

Orthopaedic Infections: Pre-clinical Models, Diagnostic Tools and Novel Coatings

Citation for published version (APA):

Odekerken, J. C. E. (2015). *Orthopaedic Infections: Pre-clinical Models, Diagnostic Tools and Novel Coatings*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20150424jo>

Document status and date:

Published: 01/01/2015

DOI:

[10.26481/dis.20150424jo](https://doi.org/10.26481/dis.20150424jo)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Chapter 1

An infection has always been one of the most problematic orthopaedic complications. The disease itself has been determined in fossilized specimens of dinosaurs and Neanderthals and has been described in ancient Egyptian and Roman manuscripts. To date the treatment of orthopaedic infections still is a challenging task for the clinician with a high impact on the patient's daily life. Treatment often consists out of high-dosed antibiotics and surgical debridement of the affected tissue. In general the treatment regimen is time consuming and results in a long recovery period for the patient. Orthopaedic infections are difficult to cure and often become a chronic condition.

Although the necessary precautions in the use of antibiotics, the incidence of bacterial strains resistant to specific antibiotic treatment is increasing, also those responsible for orthopaedic infections (in most cases *Staphylococci*, like MRSA and MRSE). Orthopaedic infections caused by such antibiotic resistant bacteria are more difficult to treat, therefore antibiotic therapy should be applied with caution due to the limited collection of effective antibiotics. This indicates that improvement of the current treatment regimen is an option that has to be considered.

Infection prevention is an important measure to reduce the incidence of post-operative orthopaedic infections. The per-operative use of systemic antibiotics is a known effective measure, so is the use of bone cement admixed with antibiotics for the fixation of cemented prostheses. Currently such a prophylactic measure is not available for uncemented prostheses; a coating capable of releasing an antiseptic compound is expected to function as such a prophylactic measure. Currently such coatings are not yet suitable for clinical application and require further research into its (pre-)clinical efficacy.

Pre-clinical evaluation of such coatings and implants require a validated and reproducible pre-clinical implant infection model which allows thorough assessment of infection specific parameters. An overview of the available clinical diagnostics and experimental models was made to assess possible improvement options. Infection specific imaging was one of the diagnostic modalities which have shown to generate inconclusive results in the past. The diagnostic potential of scintigraphy has shown its limitations especially in the early phase of infection and in low-grade infections. PET scanning is expected to provide in a more discriminative diagnostic power in those cases. Furthermore a review on the available pre-clinical models indicated that there is room for improvement, since there are only a few animal models which use a multitude of infection specific parameters to assess infection development.

This indicates that considerable improvements can be made when focussing on the currently used diagnostic tools and the experimental setup of the animal infection models. An infection model, in which a multitude of infection specific parameters is being determined, combined with the use of multiple diagnostic imaging tools, could result in a more complete experimental model.

Chapter 2

Metallic implants are being used in the field of orthopaedic and trauma surgery for the stabilisation of fractures and osteotomies and for joint prosthesis. For the fixation of uncemented prostheses it is essential that the implant surface allows bone apposition, this can be enhanced with a coating like the well-known hydroxyapatite coating. However there is currently no coating available in the clinic which allows bone apposition on the implant surface and the ability to release an antimicrobial substance to function as a prophylactic measure for implant infection. A review of the current literature indicated that every coating has its advantages and disadvantages in fabrication and application and that there is a multitude of evaluation methods to assess the functionality of such novel coatings *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo*.

Chapter 3

Current methods for the local delivery of antibiotics in patients (e.g. antibiotic-loaded bone cement or bone substitutes) result in diffusion of the antibiotic compound in the haematoma and the surrounding tissues. To determine the efficacy of the release of the antibiotic from the material, it is essential to determine the antibiotic load in patient material, like wound exudate and serum. The available methods to detect and measure the released amount of antibiotics are not optimal since they are hampered by the presence of proteins in patient material, which negatively influences the detection of the antibiotics present in the samples. An ELISA was established to determine the concentration of gentamicin and vancomycin in buffer, wound exudate and serum. In contrast to HPLC and fluorescence based methods, an ELISA based approach is more sensitive and less prone to interference caused by proteins. The established ELISA allows to specifically determine gentamicin concentrations within a range of 2 – 500 ng/ml, while the vancomycin ELISA can specifically determine concentrations within a range of 20 – 5000 ng/ml in protein containing samples.

Chapter 4

Pre-clinical evaluation of coatings and implants require a validated and reproducible pre-clinical model. After careful consideration of the available pre-clinical models (**Chapter 1**) and evaluation methods (**Chapter 2**), an experimental model in rabbits was chosen. In this model, rabbits received a titanium nail in the proximal tibia. In 50% of the rabbits the intramedullary cavity was contaminated per-operatively with 3.8×10^5 CFU *S. aureus* prior to the implantation of a titanium nail, while the remainder of the rabbits received an intramedullary injection with sterile saline before implantation. After surgery the rabbits were followed for a period of 6 weeks to assess the development of an orthopaedic implant infection. During this 6 week follow-up period the rabbits were evaluated weekly on changes in weight, temperature and haematological values in combination with X-ray radiographs of the affected leg. Every 2 weeks the rabbits also received an injection with calcium binding fluorophores to register bone remodelling at that specific time point in follow-up. After 6 weeks the rabbits were sacrificed to evaluate the affected tibiae for infection by microCT, bacterial culture and histology. In total this approach resulted in a wide collection of infection specific parameters determined at multiple time points in a dedicated population, this resulted in a reproducible model for orthopaedic implant infections.

Data analysis indicated that an elevated erythrocyte sedimentation rate was indicative for infection presence early in follow-up. The changes in body weight were only indicative for the presence of an infection later on in follow-up. Leucocyte differentiation, C-reactive protein levels and X-ray radiographs allowed differentiation between uninfected and infected implants within the first 2 weeks of the experimental follow-up, these data were supported by the microCT, bacterial culture and histological data.

Chapter 5

In the described rabbit implant infection model we also investigated the use of ^{18}F -FDG as a PET-tracer for infection specific imaging. The systemic use of a radionuclide labelled glucose molecule (^{18}F -FDG) results in an accumulation in metabolically active regions, like active infections. The ^{18}F -FDG microPET scan was able to visualize and quantitatively determine infection presence at 3 weeks after surgery (possibly even after 2 weeks). Furthermore, the histological data confirmed that the PET-tracer uptake in the infected tissue corresponded with the infection mediated bone

morphological changes of the affected tissue. Therefore, ^{18}F -FDG can be used as an infection specific diagnostic imaging tool for the detection of early post-operative orthopaedic implant infections in this animal model.

Chapter 6

The presence of an implant is not a necessity for an orthopaedic infection. Also this situation requires an experimental model, not just to assess infection development but also for the evaluation of future bone replacement materials. An equal approach as described in **Chapter 4** was used for the infection model, only with the absence of an intramedullary nail, merely an empty defect in the proximal tibia. Also in this model the extensive experimental follow-up resulted in evident clinical, radiological and histological data on infection development and progression. The absence of a metallic implant was an advantage in the evaluation of the X-ray radiographs, microCT and microPET imaging data, due to the lack of implant mediated scattering induced by the necessary ionising radiation. As a result the X-ray radiographs, microCT and ^{18}F -FDG microPET data were able to differentiate between septic and aseptic wound healing at earlier time points. As such, ^{18}F -FDG allowed the detection of an orthopaedic infection within the first weeks after surgery. Also in this study the use of calcium binding fluorophores provided detailed information about the infection mediated structural changes of the tibial cortex and the presence or absence of osteolysis. Combined this allowed determination of infection mediated bone morphological changes from the 2nd post-operative week onward.

Chapter 7

The established rabbit implant infection model described in **Chapter 4** and **5** was ultimately used for the evaluation of a novel implant coating, with a proposed prophylactic function. The coating consisted out of a polymer admixed with the antiseptic chlorhexidine, resulting in a gradual release of chlorhexidine in the surrounding tissue. *In vitro* evaluation indicated that the coating was able to release a sufficient amount of chlorhexidine to reach bacteriostatic levels. The chlorhexidine containing polymer coating was subsequently evaluated on *in vivo* systemic toxicity. In 3 groups of 5 animals each, polymer coated titanium nails were implanted: a coating without chlorhexidine, a low dose and a high dose chlorhexidine containing coating. This part of the study indicated that

there was no systemic toxicity. The histological data of the legs with a titanium nail coated with the polymer coating without chlorhexidine indicated that, the surface of this “base-coating” was covered with bone within 4 weeks after implantation and is therefore able to serve as an excellent osteoconductive surface.

The *in vivo* antimicrobial efficacy study indicated that the high dose chlorhexidine coating was not able to prevent the onset of an implant infection in our animal model. However the ¹⁸F-FDG microPET data did show a lower uptake at the first post-operative week in the rabbits with the chlorhexidine coated nail, when compared to the uptake in rabbits with an uncoated titanium nail. This suggests that the released chlorhexidine was not sufficient for a complete bacterial kill-off and as such resulted in a decreased virulence of the bacteria present in the contaminated tibial intramedullary cavity. Furthermore, the potential sclerosing effect of chlorhexidine might have resulted in a temporarily constrained local immune response.

As a result this study evaluated 2 separate coatings. First, a novel polymer based coating without further additions, which is able to function as an osteoconductive surface. And a second coating, a chlorhexidine loaded coating, which is able to release the antiseptic chlorhexidine. Unfortunately the released dose was not sufficient to reach *in vivo* bacteriostatic levels and was therefore not able to prevent an orthopaedic implant infection in our experimental model.

Conclusion

The main findings described in this thesis are:

- ELISA is a suitable method for the detection of gentamicin and vancomycin in patient material.
- A rabbit infection model is a suitable model for the evaluation of novel implant coatings and biomaterials.
- ^{18}F -FDG PET can be considered as a valid diagnostic imaging tool for the early detection of orthopaedic infections, with and without the presence of an implant.
- The current chlorhexidine containing polymer coating is inadequate as a prophylactic measure against orthopaedic implant infections.
- The studied polymer coating can serve as an osteoconductive surface for orthopaedic implants.
- This thesis also contains detailed descriptions of pre-clinical orthopaedic infection models, for the evaluation of orthopaedic infections, novel coatings and biomaterials. It also provides in histological and radiological scoring systems for the quantitative assessment of orthopaedic infections in these models.

Samenvatting

Hoofdstuk 1

Infecties zijn altijd al een van de meest problematische orthopaedische aandoeningen geweest. Botinfecties werden reeds vastgesteld bij dinosauriërs en Neanderthalers en werden tevens omschreven in oude Egyptische en Romeinse geschriften. Nog steeds is het behandelen van bot- en gewrichtsinfecties een uitdaging voor zowel de behandelend specialist als voor de patient. De behandeling vereist doorgaans een hoog gedoseerde antibioticumkuur en het operatief debrideren van het geïnfecteerde weefsel. De behandelingen en herstelperioden duren doorgaans lang. Botinfecties zijn moeilijk te genezen en resulteren dan ook vaak in een chronische aandoening.

Ondanks de nodige beperkingen in het antibioticumgebruik is er een toename van antibioticaresistentie bij een groot aantal bacteriestammen, onder andere die, die verantwoordelijk zijn voor orthopaedische infecties (in de meeste gevallen *S. aureus* en *S. epidermidis* (MRSA en MRSE)). Orthopaedische infecties veroorzaakt door resistente bacteriën zijn beduidend lastiger te behandelen. Er dient voorzichtig omgegaan te worden met de huidige beschikbare effectieve antibiotica en zo is het verbeteren van huidige behandelmethoden een mogelijke oplossing.

Om de incidentie van orthopaedische postoperatieve infecties terug te dringen, zijn diverse preventieve maatregelen van belang. Naast het gebruik van systemische antibiotica perioperatief, is in gecementeerde prothesen de bijmenging van antibiotica in het botcement effectief. In ongecementeerde prothesen bestaat die mogelijkheid niet en zou een coating op een orthopaedisch implantaat, welke een antiseptische stof vrijgeeft, eenzelfde bescherming kunnen bieden. Echter een dergelijke coating is op dit moment klinisch niet beschikbaar en dient nog ontwikkeld te worden alvorens deze geschikt is.

Het pre-klinisch testen van zulke coatings vereist een representatief en reproduceerbaar pre-klinisch implantaat infectie diermodel dat mogelijkheden biedt om alle aspecten van de infectie nauwkeurig te volgen. Daarom wordt er een overzicht gegeven van de beschikbare klinische diagnostica en experimentele modellen. Met name de infectie specifieke imaging is in het verleden teleurstellend gebleken, omdat in vooral de vroege fase van infecties en in low-grade infecties de scintigrafieën te weinig specifiek waren. PET scanning zou dat mogelijk beter inzichtelijk kunnen maken. Uit een literatuur overzicht van osteomyelitis diermodellen blijkt dat er maar weinig

diermodellen zijn die een compleet arsenaal aan infectie parameters gebruiken om de infectie te volgen.

De conclusie is dat door zowel wat betreft diagnostische middelen als wat betreft de diersmodellen verbeteringen mogelijk zijn, en een combinatie van een verbeterd diersmodel met meerdere infectieparameters en diagnostica zou kunnen resulteren in een optimaal experimenteel diersmodel.

Hoofdstuk 2

Metalen implantaten worden al jaren gebruikt in het orthopaedisch en traumatologisch werkveld, voor de stabilisatie van fracturen en osteotomieën, maar ook voor gewrichtsprothesen. In geval van een ongecementeerde prothese is het voor de fixatie ervan nodig dat de prothese goed hecht of vastgroeit aan het bot, zoals bijvoorbeeld het geval is met een hydroxyapatiet coating. Het is gunstig als er adequate bot appositie plaatsvindt aan het oppervlak van het metalen implantaat. Er bestaat echter nog geen klinisch toepasbare coating die zowel botaangroei mogelijk maakt maar ook tegelijk een antibacteriële stof afstaat die preventief werkzaam is tegen een infectie van de prothese. Het literatuuroverzicht laat niet alleen duidelijk zien dat iedere coating specifieke voor- en nadelen heeft bij zowel fabricage als ook bij klinische toepassing, maar ook dat er meerdere methoden zijn om de toepasbaarheid van deze coatings te evalueren, zowel *in vitro*, *in vivo* en *ex vivo*.

Hoofdstuk 3

De huidige methoden voor de lokale afgifte van antibiotica in de patiënt (zoals antibiotica houdende botcementen of botsubstituten) zorgen voor een diffusie van het antibioticum in het wondhematoom en de omliggende weefsels. Om de effectiviteit van zo'n lokale afgifte te kunnen bepalen is het nodig antibioticum concentraties te meten in onder andere wondvocht en serum. De reeds beschikbare meetmethoden om deze antibiotica afgifte te meten zijn niet optimaal met name vanwege de aanwezigheid van eiwitten in het patientmateriaal wat een negatieve invloed heeft op de concentratiebepaling van de antibiotica. Daarom is er een ELISA opgezet om de concentratie van gentamicine en vancomycine te bepalen in buffer, wondvocht en serum. Deze nieuwe methode is gevoeliger dan de reeds beschikbare methoden (zoals HPLC en methoden

gebaseerd op fluorescente detectie van antibiotica) en is minder gevoelig voor interferentie door eiwitrijke oplossingen. De ontwikkelde ELISA staat specifiek toe om gentamicine concentraties te bepalen binnen een bereik van 2 – 500 ng/ml, waar de vancomycin ELISA specifiek in staat is om concentraties te bepalen binnen een bereik van 20 – 5000 ng/ml in eiwitrijke oplossingen.

Hoofdstuk 4

Het pre-klinisch testen van coatings vereist een representatief en reproduceerbaar diermodel. Op grond van de bestudering van de bestaande experimentele modellen (**Hoofdstuk 1**) en evaluatie methoden (**Hoofdstuk 2**), werd gekozen voor een diermodel in konijnen. In dit model werd bij konijnen, in de proximale mergholte van de tibia, een titanium staafje geplaatst. Bij de helft van de de geopereerde konijnen werd het de mergholte vlak voor het implanteren gecontamineerd met met $3,8 \times 10^5$ CFU *S. aureus*, de andere helft van de konijnen ontving een equivalent volume aan steriele buffer in de mergholte. Postoperatief werden de konijnen 6 weken gevolgd om zo de ontwikkeling van een implantaat infectie te bestuderen. Gedurende deze 6 weken werden de konijnen naast de dagelijkse algemene controle, iedere week onderzocht op afwijkende waarden in lichaamstemperatuur, gewicht en bloedwaarden. In diezelfde periode werden er ook Röntgen opnames gemaakt van de aangedane poot en werden er om de 2 weken fluorescente calcium markers toegediend ter registratie van bot remodellering op het tijdstip van injectie. Na 6 weken werden de konijnen geëuthanaseerd, waarna van de aangedane poot een microCT werd gemaakt, weefselkweken werden afgenomen en histologisch onderzoek werd verricht. Alle onderzoeken samen leverden een grote hoeveelheid aan infectie specifieke parameters op meerdere meetmomenten op, wat resulteerde in een informatief en reproduceerbaar diermodel voor implantaat infecties.

Analyse van deze infectie parameters liet zien dat in dit diermodel de bezinking al vroeg uitsluitel kon geven of er een infectie bestond. Het lichaamsgewicht kon alleen op latere tijdstippen betrouwbaar dienen als een indicator voor de infectie. De leucocyten differentiatie en de C-reactief proteïne concentratie stonden evenals de Röntgen opnames toe om al van de eerste à tweede postoperatieve week een onderscheid te kunnen maken tussen ongeïnfecteerde en geïnfecteerde implantaten, wat ondersteund werd door de microCT, de bacteriekweken en de histologische secties.

Hoofdstuk 5

In het konijnen infectiemodel werd gebruik gemaakt van microPET scanning ter evaluatie van de tracer ^{18}F -FDG voor infectie specifieke beeldvorming. Het gebruik van een radioactief gelabeld glucose molecuul (^{18}F -FDG) zorgt hierbij voor een lokale verhoogde glucose opname in het weefsel rondom de infectiehaard. De ^{18}F -FDG microPET scan stond toe het geïnfecteerde weefsel in beeld te brengen en te kwantificeren vanaf een postoperatieve periode van 3 weken, mogelijk al na 2 weken. Vergelijking met de histologisch onderzoeks gegevens toonde aan dat de opname van de PET tracer correspondeerde met het door de infectie aangedane weefsel. Kortom, ^{18}F -FDG microPET is in dit diermodel een betrouwbaar en specifiek diagnostisch hulpmiddel voor het detecteren van orthopaedische implantaat infecties, ook in een vroeg postoperatief stadium.

Hoofdstuk 6

Er zijn ook situaties waarbij er botinfecties optreden in de afwezigheid van een implantaat. Ook deze situatie behoeft een pre-klinisch model, niet alleen om de ontwikkeling van zulke infecties in kaart te brengen maar ook ter evaluatie van toekomstige botvervangende materialen. Zo werd er gebruik gemaakt van de gelijke opzet als beschreven in **Hoofdstuk 4** maar dan in de afwezigheid van een implantaat, dus enkel een leeg botdefect in de mergholte van de proximale tibia. De experimentele opzet zorgde ook hier voor een duidelijk klinisch, radiologisch en histologisch beeld van de ontwikkeling van een infectie. Door de afwezigheid van een implantaat was er minder storing van de Röntgen, microCT en ^{18}F -FDG microPET opnamen: er is minder storing van het signaal doordat er geen weerkaatsing meer is van de ioniserende straling aan het implantaat oppervlak. Deze verlaagde achtergrond zorgde voor een betere beoordeling van de verkregen gegevens van de Röntgen-opnamen, microCT en ^{18}F -FDG microPET, waardoor er op eerdere tijdstippen kon worden vastgesteld of er een infectie aanwezig was dan wanneer er wel een implantaat aanwezig was. Zodoende kon met behulp van ^{18}F -FDG PET al vanaf één week na de operatie het onderscheid gemaakt worden tussen geïnfecteerd en gezond weefsel. Ook in deze studie leverde het gebruik van fluorescente markers gedetailleerde informatie op omtrent de structuur van de tibiale cortex en de aan- of afwezigheid van osteolyse. Gecombineerd zorgde dit, in het geval van een infectie, voor een detecteerbaar verlies van bot en vervorming van de tibiale cortex vanaf de 2^e week na de operatie.

Hoofdstuk 7

Het in **Hoofdstuk 4** en **5** beschreven infectie model in het konijn werd ingezet voor de evaluatie van een nieuwe coating, met een beoogde profylactische werking. De coating bestaat uit een polymeer waarin het antisepticum chloorhexidine is vermengd, waarbij chloorhexidine geleidelijk wordt afgegeven aan de omgeving. *In vitro* evaluatie liet zien dat deze coating in staat was om genoeg chloorhexidine af te staan om bactericide concentraties te bereiken. In het konijnen model is deze chloorhexidine bevattende polymeer coating vervolgens getest op systemische toxiciteit. In drie groepen, van 5 konijnen ieder, werden met polymeer gecoate titanium staafjes in gebracht: zonder chloorhexidine, met een lage concentratie en met een hoge concentratie chloorhexidine. Geconcludeerd kon worden dat er in geen van de groepen systemische toxiciteit optrad. Opvallend was dat de histologie, van tibiae waarin de polymeer coating zonder chloorhexidine was gebruikt, aantoonde dat het oppervlak van deze "basis" coating binnen 4 weken na implantatie grotendeels bedekt was met bot, en dus in staat is om te dienen als uitstekend osteoconductief oppervlak.

Uit een vervolgstudie bleek echter dat de coating met chloorhexidine niet in staat was om het ontstaan van een infectie van een gecoat titanium implantaat in een gecontamineerde konijnen tibia te voorkomen. Desalniettemin registreerde de ¹⁸F-FDG PET scan wel een verminderde tracer opname bij de gecoate implantaat groep in de eerste postoperatieve week ten opzichte van de groep konijnen met een gecontamineerd titanium implantaat zonder coating. Dit zou kunnen betekenen dat er een onvolledige eliminatie van de ingebrachte bacteriën bestond en dat de antiseptische werking van chloorhexidine zorgde voor slechts een vermindering van de virulentie van de bacteriepopulatie, die enkel van korte duur was. Daarnaast is het mogelijk dat chloorhexidine door zijn cel beschadigende werking de lokale cellulaire afweer tijdelijk heeft geremd.

Zodoende resulteerde dit gedeelte van de studie feitelijk in een tweetal mogelijke coatings. Allereerst een polymere coating zonder verdere toevoegingen, welke dienst kan doen als een osteoconductief oppervlak. En in een coating voorzien van chloorhexidine welke instaat is om die chloorhexidine vrij te geven, maar waarvan de vrijgekomen dosis niet afdoende was om een orthopaedisch infectie te voorkomen in ons experimentele diermodel.

Conclusie

De belangrijkste bevindingen beschreven in dit proefschrift zijn:

- ELISA is een geschikte methode voor de detectie van gentamicine en vancomycine in patientmateriaal.
- Een infectiemodel in konijnen is een geschikt model voor de evaluatie van antimicrobiële coatings van biomaterialen.
- Beeldvorming met behulp van ^{18}F -FDG PET is een geschikt diagnostisch hulpmiddel voor de zeer vroege detectie van orthopaedisch infecties met en zonder implantaat.
- De huidige chloorhexidine bevattende polymeer coating is niet geschikt als een profylaxe voor orthopaedische implantaat infecties.
- De bestudeerde polymeer coating is in staat te dienen als een osteoconductief oppervlak.
- Daarnaast voorziet deze thesis in gedetailleerde omschrijvingen van pre-klinische orthopaedische infectie modellen voor het bestuderen van orthopaedische infecties, antimicrobiële implantaat coatings en biomaterialen. Daarnaast voorziet deze thesis in de bij deze modellen behorende scoringssystemen voor het beoordelen van pre-klinische orthopaedische infecties.

