



## ВЕТЕРИНАРІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

### VETERINARY SCIENCE, TECHNOLOGIES OF ANIMAL HUSBANDRY AND NATURE MANAGEMENT

ISSN 2617-8346 (Print)  
ISSN 2663-5542 (Online)

doi: 10.31890/vtpp.2019.04.24  
<http://ojs.hdzva.edu.ua/>

UDC 619:616.636.3

#### Transudate microflora in dogs with infected pancreonecrosis and sensitivity to antimicrobials remedies

**A. G. Milastnaia, V. B. Dukhnytskyi**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

##### Article info

Received 13.09.2019

Received in revised form  
07.10.2019

Accepted  
15.11.2019

National University of Life and  
Environmental Sciences of  
Ukraine

Potehin str. 16, building 12,  
Kyiv 03127, Ukraine

E-mail:

[a.milastnaia@gmail.com](mailto:a.milastnaia@gmail.com)  
[dukhnytskyi\\_vb@nubip.edu.ua](mailto:dukhnytskyi_vb@nubip.edu.ua)

**Milastnaia, A. G., & Dukhnytskyi, V. B. (2019). Transudate microflora in dogs with infected pancreonecrosis and sensitivity to antimicrobials remedies. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 124-128, doi: 10.31890/vtpp.2019.04.24.**

*Optimizing the use of antimicrobial agents for acute destructive pancreatitis and pancreonecrosis is an important and far-reaching problem. The lethality, which is often observed in acute destructive pancreatitis and pancreonecrosis in dogs is in most cases caused by toxemia, multiple organ failure and the development of infected pancreonecrosis (complication of "sterile" pancreonecrosis).*

*Infectious complications, including involvement in the pathological process of surrounding tissues (infected pancreonecrosis, infected cysts, peritoneum phlegmon) are observed in most animals with pancreonecrosis.*

*According to existing veterinary medicine tactics for the canine acute destructive pancreatitis and pancreonecrosis treatment, the main focus is on timely diagnosis of infectious complications, however, recently, the priorities of therapy are shifting towards the prevention of translocations of bacteria.*

*The purpose of our study was to determine the microbial composition of pancreatic effusion in case of infected pancreonecrosis, and to justify the feasibility of using antibiotic prophylaxis taking into account the sensitivity of microorganisms.*

*The detected microorganisms exhibited intermediate resistance to piperacillin in combination with tazobactam, tobramycin and sulfamethoxazole. The highest sensitivity is set to colistin sulfate and ciprofloxacin.*

*Infection of the pancreas and surrounding tissues is due to microorganisms of the KES group, and to a lesser extent *Enterobacter sakazakii* and *Escherichia coli*. No cases of mono-infection were reported during the study.*

*The most effective means of early prevention of purulent and septic complications in dogs for pancreonecrosis is colistin sulfate and ciprofloxacin, which is confirmed by a test for the sensitivity of the detected microflora.*

*The microflora isolated from hemorrhagic and serous effusions in dogs with pancreonecrosis resistant to gentamicin, doxycycline, levofloxacin and exhibiting intermediate resistance to piperacillin / tazobactam, tobramycin and sulphanilamide – sulfamethoxide.*

**Keywords:** pancreatitis, pancreonecrosis, dogs, antibiotics, sensitivity.

#### Микрофлора транссудата при инфицированном панкреонекрозе и ее чувствительность к противомикробным средствам

**А. Г. Миластная, В. Б. Духницкий**

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины*

*В статье освещены результаты микробиологического исследования транссудата собак при инфицированном панкреонекрозе. Установлено, что при панкреонекрозе собак инфицирование поджелудочной железы и окружающих тканей чаще всего происходит микроорганизмами KES-группы (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*), второе место по значимости составляет *Enterobacter sakazakii*, третье - *Escherichia coli*. Обнаруженные микроорганизмы проявляли промежуточную резистентность к пиперациллину в комбинации с тазобактамом, тобрамицину и сульфаметоксазолу. Наибольшая чувствительность установлена к колистину сульфату и*

ципрофлоксацину. Оптимізація використання противомікробних препаратів при гострому деструктивному панкреатиті та панкреонекрозі є важливою та далеко ідущою проблемою. Летальність, яка часто спостерігається при гострому деструктивному панкреатиті та панкреонекрозі у собак, в більшості випадків викликана токсемією, поліорганною недостатністю та розвитком інфікованого панкреонекрозу (осложнення «стерильного» панкреонекрозу).

Інфекційні ускладнення, включаючи вовлечение в патологічний процес оточуючих тканин (інфікований панкреонекроз, інфіковані кисти, флегмона брюшини), спостерігаються у більшості тварин з панкреонекрозом.

Відповідно до існуючої в ветеринарній медицині тактики лікування гострого деструктивного панкреатиту та панкреонекрозу у собак основну увагу приділяють своєчасній діагностиці інфекційних ускладнень, однак в останнє час пріоритети терапії зміщуються в бік профілактики транслокації бактерій.

Метою нашого дослідження було визначення мікробного складу випоту підшлункової залози при інфікованому панкреонекрозі та обґрунтування доцільності застосування антибіотикопрофілактики з урахуванням чутливості мікроорганізмів.

Виявлені мікроорганізми проявляли проміжну стійкість до пиперацилліну в поєднанні з тазобактамом, тобраміцином та сульфаметоксазолом. Найвища чутливість встановлена до колістин сульфату та цiproфлoксацину.

Інфекція підшлункової залози та оточуючих тканин виникає через мікроорганізми групи KES та в меншій ступені *Enterobacter sakazakii* та *Escherichia coli*. Під час дослідження не було зареєстровано жодного випадку моноінфекції.

Найефективнішим засобом ранньої профілактики гнійно-септичних ускладнень у собак при панкреонекрозі є застосування колістин сульфату та цiproфлoксацину, що підтверджується тестом на чутливість виявленої мікрофлори.

Мікрофлора, виділена з геморагічних та серозних випотів у собак з панкреонекрозом, стійкою до гентаміцину, доксицикліну, левофлoксацину та проявляючи проміжну стійкість до пиперацилліну / тазобактаму, тобраміцину та сульфаниламиду - сульфаметоксиду

**Ключові слова:** панкреатит, панкреонекроз, собаки, антибіотики, чутливість.

## Мікрофлора трансудату за інфікованого панкреонекрозу собак та її чутливість до протимікробних засобів

А. Г. Міластна, В. Б. Духницький

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті висвітлені результати мікробіологічного дослідження трансудату собак за інфікованого панкреонекрозу. Встановлено, що за панкреонекрозу собак інфікування підшлункової залози та навколишніх тканин найчастіше відбувається мікроорганізмами KES-групи (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*), друге місце за значимістю становить *Enterobacter sakazakii*, третє – *Escherichia coli*. Виявлені мікроорганізми проявляли проміжну резистентність до пиперацилліну в комбінації із тазобактамом, тобраміцином та сульфаметоксазолом. Найвища чутливість встановлена до колістин сульфату та цiproфлoксацину.

**Ключові слова:** панкреатит, панкреонекроз, собаки, антибіотики, чутливість.

### Вступ

Оптимізація застосування протимікробних засобів за панкреонекрозу і гострого деструктивного панкреатиту є важливою та далекою від вирішення проблемою. Летальність, що нерідко спостерігається за панкреонекрозу і гострого деструктивного панкреатиту у собак зумовлена у більшості випадків, токсемією, поліорганною недостатністю та розвитком інфікованого панкреонекрозу (ускладненням «асептичного» панкреонекрозу) (EUCAST Definitive document, 1998; NCCLS, 2019; Sanchez-Bautista, Coy, Garcia-Shimizu, & Rodriguez, 2018; Cusack et.al, 2019; DuPont, 2012).

Інфекційні ускладнення, у тому числі із залученням у патологічний процес навколишніх тканин (інфікований панкреонекроз, інфіковані кисти, флегмони очеревини) спостерігаються у більшості тварин, що хворі на панкреонекроз. Ризик інфікування зростає за збільшення об'єму некротизованої тканини, а ранній розвиток інфекції збільшує можливість виникнення несприятливих наслідків. Ускладнення найчастіше розвиваються протягом перших 2 тижнів захворювання, а через 4 тижні ризик інфікування стає мінімальним (Semrad, 2011; Drudy, Mullane, Quinn, Wall, & Fanning,

2006; "Validazione del Sistema", 2013; Gurieva, 2018; Montgomery, & Wilson, 1996).

Відомо, що підшлункова залоза не має власної мікробіоти, тому інфікування вогнищ некрозу у підшлунковій залозі зумовлене, переважно, транслокацією мікрофлори кишечника і частіше є полімікробним, тому мікробний пасаж, що визначають за ускладнень панкреонекрозу є варіабельним (Chiu, Lin, & Wu, 1996; De Waele, Vogelaers, Blot, & Colardyn, 2003; Bradley, 1993; Bakker, 2012).

У контексті панкреонекрозу запальний процес у підшлунковій залозі спричиняє пошкодження кишечника декількома супутніми патогенними механізмами, що, у свою чергу, змінює проникність його стінки і призводить до ефекту «протікаючої кишки». У цьому випадку відбувається переміщення бактерій і токсинів у підшлункову залозу.

Згідно літературних даних основними мікроорганізмами, що виявлені у панкреатичному випоті людей є *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Proteus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* spp, *Clostridium* spp та ентерококи (Bakker, 2012; Tsang, & Belsley, 2017).

На тлі антибіотикотерапії збільшилась кількість інфекційних процесів, що асоційовані із багаточисленними резистентними грампозитивними мікроорганізмами (*Staphylococcus aureus*, ентерококи, *Candida spp* тощо) (Sanchez-Bautista, Coy, Garcia-Shimizu, & Rodriguez, 2018).

Не дивлячись на негативні явища, антибіотикопрофілактика є методом, що широко використовується в Україні і ряді країн, захисту вогнищ панкреонекрозу і деструктивного панкреатиту від інфікування. Однак, дослідження сучасної медицини останніх років поставили під сумнів ефективність і доцільність даної тактики попередження ускладнень. Так, використання препаратів групи пеніциліну не супроводжувалось очевидним ефектом, що пов'язано із низькою їх пенетрацією (як і багатьох інших препаратів) у тканину підшлункової залози (Windsor, 2011; Veger, 1986; Varon, & Morgan, 1999). Ефективність антибіотикопрофілактики, вочевидь, залежить від площі ураження підшлункової залози. Дослідженнями встановлено, що ефективність антибіотикопрофілактики слід очікувати лише за обмежених форм панкреонекрозу (Maravi-Poma, 2003).

Згідно існуючих у ветеринарній медицині тактик лікування собак за панкреонекрозу і гострого деструктивного панкреатиту основний акцент зводиться до своєчасної діагностики інфекційних ускладнень, однак, останнім часом пріоритети терапії зміщуються у бік профілактики транслокацій бактерій пробіотиками і максимально ранньої ентеральної годівлі.

*Метою* нашого дослідження було визначення мікробного складу панкреатичного випоту за інфікованого панкреонекрозу та обґрунтування доцільності використання антибіотикопрофілактики із урахуванням чутливості мікроорганізмів.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на 19 собаках, що хворі на панкреонекроз. Всім тваринам було проведено лапаротомію. Діагноз підтверджували на основі наявності геморагічного або серозного випоту, вогнищ стеатонекрозу на очеревині, набряку та геморагічної імбібіції круглої зв'язки печінки. Мікробіологічне дослідження випоту проводили за допомогою мікрокультуральних діагностичних систем FAECAL WELL D-ONE (CPM, Італія) (Validazione del Sistema, 2013). Мікрокультуральна діагностична система призначена для попередньої ідентифікації патогенів травної системи, таких як *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio spp.*, *Proteus/Providencia spp.*, KES group (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*), *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacteriaceae* (бактерії, що виробляють б-лактамазу), КРС (клебсієлла, що продукує карбапенемазу) та визначення чутливості до антибіотиків і сульфаніламідів (колістину сульфат, доксицилін, левофлоксацин, піперацилін/тазобактам, цiproфлоксацин, тобраміцин, гентаміцин, сульфаметоксазол) (рис. 1).



Рис.1. Мікрокультуральна діагностична система



Рис. 2. Відбір панкреатичного випоту

### Результати та їх обговорення

В результаті бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу від 19 собак, що хворі на панкреонекроз, було виявлено 10 штамів мікроорганізмів (таблиця 1).

Таблиця 1

#### Результати бактеріологічного аналізу патологічного матеріалу собак, хворих на панкреонекроз (n=19)

Вид мікроорганізму	Кількість ізолятів, n/%
<i>Escherichia coli</i>	7/36,8
<i>Salmonella spp.</i>	-

<i>Pseudomonas spp.</i>	4/21,0
<i>Shigella spp.</i>	6/31,5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2/10,5
<i>Vibrio spp.</i>	3/15,8
<i>Proteus/Providencia spp.</i>	6/31,5
KES group ( <i>Klebsiella-Enterobacter-Serratia</i> )	15/78,9
<i>Enterobacter sakazakii</i>	9/47,3
ESBL (бактерії, що виробляють б-лактамазу)	4/21,0
КРС (клебсієлла, що продукує карбапенемазу)	1/5,3

Отже, за панкреонекрозу собак інфікування підшлункової залози та навколишніх тканин найчастіше відбувається мікроорганізмами KES-групи (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*) – 15 тварин (майже 79 %), друге місце за значимістю становить *Enterobacter sakazakii* – 9 тварин (47,3 %), третє – *Escherichia coli* (7 тварин і 36,8 % відповідно). Дещо рідше висівали *Shigella* spp та *Proteus* spp, а *Salmonella* spp. у патологічному матеріалі не виявляли.

Тест на чутливість до антибіотиків показав стійкість виявлених мікроорганізмів до доксицикліну, левофлоксацину і гентаміцину (табл. 2).

Таблиця 2

**Чутливість мікроорганізмів, що виявлені у патологічному матеріалі собак, які хворі на панкреонекроз, до антибіотиків (n=19)**

Вид антибіотику	Чутливість
CS, колістину сульфат 2 мкг/мл	Чутливий
DOX, доксициклін 16 мкг/мл	Резистентний
LEV, левофлоксацин 8 мкг/мл	Резистентний
TZP, піперацилін/тазобактам 128/4 мкг/мл	Проміжна резистентність
CIP, ципрофлоксацин 32 мкг/мл	Чутливий
TOB, тобраміцин 8 мкг/мл	Проміжна резистентність
GEN, гентаміцин 16 мкг/мл	Резистентний
SXT, сульфаметоксазол 8 мкг/мл	Проміжна резистентність

Виявлені мікроорганізми проявляли проміжну (Bakker et al., 2012; Baron, & Morgan, 1999) резистентність до піперациліну в комбінації із тазобактамом, тобраміцину та сульфаметоксазолу. Найбільша чутливість встановлена до колістину сульфату та ципрофлоксацину.

Перспективи подальших досліджень: передбачається визначення ефективності хіміотерапевтичних засобів за спонтанних випадків панкреонекрозу у собак.

**Висновки**

1. У собак, які хворі на панкреонекроз, інфікування підшлункової залози та навколишніх тканин відбувається завдяки мікроорганізмам KES-групи, а також, меншою мірою *Enterobacter sakazakii* та *Escherichia coli*. Під час проведення дослідження жодного випадку моноінфікування зареєстровано не було.
2. Найбільш ефективними засобами ранньої профілактики гнійних та септичних ускладнень у собак за панкреонекрозу є колістину сульфат та ципрофлоксацин, що підтверджується тестом на чутливість виявленої мікрофлори.
3. Мікрофлора виділена із геморагічного та серозного випоту за панкреонекрозу собак резистентна до гентаміцину, доксицикліну, левофлоксацину та проявляє проміжну резистентність до піперациліну/тазобактаму, тобраміцину і сульфаніламідів – сульфаметоксазолу.

**References**

Bakker, O. J., Van Santvoort, H. C., Van Brunschot, S., Geskus, R. B., Besselink, M. G., Bollen, T. L., ...

Timmer, R. (2012). Endoscopic Transgastric vs Surgical Necrosectomy for Infected Necrotizing Pancreatitis: A Randomized Trial. *JAMA*, 307(10), 1053–1061. [doi:10.1001/jama.2012.276](https://doi.org/10.1001/jama.2012.276).

Baron, T.H., & Morgan, D.E. (1999). Acute necrotizing pancreatitis *The New England journal of medicine*, 340 (18), 1412–1417.

Beger, H.G. (1986). Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study. *Gastroenterology*, 91 (2), 433–438.

Bradley, E. L. (1993). A Clinically Based Classification System for Acute Pancreatitis: Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis. *Archive Surgery*, 128(5), 586–590. [doi:10.1001/archsurg.1993.01420170122019](https://doi.org/10.1001/archsurg.1993.01420170122019)

Chiu, C. H., Lin, T.Y., & Wu, J. L. (1996). Acute Pancreatitis Associated with Streptococcal Toxic Shock Syndrome, *Clinical Infectious Diseases*, 22(4), 724–726. [doi:10.1093/clinids/22.4.724](https://doi.org/10.1093/clinids/22.4.724).

Cusack, T. P., Ashley, E. A., Ling, C. L., Rattanavong, S., Roberts, T., Turner, P., Wangrangsamakul, T., & Dance, D.A.B. (2019). Impact of CLSI and EUCAST breakpoint discrepancies on reporting of antimicrobial susceptibility and AMR surveillance. *Clinical Microbiology and Infection*, 25, 7, 910–911. [doi:10.1016/j.cmi.2019.03.007](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.007).

De Waele, J.J., Vogelaers, D., Blot, S., & Colardyn, F. (2003). Fungal Infections in Patients with Severe Acute Pancreatitis and the Use of Prophylactic Therapy, *Clinical Infectious Diseases*, 37(2), 208–213. [doi:10.1086/375603](https://doi.org/10.1086/375603)

Drudy, D., Mullane, N. R., Quinn, T., Wall, P. G., & Fanning, S. (2006). *Enterobacter sakazakii*: An Emerging Pathogen in Powdered Infant Formula. *Clinical Infectious Diseases*, 42, 7, 1, 996–1002. [doi:10.1086/501019](https://doi.org/10.1086/501019).

DuPont, H. (2012). Approach to the patient with infectious colitis. *Current Opinion in Gastroenterology*, 28(1), 39–46 [doi: 10.1097/MOG.0b013e32834d3208](https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32834d3208).

EUCAST Definitive document (1998). Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology. *Clinical Microbiology and Infection*, 4, 291–296. [doi:10.1111/j.1469-0691.1998.tb00061.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00061.x).

Gurieva, T., Dautzenberg, J. D., Gniadkowski, M., Derde, L.P.G., Bonten, M.J.M., & Bootsma, M.C.J. (2018). The Transmissibility of Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae in Intensive Care Units. *Clinical Infectious Diseases*, 66, (4), 489–493. [doi:10.1093/cid/cix825](https://doi.org/10.1093/cid/cix825).

Kumar, S., Ooi, C.Y., Werlin, S., et al. (2016). Risk Factors Associated With Pediatric Acute Recurrent and Chronic Pancreatitis: Lessons From INSPPIRE. *JAMA Pediatrics*, 170(6), 562–569. [doi:10.1001/jamapediatrics.2015.4955](https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2015.4955).

Maravi-Poma, E. (2003). Early antibiotic treatment (prophylaxis) of septic complications in severe acute necrotizing pancreatitis: a prospective, randomized, multicenter study comparing two regimens with imipenem-cilastatin. *Intensive care medicine*, 29 (11), 1974–1980.

Montgomery, R. S., & Wilson, S. E. (1996). Intraabdominal Abscesses: Image-Guided Diagnosis and Therapy *Clinical Infectious Diseases*, 23(1), 28–36, [doi:10.1093/clinids/23.1.28](https://doi.org/10.1093/clinids/23.1.28).

NCCLS (2019). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M 100*, 29, 68.

Sanchez-Bautista, A., Coy, J., Garcia-Shimizu, P., & Rodriguez, J.C. (2018). From CLSI to EUCAST guidelines in the interpretation of antimicrobial

- susceptibility: what is the effect in our setting? *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 36, 229–232.
- Semrad, C. E. (2011). Approach to the patient with diarrhea and malabsorption. *Cecil Medicine*, 24, 142.
- Tsang, A. T., & Belsley, S. (2017). Acute Pancreatitis After Pancreaticoduodenectomy. *JAMA Surgery*, 152(8), 795–796. doi:[10.1001/jamasurg.2017.1597](https://doi.org/10.1001/jamasurg.2017.1597).
- Validazione del Sistema FAECAL WELL D-ONE in campioni fecali.* Comparazione con metodi tradizionali. FAECAL Well D-ONE Technical File, C.M.P. sas 2013 [In Italian].
- Windsor, J.A. (2011). Infected pancreatic necrosis: drain first, but do it better. *HPB (Oxford)*, 13(6), 367–368.