



H.-Hartziekenhuis Lier

Diagnosis of prosthetic joint infections: towards a BILULU consensus

Author: Katrien Hoet

Supervisor: Apr. Wim Laffut

Date: 7-5-2019

Inleiding

- Prothese infecties compliceren +/- 1 à 2% van alle arthroplasties
- Klinische presentatie varieert:
 - Acute infecties: acute presentatie met typische ontstekingsverschijnselen
 - Chronische infecties: meer indolent verloop met voornamelijk chronische pijn.
 - Eventueel sinus traject
- Oorzakelijke micro-organismen:

TABLE III - FREQUENCY OF MICROORGANISMS CAUSING PROSTHETIC JOINT INFECTION

Microorganism	Frequency (%)
Coagulase-negative staphylococci	30-43
<i>Staphylococcus aureus</i>	12-23
Streptococci	9-10
Enterococci	3-7
Gram-negative bacilli	10-17
Anaerobes	2-4
<i>Candida</i> spp.	1-3
Polymicrobial	10-20
Unknown (culture false-negative)	10-30

Inleiding

- Classificatie:
 - Early-delayed-late
 - Acuut-chronisch
- Behandeling prothese infecties = complex
 - Combinatie van heekunde + langdurige antibiotica therapie
 - DD met aseptische loslating = andere behandeling
- Diagnose = complex
 - Klinische presentatie vaak nonspecifiek
 - Combinatie van kliniek + laboratoriumdiagnostiek + beeldvorming nodig

Aanleiding van CAT

1. Geen procedure beschikbaar voor orthopedisten en labo betreffende PJI
 - Niet correcte stalen worden opgestuurd (eSwabs ipv biopsies)
 - Celtellingen worden vaak vergeten
 - Stalen worden verwerkt per staaltype, niet per pathologie
 - ...

=> Suboptimale diagnostiek op dit moment?

2. Momenteel weinig standaardisatie in diagnostiek van PJI

Doel CAT = Literatuur nagaan betreffende huidige evidentie omtrent diagnostiek

Uiteindelijke doel = opstellen van een bruikbare consensus ter optimalisatie diagnostiek en bevordering standaardisatie in en tussen labo's.

Vragen

- *1) Diagnosis of prosthetic joint infections: what are the current challenges?*
- *2) Diagnosis of prosthetic joint infections: what is the current evidence on laboratory testing?*
- *3) Diagnosis of prosthetic joint infections: towards a BILULU consensus*

1. Diagnosis of prosthetic joint infections: what are the current challenges?

What are the current challenges?

- Verschillende definities
- Microbiologische diagnostiek vaak moeilijk
- Complexe work-up
 - Orthopedisten: correcte testen aanvragen, verschillende staaltypes opsturen
 - Laboratoria: verwerken van verschillende staaltypes, verschillende kweekmedia nodig, verlengde incubaties, ...

Acute infecties stellen meestal minder diagnostische problemen dan chronische infecties

Definitives

Criterion	Definition of prosthetic joint infection					
	Musculoskeletal Infection Society		International consensus		Infectious Diseases Society of America	
	Definitive evidence	Supportive evidence	Definitive evidence	Supportive evidence	Definitive evidence	Supportive evidence
Sinus tract communicating with the prosthesis	x		x		x	
Identical microorganisms isolated from 2 or more cultures	x		x		x	
Purulence surrounding the prosthesis		x			x	
Acute inflammation upon histological examination of periprosthetic tissue		x		x		x
Single culture with any microorganism		x		x		
Single culture with a virulent microorganism						x
Elevated synovial fluid leukocyte count ^b		x		x		
Elevated synovial fluid neutrophil percentage		x		x		
Elevated serum ESR and CRP values		x		x		

^a The MSIS definition requires 4 supportive criteria; the International Consensus Meeting definition requires 3 supportive criteria. Data are from references 60, 61, and 251. ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

^b The International Consensus Meeting definition also includes a “++” result on the leukocyte esterase strip.

Diagnostic test	Criteria	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Clinical features	Sinus tract or visible purulence*	20-30	100
Histology in periprosthetic tissue	Acute inflammation in periprosthetic tissue [†]	95-98	95-98
Leukocyte count in synovial fluid [‡]	>2,000/ μ L leukocytes or >70% granulocytes	93-96	93-96
Microbiology (culture)	Synovial fluid or	60-80	97
	Tissue samples [§] or	70-85	92
	Sonication fluid (≥ 50 CFU/mL)	85-95	95

* Metal-on-metal bearing components can simulate pus, but leukocyte count is usually normal, but metal debris visible.

[†] Acute inflammation defined as ≥ 2 granulocytes per high-power field.

[‡] Leukocyte cutoffs are not interpretable within 6 weeks of surgery, in rheumatic joint disease, periprosthetic fracture or luxation. Leukocyte count should be determined within 24 hours; clotted specimens are treated with 10 μ L hyaluronidase.

[§] For highly virulent organisms (e.g., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) already one positive sample confirms infection.

^{||} Under antibiotics and for anaerobes, <50 colony-forming unit (CFU)/mL can be significant.

Definitives: Update 2018 Parvizi et al.

Major criteria (at least one of the following)	Decision
Two positive cultures of the same organism	Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis	

Preoperative Diagnosis	Minor Criteria		Score	Decision
	Serum	Elevated CRP <u>or</u> D-Dimer	2	≥ 6 Infected 2-5 Possibly Infected ^a 0-1 Not Infected
		Elevated ESR	1	
	Synovial	Elevated synovial WBC count <u>or</u> LE	3	
		Positive alpha-defensin	3	
		Elevated synovial PMN (%)	2	
		Elevated synovial CRP	1	

Intraoperative Diagnosis	Inconclusive pre-op score <u>or</u> dry tap ^a		Score	Decision
	Preoperative score		-	≥ 6 Infected 4-5 Inconclusive ^b ≤ 3 Not Infected
	Positive histology		3	
	Positive purulence		3	
	Single positive culture		2	

Definities

- Verschillende diagnostische criteria beschikbaar
- Momenteel nog geen set van criteria aanvaard als “gouden standaard”
- Majeure diagnostische criteria +/- gelijk over de definities:
 - Sinus traject
 - Groei van een identieke kiem in minstens 2 culturen (uitz: groei van een virulente kiem in slechts 1 cultuur)

Microbiologische diagnostiek

- Kweken van oorzakelijk kiem bemoeilijkt door:
 - Eventueel voorafgaand antibiotica gebruik
 - Moeilijk kweekbare bacteriën
 - Biofilm
- Differentiatie tussen contaminant en significante pathogeen:
 - Oorzakelijke kiemen behoren tot de commensale huidflora
 - Contaminatie vanuit omgeving mogelijk

⇒ DD contaminant of echte pathogeen?

⇒ Meerdere stalen zijn dus nodig in de diagnostiek:

- Kans op isolatie oorzakelijk kiem vergroten
- Helpen bij de interpretatie igv groei van een typische commensaal (groei in 1 cultuur versus meerdere)

Huidige situatie

- Rondvraag in de BILULU laboratoria
- Welke staaltypes worden gebruikt?
- Op welke problemen stuiten jullie?
- Welke analyses gebeuren er op de stalen (oa. celtelling, gramkleuring)
- Kweekcondities (gebruikte bodems, aanrijkingen, incubatieduur, ...)

Huidige situatie – Huidige problemen

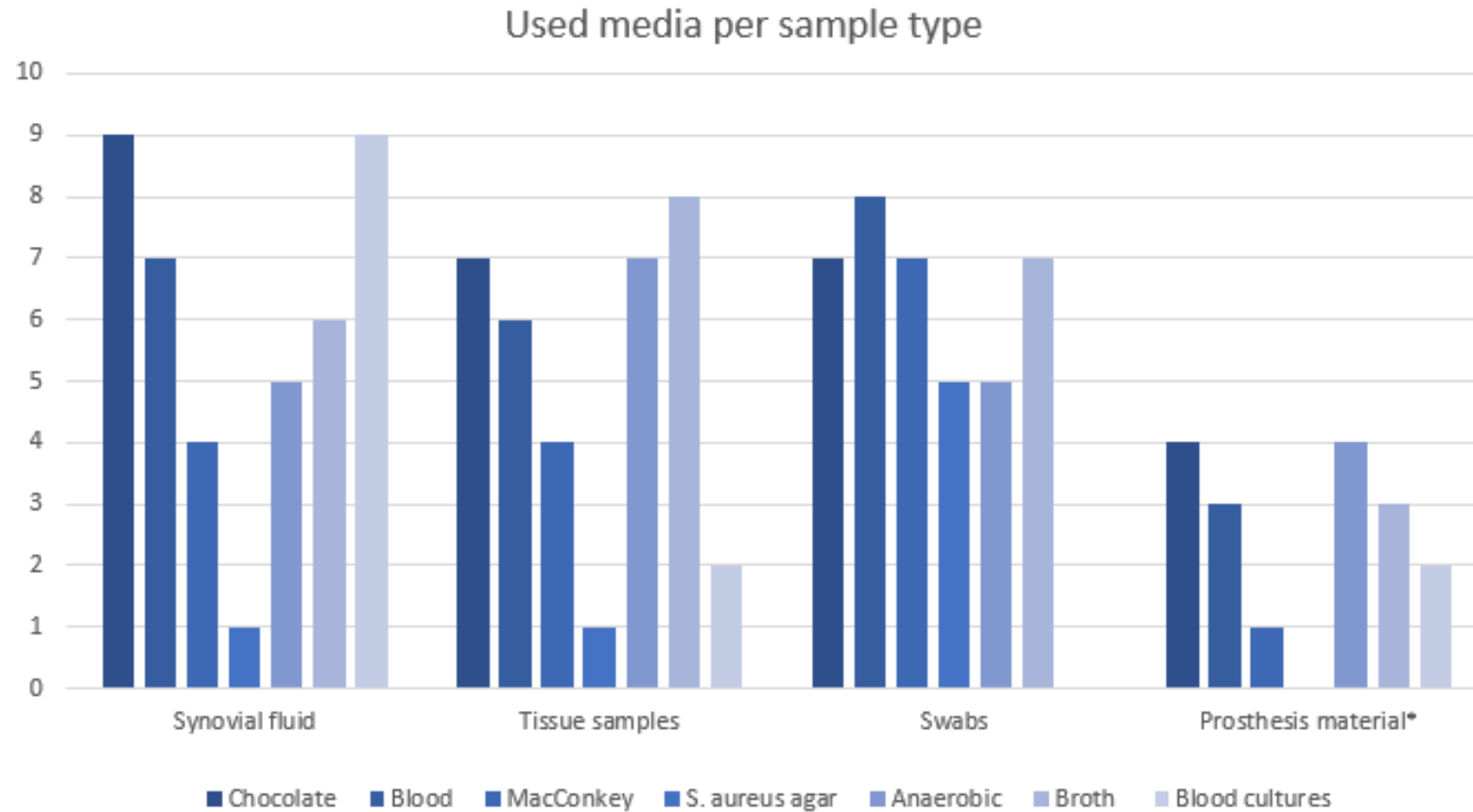
Meest frequente probleem dat werd gemeld:

Celtelling vergeten aan te vragen

Andere problemen die voorkomen:

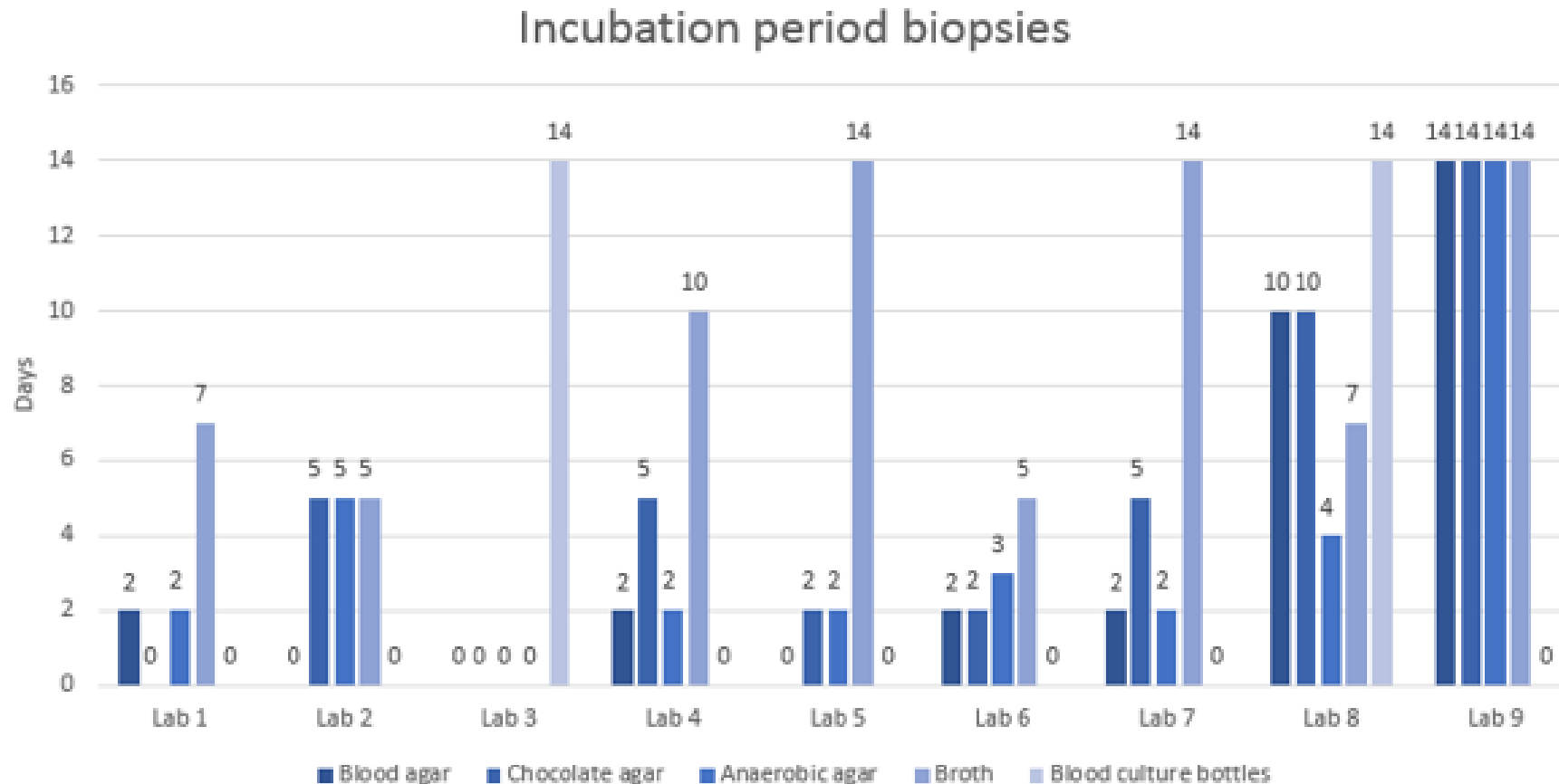
- Peroperatieve wissers ipv weefselbiopsies
- Te weinig biopsies
- Synoviaal vocht enkel in EDTA tube opgestuurd

Huidige situatie – Overzicht gebruikte media

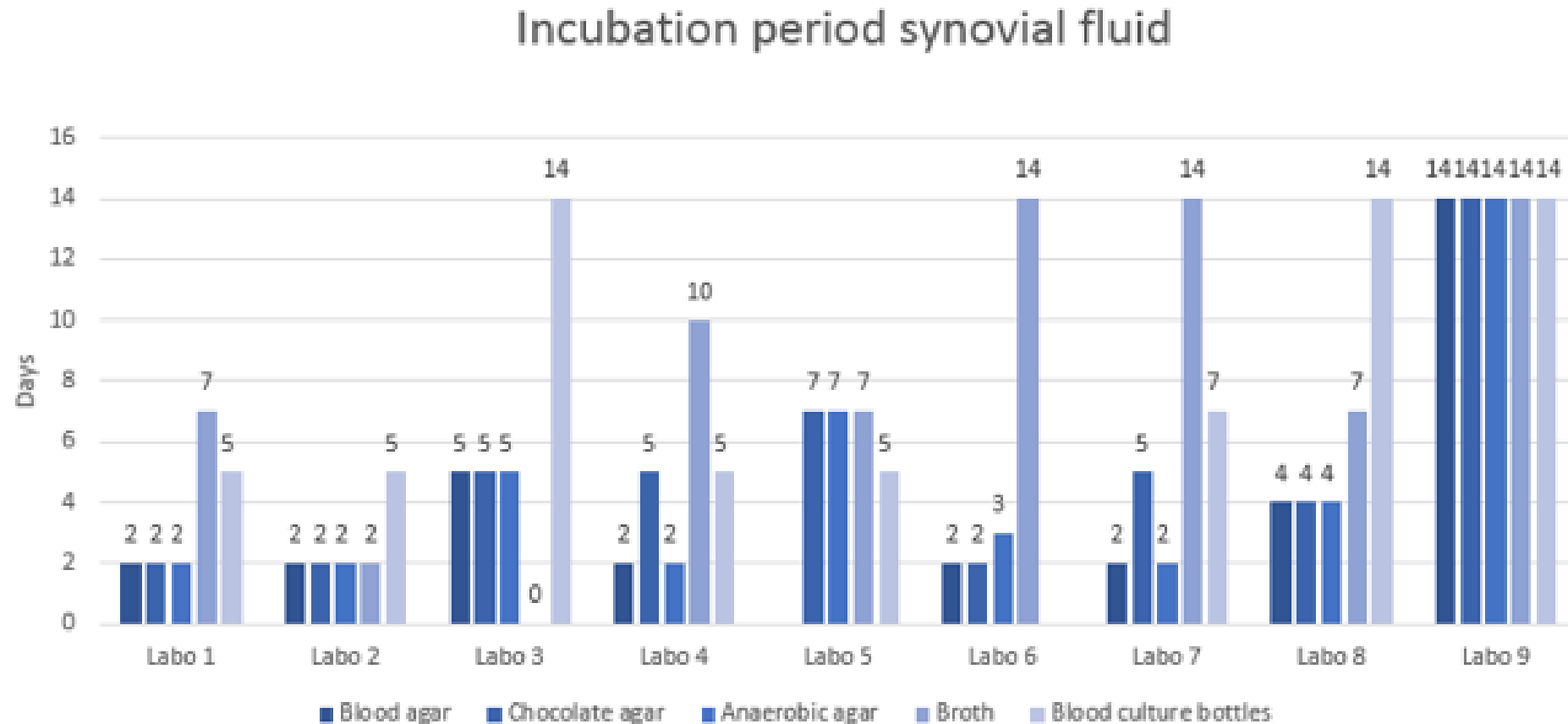


*Sonication fluid: Only 5/9 laboratoria culture prosthesis material. 2/5 use TSB, 3/5 use sonication

Huidige situatie – Incubatie tijd biopsies



Huidige situatie – Incubatie tijd synoviaal vocht



Huidige situatie - Andere

- Gebruikte cut-off voor WBC en PMN% in synoviaal vocht?
 - 4 labo's gebruiken de cut-off levels voorgesteld door de EBJIS
 - 2000 WBC/ μ L
 - PMN 70%
 - Andere gebruiken geen specifieke cut-off
- APO?
 - Momenteel gedaan door 2 labo's

2) Diagnosis of prosthetic joint infections: what is the current evidence on laboratory testing?

What is the current evidence on laboratory testing?

1. Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP)
2. Synoviaal vocht: WBC en PMN%
3. Microbiologie
 1. Welke staaltypes?
 2. Kweekcondities?
 - Media
 - Incubatieduur
4. APO
5. Andere

1. Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP)

- Beperkte waarde in diagnostiek
- Nadelen:
 - Niet specifiek
 - Klein percentage van PJI presenteert met normale ESR en CRP waarden
- Voordelen:
 - Niet invasief, gemakkelijk, snelle TAT
- Kan gebruikt worden in de initiële work-up, maar kan bij klinische verdenking analyse op synoviaal vocht niet vervangen indien negatief.

2. Synoviaal vocht: WBC en PMN%

- Nog geen universeel aanvaarde cut-off levels voor prothese infecties

• TKA:	Trampuz et al. 2004	1700 WBC/ μ L 65% PMN
	Ghanem et al. 2008	1100 WBC/ μ L 64% PMN
	Zmistowski et al. 2012	3000 WBC/ μ L 75% PMN
• THA:	Higuera et al. 2017	3966 WBC/ μ L 80% PMN
	Schinsky et al. 2008	4200 WBC/ μ L 80% PMN
	Cipriano et al. 2012	3450 WBC/ μ L 78% PMN
	Dinneen et al. 2013	1425 WBC/ μ L 65% PMN

2. Synoviaal vocht: WBC en PMN%

- Opmerkingen:
 - Patiënten met inflammatoire gewrichtspathologie werden geëxcludeerd
 - Uitz. Cipriano et al:
 - wel patiënten geïnccludeerd met inflammatoire gewrichtspathologie
 - Geen verschil tussen patiënten met en zonder inflammatoire pathologie
 - Niet van toepassing op vroege post-operatieve periode (<6 weken):
 - Bedair et al. (2011): cut-off levels voor PJI < 6 weken:
 - 27800 WBC/ μ L en 89% PMN (sensitiviteit 84%; specificiteit 99%)
- Schouderprotheses?
 - Weinig gegevens beschikbaar. Hogere cut-offs?

2. Synoviaal vocht: WBC en PMN%

- Wat zeggen de internationale definities?
 - MSIS: “Elevated WBC and PMN%”
 - ICM:
 - >6 weken post-chirurgie: 3000 WBC/ μ L en 80% PMN
 - Maken geen uitzondering voor inflammatoire gewrichtspathologie
 - EBJIS:
 - 2000 WBC/ μ L
 - 70% PMN
 - Niet van toepassing op: <6 weeks post-chirurgie, inflammatoire gewrichtspathologie, periprothetische fractuur of luxatie

3.1 Microbiologie

Welke staaltypes zijn noodzakelijk?

- Synoviaal vocht
- Periprothetische weefselbiopten
- Prothesemateriaal voor sonicatie?
- Geen wissers!

Indien mogelijk, geen antibiotica in 14 dagen voor afname kweken

3.1 Microbiologie – Periprothetische biopsies

- Meerdere biopten noodzakelijk
 - Verhogen kans op isolatie oorzakelijke kiem
 - Nodig voor differentiatie tussen contaminant en pathogeen
- Kamme and Lindberg (1980):
 - 5 biopsies
 - Groei in 2 of minder biopten: contaminatie
 - Groei in 3 of meer biopten: significant
- DeHaan et al. (2013): Cultuur van meerdere biopten hielp bij interpretatie in volgende casussen:
 - 7 casussen bevestigd met infectie door 'skin flora commensal'
 - 11 casussen bevestigd als definitieve contaminatie door een 'skin flora commensal'
 - 8 casussen met virulente organismen enkel gedetecteerd omdat er meerdere culturen waren

3.1 Microbiologie – Periprosthetische biopsies

- Bemer et al. (2016):
 - Welke combinatie en aantal stalen zijn noodzakelijk?
 - Definieert positief voor PJI indien 2 of meer positieve culturen.
 - Conclusie: 4 biopten evenwaardig als 5 biopten.
- Wat zeggen de internationale definities?
 - 3 tot 6 weefselbiopten
 - Positief indien 2 of meer culturen positief (synoviaal vocht en/of biopt)
- Gramkleuring weefselbiopt? Geen meerwaarde.

3.1 Microbiologie – Sonicatie?

- Vele studies bevestigen hogere sensitiviteit van sonicatie versus conventionele cultuur
- Maar..
 - Veel methodologische verschillen tussen studies
 - Verschillend aantal weefselbiopten, incubatieduur, ...
 - Geen gebruik van hemocultuurflessen
 - => Vergeleken met suboptimale kweekcondities van weefsel/synoviaal vocht?
 - Verschillende inclusiecriteria
 - Verschillende thresholds voor sonicatie gebruikt
- => Moeilijk om duidelijke conclusies te trekken

Table S - 1 Summary of published studies comparing sonication and tissue culture for diagnosis of prosthetic joint infection (PJI) and other (Trampuz et al., 2006) orthopaedic device-related infections (DRI).

Author & Year ^(reference)	Case mix ^k	Definition of infection ^l	No. infected cases	No. aseptic cases	% early infection cases ^a	Antibiotics in 14 days prior to surgery, %	Methodology			Sensitivity, %		Specificity, %		
							Number of tissue specimens ^b	Automated liquid culture ^p	Sonication fluid concentrated	Sonication threshold (cfu/ml) ^c	Sonication culture	Tissue culture	Sonication culture	Tissue culture
Trampuz 2006 ¹	PJI	Clinical ²	24	54		54	≥2	Synovial only	No	2	75	54	87	98
Dora 2007 ³	PJI	Other clinical	14	55			mean 4		No	2	71	79	96	98
Trampuz 2007 ²	PJI	Clinical ²	79	252		56	≥2	Tissue	No	10	79	61	89	99
Esteban 2008 ⁴	PJI, DRI	Modified clinical	17 ^d	14 ^d			3 to 5		Yes	10 ^m	94	88	43	100
Piper 2009 ⁵	PJI	Clinical ²	33	101	^g	24	≥2		No/Yes	10	67	55	98	95
Sampedro 2010 ⁵	DRI	IDSA ⁷	36	76	82	>39	2 to 9		No/Yes	10 to 1000 ^l	91	73	97	93
Verdigis 2011 ⁸	PJI	IDSA ⁷	9	27	^g	33	≥2		Yes	0.1 to 2 ^l	89	55	100	93
Bjerkkan 2012 ⁹	PJI	IDSA ⁷	18	36			5		Yes	1.6	82	100	100	100
Gomez 2012 ¹⁰	PJI	Clinical ²	135	231	76 ^h	51 ^e	≥2	Synovial only	Yes	2	73	70	98	99
Borens 2013 ¹¹	PJI, DRI	Modified MSIS	12	27	66		Not stated		No	10 ^m	83	100		
Evangelopoulos 2013 ¹²	PJI	MSIS ¹³	24	10		0	≥2		Not stated	Not stated	71	47		
Janz 2013 ¹⁴	PJI	Modified IDSA	37	65		0	2 to 6		No	Not stated	89	52	72	100
Esteban 2013 ¹⁵	PJI, DRI	Modified IDSA	70 ^d	33 ^d		46 ^f	3 to 5		Yes	100 ⁿ	68	60	94	98
Puig-Verdie 2013 ¹⁶	PJI	IDSA ⁷	109	208	85	6	≥5		No	50	90	67	99	100
Cazanave 2013 ¹⁷	PJI	Clinical ²	144	290		43	≥2	Synovial only	Yes	2	73	70	98	98
Portillo 2014 ¹⁸	PJI	Modified MSIS	69	162	65	48	5		No	2 to 50 ^{im}	81	61	99	100
Yano 2014 ¹⁹	DRI	Clinical ²	125	55		31	≥2, mean 2.9		Yes	0.1 to 5 ^l	90	57	91	96
Janz 2015 ²⁰	PJI	Modified IDSA	31	88			2 to 6		No	Not stated ^l	74	65	85	100
Portillo 2015 ²¹	PJI, DRI	Modified MSIS	69	162		56	Not stated	Sonication only	No	50	87	59	100	100
Puchner 2016 ²²	DRI	MSIS ¹³	23	8		61	Not stated		No	2 ^m	91	52	100	100
Hischebeth 2016 ²³	PJI	Histopathology	47	33			Not stated	Sonication only	Yes	Not stated	72	61	76	77
Rak 2016 ²⁴	PJI	MSIS ¹³	58	29	^g	28	5 to 10		No	Not stated	93	76	77	69
Grosso 2017 ²⁵	PJI	Modified clinical	25	28		0	2 to 8		No	2 to 20	56	96	93	75
Tani 2017 ²⁶	PJI	IDSA ⁷	61	53	^g	0	≥5		No	50	77	56	98	94
Van Diek 2017 ²⁷	PJI	MSIS ¹³	75	177	81	0	≥6		No	50	47	68	99	80
Renz 2017 ²⁸	PJI	EBJIS ³²	78	33		0	Not stated		No	10 to 50 ^l	58	51	100	100
Fernandez-Sampedro 2017 ²⁹	PJI	Modified IDSA	130	368	86	19	3 to 6		Not stated	10 ^m	85	62	100	100
Rothenberg 2017 ³⁰	PJI	MSIS ¹³	178	325			≥2		Yes	10 to 250	93	70	93	98

3.1 Microbiologie – Sonicatie?

- Dudereva et al. (2018):
 - Gemiddeld 5 weefselbiopten, hemocultuurflessen en 10 dagen incubatie
 - Weefselcultuur > Sonicatie
 - Hoogste sensitiviteit wanneer weefsel + sonicatie

TABLE 2 Sensitivity of tissue culture and sonication for diagnosis of prosthetic joint and other orthopedic device-related infections

Reference standard (definition of infection)	Total no. of infected cases	No. of cases positive by each method				Sensitivity, % (95% CI)			P value (tissue vs. sonication)
		Sonication positive		Sonication negative		Tissue or sonication positive	Tissue	Sonication	
		Tissue positive ^a	Tissue negative	Tissue positive	Tissue negative				
PJI									
Clinical	169	96	9	25	39	77 (70–83)	72 (64–78)	62 (54–69)	0.006
Consensus	150	99	6	30	15	90 (84–94)	86 (79–91)	70 (62–77)	<0.001
IDSA	177	100	8	33	36	80 (73–85)	75 (68–81)	61 (53–68)	<0.001
Composite	182	99	14	30	39	79 (72–84)	71 (64–77)	62 (55–69)	0.016
Other orthopedic device-related infection									
Clinical	77	32	3	17	25	68 (56–78)	64 (52–74)	45 (34–57)	0.002
Composite	91	34	11	21	25	73 (62–81)	60 (50–71)	49 (39–60)	0.077
All device-related infections (PJI and non-PJI)									
Clinical	246	128	12	42	64	74 (68–79)	69 (63–75)	57 (50–63)	<0.001
Composite	273	133	25	51	64	77 (71–81)	67 (61–73)	58 (52–64)	0.003

^aSonication positive; sonication culture positive (≥ 50 CFU/ml). Tissue positive; tissue culture positive (i.e., indistinguishable organisms isolated from at least two tissue specimens).

3.1 Microbiologie – Sonicatie?

- Yan et al. (2018)
 - Gelijkaardige studie opzet
 - Sensitiviteit weefselcultuur = Sonicatie
 - Hoogste sensitiviteit wanneer weefselcultuur + sonicatie

TABLE 3 Sensitivity and specificity of microbiological tests using IDSA PJI criteria as gold standard and Bayesian latent-class modeling^a

Specimen or culture	Patients with PJI	Patients with aseptic failure	IDSA PJI criteria as gold standard ^b				Bayesian latent-class modeling ^b		
			Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Prevalence	Sensitivity	Specificity
All joints	104	125					37.2 (31.1, 43.5)		
Tissue culture	69	5	66.4 (56.4, 75.3)*	96.0 (90.9, 98.7)	93.2 (84.9, 97.8)	77.4 (70.0, 83.7)		86.3 (78.3, 92.4)	99.6 (97.7, 100.0)
Sonicate fluid culture	76	0	73.1 (63.5, 81.3)*	100.0 (97.1, 100.0)	100.0 (95.3, 100.0)	81.7 (74.7, 87.5)		88.7 (81.0, 94.3)	99.6 (97.7, 100.0)
Combination ^c	80	5	76.9 (67.6, 84.6)*	96.0 (90.9, 98.7)	94.1 (86.8, 98.1)	83.3 (76.2, 89.0)		99.1 (95.7, 100.0)	99.5 (97.6, 100.0)
Hips and knees	86	101					34.8 (28.4, 41.8)		
Tissue culture	56	2	65.1 (54.1, 75.1)*	98.0 (93.0, 99.8)	96.6 (88.1, 99.6)	76.7 (68.5, 83.7)		88.4 (79.6, 94.7)	99.5 (97.1, 100.0)
Sonicate fluid culture	60	0	69.8 (58.9, 79.2)	100.0 (96.4, 100.0)	100.0 (95.3, 100.0)	79.5 (71.5, 86.2)		91.4 (83.3, 96.5)	99.4 (97.2, 100.0)
Combination	63	2	73.3 (62.6, 82.2)*	98.0 (93.0, 99.8)	96.9 (89.3, 99.6)	81.2 (73.1, 87.7)		98.9 (94.7, 100.0)	99.4 (96.9, 100.0)
Shoulders and elbows	18	24					50.9 (36.1, 65.5)		
Tissue culture	13	3	72.2 (46.5, 90.3)*	87.5 (67.6, 97.3)	81.3 (54.4, 96.0)	80.8 (60.7, 93.5)		68.4 (48.2, 84.3)	96.8 (84.3, 99.9)
Sonicate fluid culture	16	0	88.9 (65.3, 98.6)	100.0 (85.8, 100.0)	100.0 (79.4, 100.0)	92.3 (74.9, 99.1)		80.7 (62.8, 93.1)	96.8 (84.7, 99.9)
Combination	17	3	94.4 (72.7, 99.9)*	87.5 (67.6, 97.3)	85.0 (62.1, 96.8)	95.5 (77.2, 99.9)		97.0 (84.8, 99.9)	96.6 (82.8, 99.9)

^aPPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; *, statistically significant difference from other tests in the same comparison group, $P < 0.05$.

^bValues are % (95% confidence interval) for IDSA PJI and % (95% credible interval) for Bayesian latent-class modeling.

^cCombination includes tissue culture and sonicate fluid culture.

3.1 Microbiologie – Sonicatie?

- Vele variaties in studies maken vergelijking moeilijk
- Optimalisatie weefselcultuur
- Vermoedelijk complementair aan weefselcultuur
 - Meerwaarde voornamelijk in difficult-to-diagnose chronische infecties?

3.1 Microbiologie - Wissers

- Géén plaats in de diagnostiek van PJI: weinig gevoelig
- Geldt zowel voor oppervlakkige (sinus traject) als intraoperatieve wissers
- Bijkomend: Weinig concordantie tussen gekweekte kiemen in oppervlakkige wissers van sinus tract en effectieve oorzakelijk kiem van PJI

3.2 Microbiologie

Welke kweekcondities zijn noodzakelijk?

- Cultuur media:
 - Conventionele media
 - Hemocultuurflessen
- Incubatieduur

3.2 Microbiologie – Conventionele media

Study	Sample type	Aerobic	Incubation time	Anaerobic	Incubation time	Enrichment broth	Incubation time	Blood cultures	Incubation time
(3) Fink et al.	Synovial fluid Tissue samples	Not specified		Not specified		Not specified		Bactec Peds Plus/F + FOS	14 days
(14) DeHaan et al.	Synovial fluid Tissue samples			?	?	Thioglycolate	10 days	Not specified	
(17) Atkins et al. 1998	Tissue samples Sterile diluent Sterile glass beads	Chocolate agar Blood agar	7 days	Blood agar	7 days	Robertson's cooked meat broth	5 days	Blood culture bottles	5 days
(18) Font vicarza et al. 2010	Synovial fluid Tissue samples Swabs							Bactec aerobic 1-3 ml Bactec anaerobic 1-3 ml	5 days
(19) Trampuz et al. 2007	Tissue samples BHI 3ml Synovial fluid Sonication fluid	Blood agar 0,5 ml Chocolate agar 0,5 ml Blood Agar 0,1 ml Chocolate agar 0,1 ml Blood agar 0,5 ml	5 days 5 days 5 days 5 days 5 days	Blood agar 0,5 ml Blood agar 0,1 ml Blood agar 0,5 ml	7 days 7 days 7 days	Thio 0,5 ml Thio 0,1 ml	? ?	Bactec Peds Plus/F > 0,5 ml	5 days
(34) Peel et al.	Tissue samples BHI 5 ml Seward Stomacher Synovial fluid Sonication fluid	Chocolate agar 0,1 ml Blood agar 0,1 ml Blood agar	5 days 5 days 5 days	CDC anaerobic bloodagar 0,1 m CDC anaerobic bloodagar Blood agar	14 days 14 days 7 days	Thioglycolate 1ml Thioglycolate	14 days 14 days	Bactec Plus Aerobic/F 1ml Bactec Lytic/10 Anaerobic/F 1ml Bactec Plus Aerobic/F	14 days 5 days
(38) Bemer et al.2016	Biopsies (bone or tissue) Sterile water Stainless beads Synovial fluid	Chocolate agar 50 µL Blood agar 50 µL	7 days	Blood agar 50 µL	7 days	Schaedler broth 1 ml	14 days	Pediatric blood culture bottle 1 ml	14 days
(39) Portillo et al. 2015	Tissue samples Thio Mortar and pestle Synovial fluid Sonication fluid	Chocolate agar 0,5 ml Chocolate agar 0,1 ml Chocolate agar 0,5 ml	7 days 7 days 7 days	Schaedler agar 0,5 ml Schaedler agar 0,1 ml Schaedler agar 0,5 ml	14 days 14 days 14 days	Thio 0,5 ml Thio 0,5 ml Thio 0,5 ml	14 days? ? 14 days?	BacT/Alert anaerobic BacT/Alert Aerobic 10 ml BacT/Alert Anaerobic 10 ml	5 days
(40) Hischebeth et al. 2016	Tissue samples Sonication fluid	Blood agar 0,5 ml Chocolate agar 0,5 ml MacConkey agar 0,5 ml Sabouraud 0,5 ml Blood agar 0,5 ml Chocolate agar 0,5 ml MacConkey agar 0,5 ml Sabouraud 0,5 ml	14 days 14 days	? Schaedler agar 0,5 ml KV agar 0,5 ml	? 14 days	Thio 1 ml Thio 1 ml	14 days 14 days		14 days
(42) Dudereva et al. 2018	Tissue samples Sterile saline Sterile Glass beads Sonication fluid							Bactec Plus Aerobic/F Bactec Lytic/10 Anaerobic/F	10 days
		Blood Agar 0,1 ml Chocolate agar 0,1 ml	5 days	Blood agar	10 days				

3.2 Microbiologie - Conventionele media

(43) Yan t al. 2018	Tissue samples BHI 5ml Seward Stomacher							Bactec Plus Aerobic/F 1 ml Bactec Lytic/10 Anaerobic/F 1 ml	14 days
	Sonication fluid	Blood Agar 0,1 ml Chocolate agar 0,1 ml	5 days	Blood agar 0,1 ml	14 days				
(46) Larsen et al. 2018	Synovial fluid	Chocolate agar	14 days	Chocolate agar + Vit k (+ metronidazole + kanamycin)	14 days	Thio + glycerol	14 days		
	Tissue samples Bone biopsies Swabs Sonication fluid	Blood agar Chocolate agar + fosfomycine ChromID CPS		Blood agar (+ metronidazole + kanamycine)		Serum Broth			
(47) Huges et al. 2001	Synovial fluid	Chocolate agar Blood agar	2 days			Thioglycolate 0,25 ml	5 days	Bactec Peds Plus/F 0,5-3ml	5 days
(48) Minassian et al.	Tissue samples Sterile saline 3 ml Sterile glass beads							Bactec PLUS Aerobic/F 0,5 ml Bactec Lytic/10 Anaerobic/F 0,5 ml	14 dagen
								IF NEGATIVE AFTER 14 DAYS: 1000 bottles were selected and subcultured *CHOCO (CO2) *Fastidious anaerobic agar	5 days
(49) Van Den Bijlaardt et al. 2019	Tissue samples BHI 5ml Seward Stomacher	Blood agar 0,1 ml Choco 0,1 ml MacConkey 0,1 ml	4 days	Wilkins-Chalgren 0,1 ml	4 days	Thio 0,2 ml BHI 0,2 ml	14 days	Bactec Plus Aerobic/F + FOS Bactec Plus Anaerobic/F + FOS	7 days
	Synovial fluid	Blood agar 0,1 ml Choco 0,1 ml MacConkey 0,1 ml	4 days	Wilkins-Chalgren 0,1 ml	4 days				
(50) Schafer et al. 2008	Tissue samples Minced	Chocolate Agar Blood agar MacConkey Agar	14 days	Schaedler agar + vit K	14 days	BHI Schaedler Broth	14 days		
(51) Butler-Wu et al. 2011	Tissue samples Sterile saline 3 ml Seward Stomacher	Chocolate agar Blood agar	28 days	Brucella agar	28 days	BHI	28 days		
	Synovial fluid								
(55) Renz et al. (46)	Synovial fluid	Not specified 0,1 ml	7 days	Not specified 0,1 ml	14 days	Thioglycolate	?	Bactec Peds Plus/F 1ml	?
(57) Hughes et al.	Tissue samples Sterile saline 5ml Sterile glass beads	Chocolate agar 0,25 ml Blood agar 0,25 ml	5 days	Blood agar 0,25 ml Blood agar + metronidazole disk 0,25 ml	5 days	Robertson's cooked meat broth 0,1 ml Fastidious anaerobic broth 0,1 ml	5 days	Bactec standard Anaerobic/F 0,1 ml Bactec Plus aerobic/F 0,1 ml	5 days
(59) Roux et al. 2011	Tissue samples Sterile water 20ml Glass beads	Chocolate agar Sheep blood agar	5 days 24-48h	Blood agar	5 days	BHI Rosenow broth	48h 14 days		

3.2 Microbiologie – Conventionele media

- Geen formele studies over ideale (combinatie) van cultuurmedia
- Meest gebruikte media in alle studies:
 - Non-selectieve bloedbevattende media
 - Aanrijksmedia zoals thioglycolate

3.2 Microbiologie - Hemoculturen

- Voordelen aangetoond door verschillende studies
- Te verklaren door:
 - Grotere kweekbare volumes
 - Aanwezigheid van 'resins' in Bactec Plus flessen => neutraliseren antibiotica
- Zowel voor synoviaal vocht, weefselbiopten en sonicatie vocht
- Reeds lang gekend voor synoviaal vocht:
 - Hughes et al. (2001):
 - BACTEC Peds Plus/F flessen
 - Patiënten met septische artritis
 - Detectie van 62 pathogenen met hemocultuurflessen versus 51 conventioneel

3.2 Microbiologie – Hemoculturen weefselbiopt

- Peel et al. (2016)
 - Bactec Plus Aerobic/F en Bactec Lytic/10 Anaerobic/F flessen
 - Incubatie 14 dagen
 - Sensitiviteit van 92,1% voor hemocultuurflessen versus 62,6% voor conventionele media
 - Hoogste sensitiviteit wanneer alle media werden gecombineerd.

3.2 Microbiologie – Hemoculturen weefselbiopt

TABLE 2 Sensitivity and specificity of periprosthetic tissue culture techniques using Bayesian latent class modeling and Infectious Diseases Society of America criteria for prosthetic joint infection diagnosis as gold standards^a

Culture medium ^b	No gold standard (Bayesian LCM)		IDSA PJI criteria as gold standard	
	Sensitivity (95% credible interval)	Specificity (95% credible interval)	Sensitivity (95% confidence interval)	Specificity (95% confidence interval)
Individual culture media				
Aerobic agar	59.4 (45.3, 72.5)	99.5 (98.3, 100.0)	26.5 (18.8, 35.5)	100.0 (98.6, 100.0)
Anaerobic agar	32.2 (20.8, 45.7)	99.5 (98.3, 100.0)	14.5 (8.7, 22.2)	100.0 (98.6, 100.0)
Thioglycolate	74.8 (61.5, 85.8)	99.4 (98.1, 99.9)	33.3 (24.9, 42.6)	100.0 (98.6, 100.0)
Aerobic blood culture bottle	82.0 (69.5, 91.1)	97.1 (94.8, 98.6)	42.7 (33.6, 52.2)	100.0 (98.6, 100.0)
Anaerobic blood culture bottle	90.2 (79.4, 96.5)	96.3 (93.7, 98.1)	47.9 (38.5, 57.3)	99.6 (97.8, 100.0)
Combinations of culture media				
Aerobic and anaerobic agars	48.9 (38.3, 59.7)	99.7 (98.7, 100.0)	33.3 (24.9, 42.6)	100.0 (98.6, 100.0)
Aerobic and anaerobic agars and thioglycolate	62.6 (51.7, 72.5)	98.1 (96.1, 99.3)	44.4 (35.3, 53.9)	98.8 (96.6, 99.8)
Aerobic and anaerobic BCBs	92.1 (84.9, 97.0)	99.7 (98.7, 100.0)	60.7 (51.2, 69.6)	98.8 (96.6, 99.8)
Aerobic and anaerobic BCBs and thioglycolate	92.1 (84.9, 97.0)	98.8 (97.0, 99.6)	63.3 (53.8, 72.0)	98.8 (96.6, 99.8)
Aerobic and anaerobic BCBs and aerobic agar	94.6 (88.1, 98.6)	99.7 (98.7, 100.0)	62.4 (53.0, 71.2)	98.8 (96.6, 99.8)
Aerobic and anaerobic BCBs and anaerobic agar	96.8 (91.3, 99.3)	99.8 (98.7, 100.0)	62.4 (53.0, 71.2)	98.0 (95.4, 99.4)
Aerobic and anaerobic BCBs and aerobic and anaerobic agars	99.1 (95.7, 100.0)	99.7 (98.7, 100.0)	64.1 (54.7, 72.8)	98.0 (95.4, 99.4)
All media combined	99.1 (95.7, 100.0)	97.3 (94.8, 98.7)	67.5 (58.2, 75.9)	96.8 (93.8, 98.6)

^a Using individual culture media in periprosthetic tissue culture techniques, the prevalence of prosthetic joint infection (PJI) was 13.7% (95% credible interval of 10.4% to 17.6%) with no gold standard (Bayesian latent class modeling [LCM]), and the prevalence of PJI was 31.7% (95% confidence interval of 27.0% to 36.7%) with Infectious Diseases Society of America (IDSA) PJI criteria as the gold standard. Using combinations of culture media in periprosthetic tissue culture techniques, the prevalence of PJI was 21.7% (95% credible interval of 17.7% to 26.1%) with no gold standard (Bayesian LCM), and the prevalence of PJI was 31.7% (95% confidence interval of 27.0% to 36.7%) with IDSA PJI criteria as the gold standard.

^b BCBs, blood culture bottles.

3.2 Microbiologie – Hemoculturen sonicatie vocht

- Hogere opbrengst ivm conventionele media (Shen et al., Portillo et al.)
- Cave:
 - Verlies van semi-kwantitatieve analyse ter differentiatie met contaminatie.
 - Bijkomende conventionele media noodzakelijk

3.2 Microbiologie - Aeroob/Anaeroob/Pediatrische fles?

- Pediatrisch:
 - Cave: niet efficiënt voor anaerobe recovery
 - Additionele anaerobe detectiemethode noodzakelijk
- Aeroob + Anaeroob => Wel anaerobe detectie, nog extra media nodig?
 - Van den Bijlaardt et al. (2019): 57 PJI waarvan
 - 17 enkel met HK flessen gedetecteerd
 - 6 enkel via aanrijkingen

⇒ Combinatie van beide nodig
 - Peel et al. (2016):
 - Hoogste gevoeligheid bij combinatie van verschillende media

3.2 Microbiologie – Conclusie kweekmedia

- Hemocultuurflessen verhogen de bacteriologische opbrengst en worden aangeraden voor alle staaltypes.
- Zowel aerobe, anaerobe als pediatrie flessen kunnen worden gebruikt
 - Cave: pediatrie flessen niet efficiënt voor anaerobe recovery
- Een combinatie met conventionele agar media lijkt toch aangeraden
 - Niet-selectieve agar media
 - Aanrijkingsbroth

3.2 Microbiologie – Incubatie periode

- Verlengde incubatie wordt aangeraden:
 - Schafer et al. (2008):
 - Incubatie van 14 dagen. Na 7 dagen incubatie slechts 73,6% gedetecteerd
 - 1/4^{de} van CNS pas in 2^{de} week gedetecteerd.
 - Cave: enkel conventionele media gebruikt, geen hemocultuurflessen
 - Butler-Wu et al. (2011):
 - Verlengde incubatie tot 13 dagen resulteerde in extra detectie van *Cutibacterium* species in 29,4% van de patiënten (42 PJI cases waarvan 23 door *C. acnes*)
 - Cave: meerderheid schouder protheses, geen hemocultuurflessen gebruikt.
 - Shannon et al. (2013):
 - Adviseren 7 dagen voor recovery van *C. acnes* bij gebruik van thio
 - Minassian et al. (2014):
 - Gebruik van aerobe en anaerobe hemocultuurflessen
 - Geen extra detectie van *C. acnes* na 8 dagen

3.B Microbiologie – Incubatie periode

- Peel et al. (2016):
 - Gebruik van aerobe en anaerobe hemocultuurflessen
 - Wél additionele opbrengst na 1 week incubatie voor *C. acnes*
 - Adviseren 7 dagen voor aerobe en 14 dagen voor anaerobe fles
- Bemer et al. (2016):
 - Bacteriologische documentatie in 89% van de PJI gevallen
 - Gebruik van pediatrische hemocultuurfles, chocolade agar en Schaedler broth
 - Adviseren 5 dagen voor pediatrische HK fles, 7 dagen voor chocolade agar en 14 dagen voor broth
- Besluit:
 - Verlengde incubatie noodzakelijk
 - Anaerobe kweek > Aerobe kweek
 - Voorgestelde incubatie varieert tussen 5-14 dagen: Incubatie tussen 7 (aeroob) -14 dagen (anaeroob)?

4. APO

- Acute inflammatie wordt in alle internationale definities weerhouden als minor criteria
- Hoge sensitiviteit (>80%) en specificiteit (>80%)
- Kan eventueel intraoperatief worden gedaan (vriescoupe)
- Cave:
 - Expertise patholoog
 - Sampling bias
 - Acute inflammatie mogelijks afwezig bij low-virulent organismen
- Geen algemeen aanvaarde cut-off:
 - +/- 5 neutrofielen per high-power-field (vergroting 400x)
 - Classificatie Krenn en Morawietz (Type 2 en 3)

5. Andere

- Moleculaire diagnostiek?
 - Eventueel aanvullend bij cultuur-negatieve sterk verdachte casussen (16S rRNA PCR)
- Alfa-defensine LFA (Synovasure):
 - Renz et al.: Sensitiviteit tussen 54-84%
 - Niet te gebruiken in routine
 - Eventueel te gebruiken ter confirmatie van diagnose
 - Marson et al. (2018, Meta-analyse):
 - Gepoolde sensitiviteit van 84% en specificiteit van 90%
 - Conclusie: Meer studies nodig om klinisch nut te evalueren, voorlopig niet in routine
 - Cave: kostprijs!

*3) Diagnosis of prosthetic joint
infections: towards a BILULU
consensus*

Suggesties voor praktijk

Gebaseerd op deze beschikbare gegevens, worden volgende elementen weerhouden ter optimalisatie van de diagnostiek van PJI:

- Meerdere periprosthetische weefselbiopten voor cultuur
- Wissers schrappen als diagnostische mogelijkheid
- Gebruik van hemocultuurflessen voor synoviaal vocht en biopten (weefsel na homogenisatie)
- Verlengde incubatie (7-14 dagen?)
- APO van weefselbiopten
- Sonicatie?

Suggesties

Staalname en testaanvraag

Suggesties: staalname en testaanvraag

1. Synoviaal vocht

Celtelling (WBC + PMN%)

Aerobe en Anaerobe cultuur

Kristallen (DD kristal arthropathie)

Mogelijkheid om voorgemaakte kit te gebruiken die het volgende bevat:

- EDTA tube (celtelling)
- Steriele spuit voor kweek
- Hemocultuurfles (rechtstreeks te inoculeren door orthopedist in geval van voldoende volume)
- Aanvraagformulier specifiek voor gewrichtsvochten. Bevat:
 - Alle noodzakelijk aan te vragen testen
 - Prioriteit van testen in geval van weinig volume

Suggesties: staalname en testaanvraag

2. Weefselbiopten

3-6 biopten (exact aantal te bespreken)

Elk biopt afzonderlijk te verwerken

Mogelijkheid om voorgemaakte kit te gebruiken die het volgende bevat:

- Afzonderlijke biopsie potjes voor microbiologie
- Afzonderlijke biopsie potjes voor APO
- Steriele spuit voor intraoperatief synoviaal vocht (cfr punt 1)
- Hemocultuurfles voor intraoperatief synoviaal vocht (cfr punt 1)
- EDTA (cfr punt 1)
- Specifiek aanvraagformulier voor microbiologie en APO:
 - Bevat alle noodzakelijk aan te vragen testen

Suggesties: staalname en testaanvraag

3. Prothesemateriaal?

- Mogelijks complementair aan weefselcultuur
 - Meerwaarde in chronisch difficult-to-diagnose PJI?
- Nood voor sonicatie bad en steriele containers voor transport
- Vormt extra werkbelasting voor labo
 - Verwerking multipale biopten ook belastend, maar geen nood aan extra materiaal.
- Wordt besproken

4. Wissers

- Gebruik van wissers moet worden ontmoedigd

Suggesties

Microbiologische kweekcondities

Suggesties: te gebruiken kweekmedia

- Geen formele studies over optimale combinatie van media
- Suggestie: Combinatie van volgende (voor alle staaltypes):
 - Niet-selectieve bloed bevattende agar media (vb. chocolade) aeroob (en anaeroob)
 - Aanrijksmedia die groei toelaat van anaerobe en fastidious bacteria
 - Hemocultuurflessen
- Cave:
 - Aerobe en Anaerobe fles per weefselbiopt => Grote hoeveelheid flessen per patiënt
 - Eventueel pediatrische fles te gebruiken om hoeveelheid te beperken.

Suggesties: aanbevolen incubatieduur

- Verlengde incubatie noodzakelijk
 - Optimale duur onduidelijk
 - Suggesties uit literatuur variëren van 5-14 dagen
- Suggestie:
 - Aeroob 7 dagen
 - Anaeroob 14 dagen
 - Hemocultuurflessen?
 - 5 of 7 of 14 (indien anaerobe fles) dagen?
 - Gelijk laten lopen met instellingen voor gewone bloedkweken?

Towards a BILULU consensus

- Geen formele protocols beschikbaar
- Veel studies beschikbaar, doch door veel variatie moeilijk een lijn in te trekken.

⇒ Nood aan consensus die deze gegevens integreert tot een bruikbaar geheel voor de dagelijkse routine

Towards a BILULU consensus

- Bedoeling is dat er volgend op deze CAT een exacte procedure wordt opgesteld die gebruikt kan worden door orthopedisten (staalname) en labo's. Deze zal exacte specificaties omvatten omtrent de gegeven suggesties:
 - Noodzakelijke stalen en testen (met introductie van voorgemaakte afnamekits)
 - Prioriteit van testen bij weinig volume synoviaal vocht
 - Aantal weefselbiopsies voor microbiologie
 - Aantal weefselbiopsies voor APO
 - Sonicatie ja of nee?
 - Kweekcondities:
 - Welke agar media?
 - Welke aanrijkingsbroth?
 - Welke hemocultuurflessen (AER/ANA/PED)?
 - Welke incubatieduur?

TO DO

- Bespreken van deze gegevens in de BILULU groep
- Opstellen van de BILULU consensus
- Implementatie van de BILULU consensus in HHZH Lier

