

## Ontwikkeling van een nieuwe beslissingsboom voor sepsis bij veulens om antibioticagebruik te rationaliseren

*Development of a new decision tree for sepsis in foals to rationalize the use of antibiotics*

K. Broothaers, D. Castelain, B. Pardon

Department of Internal Medicine, Reproduction and Population Medicine,  
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University  
Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Klaartje.broothaers@ugent.be

### SAMENVATTING

Sepsis is een veelvoorkomende, levensbedreigende aandoening bij neonatale veulens, waarvoor frequent kritisch belangrijke antimicrobiële middelen worden ingezet wegens onder andere beperkte diagnosemogelijkheden. Het doel van deze studie was het ontwikkelen van een predictiemodel voor sepsis in de vorm van een beslissingsboom en dit bij veulens tot en met zeven dagen oud enerzijds en tot en met zestig dagen oud anderzijds. Een dergelijke tool zou mogelijk dierenartsen kunnen ondersteunen bij hun beslissing tot het al dan niet inzetten van kritisch belangrijke antibiotica. Een retrospectieve cohortstudie met een populatie van 299 zieke veulens gehospitaliseerd in de paardenkliniek van de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) tussen 2013 en 2021 werd uitgevoerd om de klinische, hematologische en biochemische parameters te evalueren voor hun associatie met sepsis. Er werd een beslissingsboom ontwikkeld enerzijds voor veulens van zeven dagen oud of jonger (n=216) en anderzijds voor dieren van zestig dagen oud of jonger (n=299). De significante parameters voor veulens  $\leq 7$  dagen waren ureum, neutrofielenpercentage, totaal bilirubine, kalium, afwezige zuigreflex, glucose, suf/zwak/lethargie en gewicht. Voor veulens  $\leq 60$  dagen waren dit neutrofielenpercentage, ureum, glucose en totaal bilirubine. Sensitiviteit, specificiteit en accuraatheid waren respectievelijk 62,7%, 85,6% en 74,6% voor veulens  $\leq 7$  dagen. Voor veulens  $\leq 60$  dagen waren de waarden voor sensitiviteit 53,2%, specificiteit 84,6% en accuraatheid 71,0%. Hoewel de bekomen beslissingsbomen potentieel hebben om dieren met sepsis te detecteren, is de sensitiviteit te laag om hun gebruik als enige beslissingstool aangaande de rationalisering van antibioticumgebruik te verantwoorden.

### ABSTRACT

Sepsis is a common, life threatening disease in neonatal foals, for which, partly due to limited diagnostic options, critically important antimicrobials are frequently used. The aim of this study was to develop a prediction model for sepsis, based on decision tree analysis, both for foals of seven days old and younger, and foals of sixty days old and younger. Such a decision support tool holds potential to support veterinarians in their decision making process to use critically important antimicrobials. A retrospective cohort study on a population of 299 sick foals hospitalized at the Faculty of Veterinary Medicine (Ghent University) between 2013 and 2021, was conducted to evaluate clinical, hematological and biochemical parameters for their association with sepsis. Two decision trees were developed, one for foals  $\leq 7$  days (n=216) and one for foals  $\leq 60$  days old (n=299). The significant parameters for foals  $\leq 7$  days were urea, percentage of neutrophils, total bilirubin, potassium, absent suckling reflex, glucose, weakness/lethargy and weight. For foals  $\leq 60$  days old, these were percentage of neutrophils, urea, glucose and total bilirubin. Although the obtained decision trees show potential to detect sepsis in foals, the sensitivity rate was too low to justify their use as a single test to rationalize antimicrobial use.

## INLEIDING

Sepsis bij veulens is de belangrijkste oorzaak van sterfte bij neonaten tot en met de leeftijd van zeven dagen (Furr, 2003; Roy, 2004; Sheats, 2019; Taylor, 2015). Ondanks nieuwe wetenschappelijke inzichten en een toename van zorg en hygiëne bij veulens, blijft het risico om sepsis te ontwikkelen groot. Gemiddeld overleeft 60% van de septische veulens, met een range van 45% tot 81%, waarbij de overlevingskans groter is indien er een snelle diagnose wordt gesteld en de behandeling meteen wordt opgestart (Theelen et al., 2019; Hytychová en Bezděková, 2015; Taylor, 2015). Deze aandoening kan snel in negatieve zin evolueren en is zeer arbeidsintensief en duur voor eigenaar en dierenarts (Dunkel en Corley, 2015; Taylor, 2015). De overlevingskansen zijn groter in vergelijking met de jaren tachtig van de vorige eeuw (ongeveer 25% overlevingskans in 1980 versus 60% anno 2024), mede doordat er meer over de aandoening bekend is en de behandeling gericht en effectiever is (Wilkins, 2009; Marsh en Palmer, 2001; Paradis, 1994). Er is echter ook een negatieve evolutie op te merken. Zo is er een opkomst van grampositieve isolaten (20-27% in de jaren 1970 versus 30-36% in 2024) en worden er meer multiresistente bacteriën geïsoleerd bij septische veulens (Giancola en Hart, 2023; Theelen et al., 2014a; Marsh en Palmer, 2001). De meest voorkomende pathogenen die worden geïsoleerd bij sepsis zijn *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Actinobacillus* spp., *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Stafylococcus* spp. en *Pasteurella multocida* (Castelain et al., 2023; Theelen et al., 2020; Magdesian, 2017; Marsh en Palmer, 2001;).

Wat de diagnostiek voor sepsis betreft, is het nemen van een bloedcultuur nog steeds de meest gebruikte techniek. Aangezien het 48 tot 72 uur duurt voor de resultaten beschikbaar zijn en omdat de sensitiviteit 66%-80% bedraagt, is het niet aan te raden te wachten op de resultaten voor zowel de diagnose als het instellen van de behandeling (Wong et al., 2018; Taylor, 2015; Furr, 2003). Ook werden er verschillende sepsisscoresystemen ontwikkeld die de waarschijnlijkheid van sepsis proberen te voorspellen op het moment van het aanbieden van de patiënt. Hiervan bestaan verschillende modellen, waarbij het originele systeem ontwikkeld werd in 1988 door Brewer en Koterba (Dunkel en Corley, 2015; Brewer en Koterba, 1988). Aan de hand van 14 klinische, hematologische en biochemische parameters wordt er een score toegekend aan het veulen. Indien deze score twaalf of meer bedraagt, wordt het veulen als septisch beschouwd (Furr, 2003). Dit sepsis-scoresysteem werd meermaals onder de loep genomen en er werd getracht een aangepast sepsis-scoresysteem te ontwikkelen om klinisch praktischer te kunnen werken. Er werden enkele factoren, waaronder metabole acidose en PaO<sub>2</sub>, geschrapt omdat ze in de praktijk niet altijd te

meten zijn en de “cut-off point” werd 11 in plaats van 12 (Wong et al., 2018; Weber et al., 2015; Corley en Furr, 2003). Toch zijn ook hierbij de sensitiviteit en specificiteit vaak teleurstellend door individuele verschillen. Zo waren deze niet 94% en 86%, zoals origineel bepaald werd, maar respectievelijk 56%-67% en 73%-76% (Dunkel en Corley, 2015; Weber et al., 2015; Brewer en Koterba, 1988).

De behandeling van sepsis bestaat enerzijds uit ondersteunende therapie, zoals het verzorgen van wonden, de thermoregulatie optimaliseren en het toedienen van vloeistoffen, plasma en zuurstof indien nodig (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015; Furr, 2003). Anderzijds is het nodig om zo snel mogelijk een antibioticakuur op te starten, bij voorkeur met intraveneuze, bactericide breedspectrumantibiotica (Magdesian, 2017). Alhoewel de eerste keuze een combinatietherapie is van ampicilline en amikacine, wordt er vaak gebruik gemaakt van een cefalosporine uit de derde generatie, meestal ceftiofur (Floyd et al., 2021; Theelen et al., 2019, 2014b; Bucca et al., 2011; Furr, 2003;). De effectiviteit is echter hoger bij een combinatietherapie van amikacine-ampicilline (91,5% ten opzichte van 86,3% bij een therapie met ceftiofur) (Theelen et al., 2019). Een groot nadeel van deze behandeling is dat dit intraveneus tot wel vier keer per dag moet worden gegeven, iets wat in de eerstelijnspraktijk moeilijk te realiseren valt (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015). Aangezien volgens de WHC de derdegeneratie-cefalosporines op de lijst staan van “kritisch belangrijke antibiotica met de hoogste prioriteit voor de mens”, zouden deze enkel gebruikt mogen worden indien er een vermoeden is van bacteriële infectie. Een klinisch onderzoek en staalname moeten worden uitgevoerd voordat het antibioticum toegediend wordt. Daarenboven moeten de antibiotica in lagere categorieën uitgesloten zijn, tenzij het gaat over een levensbedreigende situatie. De dierenarts moet hierbij besluiten dat een kritisch antibioticum de enige behandeling is die het leven van het dier kan redden (Art 67-69, KB 21 juli 2016 betreffende de voorwaarden voor het gebruik van geneesmiddelen door de dierenartsen en door de verantwoordelijken van de dieren, BS 07/29/2016, 46.569). Op 10 augustus 2023 werd er een gewijzigde versie van dit koninklijk besluit gepubliceerd, waarbij deze wetgeving niet enkel in de nutsdierensector geldt, maar ook van toepassing is voor paarden en gezelschapsdieren. Deze zal van kracht zijn vanaf 1 september 2024.

Om enerzijds het antibioticumgebruik te rationaliseren en overbodig gebruik van breedspectrum- of kritisch belangrijke antibiotica terug te dringen, en anderzijds de overlevingskansen van het veulen te maximaliseren, is er nood aan beslissingsondersteunende tools die op het moment van eerste aanbieding kunnen ingezet worden. Deze tools zouden een essentiële factor kunnen zijn om het antibioticumgebruik bij veulens te rationaliseren. Het doel van deze studie was

het ontwikkelen van een predictiemodel voor sepsis bij veulens  $\leq 7$  dagen en  $\leq 60$  dagen, aangeboden aan de Faculteit Diergeneeskunde (UGent), gebruik makend van een beslissingsboom, in de hoop een hogere sensitiviteit en specificiteit te verkrijgen dan de momenteel beschikbare sepsisscoremodellen.

## MATERIAAL EN METHODEN

Een retrospectieve cohortstudie werd opgesteld. Een totaal van 299 veulens van maximum zestig dagen oud met klinische tekenen van sepsis aangeboden tussen 2013 en 2021 op de dienst Inwendige Ziekten van de Grote Huisdieren van de Faculteit Diergeneeskunde (Universiteit Gent) werd ingesloten. De medische voorgeschiedenis, de klinische parameters, eerder gekregen medicatie, uitkomst van de bloedcultuur en de toegediende behandeling werden genoteerd en geanalyseerd voor alle veulens.

Van alle veulens werd op een steriele manier bloed genomen uit de vena jugularis of de vena cephalica op minstens twee verschillende plaatsen. De hals of het voorbeen werd ruim geschoren, geschrubd met chloorhexidineoplossing en ontsmet met alcohol. Met steriele handschoenen, een steriele naald en steriele spuit werd tien tot twintig milliliter bloed afgenomen. Eén tot drie milliliter bloed werd in een BD BACTEC Peds Plus/F™ (Becton, Dickinson and Company, Temse, België) geïnjecteerd. Deze stalen werden gecultiveerd en geanalyseerd in een BACTEC™-systeem. Wanneer de bloedcultuur positief was, werd het staal op een bloedagar geënt om deze te identificeren. Als er een bacterie werd geïsoleerd, werd er ook een antibiogram opgesteld aan de hand van de disk-diffusiemethode. De behandeling en prognose van de veulens lagen niet binnen het doel van deze studie, waardoor deze in het voorliggende onderzoek niet worden vermeld.

Aan de hand van de bloedcultuur in combinatie met het voorkomen van klinische tekenen werden twee groepen gemaakt: de septische en de niet-septische veulens. Een veulen werd in de populatie van septische veulens ingesloten als de BACTEC™ positief was en indien het dier klinische tekenen van sepsis vertoonde. Op basis van alle klinische, hematologische en biochemische parameters werd bepaald wat de statistisch significante klinische tekenen waren die de diagnose van sepsis mee konden bepalen. Een parameter werd beschouwd als significant indien de P-waarde  $< 0,05$  was. De cut-off-waarde voor elke parameter werd bepaald aan de hand van een “receiver operating characteristic” curve (ROC)-analyse.

Deze parameters werden geanalyseerd via univariabele analyse en daarna gebruikt om een CRT-beslissingsboom (“classification and regression tree analysis”) op te stellen in SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Daarbij werden de

**Tabel 1. Diergegevens van de 299 veulens die in deze studie werden opgenomen.**

Diergegevens	Categorie	N (299)
<b>Rassen</b>	Warmbloed	197
	Volbloed	11
	Koudbloed	9
	Pony	12
	Ongekend	70
<b>Geslacht</b>	Hengstenveulen	154
	Merrieveulen	137
	Ongekend	8
<b>Leeftijd</b>	$\leq 7$ dagen	216
	$\leq 60$ dagen	299

“child node” en “parent node” respectievelijk als 20 en 10 ingesteld om een zo hoog mogelijke accuraatheid, specificiteit en sensitiviteit te bekomen. Er werden twee verschillende bomen gemaakt, één voor de populatie van veulens tot en met zeven dagen oud en één voor de gehele populatie van veulens vanaf dag één tot en met zestig dagen oud.

## RESULTATEN

### Diergegevens

In totaal werden 299 gehospitaliseerde veulens opgenomen in de studie (Tabel 1). De inclusiecriteria waren veulens met klinische tekenen van sepsis waarvan een BACTEC™ was genomen. Van alle veulens waren 197 dieren (65,9%) een warmbloed, 12 (4,0%) een pony, 11 (3,6%), een volbloed, 9 (3,0%) een koudbloed en 70 (23,4%) ongekend. Van de populatiegroep waren 154 (51,5%) hengstenveulens, 137 (45,8%) merrieveulens en bij 8 (2,7%) was het geslacht niet genoteerd. Van de 299 veulens opgenomen in de studie waren er 216 (72,2%) zeven dagen oud of jonger.

### Klinisch onderzoek

De bloedcultuur van de 299 veulens die in deze studie werden opgenomen, was van 124 veulens positief (41,5%). Bij 166 veulens was het resultaat negatief (55,6%) en bij negen was het resultaat ongekend (3,0%). Van de dieren jonger dan acht dagen werd 47,9% positief bevonden (n=102), van de dieren tussen acht en zestig dagen was dat slechts 35,1% (n=22). Van de 124 positief geteste veulens werden er bij 91 een bacterie geïsoleerd en een antibiogram opgesteld. De vaakst geïsoleerde bacteriën waren *Escherichia coli* 19,6% (n=18), *Actinobacillus equuli* 14,1% (n=13) en *Staphylococcus* spp. 18,5% (n=17).

**Klinische en laboratoriumparameters univariabel geassocieerd met sepsis**

*Klinische parameters*

Aan de hand van de verzamelde data werd er een samenvatting opgesteld met alle gemeten klinische parameters, hun voorkomen in de populatie en de significantie voor sepsis. De volgende klinische parameters waren univariabel significant geassocieerd met sepsis: afwezige zuigreflex (P=0,001), polsfrequentie >90 bpm (P=0,001), leeftijd >2 dagen (P=0,004), gewicht >50 kg (P=0,005), gestuwde mucosae (P=0,008), abnormaal zenuwstelsel (P=0,023), bilaterale entropion (P=0,023) en suf/zwak/lethargisch voorkomen (P=0,026).

*Hematologische en biochemische parameters*

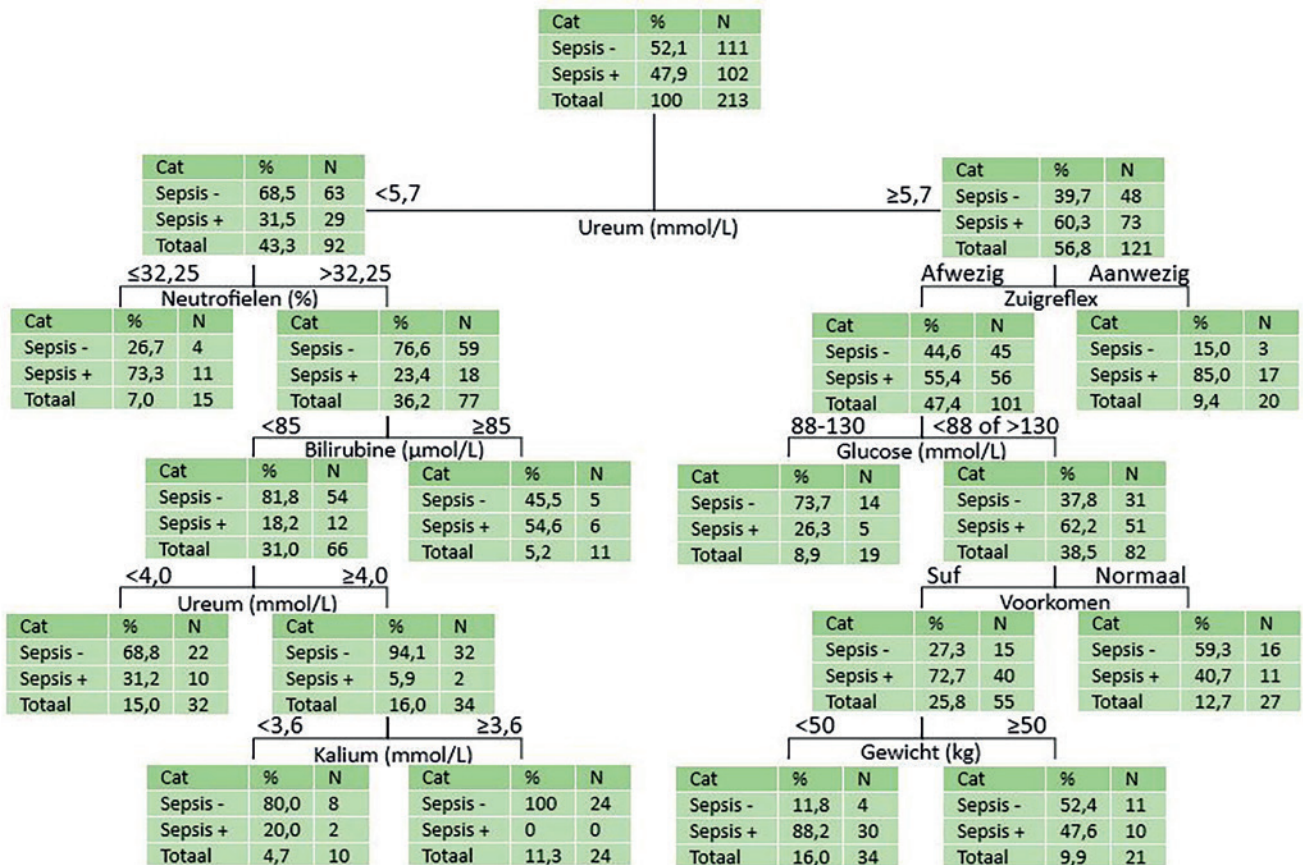
Naast het algemeen klinisch onderzoek werd ook steeds een basis bloedonderzoek uitgevoerd, waarbij de volgende parameters als univariabel significant beschouwd werden: lactaat ≥4 mmol/L (P<0,001), ureum ≥5,7 mmol/L (P<0,001), creatinine ≥129 μmol/L (P<0,001), neutrofielenpercentage continu (P<0,001), lymfocyten% ≥21% (P<0,001), SNAP-foal <8 g/L

(P<0,001), totaal eiwit ≥35 g/L (P<0,001), totaal bilirubine ≥85 μmol/L (P=0,002), kalium <3,6 mmol/L of ≥4,5 mmol/L (P=0,003), glucose <88 mmol/L of ≥152 mmol/L (P=0,004), hematocriet ≥49% (P=0,006), natrium ≥131 mmol/L (P=0,007) en leukocyten <6,92 x10<sup>9</sup>/L (P=0,012).

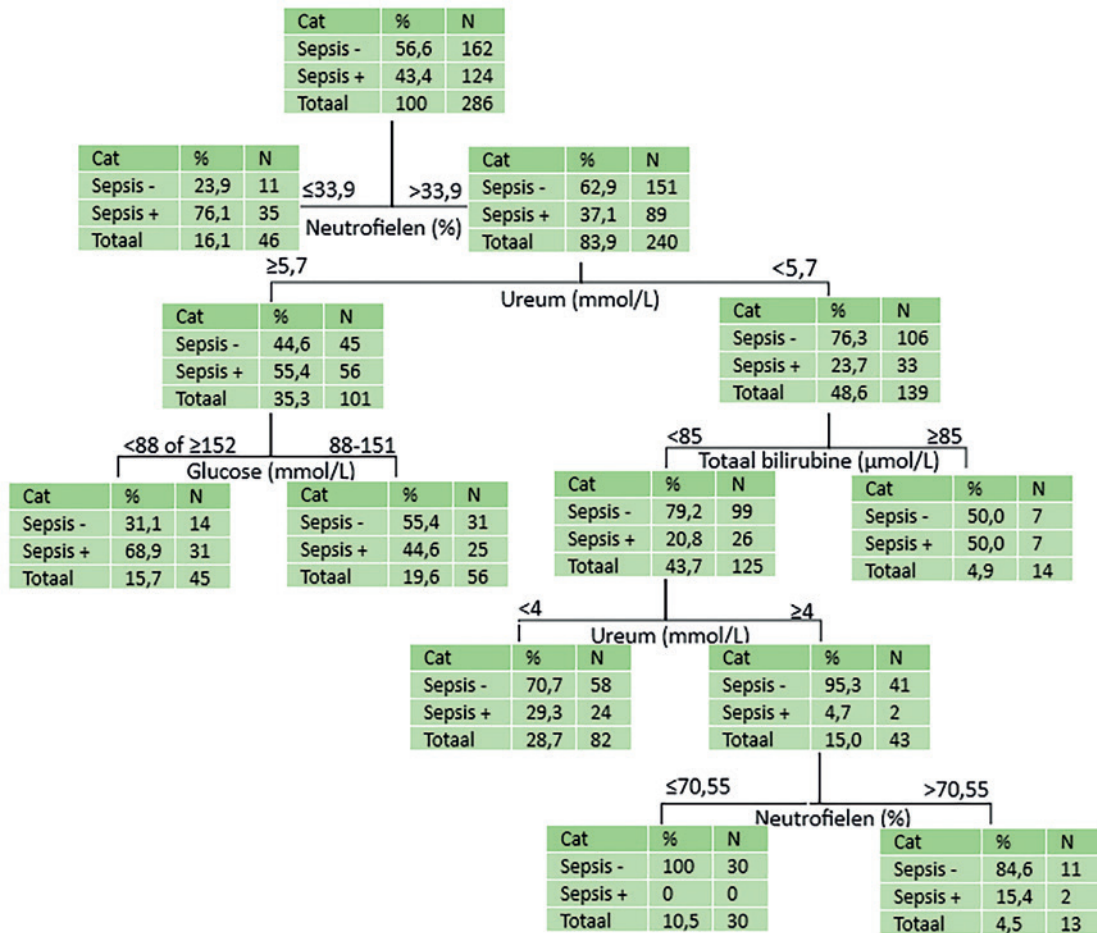
**Predictiemodellen**

Aan de hand van de bovenstaande klinische, hematogene en biochemische parameters werden er twee beslissingsbomen opgesteld, voor zowel de veulens tot en met zeven dagen oud (Figuur 1) als voor de veulens van nul tot en met zestig dagen oud (Figuur 2). Voor beide leeftijdscategorieën werd er gewerkt met een “Classification and Regression Tree” (CRT), wat inhoudt dat er zowel categorische parameters (aanwezig/niet-aanwezig) als continue parameters (waarden boven of onder een grenswaarde) aanwezig zijn.

De beslissingsboom voor veulens tot en met zeven dagen oud bevatte negen knooppunten, waarin de parameters ureum, neutrofielenpercentage, totaal bilirubine, kalium, zuigreflex, glucose, voorkomen en gewicht werden gebruikt om een predictiemodel voor sepsis te maken. Daarbij was de sensitiviteit 62,7%, de specificiteit 85,6% en de uiteindelijke accuraat-



**Figuur 1.** Beslissingsboom (CRT-methode) voor de detectie van sepsis bij veulens van nul tot en met zeven dagen oud, aangeboden voor hospitalisatie. De sensitiviteit bedraagt 62,7%, de specificiteit 85,6% en de accuraatheid 74,6%.



**Figuur 2.** Beslissingsboom (CRT-methode) voor detectie van sepsis bij veulens van nul tot en met zestig dagen oud, aangeboden voor hospitalisatie. De sensitiviteit bedraagt 53,2%, de specificiteit 84,6% en de accuraatheid 71,0%.

heid 74,6%. Voor de veulens tot en met zestig dagen oud, bestond de boom uit zes knooppunten en bleken slechts vier bloedparameters significant te zijn voor de determinatie van sepsis. Deze waren neutrofielenpercentage, ureum, glucose en totaal bilirubine. De sensitiviteit hiervan bedroeg 53,2%, de specificiteit 84,6% en de accuraatheid 71,0%.

**DISCUSSIE**

De prevalentie van sepsis in deze studie was 41,5% (124/229), wat overeenkomt met de gerapporteerde prevalentie in de literatuur (tussen 8 en 45%) (Gayle et al., 1998; Brewer en Koterba, 1988). In de voorliggende studie werd ervan uitgegaan dat veulens als septisch kunnen worden beschouwd indien de bloedcultuur positief is en het veulen klinische tekenen vertoont. Deze diagnostische techniek, die beschouwd wordt als de meest sensitieve en specifieke test, is echter niet waterdicht. De lange wachttijd voor resultaten buiten beschouwing gelaten, kan het resultaat van een BACTEC™ valsnegatief zijn door meerdere redenen (Wong et al., 2018; Taylor, 2015). Zo kan een te laag aantal bacteriën, bijvoorbeeld door een zeer

vroege bemonstering, een vertekend beeld geven. Het is daarom raadzaam om op verschillende tijdstippen en locaties en tevens parallel te testen, bloed te nemen en te cultiveren om zo de kansen op een correct resultaat te vergroten (Hytychová en Bezděková, 2015). Daarnaast wordt er soms te weinig staal in een bloedcultuurfles opgenomen door de collectie van een te klein volume bloed tijdens staalname. Normaal is er voor de standaard gebruikte BACTEC™-flessen 5 ml aseptisch geïncubeerd bloed nodig, maar soms worden de flessen met slechts 1-3 ml bloed gevuld. Ook moet men indachtig zijn dat het hier gaat om pediatrische bloedcultuurflessen, die voor de humane geneeskunde ontworpen zijn. De effectiviteit om veterinaire pathogenen uit bloedstalen op te kweken in deze cultuurflessen werd nog niet aangetoond en kan dus ook een mogelijke reden zijn waarom er een onderschatting is van het aantal positieve veulens (Dumoulin et al., 2010; Russell et al., 2008). Aangezien de staalnames voor de bloedcultuur op een steriele wijze worden verkregen, wordt de kans op valspositieve resultaten geminimaliseerd, maar er kan hiervoor nooit een nulgarantie gegeven worden. Een verkeerde techniek voor staalname, het aanprikken van een lokale infectie of contaminatie van het staal zijn de meest

voorkomende redenen voor een valspositief resultaat (Del Prete et al., 2021; Furr en McKenzie, 2020; Bohlin et al., 2019; Russell et al., 2008; Wilson en Madigan, 1989). Gezien er echter voorlopig geen gouden standaard bestaat voor het bepalen van sepsis in vivo, was een positieve BACTEC™ in deze studie de meest aangewezen methode om een onderscheid te maken tussen septische en niet-septische veulens.

De parameters die in de beide beslissingsbomen voorkomen, zijn voornamelijk hematologische en bio-chemische parameters. Dit is te verklaren door het feit dat klinische tekenen vaak pas later optreden na invasie van een pathogeen en zijn vaak subjectief bepaald (zuigreflex, lethargie, etc.) (Sheats, 2019; Theelen et al., 2019; Stearns-Kurosawa et al., 2011; Furr, 2003). In andere sepsis-scoresystemen wordt er ook gewerkt met klinische parameters en bloedwaarden, maar geen enkele bereikt een voldoende hoge sensitiviteit of specificiteit om alleenstaand gebruikt te worden. Dit is bij deze beslissingsbomen niet anders. Alle parameters die gebruikt worden in deze predictiemodellen zijn ook (patho)fysiologisch te verklaren als voorspeller van sepsis. Zo is een verhoogd ureum bij septische patiënten het gevolg van hypoperfusie door zowel dehydratie als een verminderde cardiovasculaire functie (Jones en Puskarich, 2009; Parrillo, 1990). Sepsis veroorzaakt hypovolemie door veneuze en arteriële dilatatie en een mogelijke cardiovasculaire depressie kan het gevolg zijn van septische shock die een myocardiale dysfunctie veroorzaakt in combinatie met een vasodepressie en capillaire lekkage (Delinger, 2003; Parrillo, 1990; Parker, 1984). Een daling in het percentage neutrofielen is uit te leggen doordat sepsis overall in het lichaam een massale acute infectie veroorzaakt (Shen et al., 2017). In normale omstandigheden zijn neutrofielen namelijk verantwoordelijk voor het onder controle houden van infecties. Bij sepsis is deze infectie echter oncontroleerbaar en ontstaat er een continue vraag naar neutrofielen die niet kan worden verzadigd (Stearns-Kurosawa et al., 2011). Zo ontstaat er een depletie in neutrofielen, maar recente studies in de humane geneeskunde suggereren ook dat er een dysregulatie is van het immuunsysteem, waardoor de migratie van neutrofielen en hun antimicrobiële werking worden verstoord (Sheats, 2019). Een andere parameter die in de beslissingsbomen voorkomt, is totaal bilirubine. Een verhoogd totaal bilirubine kan fysiologisch zijn bij jonge dieren door een relatief groter vloeistofvolume, een kortere halfwaardetijd van erythrocyten, insufficiëntie in het conjugeren van bilirubine en een verminderde excretie van bilirubine (Magid, 2006). Het is echter ook pathofysiologisch mogelijk door een endotoxemie, hemolyse of hepatische verstoring (Shah et al., 2023). Bij sepsis komt dit door cholestasis of directe schade aan de hepatocyten door bacteriële producten of de gastheerrespons op bacteriële toxines (Nessler et al., 2012).

Een hypo- of hyperglycemie zijn beide een predictor voor sepsis. Een neonataal veulen heeft van nature

een laag vetgehalte en een verminderde glycogeenopslag, maar indien het veulen niet drinkt zal er een tekort aan glucose ontstaan (Kinsella et al., 2022). Daarnaast is de hypoglycemie bij sepsis ook mogelijk het resultaat van een verhoogd katabolisme en asfyxie, wat zorgt voor een versneld glucosemetabolisme (Hollis et al., 2008; Mendoza et al., 2005). Hypoglycemie is een voorspellende waarde voor sterfte bij zieke veulens, voornamelijk waarden onder 2,8 mmol/L (<50 mg/dL) (Wintergerst et al., 2006). (Extreme) hyperglycemie is ook een voorspeller van sterfte, zeker indien de waarden hoger zijn dan 10,1 mmol/L (>180 mg/dL) (Hollis et al., 2008). Deze verhoging in glucose is dan weer te verklaren door insulineresistentie, parenterale voeding met dextrose-infusen, stress of een carbohydraatintolerantie (McKenzie III, 2018). Naast glucose is er mogelijk ook een verlaging in kalium te merken bij septische veulens. Dit gaat vergezeld met een verhoging van de natriumwaarden, beide te verklaren door een progressief falen van het Na-K-pompmechanisme (McKenzie III, 2018; Illner en Shires, 1982). Een cardiovasculaire depressie en een verminderde bloedvloeit in de nieren dragen bij tot het verlaagde gehalte aan extracellulair kalium (Tongyoo et al., 2018).

De opvallendste waarden die afwezig zijn in de lijst van biomerkers in deze beslissingsbomen zijn immunoglobuline G (SNAP-foal test), SAA en lactaat. Een verlaagde SNAP-foal (IgG < 8 g/L) ( $P < 0,001$ ) is iets wat in een klinische setting vaak als eerste alarmbel wordt gezien voor een verhoogde kans op sepsis (Pusterla et al., 2002). Ook lactaat ( $P < 0,001$ ) kwam niet als een essentiële discriminerende factor uit de classificatie en regressieanalyse. Nochtans is hyperlactatemie (>4 mmol/L) een bekende en veelgebruikte marker voor sepsis en werd ook aangetoond als een voorspellende factor van sterfte (Castagnetti et al., 2010; Wotman et al., 2009; Corley et al., 2005). Daarnaast is het opmerkelijk dat ook SAA niet als significante factor uit de analyse kwam ( $P < 0,05$ ). De reden hiervoor zou kunnen liggen bij de cut-off-waarde in deze studie. In de literatuur wordt er namelijk gesproken van een drempelwaarde van 100 µg/ml die bepalend kan zijn om veulens met een infectie of sepsis te onderscheiden van gezonde veulens, terwijl er in het huidige onderzoek een cut-off van 50 µg/ml werd bepaald aan de hand van een ROC-curve (Barr en Nie-man, 2022; Hoeberg et al., 2022).

Het is opmerkelijk dat veulens boven de 50 kg een significant hogere kans hebben om als septisch gediagnosticeerd te worden. In de beslissingsboom van veulens jonger dan zeven dagen oud wordt deze parameter gebruikt om bij de suffe en lethargische veulens een onderscheid te maken tussen septische en niet-septische veulens, waarbij in de huidige studie 88,2% van de veulens  $\geq 50$  kg een positieve BACTEC™ hadden. Bij de veulens <50 kg was dit 47,6%. Het is weinig waarschijnlijk dat een hoger gewicht op zichzelf een predisponerende factor is voor sepsis, maar dit

zou wel gelinkt kunnen zijn aan het ras of de voedingstoestand. In deze studie had het ras op zich geen significant effect op sepsis, maar gezien deze factor vaak niet of verkeerdelijk was genoteerd in de data, was het moeilijk om hierover een uitspraak te doen.

Het klinische beeld kan na het oplopen van een besmetting snel veranderen. Op enkele uren tijd kan een klinisch gezond veulen erge tekenen vertonen. Vaak zijn een verminderde tot afwezige zuigreflex, veel slapen en lethargie de eerste tekenen die de eigenaar zelf opmerkt (Taylor, 2015). Deze tekenen worden ook als discriminerend beschouwd in de beslissingsboom voor sepsis bij veulens van zeven dagen of jonger. Het is echter niet altijd makkelijk om deze parameters objectief te bepalen en deze tekenen kunnen pas laattijdig optreden (Sheats, 2019; Theelen et al., 2019; Taylor, 2015; Roy, 2004). Dit is waarschijnlijk zowel van deze studie als van het sepsis-scoresysteem de grootste valkuil: aangezien het bepalen van de parameters een statisch gegeven is, kan dit een vertekend beeld geven over de toestand van het veulen (Sheats, 2019; Furr, 2003). Beide diagnostische middelen geven enkel de huidige toestand weer, maar deze kan in enkele uren tot dagen enorm verschillen (Wong et al., 2018; Dunkel en Corley, 2015; Roy, 2004; Sobiraj et al., 2001).

Om de tijd te overbruggen tussen de staalname en het resultaat, kan er in afwachting een breedpectrumantibioticum gegeven worden, indien er goede indicaties zijn dat het veulen septisch zou zijn of nood heeft aan een vroege opstart van antibiotica (Floyd et al., 2021; Theelen et al., 2020, 2019; Magdesian, 2017; Hepworth-Warren et al., 2015; Corley en Hollis, 2009; Russell et al., 2008). Momenteel kiezen veel dierenartsen ervoor om derdegeneratiecefalosporines, vaak ceftiofur, te geven, omdat de toedieningsweg gemakkelijk is (intramusculair, twee keer per dag) en de breedpectrumwerking ervan doeltreffend is (Theelen et al., 2020, 2014b; Bucca et al., 2011). Volgens de studie van Theelen et al. (2019) blijkt de effectiviteit echter hoger te zijn bij de combinatie van amikacine-ampicilline (91,5% ten opzichte van 86,3% met ceftiofur) (Theelen et al., 2019). Een groot nadeel van deze behandeling is echter dat dit intraveneus tot wel vier keer per dag moet worden toegediend, iets wat in de eerstelijnspraktijk moeilijk is om te realiseren (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015). Aangezien een veulen met sepsis het best in een goed uitgeruste kliniek wordt behandeld, is het daarom bij het minste vermoeden van sepsis aan te raden om het veulen door te verwijzen naar een tweede- of derdelijnskliniek (Theelen et al., 2019). Daar kan de opvolging veel nauwkeuriger gebeuren en is het makkelijker om intraveneuze medicatie toe te dienen op de nodige tijdstippen, wat de overlevingskansen van het veulen aanzienlijk verhoogt (Dunkel en Corley, 2015; Sobiraj et al., 2001; Wilkins, 2009).

Er is een zichtbaar onderscheid tussen de beslissingsbomen van veulens tot en met zeven dagen oud

en tot en met zestig dagen oud. Niet alleen worden er andere parameters gebruikt in de predictiemodellen, ook verschillen de specificiteit, sensitiviteit en accuraatheid onderling. De beslissingsboom van de veulens tot en met zeven dagen oud bevat een specificiteit van 85,6%, een sensitiviteit van 62,7% en een totale accuraatheid van 74,6%. Dit wil zeggen dat er nog ongeveer 37% valsnegatieve resultaten worden voorspeld aan de hand van deze beslissingsboom, of iets meer dan één op drie veulens zou foutief worden aanzien als niet-septisch en zou misschien te laat een gepaste behandeling krijgen. Ook zou ongeveer één op zes veulens foutief aangeduid worden als septisch en onnodig breedpectrumantibiotica krijgen. Aangezien de sensitiviteit van een bloedcultuur tussen de 68% en 88% ligt, is het predictiemodel voor veulens jonger dan acht dagen een minder goede manier om een voorspelling te maken van de diagnose (Furr, 2003), ook al is het resultaat van de beslissingsboom direct beschikbaar en laat dat van het bacterieel onderzoek enkele dagen op zich wachten en dus te laat komt om de antibioticumkeuze te sturen.

De beslissingsboom voor veulens jonger dan zestig dagen is qua sensitiviteit nog lager in waarde. Met een specificiteit van 84,6%, een sensitiviteit van 53,2% en een accuraatheid van 71,0% kan ook hier een redelijke uitspraak gedaan worden over de negatief geteste dieren. Dit is vergelijkbaar met de boom van de veulens tot en met zeven dagen oud, met slechts 15% valspositieve veulens. Ondanks de behoorlijke accuraatheid is deze boom niet geschikt om te gebruiken in de diagnose van sepsis omdat de kans dat een septisch veulen correct wordt aangeduid als septisch, slechts correct is in één op twee gevallen. Hierdoor wordt de helft van de zieke veulens die breedpectrumantibiotica en intensieve zorgen moeten krijgen, gemist, wat voor een fatale afloop kan zorgen. Een optie om de beslissingsboom te optimaliseren, zou de introductie van een gezonde populatie veulens als negatieve controlegroep kunnen zijn. In de voorliggende studie bestond de negatieve controle uit veulens die wel klinische symptomen van sepsis vertoonden, maar mogelijk is er een grotere discrepantie tussen klinische en bloedparameters van gezonde veulens en septische veulens.

Ondanks de relatief hoge specificiteit en accuraatheid zijn de beslissingsbomen door de lage sensitiviteit niet als enige tool inzetbaar in de praktijk. Gezien de hoge specificiteit kunnen de beide predictiemodellen ingezet worden om sepsis uit te sluiten, maar wegens de lage sensitiviteit kan sepsis niet aangetoond worden. Het is in de humane geneeskunde al langer bekend dat modellen op basis van klinische parameters of bloedonderzoek onvoldoende sensitief, specifiek en accuraat zijn (Sokou et al., 2022; Helguera-Repetto et al., 2020; Brewer en Koterba, 1988). Deze predictiemodellen zijn gemaakt op basis van een testpopulatie, maar zouden ook nog gevalideerd moeten worden met een andere populatie. Het is bekend dat dit vaak nog een lagere sensitiviteit en specificiteit te-

weegbrengt, wat het gebruik van de beslissingsbomen nog minder ondersteunt (Munos et al., 2018). Het blijkt dus dat er nog steeds nood is aan nieuwe diagnostische technieken om snel en correct sepsis vast te stellen. Daarbij zouden meerdere testen voor biomerkers een veelbelovende optie kunnen zijn, indien ze bij het parallel testen kunnen worden ingezet om de sensitiviteit te verhogen (Panzani et al., 2015; Pusterla et al., 2006). Er zijn reeds al heel wat opties onderzocht voor mogelijke voorspellende biomerkers, waaronder cortisol, ACTH, interleukines, haptoglobine, SAA, CRP, sCD14, andromedulline, procalcitonine, TNF en endotheline (Nagel et al., 2018; Rütten et al., 2016; Bonelli et al., 2015; Giordano et al., 2015; Zabrecky et al., 2015; Toth et al., 2014; Belgrave et al., 2013; Wagner et al., 2013; Gold et al., 2012; Burton et al., 2009). Geen van deze merkers hebben echter een voldoende sensitiviteit en specificiteit om te kunnen inzetten in de praktijk. Daarbij is het vaak financieel en praktisch niet haalbaar om deze in te zetten als snelle diagnostische techniek voor sepsis, of ze zijn enkel te meten in een experimentele setting en niet verkrijgbaar in de praktijk (Panzani et al., 2015).

Deze studie had enkele beperkingen. Ten eerste was deze studie een retrospectieve cohortstudie, waarbij men moet vertrouwen op de notities uit het verleden. Deze zijn niet altijd volledig, leesbaar of betrouwbaar. Ook gaan er soms aantekeningen verloren, waardoor er bepaalde (cruciale) gegevens gemist worden en er zo een vertekend beeld kan verkregen worden van de patiëntenpopulatie. Sinds de digitalisering van databases is dit echter vergemakkelijkt, aangezien er dan een meer gestandaardiseerde invulling van gegevens kan nagestreefd worden. Ten tweede was er een observatiebias doordat de klinische tekenen en parameters door verschillende dierenartsen geïnterpreteerd werden. Ten derde is de gebruikte populatie van septische veulens niet representatief voor alle veulens in België. De veulens ingesloten in deze studie werden aangeboden aan de Faculteit Diergeneeskunde (Universiteit Gent) en moesten klinische tekenen van sepsis vertonen en een BACTEC™ ondergaan. Er is echter een hele populatie (septische) zieke veulens die nooit werd aangeboden in de dierenkliniek, geen initiële tekenen van sepsis vertoonde of geen BACTEC™ onderging omwille van verschillende redenen (financiële redenen, slechte overlevingskansen, etc.). Daarnaast is een controlegroep met klinische sympto-

men van sepsis niet ideaal om als negatieve controle te gebruiken, gezien een BACTEC™ geen volledige uitsluiting van sepsis kan garanderen. In toekomstige studies zou een gezonde populatie veulens gebruikt kunnen worden als negatieve controlegroep om de predictiemodellen verder te optimaliseren. Ook is het gebruik van de BACTEC™ als bepaling voor het al dan niet septisch zijn, niet ideaal gezien de soms lage sensitiviteit en specificiteit van deze diagnostische test.

De conclusie van deze studie is dat er aan de hand van klinische parameters en een basisbloedonderzoek een algemeen beeld kan worden gevormd over de mogelijke aanwezigheid van sepsis, maar de ontwikkelde beslissingsbomen zijn niet sensitief genoeg om als enige tool de beslissing tot het inzetten van antimicrobiële breedspectrummiddelen te ondersteunen. De toegevoegde waarde van eventuele bijkomende testen voor specifieke biomerkers aan de beslissingsbomen dient geëvalueerd te worden.

## DANKWOORD

Het onderzoek dat tot deze resultaten leidde, werd mede gesubsidieerd door de Belgische Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu via het project RATIOSEP (RF 21/6351).

Dit artikel is gebaseerd op een masterproef diergeneeskunde getiteld 'Predictiemodellen voor sepsis bij veulens om antibioticagebruik te rationaliseren' door Klaartje Broothaers. Deze masterproef ontving de AMCRA-prijs voor de beste thesis over rationeel antibioticumgebruik (2023).

## LITERATUUR

De volledige literatuurlijst kan opgevraagd worden bij de eerste auteur.



© 2024 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).