

**CAT**  
**Critically Appraised Topic**

**Titel:**

Diagnostische waarde van interleukine-6, leukocyt esterase, alfa-defensine en IgG antistoffen gedetecteerd door het BJI Inoplex® assay (Diaxonhit) bij periprothetische infecties.

Author: Sien Ombelet

Supervisor: Prof. Jan Verhaegen

Search/methodology verified by:

Date: 14/04/2016

**CLINICAL BOTTOM LINE**

---

De laatste jaren werden verschillende biomerkers voorgesteld om de diagnostiek van periprothetische infecties te verbeteren. Voorlopig wordt enkel CRP in serum in de routine gebruikt. Hoewel in de literatuur goede resultaten werden gezien met interleukine-6 in serum, is de sensitiviteit variabel. Mogelijk kan het in de toekomst ESR vervangen, om in combinatie met CRP een meer accurate pre-operatieve inschatting van het risico op infectie te bekomen. De extra kost hiervan is wellicht substantieel doch voorlopig moeilijk kwantificeerbaar gezien het nog nergens in België in de routine werd geïmplementeerd. Interleukine-6 in synoviaal vocht heeft een goede sensitiviteit en specificiteit, doch de "ideale" cut-off varieert van studie tot studie. Bovendien is de meerwaarde ten opzichte van synoviale witte bloedceltelling/differentiatie of synoviaal CRP niet overweldigend. De leukocyt esterase test op synoviaal vocht heeft zeker potentieel in de pre- en peroperatieve diagnostiek van periprothetische infecties gezien de lage kostprijs en eenvoud in gebruik. Idealiter worden de stalen dan wel gecentrifugeerd om bloedbimenging te neutraliseren. Het opsporen van alfa-defensine in synoviaal vocht toont veelbelovende resultaten, en recent werd een point-of-care test (POCT) ontwikkeld die het gebruik ervan verder faciliteert en ook peroperatieve diagnose mogelijk maakt. Deze POCT dient echter nog verder uitgetest te worden in klinische studies, bovendien is de kostprijs aanzienlijk. De BJI Inoplex is een nieuw serologisch multiplex assay van Diaxonhit waarbij antistoffen worden aangetoond tegen enkele pathogenen die frequente verwekkers van prothese-infecties zijn. Deze test is nog onvoldoende gevalideerd in klinische studies en is nog niet commercieel beschikbaar.

**CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO**

---

Periprothetische infecties zijn een gevreesde complicatie na de plaatsing van een gewrichtsprothese. Het risico op een periprothetische infectie varieert van 0.3 tot 1.7% voor heupprothesen, 0.8 tot 1.9% voor knieprothesen,

en is minder dan 1% voor schouderprothesen (1,2). Door toenemende veroudering en obesitas zien we een toename in het aantal gewrichtsprothesen wereldwijd, en het ligt in de lijn der verwachtingen dat het aantal infecties verder zal blijven stijgen de komende jaren (3).

Periprothetische infecties worden ingedeeld in *early*, *delayed* en *late onset* infecties, afhankelijk van het begin van symptomen. *Early onset* infecties presenteren zich minder dan 3 maanden na de ingreep, en zijn meestal verworven tijdens de plaatsing van de prothese. Het betreft gewoonlijk virulente pathogenen, zoals *S. aureus*, en de infectie presenteert zich vrij typisch met wonddrainage, erytheem ter hoogte van de implantsite, induratie van de huid of oedeem, gewrichtspijn of vochtuitstorting, en/of koorts. *Delayed onset* infecties (3-12 maanden na de ingreep) zijn meestal ook verworven op het moment van implantatie van de prothese; het betreft hier echter minder virulente pathogenen, zoals coagulase-negatieve stafylokokken (1). De klinische presentatie is minder typisch, omwille van het verlengd, indolent verloop van de infectie, en wordt gekarakteriseerd door blijvende gewrichtspijn, soms met loskomen van het implantaat. Koorts is aanwezig in minder dan 50% van de gevallen, en leukocytose slechts in 10% (4). *Late onset* infecties presenteren zich meer dan 12 maanden na de ingreep en zijn frequent het gevolg van hematogene verspreiding. De presentatie is hier eerder acuut met plotse tekenen van infectie bij een voorheen goed functionerende prothese. De meeste hematogene infecties worden veroorzaakt door *S. aureus*, beta-hemolytische streptokokken of gramnegatieve bacillen (5).

Omwille van biofilm vorming op de prothesen zijn deze infecties vaak moeilijk te diagnosticeren en te behandelen (6). Zeker de *delayed onset* infecties kenmerken zich door een weinig inflammatoir beeld, en de differentiaal diagnose met aseptisch loskomen van de prothese kan moeilijk zijn op klinische of biochemische basis. Er is momenteel geen aanvaarde "gouden standaard" voor de diagnose van prothese-infecties; sommige centra vereisen minstens één positieve cultuur om van infectie te kunnen spreken, doch de sensitiviteit van cultuur varieert over verschillende studies tussen 39 en 95% en wordt beïnvloed door de chroniciteit van de infectie en voorafgaand antibioticagebruik (7,8). In een poging diagnose en klinische besluitvorming te uniformiseren, werd zowel door de Infectious Diseases Society of America (IDSA) als door de Musculoskeletal Infection Society (MSIS) een voorstel gedaan voor klinische, microbiologische en biochemische criteria om tot de diagnose van periprothetische infecties te besluiten (9,10).

Volgens de IDSA is er sprake van periprothetische infectie indien aan één van volgende voorwaarden is voldaan (9):

- De aanwezigheid van een sinustraject in communicatie met de prothese.
- Acute ontstekingsreactie (zoals gedefinieerd door de anatoompatholoog) op histopathologisch onderzoek van periprothetisch weefsel.
- De aanwezigheid van purulentie rond de prothese.
- Aanwezigheid van twee of meer culturen, van gewrichtsvocht of van weefsel, die hetzelfde micro-organisme tonen (gebaseerd op bepaling van genus, species en antibiogram). Een enkele cultuur positief voor een virulent micro-organisme zoals *S. aureus* is ook suggestief voor prothetische gewrichtsinfectie. Een enkele cultuur positief voor een gekende contaminant (bv. coagulase-negatieve stafylokokken) is niet noodzakelijk bewijs voor infectie en moet geïnterpreteerd worden in de context van andere bevindingen.
- De aanwezigheid van een periprothetische infectie is niet uitgesloten indien de hierboven vermelde criteria niet vervuld zijn.

De MSIS definieerde periprothetische infecties bij zijn laatste expert meeting in 2013 op basis van volgende criteria (11):

- Aanwezigheid van sinustraject in communicatie met de prothese; OF
- Cultuur van dezelfde pathogeen uit ten minste twee verschillende weefsel of gewrichtsvocht staalnames; OF
- Aanwezigheid van minstens drie van de volgende criteria:
  - o Gestegen erythrocyte sedimentation rate (ESR) (>30 mm/uur) EN C-reactive protein (CRP) (>10 mg/L) concentratie in het serum,
  - o Gestegen synoviale witte bloedcel telling (> 3000/ $\mu$ l) OF ++ verandering op leukocyt esterase test strip,
  - o Gestegen synoviaal percentage neutrofielen (PMN%) (>80%),
  - o Isolatie van een micro-organisme in een enkele cultuur van periprothetisch weefsel of vocht, of
  - o Positief histologisch onderzoek van periprothetisch weefsel.

Zowel de IDSA als de MSIS criteria worden tegenwoordig frequent gebruikt om de “gouden standaard” voor diagnose van periprothetische infecties te definiëren. Toch dient opgemerkt te worden dat deze definities ontstonden als “expert consensus” en dat daarbij expliciet werd vermeld dat een infectie niet helemaal uitgesloten is indien niet aan de definitie wordt voldaan. Misclassificatie is dus bij zo goed als elke diagnostische studie een mogelijk probleem.

Ook de klinische bruikbaarheid van deze diagnostische richtlijnen is soms beperkt; bepaalde van deze criteria kunnen niet standaard bepaald worden in elk ziekenhuis (histologisch onderzoek) of vereisen veel tijd en kunnen niet voor of tijdens de operatie worden aangetoond (cultuur). Aangezien de chirurgische aanpak van een protheserevisie sterk kan verschillen al naargelang de diagnose van infectie aanwezig is, is een laattijdige diagnose vaak problematisch. Idealiter zou er een test bestaan die reeds pre-operatief, snel en niet-invasief, met hoge sensitiviteit en specificiteit een gewrichtsprothese infectie kan aantonen.

In de zoektocht naar een dergelijke perfecte biomarker kwamen reeds verschillende inflammatoire parameters naar voren die een rol zouden kunnen spelen in de diagnose van prothese-infecties, waaronder CRP, witte bloedceltelling, interleukine-6, interleukine-1, procalcitonine, alfa-defensines, leukocyt esterase, TNF-alfa, lactaat, IFN-alfa, interleukine-8, alfa-2-macroglobuline, VEGF, neutrophil elastase 2, cathelicidine, lactoferrine en vele andere (12-21). Deze parameters kunnen vaak zowel in het bloed als in het synoviaal vocht worden gemeten.

Recent werd tevens een serologische test ontwikkeld door Diaxonhit, specifiek voor periprothetische infecties, de BJI Inoplex. Dit is een multiplex immunoassay dat antilichamen opspoorde tegen enkele veel voorkomende verwekkers van prothetische infecties, zoals *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. agalactiae* en *P. acnes* (22).

We besloten om in het kader van deze CAT een literatuurstudie te doen om de meerwaarde na te gaan van enkele van de meest veelbelovende inflammatoire merkers voor prothetische infecties, met name interleukine-6, leukocyt esterase en alfa-defensine. We zullen daarenboven deze merkers ook zelf trachten evalueren in een prospectief onderzoek bij patiënten die in UZ Leuven een revisie voor een gewrichtsprothese dienen te ondergaan in kader van mogelijke periprothetische infectie. Hierbij zullen we tevens de nieuwe serologische test van Diaxonhit, de BJI Inoplex, uittesten op serum van deze patiënten.

## QUESTION(S)

---

- 1) Wat is de plaats van interleukine 6 in de diagnostiek van prothetische gewrichtsinfecties?
- 2) Wat is de plaats van alfa-defensine in de diagnostiek van prothetische gewrichtsinfecties?
- 3) Wat is de plaats van leukocyt esterase in de diagnostiek van prothetische gewrichtsinfecties?
- 4) Wat is de plaats van de BJI Inoplex in de diagnostiek van prothetische gewrichtsinfecties?

## SEARCH TERMS

---

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term:
  - a. "Biomarkers"[Mesh] AND "Prosthesis-Related Infections"[Mesh] AND "Joints"[Mesh].
  - b. "Prosthesis-Related Infections"[Mesh] AND "Interleukin-6"[Mesh]
  - c. "Prosthesis-Related Infections"[Mesh] AND "alpha-Defensins"[Mesh]
  - d. "Prosthesis-Related Infections"[Mesh] AND "leukocyte esterase"
  - e. "Prosthesis-Related Infections"[Mesh] AND "Diagnosis"[Mesh] AND "Joints"[Mesh]
- 2) Pubmed (Medline; from 1966): interleukin-6, alpha-defensin, leukocyte esterase, prosthetic joint infection
- 3) Musculoskeletal Infection Society, Infectious Diseases Society of America.
- 4) UpToDate Online version 12.2 (2004): Clinical manifestations and diagnosis of prosthetic joint infections. Literature review through: Feb 2016; topic last updated: July 27 2015.

## RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

---

1. Del Pozo JL, Patel R. Clinical practice. Infection associated with prosthetic joints. *N Engl J Med* 2009; 361:787-794.
2. Sperling JW, Kozak TH, Hanssen AD, Cohield RH. Infection after shoulder arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(382):206-16
3. Kurtz S, Ong K, Lau E, et al. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:780-5.
4. Inman RD, Gallegos KV, Brause BD, Redecha PB, Christian CL. Clinical and microbial features of prosthetic joint infection. *Am J Med* 1984;77:47-53.
5. Rodríguez D, Pigrau C, Euba G, et al. Acute haematogenous prosthetic joint infection: prospective evaluation of medical and surgical management. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:1789-95.
6. Zimmerli W, Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. Minireview. *Immunol Med Microbiol* 2012;65:158-68.
7. Tande AJ, Patel R. Prosthetic Joint Infection. Review. *Clin Microbiol Rev* 2014;27(2):302-45.
8. Peel TN, Dylla BL, Hughes JG, Lynch DT, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, Mandrekar JN, Patel R. Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles. *Mbio* 2016;7(1): 01776-15.
9. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, Rao N, Hanssen A, Wilson WR. Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *CID* 2013;56(1):e1-25.

10. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CF, Garvin KL, Mont MA, Wongworawat MD, Zalavras CG. New Definition for Periprosthetic Infection. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469:2992-4.
11. Parvizi J, Gehrke T. Proceedings on the International Consensus Meeting on Periprosthetic Joint Infection. [https://www.efort.org/wp-content/uploads/2013/10/Philadelphia\\_Consensus.pdf](https://www.efort.org/wp-content/uploads/2013/10/Philadelphia_Consensus.pdf)
12. Nilsson-Augustinsson A, Briheim G, Herder A, Ljunghusen O, Wahlström O, Öhman L. Inflammatory response in 85 patients with loosened hip prostheses. *Acta Orthop* 2007;78(5):629-639.
13. Deirmengian C, Hallab N, Tarabishy A, Della Valle C, Jacobs JJ, Lonner J, Booth RE. Synovial Fluid Biomarkers for Periprosthetic Infection. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:2017-23.
14. Gollwitzer H, Dombrowski Y, Prodingler PM, Peric M, Summer B, Hapfelmeier A, Saldamli B, Pankow F, von Eisenhart-Rothe R, Imhoff AB, Schaubert J, Thomas P, Burgkart R, Banke JJ. Antimicrobial Peptides and Proinflammatory Cytokines in Periprosthetic Joint Infection. *J Bone Joint Surg Am* 2013;95 (7):644 - 51.
15. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Parvizi J. Diagnosing Periprosthetic Joint Infection. Has the Era of the Biomarker Arrived? *Clin Orthop Relat Res* 2014;472:3254-62.
16. Berbari E, Mabry T, Tsaras G, Spangehl M, Erwin PJ, Murad MH, Steckelberg J, Osmon D. Inflammatory Blood Laboratory Levels as Markers of Prosthetic Joint Infection. A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92:2102-9.
17. Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, Becker K, Erren M, Götze C. Interleukin-6, procalcitonin and TNF- $\alpha$ . *J Bone Joint Surg Br* 2007;89-B:94-9.
18. Jacovides CL, Parvizi J, Adeli B, Jung KA. Molecular Markers for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty* 2011;26:99-103.
19. Glehr M, Friesenbichler J, Hofmann G, Bernhardt GA, Zacherl M, Avian A, Windhager R, Leithner A. Novel Biomarkers to Detect Infection in Revision Hip and Knee Arthroplasties. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:2621-28.
20. Elgeidi A, Elganainy AE, Elkhier NA, Rakha S. Interleukin-6 and other inflammatory markers in diagnosis of periprosthetic joint infection. *Int Orthop* 2014;38:2591-2595.
21. Lenski M, Scherer MA. Synovial IL-6 as Inflammatory Marker in Periprosthetic Joint Infections. *J Arthroplasty* 2014;29:1105-1109.
22. Marmor S, Bauer T, Desplaces N, Heym B, Roux AL, Sol O, Roge J, Mahe F, Desire L, Aegerter P, Ghout I, Ropers J, Gaillard JL, Rottman M. Multiplex antibody detection for the non-invasive genus-level diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol* 2016;10:e02885-15.
23. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989;74:1-10.
24. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Vadas L. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 164 (3) (2001), pp. 396–402
25. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, Park YJ, Kim Y, Park JH, Wee JH, Choi SP. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;75(4):342-7.
26. Kraggsberg P, Holmberg H, Vikersfors T. Serum concentrations of interleukin-6, tumour necrosis factor- $\alpha$ , and C-reactive protein in patients undergoing major operations. *Eur J Surg* 1995;161:17-22.
27. Wirtz CD, Heller KD, Miltner O, Zilkens KW, Wolff JM. Interleukin-6: a potential inflammatory marker after total joint replacement. *Int Orthop* 2000;24:194-6.
28. Buttaro MA, Tanoira I, Comba F, Piccaluga F. Combining C-reactive Protein and Interleukin-6 May Be Useful to Detect Periprosthetic Hip Infection. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:3263-7.

29. Randau TM, Friedrich MJ, Wimmer MD, Reichert B, Kuberra D, Stoffel-Wanger B, Limmer A, Wirtz DC, Gravius S. Interleukin-6 in Serum and in Synovial Fluid Enhances the Differentiation between Periprosthetic Joint Infection and Aseptic Loosening. *PLoS One* 2014;9(2):e89045.
30. Di Cesare PE, Chang E, Preston CF, Liu CJ. Serum Interleukin-6 as a Marker of Periprosthetic Infection Following Total Hip and Knee Arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 2005;87(9):1921-7.
31. Villacis D, Merriman JA, Yalamanchili R, Omid R, Itamura J, Hatch GFR. Serum Interleukin-6 as a Marker of Periprosthetic Shoulder Infection. *J Bone Joint Surg* 2014;96:41-5.
32. Grosso MJ, Frangiamore SJ, Saleh A, Kovac MF, Hayashi R, Ricchetti ET, Bauer TW, Iannotti JP. Poor Utility of serum Interleukin-6 Levels to Predict Indolent Periprosthetic Shoulder Infections. *J Shoulder Elbow Surg* 2014;23:1277-81.
33. Frangiamore SJ, Saleh A, Kovac MF, Grosso MJ, Zhang X, Bauer TW, Daly TM, Ricchetti ET, Iannotti JP. Synovial Fluid Interleukin-6 as a Predictor of Periprosthetic Shoulder Infection. *J Bone Joint Surg* 2015;97:63-70.
34. Parvizi J, McKenzie JC, Cashman JP. Diagnosis of periprosthetic joint infection using synovial C-reactive protein. *J Arthroplasty*. 2012;27(8 Suppl):12-6.
35. Omar M, Ettinger M, Reichling M, Petri M, Guenther D, Gehrke T, Krettek C, Mommsen P. Synovial C-reactive protein as a marker for chronic periprosthetic infection in total hip arthroplasty. *Bone Joint J* 2015; 97-B:173–6.
36. Hoell S, Borgers L, Gosheger G, Dieckmann R, Schulz D, Gerss J, Harges J. Interleukin-6 in two-stage revision arthroplasty. *Bone Joint J*. 2015;97-B:71-5.
37. Wilson MG, Kelley K, Thornhill TS. Infection as a complication of total knee-replacement arthroplasty. Risk factors and treatment in sixty-seven cases. *J Bone Joint Surg Am* 1990;72(6):878-83.
38. Cipriano CA, Brown NM, Michael AM, Moric M, Sporer SM, Della Valle CJ. Serum and Synovial Fluid Analysis for Diagnosing Chronic Periprosthetic Infection in Patients with Inflammatory Arthritis. *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94:594-600.
39. Fraunberger P, Pfeiffer M, Cremer P, Holler E, Nagel D, Dehart I, Thein M, Walli AK, Seidel D. Validation of an Automated Enzyme Immunoassay for Interleukin-6 for Routine Clinical Use. *Clin Chem Lab Med* 1998;36(10):797–801.
40. [http://static.healthcare.siemens.com/siemens\\_hwem-hwem\\_sxxa\\_websites-context-root/wcm/idc/siemens\\_hwem-hwem\\_sxxa\\_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@lab/documents/download/mda1/mdgz/~edisp/130248-gcl\\_immulite\\_global\\_menu\\_final-01971879.pdf](http://static.healthcare.siemens.com/siemens_hwem-hwem_sxxa_websites-context-root/wcm/idc/siemens_hwem-hwem_sxxa_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@lab/documents/download/mda1/mdgz/~edisp/130248-gcl_immulite_global_menu_final-01971879.pdf)
41. Friebe A, Volk AD. Stability of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6, and interleukin 8 in blood samples of patients with systemic immune activation. *Arch Pathol Lab Med* 2008 Nov;132(11):1802-6.
42. Flower L<sup>1</sup>, Ahuja RH, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Effects of sample handling on the stability of interleukin 6, tumour necrosis factor-alpha and leptin. *Cytokine* 2000 Nov;12(11):1712-6.
43. Kenis G<sup>1</sup>, Teunissen C, De Jongh R, Bosmans E, Steinbusch H, Maes M. Stability of interleukin 6, soluble interleukin 6 receptor, interleukin 10 and CCL6 in human serum. *Cytokine* 2002 Sep 7;19(5):228-35.
44. Perry JL, Matthews JS, Weesner DE. Evaluation of leukocyte esterase activity as a rapid screening technique for bacteriuria. *J Clin Microbiol*. 1982;15:852-4.
45. Azoulay E, Fartoukh M, Galliot R, Baud F, Simonneau G, Le Gall JR, Schlemmer B, Chevret S. Rapid diagnosis of infectious pleural effusions by use of reagent strips. *Clin Infect Dis*. 2000;31:914-9.
46. Gal-Oz A, Kassis I, Shprecher H, Beck R, Bentur L. Correlation between rapid strip test and the quality of sputum. *Chest*. 2004;126:1667-71.

47. Jacobs JA, De Brauwert EI, Cornelissen EI, Drent M. Correlation of leukocyte esterase detection by reagent strips and the presence of neutrophils: a study in BAL fluid. *Chest*. 2000;118:1450-4.
48. Parvizi J, Jacovides C, Antoci V, Ghanem E. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: the Utility of a Simple Yet Unappreciated Enzyme. *J Bone Joint Surg Am*. 2011;93:2242-8.
49. Wetters NG, Berend KR, Lombardi AV, Morris MJ, Tucker TL, Della Valle CJ. Leukocyte Esterase Reagent Strips for the Rapid Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty*. 2012;27(8):8-11.
50. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Booth RE, Parvizi J. The alpha-defensin test for periprosthetic joint infection outperforms the leukocyte esterase test strip. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473:198-203.
51. Colvin OC, Kransdorf MJ, Roberts CC, Chivers FS, Lorans R, Beauchamp CP, Schwartz AJ. Leukocyte esterase analysis in the diagnosis of joint infection: Can we make a diagnosis using a simple urine dipstick? *Skeletal Radiol*. 2015;44:673-7.
52. Tischler EH, Cavanaugh PK, Parvizi J. Leukocyte Esterase Strip Test: Matched for Musculoskeletal Infection Society Criteria. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96:1917-20.
53. Guenther D, Kokenge T, Jacobs O, Omar M, Krettek C, Gehrke T, Kendoff D, Haasper C. Excluding infections in arthroplasty using leucocyte esterase test. *Int Orthop*. 2014;38:2385-2390.
54. Shafafy R, McClatchie W, Chettiar K, Gill K, Hargrove R, Sturridge S, Guyot A. Use of leucocyte esterase reagent strips in the diagnosis or exclusion of prosthetic joint infection. *Bone Joint J*. 2015;97-B:1232-6.
55. Aggarwal VK, Tischler E, Ghanem E, Parvizi J. Leukocyte Esterase from Synovial Fluid Aspirate. A Technical Note. *J Arthroplasty*. 2013;28(1):193-5.
56. Yi PH, Cross MB, Moric M, Levine BR, Sporer SM, Paprosky WG, Jacobs JJ, Della Valle CJ. Do Serologic and Synovial Tests Help Diagnose Infection in Revision Hip Arthroplasty with Metal-on-metal Bearings or Corrosion? *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473:498-505.
57. Wyles CC, Larson DR, Houdek MT, Sierra RJ, Trousdale RT. Utility of synovial fluid aspirations in failed metal-on-metal total hip arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013;28:818-823.
58. Bedair H, Ting N, Jacovides C, Saxena A, Moric M, Parvizi J, Della Valle CJ. The Mark Coventry Award: diagnosis of early postoperative TKA infection using synovial fluid analysis. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469(1):34-40.
59. Froom P, Bieganiec B, Ehrenrich Z, Barak M. Stability of Common Analytes in Urine Refrigerated for 24 h before Automated Analysis by Test Strips. *Clin Chem*. 2000;46(9):1384-6.
60. A New Paradigm for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. White paper, 2013, CD Diagnostics. <http://synovasure.zimmer.com/content/dam/zimmer-synovasure/documents/en-US/pdf/diagnosis-periprosthetic-joint-infection-whitepaper.pdf>
61. Bingham J, Clarke H, Spangehl M, Schwartz A, Beauchamp C, Goldberg B. The Alpha Defensin-I Biomarker Assay can be Used to Evaluate the Potentially Infected Total Joint Arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 2014;472:4006-9.
62. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Parvizi J. Combined Measurement of Synovial Fluid  $\alpha$ -Defensin and C-Reactive Protein Levels: Highly Accurate for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96:1439-45.
63. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Gulati S, Citrano P, Booth RE. The Alpha-defensin Test for Periprosthetic Joint Infection Responds to a Wide Spectrum of Organisms. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473:2229-35.

64. Frangiamore SJ, Saleh A, Grosso MJ, Kovac MF, Higuera CA, Iannotti JP, Ricchetti ET.  $\alpha$ -Defensin as a predictor of periprosthetic shoulder infection. *J Shoulder Elbow Surg.* 2015;24:1021-7.
65. Berbari EF, Hanssen AD, Duffy MC, Steckelberg JM, Ilstrup DM, Harmsen WS, Osmon DR. Risk factors for prosthetic joint infection: case-control study. *Clin Infect Dis* 1998;27:1247-54.

- 1) *Guidelines and Recommendations (most recent topics on top)*: 9, 11, 10
- 2) *Systematic Reviews and Meta-analyses*: 16
- 3) *Reviews*: 1, 6, 7, 23
- 4) *Original Articles*: 2-5, 8, 12-15, 17-22, 24-39, 41-59, 61-65
- 5) *Reference Works, Handbooks and Databases*: geen
- 6) *Posters, "grey literature", presentations*: 40, 60

## **APPRAISAL**

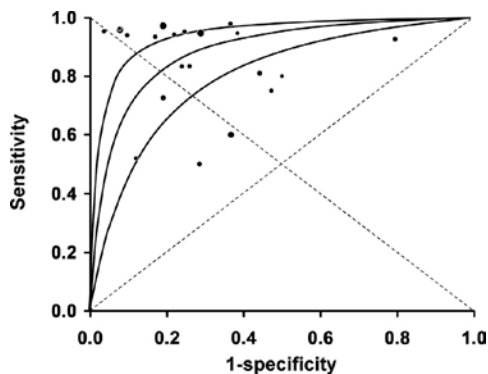
---

### I. Plaats van interleukine-6 in de diagnostiek van periprothetische infecties

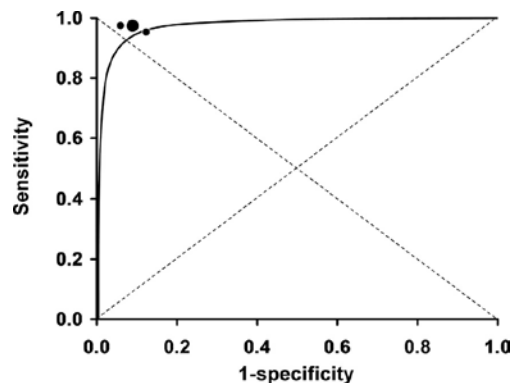
Interleukine-6 is een cytokine dat wordt aangemaakt door monocytten, macrofagen, fibroblasten en T2-lymfocyten bij beschadiging van weefsel. IL-6 stimuleert dan op zijn beurt weer de aanmaak van acute fase proteïnen in de lever, zoals CRP en serum amyloid A-proteïne (23). Het kan dus gebruikt worden om inflammatie op te sporen, hetgeen reeds werd aangetoond voor bijvoorbeeld sepsis en uitgebreide chirurgie (24-26). Wirtz et al beschreven reeds in 2000 het potentieel van serum interleukine-6 als inflammatoire merker bij plaatsing van gewrichtsprothesen, gezien hun bevinding dat IL-6 post-operatief snel stijgt, maximale waarden bereikte 6 uur na de operatie, om vervolgens snel weer terug te keren naar normale waarden met een halfwaardetijd van 15 uur. Dit in tegenstelling tot CRP concentraties, die tot verschillende dagen na de chirurgie verhoogd kunnen zijn (27).

In 2010 verscheen een meta-analyse van Berbari et al, die de waarde van verschillende inflammatoire parameters in het serum vergeleek met betrekking tot hun rol in de diagnostiek van periprothetische infecties (16). Hierbij kwam IL-6 in het serum naar voor als een bijzonder veelbelovende merker, met een diagnostische odds ratio van 314.7, in vergelijking met slechts 13.1 voor CRP in serum, 7.2 voor ESR en 4.4 voor perifere witte bloedcel telling. Gezien deze uitstekende resultaten voor interleukine-6 echter gebaseerd waren op slechts drie studies, was de conclusie dat meer onderzoek naar IL-6 als merker voor periprothetische infectie aangewezen is.





Summary ROC voor CRP. Uit: Berbari et al (16)



Summary ROC voor IL-6. Uit: Berbari et al (16)

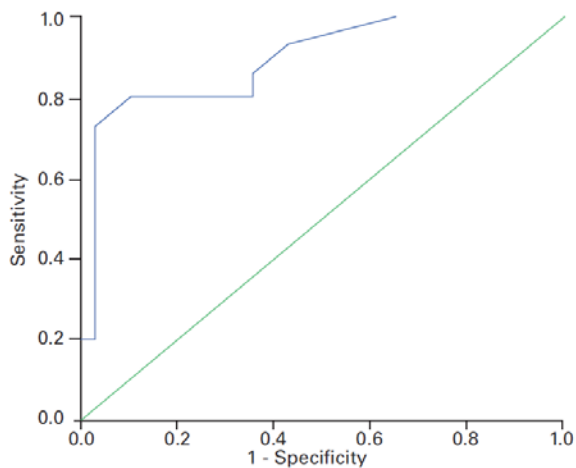
Daaropvolgende studies vertoonden eerder uiteenlopende (en minder overtuigende) resultaten voor de waarde van serum IL-6 als inflammatoire merker; sensitiviteit bij heup- en knieprothesen varieert tussen 36% en 100% al naargelang de studie en de cut-off die gebruikt werd, met een specificiteit tussen 53% en 90.9% (zie tabel 1 in bijlage) (19,20,28,29). Voor schouderprothesen, die notoir moeilijk te diagnosticeren zijn wegens zeer indolent verloop, heeft IL-6 een merkelijk lagere diagnostische waarde met vooral erg lage sensitiviteit en serum interleukine-6 wordt hierbij dan ook niet gezien als een nuttige merker (31,32).

Buttaro et al stellen op basis van hun studie voor interleukine-6 te gebruiken in combinatie met CRP, waarbij een positief resultaat voor zowel CRP als IL-6 een specificiteit van 100% gaf, en een positief resultaat voor hetzij CRP, hetzij IL-6 alle geïnfecteerde prothesen kon identificeren (28). Ook Elgeidi et al raadt aan de combinatie van CRP en IL-6 te gebruiken als screeningstest, en rapporteert hiervoor een sensitiviteit en NPV van 100% (20). Glehr et al vonden dan weer CRP de meest sensitieve merker in hun panel, met slechts verlies in specificiteit en geen toename van sensitiviteit wanneer gecombineerd met IL-6 (19).

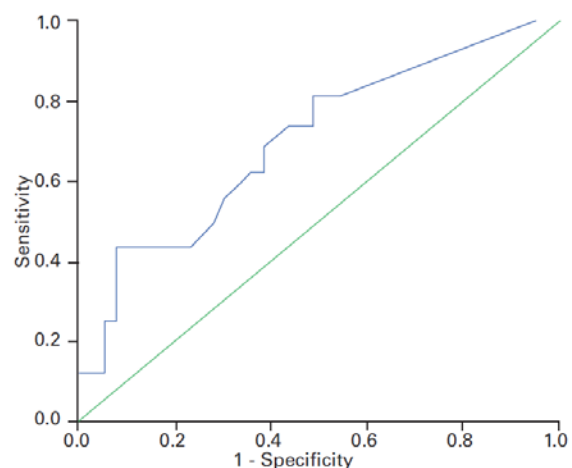
Betere resultaten zien we wanneer IL-6 wordt onderzocht als synoviale merker; als lokale merker voor inflammatie blijkt IL-6 zowel specifiek (geen interferentie van andere inflammatoire aandoeningen) als sensitiever (hogere concentraties van IL-6 door lokale productie) dan dezelfde merker in het bloed (14). De sensitiviteit en specificiteit van interleukine-6 varieert in de verschillende studies tussen 59.4% en 100% voor sensitiviteit en 85.7% en 100% voor specificiteit (zie tabel 2 in bijlage) (12,13,15,18,21,29). Ook hier zijn de cut-offs in de verschillende studies niet dezelfde, en dus moeilijk onderling te vergelijken. Voor schouderprothesen worden met synoviaal IL-6 in één studie tevens mooie resultaten bekomen; Frangiamore et al vonden een sensitiviteit van 87% en specificiteit van 90% (33). Uiteraard heeft een synoviale merker wel als nadeel dat, indien pre-operatief geen gewrichtsvocht kon worden bekomen en de test niet peroperatief kan worden uitgevoerd als POCT, dit nog steeds de finale diagnose uitstelt tot na de operatie. Bovendien is het onduidelijk of interleukine-6 een toegevoegde waarde biedt ten opzichte van de reeds routinematig uitgevoerde witte bloedcel telling in gewrichtsvocht. Ook het gebruik van synoviaal CRP zou in dat opzicht in overweging kunnen worden genomen; sensitiviteit van 85-95.5% en specificiteit van 93.3-95% worden in de literatuur beschreven (34,35).

Een andere mogelijke toepassing van interleukine-6 is om persisterende infectie uit te sluiten bij two-stage revision. Bij een two-stage revision wordt in eerste fase de geïnfecteerde prothese verwijderd en een spacer geplaatst. De patiënt wordt vervolgens behandeld met antibiotica, en in een tweede fase wordt de spacer verwijderd en een nieuwe prothese geplaatst (6). Het is dan uiteraard zeer belangrijk dat de infectie ter hoogte van de protheseplaats volledig is uitgeroeid. Hoell et al gingen na of IL-6 een waardevolle parameter zou kunnen

zijn om voor re-implantatie van de prothese de mogelijkheid van persisterende infectie uit te sluiten (36). Zij vonden dat bij een serum IL-6 > 13 pg/ml, de positieve predictieve waarde van persisterende infectie 90.9% is. Bij een IL-6 < 8 pg/ml is infectie onwaarschijnlijk; hierbij vonden zij een negatieve predictieve waarde van 92.1%. Een interessante observatie was dat IL-6 in het synoviaal vocht niet significant verschilde tussen patiënten met persisterende infectie versus deze zonder. Serum IL-6 was bovendien performanter dan CRP, dat een PPV van 70% en een NPV van 80% vertoonde in dezelfde studie. Gezien het gunstige kinetische verloop van IL-6 na een ingreep in vergelijking met CRP, kan serum IL-6 dan ook zeker een toegevoegde waarde betekenen bij de diagnostiek van persisterende infectie (27). Meer onderzoek hiernaar is echter noodzakelijk.



ROC curve IL-6. Uit: Hoell et al (36)



ROC curve CRP. Uit: Hoell et al (36)

Een nadeel van interleukine-6 is de observatie dat deze parameter tevens verhoogd is bij patiënten met inflammatoire gewrichtsaandoeningen, ziekte van Paget, multiple sclerose en verworven immuundeficiëntie, hetgeen de klinische bruikbaarheid vermindert (28,29,30). Gezien periprothetische infecties significant meer voorkomen bij patiënten met reumatoïde artritis dan bij patiënten met artrose, is dit mogelijk een probleem voor een niet geringe groep patiënten (37,38). Er werd bovendien een trend beschreven tot hogere interleukine-6 waarden bij patiënten met polyethyleen slijtage en osteolyse (17).

Interleukine-6 wordt bepaald met behulp van een ELISA, waarvoor tevens enkele geautomatiseerde assays zijn ontwikkeld, onder meer door Roche op de Cobas en door Siemens op de Immulite (39,40). Deze assays zijn gevalideerd voor serum, doch niet voor synoviaal vocht. Voorlopig wordt in België IL-6 enkel bepaald in studieverband. Er is geen RIZIV terugbetaling.

Voor een manuele ELISA, ontwikkeld voor onderzoeksdoeleinden, is de prijs van de reagentia ongeveer 5 euro per test, doch dit veronderstelt een maximale optimalisatie van aantal stalen per microtiterplaat. Gezien de lage volumes patiënten met periprothetische infecties in de meeste centra, is de ware kost vermoedelijk substantieel hoger. Bovendien zijn manuele ELISA's vrij arbeidsintensief.

Voor commerciële assays wordt in Amerikaanse laboratoria een prijs van meer dan 200 USD aangerekend, terwijl in een Europese studie een merkkelijk lagere kost van 22 euro wordt vermeld, hetgeen echter nog steeds vele malen hoger is dan een routine merker als CRP (32,36).

Voor bepaling van interleukine-6 in serum is het vooral belangrijk dat het serum snel gescheiden wordt van de cellen; concentraties kunnen significant dalen indien er meer dan 4 uur tussen afname en scheiding van het staal

zit, hoewel dit niet consistent wordt gerapporteerd (41,42). Na separatie lijkt IL-6 wel vrij stabiel te zijn in verschillende bewaaromstandigheden (39,41-43).

Over de stabiliteit van interleukine-6 in synoviaal vocht is weinig geweten.

## 2. Plaats van leukocyt esterase in de diagnostiek van periprothetische infecties

Leukocyt esterase is een enzyme gesecreteerd door neutrofielen die naar een plaats van infectie worden gerekruteerd. Dit enzyme kan eenvoudig gedetecteerd worden met een colorimetrische strip die reeds geruime tijd gebruikt wordt voor de diagnose van urinaire infecties (44). De witte bloedcellen worden gelyseerd door een detergent in de strip, waarbij het esterase vrijkomt dat vervolgens een chemische reactie katalyseert, waarbij een paarse kleur ontstaat. Het resultaat kan vervolgens semi-kwantitatief worden afgelezen, volgens de gebruiksaanwijzingen van de producent.

De bruikbaarheid van deze test werd ook reeds onderzocht in andere lichaamsvloten om infectie aan te tonen, onder meer pleuraal vocht, sputum, BAL vocht, en andere (45-47). De eerste studie om de waarde na te gaan van leukocyt esterase bij periprothetische infecties was deze van Parvizi *et al* in 2011 (48). Deze studie op 108 gewrichtsvloten van patiënten die een knierevisie zouden ondergaan, toonde een sensitiviteit van 80.6% en specificiteit van 100% indien een “++” lezing werd gezien als positief. Indien de test positief wordt beschouwd vanaf een lezing van “+”, vond hij een sensitiviteit van 100% doch sterk verminderde specificiteit van 41.7%. Men kan dus uit deze resultaten besluiten dat een infectie bewezen kan worden geacht bij een lezing van “++”, en uitgesloten bij een negatieve of “spoor” lezing. Zoals te verwachten was er tevens een sterke correlatie tussen de leukocyt esterase test en het percentage polymorfonucleairen ( $r=0.7769$ ) en totaal aantal witte bloedcellen ( $r=0.5024$ ) in het aspiraat. Aangezien de test snel en eenvoudig kan worden uitgevoerd, hetzij pre-operatief hetzij peroperatief, is de test potentieel zeer nuttig in klinische besluitvorming. Op basis hiervan stelde Parvizi dan ook een algoritme voor om de aanpak van mogelijk geïnfecteerde protheses te vergemakkelijken (zie bijlage 3). Hij was bovendien dermate enthousiast over de prestaties van het leukocyt esterase dat hij een “++” lezing op synoviaal vocht liet toevoegen aan de MSIS criteria voor infectie (11). Latere studies tonen sensitiviteit variërend tussen 66% en 100%, met specificiteit variërend tussen 93% en 100% bij “++” resultaat (zie tabel 3 in bijlage) (49-54).

Een probleem met de visuele lezing van leukocyt esterase strips is contaminatie met bloed en debris; te bloederige vloten kunnen de kleurverandering maskeren en zijn niet bruikbaar. Hoewel in de studie van Parvizi wordt vermeld dat knieën met een te bloederig aspiraat werden geëxcludeerd, is het niet duidelijk om welk percentage van de aspiraten het hier gaat. Een studie van Wetters *et al* bij 223 heup- en knierevisies in 2012 vond reeds dat 29.2% van alle aspiraten onleesbaar waren door bloed of debris in het synoviaal vocht (49). Ook Deirmengian *et al* rapporteren een vrij hoog percentage (17%) niet-interpreteerbare aspiraten in hun studie bij 46 patiënten (50). In 2013 publiceerden Aggarwal *et al* echter een “technical note”, waarbij zij aantoonde dat centrifugatie van het synoviaal vocht, met gebruik van een minicentrifuge die ter plaatse in het operatiekwartier of consultatieruimte kan gebruikt worden, het probleem van bloederige aspiraten quasi volledig oplost (55).

Uiteraard is de leukocyt esterase test slechts een *proxy* voor de witte bloedceltelling in het synoviaal vocht, en specifiek voor het aantal neutrofielen. Het valt dan ook te verwachten dat de test (vals) verhoogd is bij andere aandoeningen die neutrofielen naar het gewricht rekruteren, zoals inflammatoire gewrichtsaandoeningen, hoewel een studie in 2012 van Cipriano *et al* toch nog steeds een uitstekende performantie van WBC telling toonde bij

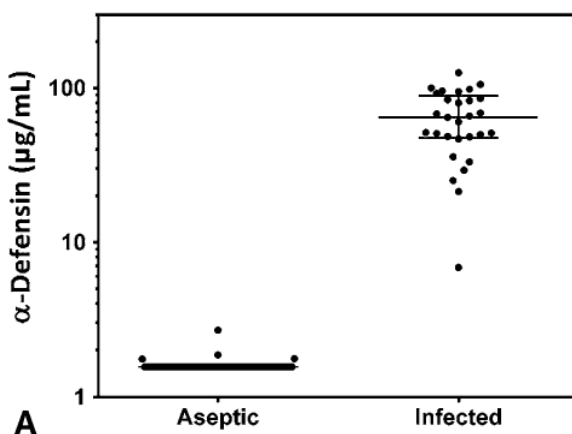
patiënten met inflammatoire arthritis (38). Bij falende metal-on-metal prothesen werd daarentegen wel meermaals een vals verhoogde WBC telling aangetoond (53,56,57). Het valt dan ook te verwachten dat de leukocyt esterase test hier ook vals positieve resultaten kan geven, hoewel in de studie van Tischler *et al* geen van de leukocyt esterase testen bij aseptisch falen van een metal-on-metal prothese een “+++” resultaat genereerde (52). Ook polyethyleen slijtage kan verhoogde leukocytose in het gewrichtsvocht veroorzaken, en vals-positieve resultaten met de leukocyt esterase test zijn hierbij beschreven (53).

Verder is het ook mogelijk dat de test te gevoelig is en tot vals-positieve resultaten leidt in de vroege post-operatieve periode, gezien reeds werd aangetoond dat synoviale witte bloedceltelling hoger is na een ingreep en slechts geleidelijk afneemt (58).

Het grote voordeel van leukocyt esterase is ongetwijfeld de snelheid, eenvoud, prijs en universele beschikbaarheid van de test. De meeste dipsticks zijn verkrijgbaar voor minder dan een halve euro per test. Het leukocyt esterase is evenwel niet erg stabiel; voor urinalyse wordt aangeraden de test binnen de twee uur uit te voeren, en na 24 uur in de koelkast is er reeds een significante daling van de leukocyt esterase reactiviteit (59). Bovendien is deze stabiliteit nooit uitgetest voor niet-urine stalen. Inter-observer variabiliteit is een andere bekommernis, die eventueel kan voorkomen worden door automatische lezing.

### Plaats van alfa-defensine in de diagnostiek van periprothetische infecties

Alfa-defensines zijn antimicrobiële peptides die in het gewrichtsvocht worden gesecreteerd bij aanwezigheid van een pathogeen. In 2014 screenden Deirmengian *et al* een uitgebreid panel aan cytokines en antimicrobiële peptides in het synoviaal vocht van 95 patiënten met gewrichtsprothesen, waarbij alfa-defensines een uitstekende sensitiviteit en specificiteit van 100% vertoonden voor de diagnose van periprothetische infectie, zoals gedefinieerd volgens de MSIS criteria (15).



Uit: Deirmengian *et al* (15)

Opvallend is ook dat de levels van  $\alpha$ -defensines niet significant correleerden met de witte bloedceltelling in synoviaal vocht ( $r=0.08$ ), suggererend dat het hier niet gewoon een *proxy* van lokale inflammatie betreft.

CD Diagnostics (Zimmer) ontwikkelde daarop een kwalitatief immunoassay voor de detectie van alfa-defensine, de Synovasure® test. Hierbij moeten de gewrichtsvochten gecentrifugeerd, ingevroren en opgestuurd worden naar hun centraal laboratorium in Baltimore (Citrano Medical Laboratories, Baltimore, MD, USA) voor uitvoering

van een alfa-defensine immunoassay. Ze bieden bovendien ook gelijktijdige meting van CRP in het synoviaal vocht aan, hetgeen vooral de specificiteit zou verhogen (62). Recent werd ook een sneltest ontwikkeld, waarbij een kleine hoeveelheid gewrichtsvocht wordt vermengd met een buffer, en vervolgens geappliqueerd op een immunochromatografisch device. Het resultaat kan afgelezen worden na 10 minuten.

De firma claimt een sensitiviteit van 97.4% en specificiteit van 95.8% voor zijn  $\alpha$ -defensine assay, met bovendien excellente sensitiviteit bij cultuur-negatieve infecties en geen beïnvloeding van de resultaten door inflammatoire aandoeningen of voorafgaande behandeling met antibiotica (60,62). Ook patiënten met aangetoonde metallose werden geïnccludeerd in de studie, hetgeen resulteerde in een lichte toename van het aantal vals-positieve resultaten, doch nog steeds een specificiteit van 95.8% opleverde. Bovendien zou de combinatie met synoviaal CRP ook deze vals-positieve testen correct kunnen identificeren als niet-geïnfecteerd, hetgeen werd samengevat in een diagnostisch algoritme (zie bijlage 5) (62). De studies waar deze resultaten op berusten zijn echter uitgevoerd in het centrale laboratorium en niet met de sneltest. Het validatiedossier van de sneltest is niet meteen terug te vinden, en het is dus niet geheel duidelijk of deze test een even goede performantie heeft.

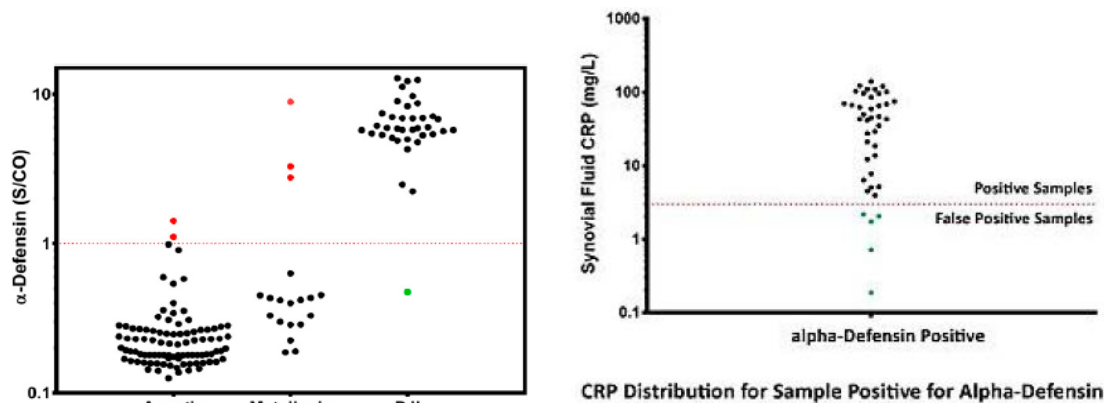


Fig. 1

Uit: Deirmengian et al (62)

Uit: "A New Paradigm for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection" (60)

Verdere studies van Bingham *et al* en Deirmengian *et al* bevestigen een hoge sensitiviteit en specificiteit van alfa-defensine bepaling (zie tabel 4 in bijlage) (50,61).

Bij een directe vergelijking tussen alfa-defensine en leukocyt esterase in synoviaal vocht vinden Deirmengian *et al* een hogere sensitiviteit voor alfa-defensine dan voor leukocyt esterase, en ze wijzen er bovendien op dat voor 17% van de aspiraten de leukocyt esterase test niet interpreteerbaar was omwille van bloedbijmenging (50). Een vergelijking die niet helemaal opgaat, aangezien in deze studie de vochten voor alfa-defensine bepaling eerst werden gecentrifugeerd, hetgeen niet gebeurde voor de leukocyt esterase test. Gezien reeds werd aangetoond dat centrifugatie de het probleem van bloedbijmenging elimineert, zou leukocyt esterase na centrifugatie misschien ook betere resultaten hebben kunnen behalen (55). Het is bovendien niet duidelijk of bloedbijmenging ook negatieve effecten heeft op de Synovasure sneltest; alle tot hertoe gepubliceerde studies sturen de gecentrifugeerde en ingevroren stalen naar het centraal laboratorium van CD Diagnostics. Er zijn nog geen studies gepubliceerd die de sneltest gebruiken.

Deirmengian *et al* tonen verder in een studie met groot aantal stalen (1937 gewrichtsvochten) aan dat er geen significante verschillen in alfa-defensine levels bestaan tussen infecties met verschillende pathogenen (63). Ook minder virulente organismen, zoals coagulase-negatieve stafylokokken, zouden een adequate alfa-defensine

respons uitlokken. Dit is uiteraard interessant voor indolent verlopende infecties, typisch veroorzaakt door minder virulente organismen, die moeilijk te diagnosticeren zijn met de huidige criteria en testen. Alfa-defensine werd dan ook reeds uitgetest voor de diagnostiek van periprothetische schouderinfecties, die zoals gekend vaak subklinisch verlopen. Een studie van Frangiamore *et al* vindt een sensitiviteit van 63% en specificiteit van 95% voor het  $\alpha$ -defensine assay (64). Betere resultaten dan verkregen worden met de huidige diagnostische methoden, doch minder sensitief dan synoviaal IL-6 (33). Bemoedigend is wel dat synoviaal  $\alpha$ -defensine ook significant toenam bij infectie door *P. acnes*, hetgeen een zeer weinig virulent micro-organisme is dat normaal weinig inflammatoire respons uitlokt.

Een belangrijk nadeel van de Synovasure test is de kostprijs; de sneltest wordt momenteel commercieel aangeboden aan 262 euro per test. Bovendien is, zoals vermeld, de sneltest eigenlijk nog niet uitgetest in grote studies en kan de performantie hiervan nog verschillen van het beschreven assay. Het staal opsturen naar de USA gaat uiteraard gepaard met een belangrijke meerkost, en bovendien verliest de test dan ook één van de voornaamste voordelen; dat het pre- of peroperatief als POCT kan gebruikt worden.

Tot slot nog te vermelden dat zowel Bingham als Deirmengian (aanzienlijke) financiële gunsten verkregen van CD Diagnostics voor hun participatie in de studie. Het lijkt dan ook aangewezen dat er in de toekomst ook onafhankelijke studies gebeuren die niet rechtstreeks gefinancierd worden door CD Diagnostics.

### Plaats van BJI Inoplex in de diagnostiek van periprothetische infecties

Recent werd door Diaxonhit een nieuw hulpmiddel in de diagnostiek van periprothetische infecties ontwikkeld; een serologisch assay dat IgG antistoffen zou kunnen aantonen tegen enkele van de meest voorkomende verwekkers van periprothetische infecties, namelijk *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. agalactiae* en *P. acnes*. Zestien proteïne antigenen, afkomstig van deze verwekkers, werden geselecteerd door vergelijkende immunoproteomics, gevolgd door ELISA en Luminex beoordelingen in het serum van patiënten met gekende periprothetische infectie, en vervolgens verder ontwikkeld voor inclusie in een multiplex immunoassay. Hiervoor werden recombinant proteïnen gekoppeld aan Magplex™ beads (Luminex, Austin, United States). IgG binding wordt gedetecteerd met R-phycoerythrine-geconjugeerd anti-humaan IgG. Fluorescentie wordt vervolgens gedetecteerd met een Magpix toestel en Xponent software (22). De resultaten worden uiteindelijk gepresenteerd per genus, doch niet per species.

Dit serologisch assay werd uitgetest in twee Parijse ziekenhuizen op 455 patiëntenstalen. De diagnose van gewrichtsprothese infectie werd gesteld aan de hand van de IDSA criteria. Ze beschrijven een sensitiviteit voor stafylokokken infectie van 72.3% met specificiteit van 80.7%, een sensitiviteit van 75% en specificiteit van 92.6% voor detectie van *S. agalactiae* en sensitiviteit van 38.5% en specificiteit van 84.8% voor *P. acnes*.

Sensitiviteit is niet bijzonder hoog, zeker niet voor *P. acnes*, doch de auteurs beargumenteren dat het assay sensitiever is voor infecties ontstaan > 3 maanden na plaatsing van de prothese, de *delayed* en *late onset* infecties dus (met sensitiviteit tot 76% voor stafylokokken en 85.7% voor *S. agalactiae*). De sensitiviteit voor *P. acnes* blijft evenwel een probleem; zoals de auteurs suggereren, is dit mogelijk te wijten aan de antigenen geïncorporeerd in het assay, anderzijds betreft het mogelijk een reflectie van de lage virulentie en immunogeniciteit van *P. acnes*.

Een ander probleem is de frequente rapportering van “indeterminate results”, die optrad bij 6% van alle patiëntenstalen in de studie. De gerapporteerde sensitiviteit en specificiteit is berekend na exclusie van deze stalen, dus de uiteindelijke diagnostische waarde is vermoedelijk lager. Bovendien representeren de bacteriën waartegen het assay gericht is slechts 63.5% van alle gevonden pathogenen in de studie. Deze proportie is in lijn met wat in de literatuur ook wordt beschreven (1,65).

Wanneer we zelf de algemene sensitiviteit van het assay trachten te berekenen op basis van de gegevens van het artikel, vinden we dat bij 79 patiënten een infectie met één van de pathogenen geïncubeerd in het assay correct wordt gediagnosticeerd. Op een totaal van 176 geïncubeerde patiënten, bekomen we zo een sensitiviteit van slechts 44.9%. Indien we enkel het totaal nemen van de patiënten geïncubeerd met één van de geïncubeerde pathogenen, komen we aan 115 patiënten, resulterend in een sensitiviteit van 68.7%, hetgeen echter wellicht een lichte overschatting is, aangezien in dit “totaal” van 115 patiënten nog een onbekend percentage van de stalen geëxcludeerd is op basis van “indeterminate results”.

Ook specificiteit wordt hierdoor overschat, waarbij we zelf op basis van de gegevens in de studie een specificiteit van 59-76% berekenen voor stafylokokken, 56-89% voor *S. agalactiae* en 53-84% voor *P. acnes*, afhankelijk van de hoeveelheid en aard van polymicrobiële infecties (data niet gegeven). Tot slot stelt zich ook de vraag of de antigenen in het assay geen kruisreactiviteit vertonen voor andere antistoffen, en of huidige of doorgemaakte infecties met pathogenen geïncubeerd in het assay de test niet zullen beïnvloeden.

Een voordeel van dit assay is ongetwijfeld dat het reeds meteen een identificatie tot op genusniveau van bepaalde causale kiemen kan geven zonder de nood aan cultuur. Echter, voor antibiogram bepaling dient toch nog steeds een cultuur te gebeuren. Doordat het assay slechts ongeveer 60% van de causale kiemen omvat, blijft cultuur en andere diagnostiek sowieso aangewezen. Het is dan ook de vraag wat de klinische toegevoegde waarde van dergelijk assay zou zijn. Mogelijk zal in geselecteerde gevallen eerder gestart kunnen worden met gerichte antibiotische therapie, doch dit zal nog moeten aangetoond worden in klinische studies.

De prijs van de test is nog niet gekend aangezien deze nog niet commercieel beschikbaar is, maar zal vermoedelijk aan de hoge kant zijn gezien de arbeidsintensieve voorbereiding en Luminex technologie.

## Conclusie

	Voordelen	Nadelen
Serum interleukine-6	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Niet-invasieve pre-operatieve diagnose</li> <li>- Hoge specificiteit</li> <li>- In combinatie met CRP beter dan CRP + ESR?</li> <li>- Prijs?</li> <li>- Mogelijk nut in uitsluiten infectie vóór second stage operatie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensitiviteit variabel</li> <li>- Niet nuttig voor schouderprotheses</li> <li>- Niet bruikbaar bij inflammatoire aandoeningen, ziekte van Paget, ...</li> </ul>
Synoviaal interleukine-6	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensitief en specifiek</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cut-off?</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mogelijk waardevol bij schouderprothesen</li> <li>- Prijs?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Beter dan synoviaal CRP/witte bloedcel telling?</li> <li>- Assays niet ontworpen/gevalideerd voor synoviaal vocht</li> <li>- Invasief; geen peroperatieve diagnose mogelijk</li> </ul>
Leukocyt esterase	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Universeel beschikbaar</li> <li>- Prijs</li> <li>- Sensitief/specifiek afhankelijk van cut-off</li> <li>- POCT: pre- of peroperatieve diagnose mogelijk</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bijmenging bloed/debris</li> <li>- Vals-positieven beschreven bij polyethyleen slijtage</li> <li>- Metal-on-metal prothesen?</li> <li>- Inflammatoire aandoeningen?</li> </ul>
Alfa-defensine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hoge sensitiviteit en specificiteit</li> <li>- Mogelijk waardevol bij schouderprothese</li> <li>- POCT</li> <li>- Goede resultaten bij inflammatoire aandoeningen, voorafgaand antibioticagebruik en cultuur-negatieve infecties</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prijs!</li> <li>- POCT nog niet uitgetest in gepubliceerde studies</li> <li>- Meer onafhankelijk onderzoek nodig</li> <li>- Vals-positieven bij metal-on-metal prothesen</li> </ul>
BJI Inoplex	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pre-operatief, niet-invasief identificatie kiem op genusniveau mogelijk</li> <li>- Snel resultaat</li> <li>- Aanvullende informatie bij vermoeden prothese-infectie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tot 40% van mogelijke verwekkers niet geïncludeerd in assay</li> <li>- Matige sensitiviteit voor stafylokokken/streptokokken</li> <li>- Zeer lage sensitiviteit P. acnes</li> <li>- Kruisreactiviteit?</li> <li>- Prijs?</li> <li>- Meer onderzoek nodig</li> </ul>

## To do/ACTIONS

- 1) Prospectieve evaluatie van serum interleukine-6, leukocyt esterase op synoviaal vocht en BJI Inoplex serologie bij patiëntencohort van UZ Leuven die revisie voor prothese dienen te ondergaan. Er werd besloten geen alfa-defensine te testen op synoviaal vocht omwille van hoge kost (zelfs in studieverband).
- 2) Opvolgen literatuur met betrekking tot interleukine-6 in two-stage revision en als synoviale merker, leukocyt esterase en alfa-defensine POCT.



- 3) Retrospectief nakijken van de waarde van synoviaal CRP bij vermoeden prothese-infecties in UZ Gasthuisberg. Deze test wordt standaard uitgevoerd bij afname van synoviaal vocht, doch het klinisch nut is voor de orthopedisten niet geheel duidelijk.

## ATTACHMENTS

---

### Bijlage I

Tabel 1: Performantie van IL-6 in serum (17,19,20,28-32)

	Cut-off (pg/ml)	Aantal patiënten	Sensitiviteit	Specificiteit	PPV	NPV	gewrichten
Di Cesare et al, 2005	10	58	100%	95%	89%	100%	Heup/knie
Bottner et al, 2007	12	78	95%	87%	74%	98%	Heup/knie
Buttaro et al, 2010	10	69	36%	94%	57%	88%	Heup
Elgeidi et al, 2014	10.4	40	100%	90.9%	79%	100%	Heup/knie
Glehr et al, 2013	2.6	84	92%	53%	78%	79%	Heup/knie
Randau et al, 2014	2.6	120	79.5%	58.3%	55.9%	80.8%	Heup/knie
Grosso et al, 2014	5	69	12%	93%	50%	67%	Schouder
Villacis et al, 2014	10	34	14%	95%	67%	61%	Schouder

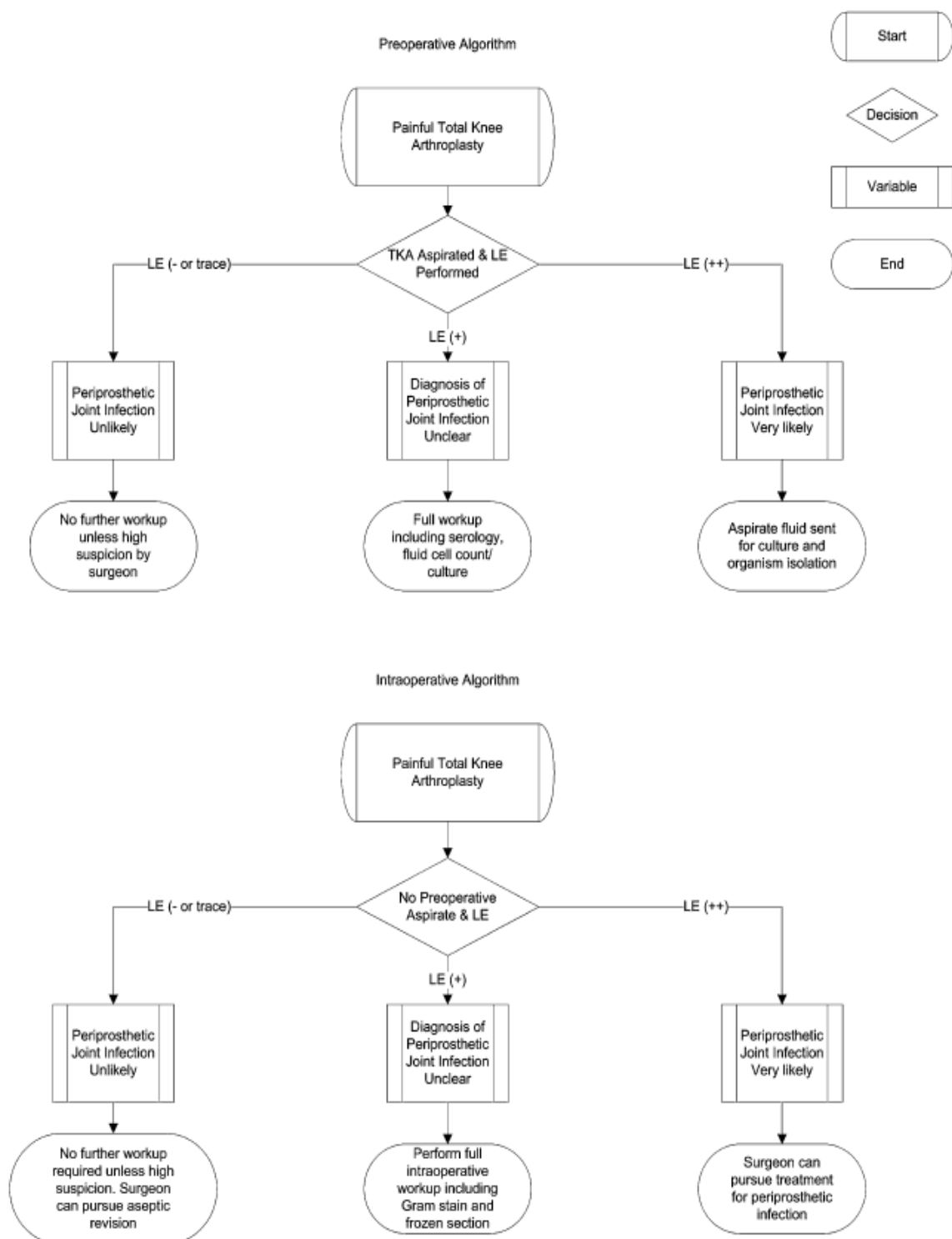
### Bijlage II

Tabel 2: Performantie van IL-6 in synoviaal vocht (12,13,15,18,21,29,33)

	Cut-off (pg/ml)	Aantal patiënten	Sensitiviteit	Specificiteit	PPV	NPV	gewrichten
Nilsdotter-Augustinsson et al, 2007	10000	85	69%	93%	75%	91%	Heup
Deirmengian et al, 2010	13350	51	100%	100%	100%	100%	Heup/knie
Jacovides et al, 2011	4270	74	87.1%	100%	100%	91.5%	Heup/knie

Randau et al, 2014	2100	120	59.4%	85.7%	74.4%	76.5%	Heup/knie
Lenski et al, 2014	30750	69	90%	94.7%	93.3%	92.3%	?
Deirmengian et al, 2014	2300	95	89%	97%	93%	93%	Heup/knie
Frangiamore et al, 2015	359.3	32	87%	90%	87%	90%	Schouder

**Bijlage III**



## Bijlage IV

Tabel 3: Performantie van leukocyt esterase test in synoviaal vocht (48-54)

	Cut-off	Aantal	Sensitiviteit	Specificiteit	PPV	NPV	gewrichten
Parvizi et al, 2011	++	108	80.6%	100%	100%	93.3%	Knie
	+ / ++		93.5%	86.7%	72.5%	97.3%	Knie
Parvizi et al, 2011	++	17	80%	100%	100%	92.3%	Knie
	+ / ++		100%	41.7%	41.7%	100%	Knie
Wetters et al, 2012	+ / ++	223	93.3%	77%	37.8%	98.7%	Heup/knie
Tischler et al, 2014	++	189	66%	97.1%	89.7%	88%	Heup/knie
	+ / ++		79.2%	80.8%	61.8%	90.1%	Heup/knie
Guenther et al, 2014	++ / +++	364	100%	96.5%	82%	100%	Heup/knie/ schouder
Shafafy et al, 2015	++ / +++	109	81%	93%	74%	95%	Heup/knie
Colvin et al, 2015	++	57	100%	97%	95%	100%	Heup/knie/ elleboog
Deirmengian et al, 2014	++	46	69%	100%	100%	77%	Heup/knie

## Bijlage V

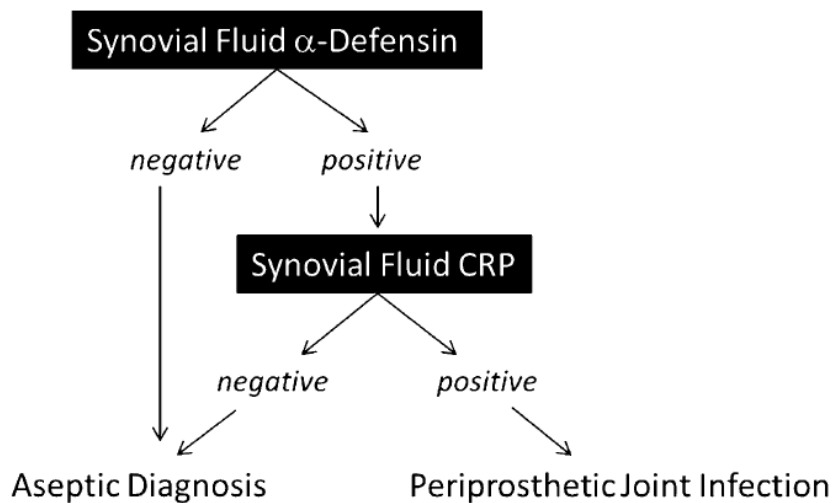


Fig. 4

$\alpha$ -defensin and CRP results are assessed in a combined algorithm. The CRP test is specifically utilized to improve the specificity of the combined algorithm.

Uit: Deirmengian et al (62)

## Bijlage VI

Tabel 4: Performantie van alpha-defensine test in synoviaal vocht (15,50,61-64)

	Aantal	Sensitiviteit	Specificiteit	PPV	NPV	Gewrichten
Deirmengian et al, 2014	95	100%	100%	100%	100%	Heup/knie
Deirmengian et al, 2014	149	97%	96%	90%	99%	Heup/knie
Deirmengian et al, 2014	46	100%	100%	100%	100%	Heup/knie
Bingham et al, 2014	61	100%	95%	90%	100%	Heup/knie
Frangiamore et al, 2015	33	63%	95%	88%	88%	Schouder

Revisie 140224: geen wijzigingen