

Ветеринария

УДК 636.2:619:615.246

doi: 10.15389/agrobiology.2024.2.355rus

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ПРОТОСТОП ПРИ ДИАРЕЯХ
СМЕШАННОЙ ПАЗАРИТАРНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ
У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА****С.В. ЕНГАШЕВ¹ ✉, Л.М. БЕЛОВА², Н.А. ГАВРИЛОВА², А.В. ЗАБРОВСКАЯ²,
Л.И. СМЕРНОВА², Е.С. ЕНГАШЕВА¹, Ю.А. ДЬЯЧКОВА²**

При выращивании крупного рогатого скота серьезной проблемой остаются болезни желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) молодняка с диарейным синдромом, распространенные практически повсеместно и охватывающие большую часть поголовья. Достаточно часто диагностируют болезни ЖКТ телят паразитарно-бактериальной, паразитарно-вирусной этиологии, в том числе комбинации *Cryptosporidium* spp. с *Escherichia coli*, энтеробактериями родов *Salmonella*, *Klebsiella*. В таких случаях оптимально использование препаратов широкого спектра, обладающих антимикробным и противопротозойным действием. В настоящей работе впервые показано воздействие препарата, содержащего паромомицина сульфат, на возбудителей болезней ЖКТ телят как паразитарного, так и бактериального происхождения. Установлена минимальная ингибирующая концентрация (МИК) сульфата паромомицина для возбудителей болезней ЖКТ телят бактериальной этиологии: *Salmonella* Dublin, *Escherichia coli* с гемолитическими свойствами, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*. Нашей целью было изучение терапевтической эффективности препарата Протостоп (д.в. сульфат паромомицина) при болезнях желудочно-кишечного тракта с диарейным синдромом у телят. Исследования проводили в июле-августе 2021 года (животноводческий комплекс, Ленинградская обл., Ломоносовский р-н) на молодняке крупного рогатого скота (*Bos taurus*) черно-перстной породы в возрасте до 5 мес (масса от 30 до 50 кг). Из прямой кишки телят с клиническими признаками нарушения функции ЖКТ брали пробы фекалий (20-40 г). Для обнаружения ооцист *Cryptosporidium* spp. готовили мазки на предметном стекле, которые окрашивали с использованием набора реагентов Диахим-Набор для окрашивания по Цилю-Нильсену (НПФ «Абрис+», Россия) и исследовали (микроскоп Primo Star, «Carl Zeiss», Германия). Для установления количественного и видового состава энтеробактерий 10-кратные разведения фекалий в физиологическом растворе высевали по 0,05 мл на питательную среду Эндо (ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия). Для оценки терапевтической эффективности препарата Протостоп (порошок, в 1 г препарата содержится 100 мг сульфата паромомицина; ООО «НВЦ Агроветзащита», Россия) отбирали животных, в фекалиях которых были обнаружены ооцисты *Cryptosporidium* spp., штаммы гемолитической *E. coli* и условно-патогенных микроорганизмов. Сформировали 5 групп животных по 10 гол. в каждой. Телятам из 1-4-й групп (опыт) давали препарат Протостоп индивидуально перорально один раз в сутки. Перед применением разовую дозу препарата растворяли в воде, добавляя жидкость к порошку. Животные из 1-й группы получали препарат в дозе 250 мг/кг массы животного в течение 3 сут, телятам из 2-й группы давали препарат в той же дозе в течение 5 сут. Животные в 3-й и 4-й группах получали Протостоп в дозе 350 мг/кг массы соответственно в течение 3 и 5 сут. Телятам из контрольной группы была проведена терапия препаратом-аналогом (Парофор 70, порошок, в 1,0 г препарата содержится 100,0 мг сульфата паромомицина; «Biovit AD», Болгария). Препарат применяли в дозе 350 мг/кг массы тела перорально 1 раз в сутки в течение 5 сут. При клиническом осмотре на 3-и, 5-е, 10-е и 14-е сут от начала приема препаратов оценивали общее состояние животных, потребление ими воды и корма, изменения функции ЖКТ, состояние слизистых оболочек и шерстного покрова. Копрологические исследования на наличие ооцист *Cryptosporidium* spp. проводили на 8-е и 12-е сут лечения, бактериологические — на 10-е сут после окончания лечения. Состояние животных всех групп оценивали на основании общего анализа крови. МИК сульфата паромомицина — действующего вещества препарата Протостоп определяли методом серийных разведений согласно ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. Штаммы, для которых МИК сульфата паромомицина не превышала 4 мкг/мл, относили к чувствительным, выше 4 мкг/мл — к резистентным. При паразитологическом исследовании в фекалиях телят в поле зрения микроскопа находилось более 25 ооцист *Cryptosporidium* spp., что свидетельствует о высокой интенсивности инвазии. При бактериологическом исследовании были обнаружены штаммы *Escherichia coli*, обладающие гемолитической активностью, и другие штаммы условно-патогенной микрофлоры. После использования препарата у всех телят подопытных групп отмечалось значительное улучшение общего состояния: животные стали более активными, диарея прекратилась, фекальные массы приобрели кашецеобразную консистенцию, характерную для фекалий крупного рогатого скота. Препарат Протостоп в дозе 350 мг/кг массы животного, применяемый перорально с водой 1 раз в сутки в течение 5 сут, имел выраженное терапевтическое действие. Через 8 сут после начала лечения по указанной схеме в фекалиях отсутствовали ооцисты *Cryptosporidium* spp., через 10 сут после окончания лечения штаммы гемолитической *Escherichia*

coli и других условно-патогенных энтеробактерий отсутствовали в разведении фекалий 1:10. Терапевтическая эффективность препарата Протостоп при использованных дозировке и длительности применения была выше эффективности препарата Парофор 70 в дозе 350 мг/кг. МИК сульфата паромомицина для штаммов *Salmonella* Dublin и *Citrobacter freundii* составила 2 мкг/мл, что позволяет отнести их к микробиологически чувствительным к этому препарату. Остальные штаммы были микробиологически устойчивыми: для гемолитической *Escherichia coli* МИК составила от 128 до более 256 мкг/мл, для *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* — более 256 мкг/мл.

Ключевые слова: паромомицин, криптоспоридиоз, минимальная ингибирующая концентрация, *Escherichia coli*, телята, болезни желудочно-кишечного тракта.

В условиях промышленного животноводства болезни желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с диарейным синдромом у молодняка крупного рогатого скота (КРС) широко распространены и причиняют значительный экономический ущерб из-за падежа, низких приростов массы животных и затрат на лечение (1-4). По многочисленным данным, основными этиологическими факторами диареи телят в первые 3 нед жизни становятся *Cryptosporidium* spp., ротавирусы, коронавирусы и *Escherichia coli*. Достаточно часто отмечают болезни ЖКТ телят смешанной паразитарно-бактериальной и паразитарно-вирусной этиологии (5-8), варианты комбинаций этиологических агентов имеют региональные особенности (9-11). Одна из наиболее часто встречающихся ассоциаций — сочетание инвазии *Cryptosporidium* spp. с инфицированием штаммами *E. coli*, на которое приходится от 12 до 27,8 % случаев диареи телят (12-14). Отмечены и другие ассоциации *Cryptosporidium* spp. — с вирусами, гиардиями, *Klebsiella* spp. (11, 15, 16). Описана коинфекция *Cryptosporidium* spp. и *Salmonella* spp., которая была выявлена в 0,5-40 % случаев (17, 18). Взаимоотношения между компонентами паразитарно-бактериальной системы еще недостаточно изучены, однако есть данные, что коинфекция может утяжелять течение диареи (19, 20).

Распространение диареи молодняка КРС смешанной этиологии также создает угрозу для здоровья людей. По мнению ряда авторов, молодняк жвачных служит резервуаром штаммов *E. coli*, патогенных для человека (11, 15). Доказано, что КРС может быть источником возбудителя криптоспоридиоза для людей, что особенно актуально для детей до 5-летнего возраста и взрослых с ослабленной иммунной системой, особенно ВИЧ-инфицированных (19, 21).

Лечение животных с инфекциями смешанной этиологии затратно и затруднительно (22, 23). Для лечения молодняка КРС оптимально применение препаратов широкого спектра, действующих одновременно на простейших и микроорганизмы (24-26). Один из побочных эффектов применения химиопрепаратов для терапии животных при инфекционных и инвазионных болезнях — развитие лекарственной резистентности. Ко многим химиопрепаратам, применяющимся в ветеринарии и медицине, вырабатывается устойчивость, поэтому выбор эффективных средств становится весьма проблематичным (27). В связи с этим в последние годы активно рассматривается вопрос о возвращении к антибиотикам, вышедшим из применения много лет назад, генетические детерминанты устойчивости к которым элиминировали из популяции микроорганизмов (28, 29).

К таким антибиотикам относятся аминогликозиды, включая сульфат паромомицина (син. аминозидин), обладающие антибактериальным действием в отношении штаммов *E. coli*, *Salmonella* spp. и других микроорганизмов, заселяющих ЖКТ человека и животных (8, 24, 30). Аминогликозиды оказывают бактерицидное действие, которое связано с нарушением синтеза белка за счет блокирования субъединицы 30S рибосом (31). Степень антибактериальной активности аминогликозидов зависит от их максимальной

(пиковой) концентрации в сыворотке крови. При совместном использовании с пенициллинами или цефалоспоридами наблюдается синергизм в отношении некоторых грамотрицательных и грамположительных аэробных микроорганизмов (31). Механизм противопротозойного действия паромомицина изучен недостаточно, при этом он служит одним из оптимальных препаратов для лечения животных с диарейным синдромом. Так же, как и другие препараты из группы аминогликозидов, паромомицин плохо всасывается из ЖКТ и большей частью выводится из организма с фекалиями. Препараты, содержащие паромомицин, применяют в странах Евросоюза в ветеринарии и в медицине при болезнях, вызванных простейшими (*Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp.) и полирезистентными микроорганизмами (24, 32, 33).

В настоящей работе впервые показано воздействие препарата, содержащего сульфат паромомицина, на возбудителей болезней ЖКТ телят как паразитарного, так и бактериального происхождения. Установлена минимальная ингибирующая концентрация сульфата паромомицина для возбудителей болезней ЖКТ телят бактериальной этиологии: *Salmonella* Dublin, *Escherichia coli* с гемолитическими свойствами, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*.

Нашей целью было изучение терапевтической эффективности препарата Протостоп (д.в. сульфат паромомицина) при болезнях желудочно-кишечного тракта с диарейным синдромом у телят.

Методика. Исследования проводили на молодняке крупного рогатого скота (*Bos taurus*) черно-перстной породы в возрасте до 5 мес с массой от 30 до 50 кг (животноводческий комплекс, Ленинградская обл., Ломоносовский р-н, июль-август 2021 года).

Из прямой кишки телят с клиническими признаками нарушения функции ЖКТ (водянистые фекалии со слизью, угнетенное состояние, дегидратация и кахексия) стерильной перчаткой брали пробы фекалий массой 20-40 г, которые помещали в стерильные контейнеры, этикетировали и доставляли в лабораторию в изотермической таре при +2-6 °С. Паразитологическое и бактериологическое исследования проводили на дату взятия проб.

Для обнаружения ооцист *Cryptosporidium* spp. готовили мазки фекалий на предметном стекле (34), окрашивали их с использованием набора реагентов Диахим-Набор для окраски по Цилю-Нильсену (НПФ «Абрис+», Россия) согласно инструкции производителя и исследовали при увеличении 10×40 и 10×100 (микроскоп Primo Star, «Carl Zeiss», Германия). Интенсивность инвазии (ИИ) оценивали следующим образом: +++ — высокая (более 25 ооцист в поле зрения), ++ — средняя (до 25 ооцист в поле зрения), + — низкая (1-3 ооцисты в поле зрения), ± — одна ооциста в поле зрения при просмотре нескольких полей, — — отсутствие ооцист *Cryptosporidium* spp. (35).

Для установления количественного и видового состава энтеробактерий по 0,05 мл 10-кратные разведения фекалий в физиологическом растворе высевали на питательную среду Эндо (ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия). Посевы инкубировали при 37±2 °С в течение 18-24 ч. Выросшие колонии микроорганизмов подсчитывали и идентифицировали до вида, используя биохимические тесты ДИС-ДИФ-ЭНТЕРО-24 и Пластина биохимическая, дифференцирующая энтеробактерий (ПБДЭ) (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия) согласно инструкции производителя. Гемолитическую активность *E. coli* изучали посевом 10-кратных разведений фекалий телят в физиологическом растворе на коммерческом колумбийском агаре с бараньей кровью (ООО «Биомедиа», Россия) (36).

Для оценки терапевтической эффективности препарата Протостоп (порошок, в 1 г препарата содержится 100 мг сульфата паромомицина, вспомогательное вещество — моногидрат лактозы; ООО «НВЦ Агроветзащита», Россия) отбирали животных, в фекалиях которых были обнаружены ооцисты *Cryptosporidium* spp., штаммы гемолитической *E. coli* и условно-патогенных микроорганизмов. Сформировали 5 групп животных по 10 гол. в каждой. Телятам из 1-4-й групп (опыт) давали препарат Протостоп индивидуально перорально 1 раз в сутки. Перед применением разовую дозу препарата растворяли в воде, добавляя жидкость к порошку. Животные из 1-й группы получали препарат в дозе 250 мг/кг массы животного в течение 3 сут, телятам из 2-й группы давали препарат в той же дозе в течение 5 сут. Животные в 3-й и 4-й группах получали Протостоп в дозе 350 мг/кг массы соответственно в течение 3 и 5 сут. Телятам из контрольной группы была проведена терапия препаратом-аналогом (Парофор 70, порошок, в 1,0 г препарата содержится 100,0 мг сульфата паромомицина, вспомогательные компоненты — диоксид кремния коллоидный безводный и моногидрат глюкозы, «Biovet AD», Болгария). Препарат применяли в дозе 350 мг/кг массы тела перорально 1 раз в сутки в течение 5 сут.

При клиническом осмотре на 3-и, 5-е, 10-е и 14-е сут от начала приема препарата оценивали состояние животных, потребление ими воды и корма, изменения функции ЖКТ, состояние слизистых оболочек и шерстного покрова. Копрологические исследования на наличие ооцист *Cryptosporidium* spp. осуществляли на 8-е и 12-е сут лечения, бактериологические — на 10-е сут после окончания лечения. Для оценки состояния животных проводили общий анализ крови. Кровь брали из подхвостовой вены в пробирки модели КЗ с EDTA до лечения и на 10-е сут после применения препарата Протостоп. Число форменных элементов крови определяли по общепринятым методикам: эритроциты и лейкоциты подсчитывали в камере Горяева, СОЭ оценивали методом Панченкова (34).

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) действующего вещества препарата Протостоп (сульфата паромомицина) определяли методом серийных разведений согласно ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 (37) для двух штаммов *Salmonella* Dublin, выделенных ранее из трупов телят, больных сальмонеллезом и находящихся в коллекции штаммов Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины, и штаммов, выделенных при бактериологическом исследовании фекалий телят подопытных и контрольной групп: *E. coli*, обладающей гемолитической активностью, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*. Штаммы, для которых МИК паромомицина не превышала 4 мкг/мл, относили к чувствительным, выше 4 мкг/мл — к резистентным (33).

При статистической обработке результатов вычисляли критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность (Yates' continuity correction) с использованием онлайн калькулятора Биометрика (<http://www.biometrika.tomsk.ru>). Вычисляли средние значения показателей (M) и стандартные отклонения ($\pm SD$) в программе Microsoft Excel 2016. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. При выпаивании препарата Протостоп телята хорошо его переносили. По результатам регулярно проводимого общего клинического обследования животных негативных последствий на организм выявлено не было. На 3-и сут применения препарата у всех телят, независимо от дозы, прекратилась диарея, животные стали активнее, увеличилось потребление корма и воды. Фекальные массы приобрели кашицеобразную консистенцию, характерную для фекалий крупного рогатого скота, примеси слизи

отсутствовали. У телят из контрольной группы примесь слизи в фекалиях сохранилась.

По результатам клинического исследования крови до начала лечения, содержание гемоглобина у телят во всех группах было ниже референсных значений. Кроме того, у животных мы установили тромбоцитопению (табл. 1). Анализ лейкограммы свидетельствовал о наличии воспалительной реакции в организме, поскольку наблюдались нейтрофилия и увеличение СОЭ.

1. Результаты клинического исследования крови телят (*Bos taurus*) черно-перстной породы при болезни желудочно-кишечного тракта смешанной паразитарно-бактериальной этиологии до и после применения препарата Протостоп ($M \pm SD$, Ленинградская обл., Ломоносовский р-н, 2021 год)

Показатель	Группа (по $n = 10$)					Референсные значения
	1-я	2-я	3-я	4-я	контроль	
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$						4,5-12,0
до лечения	9,2 \pm 0,14	9,6 \pm 0,43	7,3 \pm 0,40	11,1 \pm 0,60	8,2 \pm 0,50	
10-е сут лечения	7,2 \pm 0,70	8,4 \pm 0,80	6,7 \pm 0,30	8,3 \pm 0,50	9,7 \pm 0,80	
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$						5,0-7,5
до лечения	6,9 \pm 0,27	7,0 \pm 0,52	7,0 \pm 0,81	6,6 \pm 0,05	6,6 \pm 0,65	
10-е сут лечения	6,2 \pm 0,70	6,9 \pm 0,40	6,4 \pm 0,60	6,2 \pm 0,09	6,2 \pm 0,30	
Гемоглобин, г/л						99-129
до лечения	81,8 \pm 2,72	92,8 \pm 3,45	76,6 \pm 4,30	80,6 \pm 2,11	106,8 \pm 2,80	
10-е сут лечения	83,8 \pm 1,73	93,8 \pm 1,87	76,8 \pm 0,92	82,2 \pm 2,52	103,6 \pm 2,79	
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$						260-700
до лечения	217,2 \pm 1,63	18,3 \pm 8,20	203,0 \pm 2,64	204,0 \pm 4,69	236,6 \pm 4,44	
10-е сут лечения	223,6 \pm 5,26	185,6 \pm 3,02	212,2 \pm 4,90	208,4 \pm 5,30	249,2 \pm 3,90	
Эозинофилы, %						5-8
до лечения	5,0 \pm 0,05	6,0 \pm 0,09	7,0 \pm 0,10	8,0 \pm 0,40	6,2 \pm 0,40	
10-е сут лечения	5,4 \pm 0,10	5,5 \pm 0,30	5,8 \pm 0,20	6,1 \pm 0,40	5,8 \pm 0,09	
Палочкоядерные нейтрофилы, %						2-5
до лечения	4,2 \pm 0,97	2,8 \pm 0,38	2,2 \pm 0,10	1,8 \pm 0,05	2,3 \pm 0,07	
10-е сут лечения	4,2 \pm 0,10	4,6 \pm 0,50	2,2 \pm 0,20	2,2 \pm 0,20	2,5 \pm 0,08	
Сегментоядерные нейтрофилы, %						20-35
до лечения	36,0 \pm 3,10	40,8 \pm 2,87	38,4 \pm 1,20	32,0 \pm 1,30	38,6 \pm 1,30	
10-е сут лечения	30,0 \pm 1,24	33,8 \pm 2,50	28,2 \pm 1,30	29,6 \pm 2,30	35,4 \pm 2,80	
Лимфоциты, %						40-65
до лечения	51,0 \pm 1,40	43,6 \pm 1,30	48,6 \pm 1,02	50,4 \pm 1,93	50,9 \pm 1,80	
10-е сут лечения	55,1 \pm 2,10	48,4 \pm 2,30	58,0 \pm 3,50	54,1 \pm 3,80	51,2 \pm 1,96	
Моноциты, %						2-7
до лечения	2,6 \pm 0,14	6,2 \pm 0,70	3,8 \pm 0,64	6,0 \pm 0,16	3,4 \pm 0,04	
10-е сут лечения	4,1 \pm 0,09	6,2 \pm 1,30	4,4 \pm 0,80	6,4 \pm 0,70	4,2 \pm 1,20	
СОЭ, мм/ч						0,5-1,5
до лечения	1,6 \pm 0,39	1,8 \pm 0,60	1,5 \pm 0,06	1,8 \pm 0,06	1,7 \pm 0,06	
10-е сут лечения	1,2 \pm 0,09	1,4 \pm 0,13	1,3 \pm 0,36	1,4 \pm 0,33	1,5 \pm 0,08	

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика». При статистическом анализе результатов не было установлено достоверных различий между значениями показателей до и после лечения ($p > 0,05$).

Через 10 сут после начала курса терапии было установлено незначительное повышение количества гемоглобина, стремящееся к референсному значению, и увеличение числа тромбоцитов до референсных значений. По лейкограмме отмечали снижение числа нейтрофилов и СОЭ до референсных значений.

В 1-й и 3-й группах на 8-е сут после начала лечения число ооцист *Cryptosporidium* spp. в фекалиях значительно уменьшилось по сравнению с показателями до использования препарата Протостоп (до 25 ооцист в поле зрения в 1-й группе и 1-3 ооцисты в поле зрения в 3-й группе). После выпаживания препарата Протостоп в течение 5 сут в дозе 250 мг/кг массы животного (2-я группа) на 12-е сут после начала лечения ооцисты *Cryptosporidium* spp. были единичными, при этом в 4-й группе на 8-е и 12-е сут простейших не обнаружили (табл. 2).

2. Интенсивность инвазии ооцистами *Cryptosporidium* spp. телят (*Bos taurus*) черно-перстной породы при болезни желудочно-кишечного тракта смешанной паразитарно-бактериальной этиологии до и после применения препарата Протостоп (Ленинградская обл., Ломоносовский р-н, 2021 год)

Группа	Ооцисты <i>Cryptosporidium</i> spp.		
	до лечения	8-е сут после начала лечения	12-е сут после начала лечения
1-я (n = 10)	+++	++	-
2-я (n = 10)	+++	-	±
3-я (n = 10)	+++	+	-
4-я (n = 10)	+++	-	-
Контроль	+++	-	±

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика». +++ — высокая интенсивность инвазии (ИИ), ++ — средняя ИИ, + — низкая ИИ, ± — единичные ооцисты в поле зрения микроскопа, «-» — отсутствие ооцист *Cryptosporidium* spp.

В пробах фекалий телят из контрольной группы, получавшей терапию препаратом с аналогичным действующим веществом, были выявлены единичные ооцисты *Cryptosporidium* spp. на 12-е сут после начала лечения

В проведенных бактериологических исследованиях проб фекалий (38) у всех животных были выявлены штаммы *E. coli*, обладающие гемолитическими свойствами. Наличие таких штаммов свидетельствует о паразитарно-бактериальной этиологии болезни ЖКТ. Также были обнаружены штаммы условно-патогенной микрофлоры, которые служат потенциальными возбудителями изучаемых болезней: *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* (табл. 3) (38).

3. Качественный и количественный состав микрофлоры кишечника телят (*Bos taurus*) черно-перстной породы при болезни желудочно-кишечного тракта смешанной паразитарно-бактериальной этиологии до и после применения препарата Протостоп ($M \pm SD$, Ленинградская обл., Ломоносовский р-н, 2021 год) (38)

Группа	Гемолитическая <i>Escherichia coli</i> , %			Условно-патогенная микрофлора, КОЕ/1 г			Облигатная <i>E. coli</i> , КОЕ/г		
	до лечения	10-е сут после лечения	p	до лечения, $\times 10^7$	10-е сут после лечения, $\times 10^7$	p	до лечения, $\times 10^7$	10-е сут после лечения, $\times 10^7$	p
1-я (n = 10)	24,1 \pm 2,2	16,8 \pm 1,8	> 0,05	7,2 \pm 0,9	6,2 \pm 0,7	> 0,05	4,3 \pm 0,7	3,9 \pm 0,8	> 0,05
2-я (n = 10)	22,2 \pm 1,9	14,7 \pm 1,1	> 0,05	8,3 \pm 1,2	7,1 \pm 0,8	> 0,05	3,9 \pm 0,8	3,3 \pm 0,7	> 0,05
3-я (n = 10)	23,4 \pm 2,0	9,8 \pm 0,9	> 0,05	6,5 \pm 1,2	4,9 \pm 0,8	> 0,05	4,5 \pm 0,8	3,9 \pm 0,9	> 0,05
4-я (n = 10)	24,1 \pm 1,4	0	< 0,05	8,1 \pm 1,1	0	< 0,05	4,0 \pm 0,9	3,9 \pm 0,7	> 0,05
Контроль	23,2 \pm 1,5	16,5 \pm 1,4	> 0,05	7,3 \pm 0,6	6,2 \pm 0,9	> 0,05	4,2 \pm 0,8	4,1 \pm 0,8	> 0,05

При бактериологическом исследовании фекалий на 10-е сут после окончания лечения мы выявили отсутствие штаммов *E. coli*, обладающих гемолитической активностью, и условно-патогенных микроорганизмов в разведении 1:10 фекалий у телят из 4-й группы, в то время как в фекалиях телят из остальных групп указанные микроорганизмы присутствовали (38).

4. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) сульфата паромомицина для возбудителей болезней желудочно-кишечного тракта телят (*Bos taurus*) черно-перстной породы (Ленинградская обл., Ломоносовский р-н, 2021 год)

Вид (серологический вариант) микроорганизма	МИК, мкг/мл	Чувствительность
<i>Salmonella</i> Dublin	2	S
<i>Escherichia coli</i> гемолитическая (штамм 1)	128	R
<i>E. coli</i> гемолитическая (штамм 2)	> 256	R
<i>E. coli</i> гемолитическая (штамм 3)	> 256	R
<i>E. coli</i> гемолитическая (штамм 4)	> 256	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 256	R
<i>Proteus vulgaris</i>	> 256	R
<i>Citrobacter freundii</i>	2	S

Примечание. R — устойчивый штамм, S — чувствительный штамм.

При исследовании ингибирующего эффекта сульфата паромомицина — действующего вещества препарата Протостоп чувствительными к этому препарату оказались только штаммы *Salmonella* Dublin и *C. freundii* (МИК 2 мкг/мл), штаммы гемолитической *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* были устойчивы (МИК 128 мкг/мл и более) (табл. 4).

Болезни ЖКТ молодняка КРС, которые остаются серьезной проблемой для ветеринарных специалистов практически во всех регионах мира, полиэтиологичны (1). Поэтому для лечения животных желательны применять препараты, эффективные против нескольких этиологических факторов, в частности аминогликозиды, действующие на микроорганизмы и одноклеточных простейших (33).

При оценке влияния препарата Протостоп из группы аминогликозидов на телят мы не выявили статистически достоверных отклонений клинических и морфологических показателей крови после лечения по сравнению со значениями, полученными до его начала. Содержание гемоглобина, тромбоцитов и показатели лейкограммы до и после лечения оставались в пределах референсных значений. Следовательно, препарат Протостоп не оказывал негативного влияния на организм телят. Ранее мы сообщали, что применение препарата Протостоп в течение 5 сут приводит к существенному снижению доли гемолитической *E. coli* и условно-патогенной микрофлоры при дозе 350 мг/кг массы животного. Показатели по облигатным штаммам *E. coli* при этом остались без статистически значимых изменений (38).

Мы также определили МИК действующего вещества препарата Протостоп сульфата паромомицина для выделенных нами при исследовании гемолитических штаммов *E. coli* — потенциальных возбудителей колибактериоза телят (39), для штаммов *C. freundii*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, относящихся к условно-патогенной микрофлоре, которые могут вызывать болезни ЖКТ молодняка крупного рогатого скота (40), а также для штаммов *Salmonella* Dublin, выделенных от крупного рогатого скота, которые служат возбудителем сальмонеллеза телят. W. Chen с соавт. (41) при определении МИК различных химических изомеров паромомицина для *E. coli* показали, что значения МИК варьировались от 2-4 до >128 мкг/мл в зависимости от изомера препарата. Наши данные сопоставимы с этими результатами и свидетельствуют о разной чувствительности микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта телят к действующему веществу препарата Протостоп.

Согласно стандартам CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, <https://clsi.org/>), к чувствительным к паромомицину могут быть отнесены только штаммы с МИК не более 4 мкг/мл (33). Однако значение МИК определяет так называемую микробиологическую чувствительность. Зачастую она не совпадает с клинической, критерием которой служит эффективность лечения (42). Сведения по клинической чувствительности к паромомицину при лечении сельскохозяйственных животных в научной литературе отсутствуют. Впервые полученные нами данные свидетельствуют о клинической эффективности препарата Протостоп, содержащего в 1 г 100 мг сульфата паромомицина, при болезнях ЖКТ телят не только бактериальной, но и паразитарной этиологии.

Основываясь на данных о том, что механизм действия препаратов группы аминогликозидов на микроорганизмы заключается в нарушении синтеза белка рибосомами (31, 41), мы предполагаем, что сульфат паромомицина препятствует синтезу белка не только у микроорганизмов, но и у форм *Cryptosporidium* spp. с тонкой клеточной стенкой, приводя к их эли-

минации из организма животных. У телят происходит аутоинвазия ооцистами криптоспоридий, то есть их элиминация снижает интенсивность инвазии и сокращает сроки выздоровления животных. Мы установили, что применение препарата Протостоп в суточной дозе 350 мг/кг в течение 5 сут значительно уменьшает число ооцист *Cryptosporidium* spp. в фекалиях телят, что свидетельствует о его терапевтической эффективности. Сходные результаты получены А. Аюдоду с соавт. (43), которые применяли паромомицин в меньшей дозе (100 мкг/кг массы), но более продолжительное время (7 сут против 5 сут в нашем исследовании). Улучшение общего состояния животных было отмечено на 2-е сут лечения, снижение количества ооцист в фекалиях — на 3-и сут. О.А. Nameed (44) отмечал, что паромомицин эффективен при лечении ягнят и верблюдов при криптоспориidioзе.

Таким образом, препарат Протостоп, в 1,0 г которого содержится 100,0 мг сульфата паромомицина, в дозе 350 мг/кг массы животного при применении перорально с водой 1 раз в сутки в течение 5 сут оказывает выраженное терапевтическое действие при болезнях желудочно-кишечного тракта телят паразитарно-бактериальной этиологии. Через 8 сут после начала лечения по указанной схеме в фекалиях отсутствовали ооцисты *Cryptosporidium* spp., через 10 сут в разведениях фекалий 1:10 — гемолитические штаммы *Escherichia coli* и другие условно-патогенные энтеробактерии. Терапевтическая эффективность препарата Протостоп при указанной дозировке и длительности применения оказалась выше эффективности препарата Парофор 70 в дозе 350 мг/кг. Минимальная ингибирующая концентрация паромомицина для штаммов *Salmonella* Dublin и *Citrobacter freundii* составила 2 мкг/мл, что позволяет отнести их к микробиологически чувствительным к этому препарату. Остальные штаммы были микробиологически устойчивыми: для гемолитической *Escherichia coli* МИК составила от 128 до более 256 мкг/мл, для *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* — более 256 мкг/мл.

¹ООО НВЦ Агроветзащита,
129329 Россия, г. Москва, проезд Игарский, 4, стр. 2,
e-mail: admin@vetmag.ru;

²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины,
196084 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,
e-mail: beringa20@mail.ru ✉, larissabelova2010@yandex.ru,
nadezhda.gavrilova65@mail.ru, lubov965@rambler.ru,
yulya.shcherbina.96@mail.ru

Поступила в редакцию
1 февраля 2023 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2024, V. 59, № 2, pp. 355-365

THE PROTOSTOP DRUG EFFECTIVENESS IN DIARRHEA OF MIXED PARASITIC-BACTERIAL ETIOLOGY IN CALVES

S.V. Engashev¹ ✉, L.M. Belova², N.A. Gavrilova², A.V. Zabrovskaya², L.I. Smirnova²,
E.S. Engasheva¹, Ju.A. Dyachkova²

¹AVZ Ltd, 4/2, Igar'skiy pr-d, Moscow, Russia 129329, e-mail admin@vetmag.ru;

²Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine, 5, ul. Chernigovskaya, St. Petersburg, 196084 Russia,
e-mail beringa20@mail.ru (✉ corresponding author), larissabelova2010@yandex.ru, nadezhda.gavrilova65@mail.ru,
lubov965@rambler.ru, yulya.shcherbina.96@mail.ru

ORCID:

Engashev S.V. orcid.org/0000-0002-7230-0374

Belova L.M. orcid.org/0000-0003-4473-1940

Gavrilova N.A. orcid.org/0000-0001-5651-5976

Zabrovskaya A.V. orcid.org/0000-0003-2655-7555

The authors declare no conflict of interests

Final revision received February 01, 2023

Accepted March 03, 2023

Smirnova L.I. orcid.org/0000-0002-4367-83876

Engasheva E.S. orcid.org/0000-0002-4808-8799

Dyachkova Ju.A. orcid.org/0000-0003-2976-1279

doi: 10.15389/agrobiologia.2024.2.355eng

Abstract

In cattle breeding, diseases of the gastrointestinal tract (GIT) of calves with diarrheal syndrome, which are widespread almost everywhere and involve most of the livestock, remain a serious problem. Gastrointestinal diseases of calves of mixed, parasitic-bacterial and parasitic-viral etiology are often noted, a combination of *Cryptosporidium* spp. with *Escherichia coli*, enterobacteria of the genus *Salmonella*, *Klebsiella* have been detected. Thereof, it is optimal to use broad-spectrum drugs that have antimicrobial and antiprotozoal effects. This article presents for the first time the effect of the drug paromomycin sulfate on pathogens of gastrointestinal diseases of both parasitic and bacterial origin. The minimum inhibitory concentration (MIC) of paromomycin sulfate has been established for pathogens of gastrointestinal tract diseases of calves of bacterial etiology, i.e., *Salmonella* Dublin, *Escherichia coli* with hemolytic properties, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*. The aim of study was to examine the therapeutic effectiveness of the drug Protostop (the active substance is paromomycin sulfate) for diseases of the gastrointestinal tract with diarrheal syndrome in calves. The research was carried out at a cattle farm (Leningrad Province, Lomonosovsky District) in July-August 2021. The experiments involved calves (*Bos taurus*) of the black-white breed, up to 5 months old, weighing from 30 to 50 kg. Fecal samples weighing 20-40 g were taken from the rectum of calves with clinical signs of gastrointestinal dysfunction. To detect oocysts of *Cryptosporidium* spp. fecal smears were prepared on a glass slide, and stained using a Diakhim-Kit for Ziehl-Neelsen staining (NPF Abris+, Russia). Microscopy was performed using a Primo Star microscope (Carl Zeiss, Germany). To establish the quantity and species of enterobacteria, 10-fold dilutions of feces in saline solution were sown in 0.05 ml quantities on the Endo nutrient medium (LLC Research Center for Pharmacotherapy, Russia). To assess the therapeutic effectiveness of the drug Protostop (powder, 1 g of the drug contains 100 mg of paromomycin sulfate; AVZ Ltd, Russia), animals in whose feces consist oocysts of *Cryptosporidium* spp., strains of hemolytic *E. coli* and opportunistic microorganisms were selected. We formed 5 groups of animals of 10 animals in each (4 experimental, 1 control). All calves in experimental groups were given the drug Protostop individually, orally, once a day. Before use, a single dose of the drug was dissolved in water by adding the liquid to the powder. Animals from the 1st group received the drug at a dose of 250 mg/kg of body weight for 3 days, calves from the 2nd group were given the drug at the same dose for 5 days. Animals of the 3rd and 4th groups received Protostop at a dose of 350 mg/kg body weight, respectively, for 3 and 5 days. Calves from the control group were treated with an analog drug Parofor 70 (powder, 1.0 g of the drug contains 100.0 mg of paromomycin sulfate; Biovet AD, Bulgaria). The drug was administered at a dose of 350 mg/kg body weight orally once a day for 5 days. During a clinical examination on the 3rd, 5th, 10th and 14th days from the start of treatment, the health condition of the animals, their consumption of water and feed, the presence of changes in the function of the GIT, the condition of the mucous membranes and coat were examined. Coprological studies for the presence of oocysts of *Cryptosporidium* spp. were carried out on the 8th and 12th days of treatment, bacteriological on the 10th day after the end of treatment. To assess the health condition, blood samples for examination was taken in all groups. The MIC of paromomycin sulfate, the active substance of the drug Protostop, was determined by the method of serial dilutions according to GOST R ISO 20776-1-2010. Strains for which the MIC of paromomycin did not exceed 4 µg/ml were classified as susceptible, and those above 4 µg/ml were classified as resistant. A parasitological study revealed more than 25 oocysts of *Cryptosporidium* spp. in the feces of calves in the field of view, which indicated a high intensity of invasion. A bacteriological study revealed *Escherichia coli* strains with hemolytic activity and other strains of opportunistic microflora. After treatment, all calves in the experimental groups showed significant improvements in their health condition: the animals became more active, diarrhea stopped, and the feces became a mushy consistency, characteristic of cattle feces. The drug Protostop had a pronounced therapeutic effect at a dose of 350 mg/kg of animal weight, administered orally with water, once a day, for a course of 5 days. 8 days after the start of treatment according to the indicated regimen, there were no *Cryptosporidium* spp. oocysts in the feces; 10 days after the end of treatment, strains of hemolytic *Escherichia coli* and other opportunistic enterobacteria were absent in a 1:10 dilution of feces. The therapeutic effectiveness of the drug Protostop at the indicated dosage and duration of use is higher than the effectiveness of the drug Parofor 70 at a dose of 350 mg/kg. The MIC of paromomycin for *Salmonella* Dublin and *Citrobacter freundii* strains was 2 µg/ml, which allows them to be classified as microbiologically susceptible to this drug. The remaining strains were microbiologically resistant, for hemolytic *Escherichia coli* strains the MIC ranged from 128 to more than 256 µg/ml, for *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* MIC was more than 256 µg/ml.

Keywords: paromomycin, cryptosporidiosis, minimal inhibitory concentration, *Escherichia coli*, calves, gastrointestinal diseases, gastrointestinal tract.

REFERENCES

1. Cho Y.-I., Yoon K.-J. An overview of calf diarrhea — infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.*, 2014, 15(1): 1-17 (doi: 10.4142/jvs.2014.15.1.1).

2. Klimova E.S., Mkrtchyan M.E., Maksimova E.V., Reshetnikova A.D. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*, 2020, 3: 24-29 (doi: 10.17238/issn2072-2419.2020.3.24) (in Russ.).
3. Musaeva M.N., Budulov N.R., Abdulmagomedov S.Sh., Musaev Z.G. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*, 2013, 3: 64-66 (in Russ.).
4. Levine N.D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (protozoa, apicomplexa). *The Journal of Protozoology*, 1984, 31(1): 94-98 (doi: 10.1111/j.1550-7408.1984.tb04296.x).
5. Vereshchak N.A., Poryvaeva A.P., Pechura E.V., Krasnoperov, A.S. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*, 2016, 4: 87-90 (in Russ.).
6. Kirillov E.G. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana*, 2014, 1: 128-131 (in Russ.).
7. Starikova O.V., Voronkova, Yu.V., Kovshirina I.I., Shubina N.I. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*, 2017, 72(6): 420-427 (doi: 10.15690/vramn888) (in Russ.).
8. Chalmers R.M., Davies A.P. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Experimental Parasitology*, 2010, 124(1): 138-146 (doi: 10.1016/j.exppara.2009.02.003).
9. Conrady B., Brunauer M., Roch F.-F. *Cryptosporidium* spp. Infections in combination with other enteric pathogens in the global calf population. *Animals*, 2021, 11(6): 1786 (doi: 10.3390/ani11061786).
10. Bartels C.J.M., Holzhauer M., Jorritsma R., Swart W.A.J.M., Lam T.J.G.M. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 2010, 93(2-3): 162-169 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.09.020).
11. Delling C., Dauschies A. Literature review: coinfection in young ruminant livestock—*Cryptosporidium* spp. and its companions. *Pathogens*, 2022, 11(1): 103 (doi: 10.3390/pathogens11010103).
12. Lee S.-H., Kim H.-Y., Choi E.W., Kim D. Causative agents and epidemiology of diarrhea in Korean native calves. *J. Vet. Sci.*, 2019, 20(6): e64 (doi: 10.4142/jvs.2019.20.e64).
13. de la Fuente R., Luzon M., Ruiz-Santa-Quitria J.A., Garcia A., Cid D., Orden J.A., Garcia S., Sanz R., Gomez-Bautista M. *Cryptosporidium* and concurrent infection with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic calves in central Spain. *Veterinary Parasitology*, 1999, 80(3): 179-185 (doi: 10.1016/s0304-4017(98)00218-0).
14. Brar A.P.S., Sood N.K., Kaur P., Singla L.D., Sandhu B.S., Gupta K., Narang D., Singh C.K., Chandra M. Periurban outbreaks of bovine calf scours in Northern India caused by *Cryptosporidium* in association with other enteropathogens. *Epidemiology & Infection*, 2017, 145(13): 2717-2726 (doi: 10.1017/S0950268817001224).
15. Cho Y.-I., Han J.-I., Wang C., Cooper V., Schwarz K., Engelken T., Yoon K. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 2013, 166(3-4): 375-385 (doi: 10.1016/j.vetmic.2013.07.001).
16. Garcia A., Ruiz-Santa-Quitria J.A., Cid D., Orden J.A., Sanz R., Gomez-Bautista M., de La Fuente R. Rotavirus and concurrent infection with other enteropathogens in neonatal diarrheic calves dairy calves in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*, 2000, 23(3): 175-183 (doi: 10.1016/s0147-9571(99)00071-5).
17. Al Mawly J., Grinberg A., Pratelly D., Moffat J., Marshall J., French N. Risk factors for neonatal calf diarrhea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farm. *The Veterinary Journal*, 2015, 203: 155-160 (doi: 10.1016/j.tvjl.2015.01.010).
18. Hall G.A., Reynolds D.J., Parsons K.R., Bland A.P., Morgan J.H. Pathology of calves with diarrhea in southern Britain. *Research in Veterinary Science*, 1988, 45(2): 240-250 (doi: 10.1016/S0034-5288(18)30939-1).
19. Göhring F., Möller-Holtkamp P., Dauschies A., Lender M. Co-infection with *Cryptosporidium parvum* and other enteropathogens support the occurrence and severity of diarrhea in suckling calves. *Tierarztl. Umsch.*, 2014, 69(4): 112-120.
20. Seabloom E.W., Borer E.T., Gross K., Kending A.E., Lacroix C., Mitchell C.E., Mordecai E.A., Power A.G. The community ecology of pathogens. Coifection, coexistence and community composition. *Ecology Letters*, 2015, 18(4): 401-415 (doi: 10.1111/ele.12418).
21. Bartels C.J.M., Holzhauer M., Jorritsma R., Swart W.A.J.M., Lam T.G.G.M. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogenes in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 2010, 93(2-3): 162-169 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.09.020).
22. Al-mawly J., Prattley D., French N.P., Lopez-Villalobos N., Hedgespeth B., Grinberg A. Utility of halofuginone lactate for the prevention of natural cryptosporidiosis of calves, in the presence of co-infection with rotavirus and *Salmonella* Typhimurium. *Veterinary Parasitology*, 2013, 197(1-2): 59-67 (doi: 10.1016/j.vetpar.2013.04.029).
23. Miyamoto Y., Eckmann L. Drug development against the major diarrhea-causing parasites of the small intestine, *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1208 (doi: 10.3389/fmicb.2015.01208).
24. Masood S., Maqbool A., Khan U.J., Chaudhry Z.I., Anjum A.A. Anti-cryptosporidium activity of albendazole, metronidazole and paromomycin in experimentally infected cattle. *Pakistan J. Zool.*, 2013, 45(4): 935-940.

25. Nasir A., Avais M., Khan M.S., Khan J.A., Hameed S., Reichel M.P. Treating *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Journal of Parasitology*, 2013, 99(4): 715-717 (doi: 10.1645/12-42.1).
26. Constable P.D. Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatment. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2009, 25: 101-120 (doi: 10.1016/j.cvfa.2008.10.012).
27. ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), EFSA (European Food Safety Authority), and EMA (European Medicines Agency). ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals — Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. *EFSA Journal*, 2017, 15(7): 4872 (doi: 10.2903/j.efsa.2017.4872).
28. Karaiskos I., Lagou S., Pantikis K., Rapi V., Poulakou G. The “old” and the “new” antibiotics for MDR gram-negative pathogens: from whom, when, and how. *Frontiers in Public Health*, 2019, 7: 151 (doi: 10.3389/fpubh.2019.00151).
29. Theuretzbacher U., Van Bambeke F., Canton R., Giske Ch. G., Mouton J.W., Nation R.L., Paul M., Turrige J., Kahlmeter G. Reviving old antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2015, 70(8): 2177-2181 (doi: 10.1093/jac/dkv157).
30. Geurden T., Claerebout E., Dursin L., Deflandre A., Bernay F., Kaltsatos V., Vercruyse J. The efficacy of an oral treatment with paromomycin against an experimental infection with *Giardia* in calves. *Veterinary Parasitology*, 2006, 135(3-4): 241-247 (doi: 10.1016/j.vetpar.2005.09.006).
31. *Prakticheskoe rukovodstvo po antimikrobnoy khimioterapii* /Pod redaktsiyey L.S. Strachunskogo, Yu.B. Belousova, S.N. Kozlova [Practical guide to antimicrobial chemotherapy. L.S. Strachunskiy, Yu.B. Belousov, S.N. Kozlov (eds.)]. Smolensk, 2007 (in Russ.).
32. Heller M.C., Chigerwe M. Diagnosis and treatment of infectious enteritis in neonatal and juvenile ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2018, 34(1): 101-117 (doi: 10.1016/j.cvfa.2017.08.001).
33. Hu Y., Lui L., Zhang X., Feng Y., Zong Zh. In vitro activity of neomycin, streptomycin, paromomycin and aparmycin against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* clinical strains. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2275 (doi: 10.3389/fmicb.2017.02275).
34. *GOST R 54627-2011. Zhivotnye sel'skokhozyaystvennyye zhvachnye. Metody laboratornoy diagnostiki gel'mintozov* [GOST R 54627-2011. Agricultural ruminant animals. Methods for laboratory diagnosis of helminth infections]. Moscow, 2013 (in Russ.).
35. *Laboratornaya diagnostika gel'mintozov, protozoozov: metodicheskie ukazaniya* [Laboratory diagnosis of helminthiasis, protozoan infections: guidelines]. Moscow, 2014 (in Russ.).
36. Golubeva I.V., Kileso V.A., Kiseleva B.S., Pryamukhina N.S., Tatarinova S.D., Khomenko N.A., Yushchenko G.V. *Enterobakterii: rukovodstvo dlya vrachey* /Pod redaktsiyey V.I. Pokrovskogo [Enterobacteriaceae: guide for doctors. V.I. Pokrovskiy (ed.)]. Moscow, 1985 (in Russ.).
37. *GOST R ISO 20776-1-2010. Klinicheskie laboratornye issledovaniya i diagnosticheskie test-sistemy in vitro. Issledovanie chuvstvitel'nosti infektsionnykh agentov i otsenka funktsional'nykh kharakteristik izdeliy dlya issledovaniya chuvstvitel'nosti k antimikrobnym sredstvam* [GOST R ISO 20776-1-2010. Clinical laboratory studies and in vitro diagnostic test systems. Study of the sensitivity of infectious agents and assessment of the functional characteristics of products for testing sensitivity to antimicrobial agents]. Moscow, 2011 (in Russ.).
38. Zablovskaya A.V., Smirnova L.I., Shavrov S.S. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*, 2021, 4: 60-63 (doi: 10.52419/issn2072-6023.2021.4.60) (in Russ.).
39. Chekole W.S., Adamu H., Sternberg-Lewrein S., Magnusson U., Tessema T.S. Occurrence of *Escherichia coli* pathotypes in diarrheic calves in a low-income setting. *Pathogens*, 2023, 12: 42 (doi: 10.3390/pathogens12010042).
40. Konishcheva A.S., Pleshakova V.I., Leshcheva N.A. *Vestnik Omskogo GAU*, 3(43), 2021: 70-77 (doi: 10.48136/2222-0364_2021_3_70) (in Russ.).
41. Chen W., Matsushita T., Shcherbakov D., Boukari H., Vassela A., Böttger E.C., Crich D. Synthesis, antiribosomal and antibacterial activity of 4'-O-glycopyranosyl paromomycin aminoglycoside antibiotics. *Medicinal Chemistry Communication*, 2014, 5: 1179-1187 (doi: 10.1039/C4MD00119B).
42. *Rekomendatsii. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam. Versiya 2021-01* [Recommendations. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs. Version 2021-01]. Available <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf> (in Russ.).
43. Aydogdt U., Isik N., Ekici O.D., Yildiz R., Sen I., Coskun I. Comparison of the effectiveness of halofuginone lactate and paromomycin in the treatment of calves naturally infected with *Cryptosporidium parvum*. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2018, 46(1): 1524 (doi: 10.22456/1679-9216.81809).
44. Hameed O.A. A review of cryptosporidium infection in neonatal lambs and camel calves. *Journal of Infectious Diseases & Research*, 2020, 3(2): 109-110.