3</sup>. Титр ВНА к антигену вируса коронавирусного энтерита собак в сыворотках крови подопытных животных определяли до введения ВСМ и после — на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е и 35-е сутки в реакции нейтрализации (РН) в культуре клеток почки кошки.

Клиническое состояние животных оценивали ежедневно в течение 35 суток. Оценивалось общее состояние (аппетит, частота дефекации, двигательная активность). Изменялись основные физиологические показатели (температура, частота дыхания и сердечных сокращений).

**Титрование исследуемых сывороток.** Титр антител в сыворотках крови исследуемых животных определяли в РН микрометодом. Использовали перемываемую культуру клеток почки кошки, выращенную в 96-луночном планшете Costar с рабочей дозой вируса 100  $\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Сыворотки предвари-



Рис. 1. Интактный монослой клеток почки кошки. Увеличение 4×

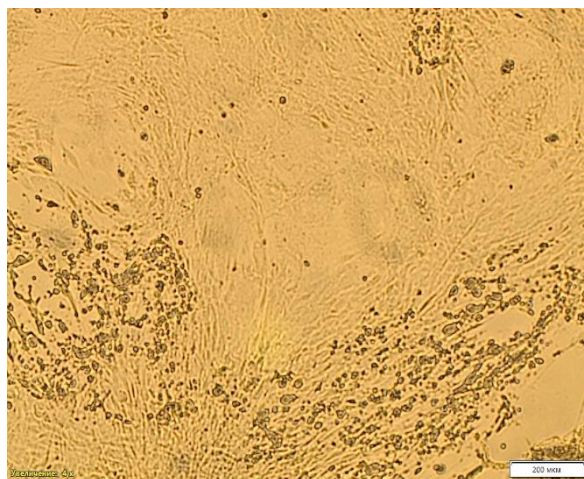


Рис. 2. Цитопатическое действие ССоV в монослое клеток почки кошки через 44 ч после инокуляции вируса. Увеличение 4×

<sup>1</sup> Фирма «Корнинг» (Corning, США).

тельно прогревали на водяной бане при температуре 56 °С в течение 30–40 мин. Затем их последовательно двукратно разводили и вносили рабочую дозу вирусной суспензии. Для взаимодействия вируснейтрализующих антител испытуемой сыворотки с вирусом планшет помещали на час в инкубатор с содержанием углекислого газа 5 % и температурой  $37,0 \pm 0,5$  °С. Затем в полученный материал вносили клеточную суспензию с посевной концентрацией 300 тыс. кл./см<sup>3</sup>, а планшет вновь помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор при температуре  $37,0 \pm 0,5$  °С. Культуру клеток ежедневно просматривали под инвертированным микроскопом. Титр антител рассчитывали по методу Кербера.

**Статистическая обработка результатов.** Для статистической обработки результатов определяли среднее арифметическое и стандартное отклонение. Для обработки результатов и построения графиков использовали программу Microsoft Office Excel.

**Результаты исследования.** До введения антигена ССoV кролики опытной и контрольной групп были серонегативны к вирусу коронавирусного энтерита собак. Через 7 суток после введения ВСМ наблюдался прирост титра ВНА к ССoV. Среднее значение по группе —  $1,85 \pm 0,11 \log_2 SN_{50}$ . Через 14 суток титр ВНА к ССoV увеличился до  $3,29 \pm 0,52 \log_2 SN_{50}$ . Максимального значения ( $4,08 \pm 0,36 \log_2 SN_{50}$ ) он достиг на 21-е сутки (рис. 3).

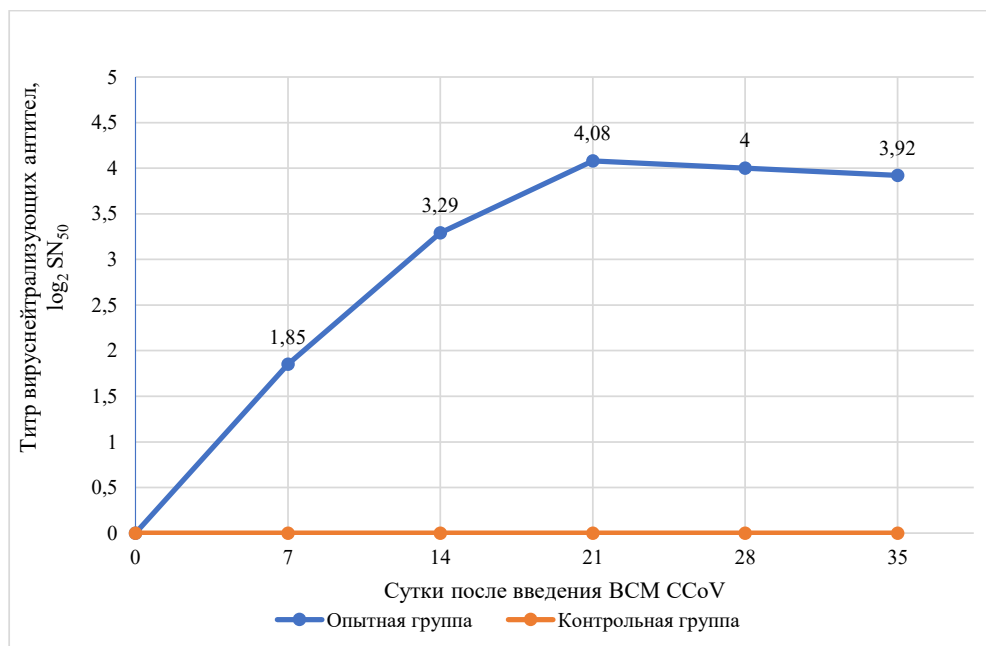


Рис. 3. Вируснейтрализующая активность сывороток крови кроликов

Как видно из рис. 3, при исследовании сывороток крови кроликов в РН на 28–35-е сутки не было прироста титра ВНА к вирусу коронавирусного энтерита собак. В контрольной группе в течение всего исследования антитела к ССoV в сыворотках крови кроликов отсутствовали. В обеих группах (опытной и контрольной) не регистрировали изменений в физиологическом состоянии животных.

У подопытных хорьков (включая контрольную группу) до введения ВСМ уровень ВНА к ССoV не превышал  $1,5 \log_2 SN_{50}$ . На 7-е и 14-е сутки после иммунизации наблюдался прирост ВНА. Максимальное значение титра антител регистрировали на 21-е сутки. Он составил в среднем  $3,72 \pm 0,35 \log_2 SN_{50}$  (для 1-й группы) и  $3,77 \pm 0,63 \log_2 SN_{50}$  (для 2-й). На 28-е сутки значение титра ВНА к ССoV существенно не изменилось. Через 35 суток титр снизился в среднем на  $0,5 \log_2 SN_{50}$  в обеих опытных группах (рис. 4).

Как показали опыты, способ введения вируссодержащего материала (внутримышечно или подкожно) существенно не влияет на уровень ВНА. В контрольной группе животных не отмечается прирост титра ВНА к ССoV. Основные физиологические показатели и клиническое состояние животных опытных и контрольных групп оставались в пределах нормы.

До введения вирусного материала ССoV все морские свинки опытной и контрольной групп были серо-

негативны к данному вирусу. На 7-е сутки после введения вирусного материала в опытной группе наблюдался прирост титра ВНА к ССoV более чем на  $2 \log_2 SN_{50}$ . Увеличение титра ВНА к ССoV отмечалось также на 14-е и 21-е сутки. Средние по группе значения титра составили  $3,58 \pm 0,30 \log_2 SN_{50}$  и  $4,12 \pm 0,34 \log_2 SN_{50}$  соответственно. На 28-е и 35-е сутки после введения ВСМ титр ВНА к ССoV не повышался (рис. 5).

Во время эксперимента животные контрольной группы оставались серонегативны к ССoV. Общее клиническое состояние и основные физиологические показатели особей в опытной и контрольной группах не отличались от физиологической нормы.

Итоги опыта на морских свинках в целом соотносятся с исследованиями А.А. Ольшанской [12]. Автор отметила самые высокие титры в сыворотках крови морских свинок на 21-е сутки опыта —  $1:16$ – $1:32$  в РН ( $4$ – $5 \log_2$ ). На 21-е сутки фиксировался наиболее высокий титр ВНА в сыворотках крови кроликов —  $1:32$ – $1:64$  ( $5$ – $6 \log_2$ ). Значения несколько выше, чем в представленном исследовании. Это можно объяснить другими способами введения ВСМ (внутривенное и внутрибрюшинное) и более высоким титром вируса ( $6,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ).

Результаты, полученные при изучении антигенных свойств штамма «Рич» ССoV на хорьках, демонстрируют научную новизну. В зарубежной и отечественной

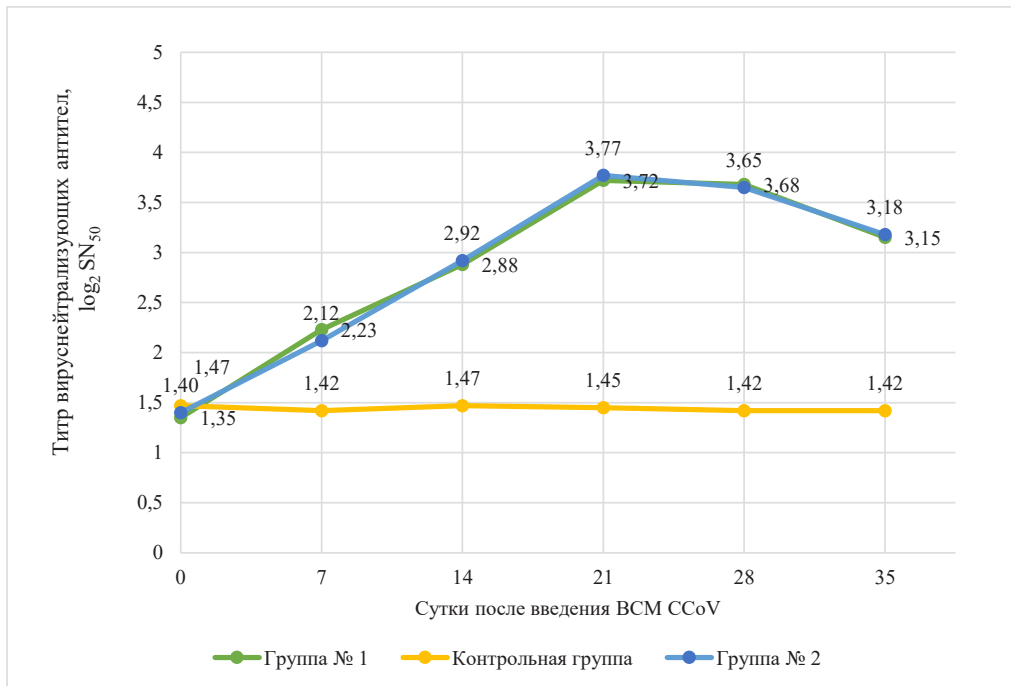


Рис. 4. Вируснейтрализующая активность сывороток крови хорьков

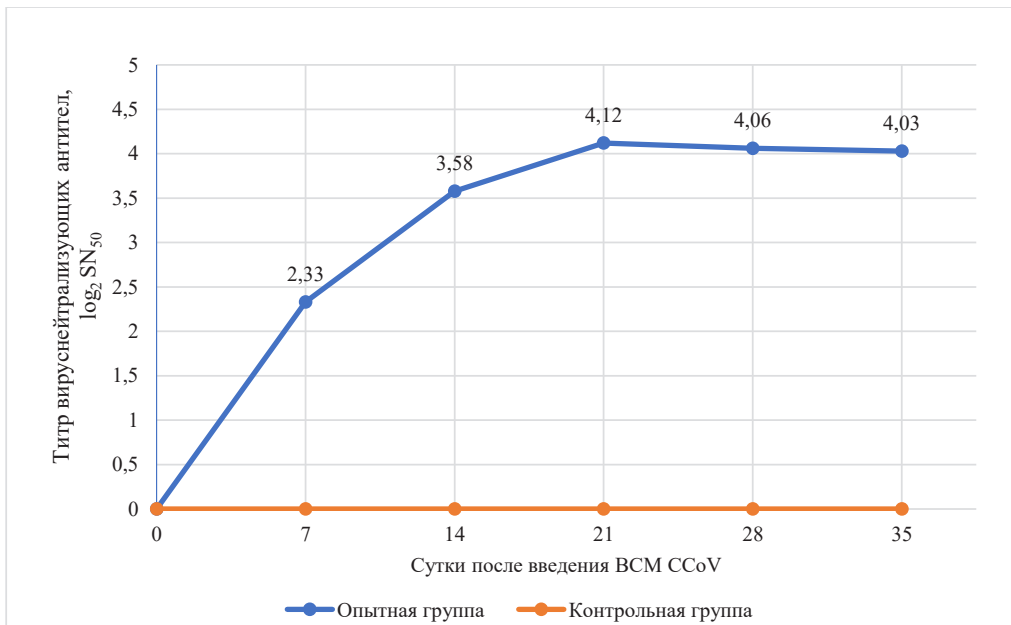


Рис. 5. Вируснейтрализующая активность сывороток крови морских свинок

литературе нет аналогичных публикаций, поэтому итоги этих экспериментов невозможно соотнести с исследованиями других авторов.

**Обсуждение и заключение.** Исследованы антигенные свойства штамма «Рич» вируса коронавирусного энтерита собак (ССoV) на трех видах лабораторных животных: кроликах, хорьках и морских свинках. Установлено, что при подкожном или внутримышечном введении данный штамм не вызывает местной или общей патологической ответной реакции организма. Через 7 суток после введения антигена образуются ВНА,

определяемые в РН. Максимального уровня титр ВНА к ССoV в сыворотках крови достигал на 21-е сутки после введения ВСМ. Через 28–35 суток он оставался на прежнем уровне у кроликов и морских свинок. У хорьков на 35-е сутки снижался в среднем на 0,5 log<sub>2</sub> SN<sub>50</sub>. Таким образом, выраженная антигенная активность и хорошая переносимость штамма «Рич» при подкожном и внутримышечном введении позволяют рекомендовать его для включения в состав ассоциированных вакцин против вирусных болезней собак.

#### Список литературы

1. Evermann J.F., Abbott J.R., Han S. Canine Coronavirus-Associated Puppy Mortality without Evidence of Concurrent Canine Parvovirus Infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2005;17(6):610–614. <https://doi.org/10.1177/104063870501700618>

2. Pratelli A., Tempesta M., Roperto F.P., Sagazio P., Carmichael L., Buonavoglia C. Fatal Coronavirus Infection in Puppies Following Canine Parvovirus 2b Infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1999;11(6):550–553. <https://doi.org/10.1177/104063879901100615>
3. Decaro N., Buonavoglia C. An Update on Canine Coronaviruses: Viral Evolution and Pathobiology. *Veterinary Microbiology*. 2008;132(3–4):221–234. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.06.007>
4. Decaro N., Camero M., Greco G., Zizzo N., Tinelli A., Campolo M, et al. Canine Distemper and Related Diseases: Report of a Severe Outbreak in a Kennel. *New Microbiologica*. 2004;27(2):177–181.
5. Sanchez-Morgado J.M., Poynter S., Morris T.H. Molecular Characterization of a Virulent Canine Coronavirus BGF Strain. *Virus Research*. 2004;104(1):27–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.02.038>
6. Escutenaire S., Isaksson M., Renström L.H., Klingeborn B., Buonavoglia C., Berg M., et al. Characterization of Divergent and Atypical Canine Coronaviruses from Sweden. *Archives of Virology*. 2007;152(8):1507–1514. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-0986-1>
7. Buonavoglia C., Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., et al. Canine Coronavirus Highly Pathogenic for Dogs. *Emerging Infectious Diseases*. 2006;12(3):492–494. <https://doi.org/10.3201/eid1203.050839>
8. Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., Cirone F., et al. Molecular Characterisation of the Virulent Canine Coronavirus CB/05 Strain. *Virus Research*. 2007;125(1):54–60. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.12.006>
9. Pratelli A., Elia G., Martella V., Tinelli A., Decaro N., Marsilio F., et al. M Gene Evolution of Canine Coronavirus in Naturally Infected Dogs. *Veterinary Record*. 2002;151(25):758–761.
10. Licitra B.N., Duhamel G.E., Whittaker G.R. Canine Enteric Coronaviruses: Emerging Viral Pathogens with Distinct Recombinant Spike Proteins. *Viruses*. 2014;6(8):3363–3376. <https://doi.org/10.3390/v6083363>
11. Pratelli A. High-cell-passage canine coronavirus vaccine providing sterilising immunity. *Journal of Small Animal Practice*. 2007;48(10):574–578. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00416.x>
12. Ольшанская А. А. Биологические свойства и диагностика коронавирусного энтерита собак. Автореф. дис. канд. биол. наук. Москва; 1997. 28 с.

## References

1. Evermann JF, Abbott JR, Han S. Canine Coronavirus-Associated Puppy Mortality without Evidence of Concurrent Canine Parvovirus Infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2005;17(6):610–614. <https://doi.org/10.1177/104063870501700618>
2. Pratelli A, Tempesta M, Roperto FP, Sagazio P, Carmichael L, Buonavoglia C. Fatal Coronavirus Infection in Puppies Following Canine Parvovirus 2b Infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1999;11(6):550–553. <https://doi.org/10.1177/104063879901100615>
3. Decaro N, Buonavoglia C. An Update on Canine Coronaviruses: Viral Evolution and Pathobiology. *Veterinary Microbiology*. 2008;132(3–4):221–234. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.06.007>
4. Decaro N, Camero M, Greco G, Zizzo N, Tinelli A, Campolo M, et al. Canine Distemper and Related Diseases: Report of a Severe Outbreak in a Kennel. *New Microbiologica*. 2004;27(2):177–181.
5. Sanchez-Morgado JM, Poynter S, Morris TH. Molecular Characterization of a Virulent Canine Coronavirus BGF Strain. *Virus Research*. 2004;104(1):27–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.02.038>
6. Escutenaire S, Isaksson M, Renström LH, Klingeborn B, Buonavoglia C, Berg M, et al. Characterization of Divergent and Atypical Canine Coronaviruses from Sweden. *Archives of Virology*. 2007;152(8):1507–1514. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-0986-1>
7. Buonavoglia C, Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Desario C, et al. Canine Coronavirus Highly Pathogenic for Dogs. *Emerging Infectious Diseases*. 2006;12(3):492–494. <https://doi.org/10.3201/eid1203.050839>
8. Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Desario C, Cirone F, et al. Molecular Characterisation of the Virulent Canine Coronavirus CB/05 Strain. *Virus Research*. 2007;125(1):54–60. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.12.006>
9. Pratelli A, Elia G, Martella V, Tinelli A, Decaro N, Marsilio F, et al. M Gene Evolution of Canine Coronavirus in Naturally Infected Dogs. *Veterinary Record*. 2002;151(25):758–761.
10. Licitra BN, Duhamel GE, Whittaker GR. Canine Enteric Coronaviruses: Emerging Viral Pathogens with Distinct Recombinant Spike Proteins. *Viruses*. 2014;6(8):3363–3376. <https://doi.org/10.3390/v6083363>
11. Pratelli A. High-Cell-Passage Canine Coronavirus Vaccine Providing Sterilising Immunity. *Journal of Small Animal Practice*. 2007;48(10):574–578. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00416.x>
12. Olshanskaya AA. *Biological Properties and Diagnosis of Canine Coronavirus Enteritis*. Extended Abstract of Cand.Sci. (Biology) Dissertation. Moscow; 1997. 28 p. (In Russ.).

Поступила в редакцию 28.09.2023

Поступила после рецензирования 24.10.2023

Принята к публикации 27.10.2023

Об авторах:

**Комарова Анна Александровна**, аспирант, ведущий ветеринарный врач отдела профилактики болезней мелких домашних животных Федерального центра охраны здоровья животных (600901, РФ, г. Владимир, микрорайон Юрьевец), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1234), [komarova\\_aa@arriah.ru](mailto:komarova_aa@arriah.ru)

**Галкина Татьяна Сергеевна**, кандидат ветеринарных наук, заведующий отделом профилактики болезней мелких домашних животных Федерального центра охраны здоровья животных (600901, РФ, г. Владимир, микрорайон Юрьевец), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1234), [galkina\\_ts@arriah.ru](mailto:galkina_ts@arriah.ru)

*Заявленный вклад соавторов*

А.А. Комарова — проведение расчетов, подготовка текста, формулирование выводов.

Т.С. Галкина — научное руководство, консультативная помощь, корректировка текста и выводов.

*Конфликт интересов:* авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

**Received** 28.09.2023

**Revised** 24.10.2023

**Accepted** 27.10.2023

*About the Authors:*

**Anna A. Komarova**, PhD Student, Leading Veterinarian of the Small Companion Animal Diseases Prevention Department, Federal State-Financed Institution “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”) (Microdistrict Yuryevets, Vladimir, 600901, RF), [ORCID](#), [komarova\\_aa@arriah.ru](mailto:komarova_aa@arriah.ru)

**Tatyana S. Galkina**, Cand.Sci. (Veterinary Medicine), Head of the Small Companion Animal Diseases Prevention Department, Federal State-Financed Institution “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”) (Microdistrict Yuryevets, Vladimir, 600901, RF), [ORCID](#), [galkina\\_ts@arriah.ru](mailto:galkina_ts@arriah.ru)

*Claimed contributorship:*

AA Komarova: carrying out calculations, preparing the text, formulating the conclusions.

TS Galkina: scientific supervision, advisory assistance, correcting the text and conclusions.

*Conflict of interest statement:* the authors do not have any conflict of interest.

*All authors have read and approved the final manuscript.*