DIU Infections ostéo-articulaires
Lyon, décembre 2022

Apport des modèles animaux dans les IOA

Dr. Florent Valour florent.valour@chu-lyon.fr

Maladies infectieuses et tropicales
Centre de Référence inter-régional pour la prise en charge des IOA complexes
Hospices Civils de Lyon

INSERM U1111 – Centre International de Recherche en Infectiologie
Université Claude Bernard Lyon 1

IOA : Pourquoi des modèles animaux ?

Modèles animaux et IOA : rationnel

Epidémiologie

- 5% de mortalité
- 40% de séquelles
- 75 000 euros / épisode de PJI

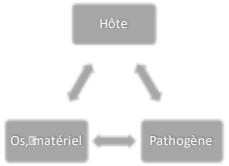
Modèles animaux et IOA : rationnel

Epidémiologie

- 5% de mortalité
- 40% de séquelles
- 75 000 euros / épisode de PJI

Physiopathologie peu connue

- Virulence
- Persistance
- Interaction hôte / pathogène



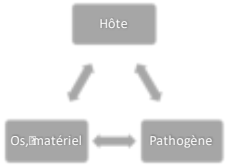
Modèles animaux et IOA : rationnel

Epidémiologie

- 5% de mortalité
- 40% de séquelles
- 75 000 euros / épisode de PJI

Physiopathologie peu connue

- Virulence
- Persistance
- Interaction hôte / pathogène



Nécessité d'améliorer les PEC actuelles

- Avis d'experts et hypothèses microbiologiques *in vitro*
- 20% d'échec (au mieux)
- Nombreuses stratégies évaluables : nouveaux ATB, nouvelles associations, thérapeutiques ciblées (immunothérapie, phages, …), ATB locaux, biomatériaux, prévention …

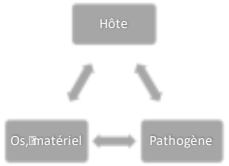
Modèles animaux et IOA : rationnel

Epidémiologie

- 5% de mortalité
- 40% de séquelles
- 75 000 euros / épisode de PJI

Physiopathologie peu connue

- Virulence
- Persistance
- Interaction hôte / pathogène



Nécessité d'améliorer les PEC actuelles

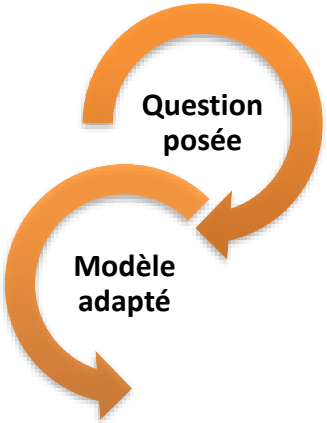
- Avis d'experts et hypothèses microbiologiques *in vitro*
- 20% d'échec (au mieux)
- Nombreuses stratégies évaluables : nouveaux ATB, nouvelles associations, thérapeutiques ciblées (immunothérapie, phages, …), ATB locaux, biomatériaux, prévention …

Etudes cliniques difficiles

- Infection relativement rare
- Très peu d'essais cliniques randomisés, faible effectif
- Grande hétérogénéité des formes cliniques +++ influençant l'évolution :
  - patient
  - agent étiologique : espèce, souche, facteurs de virulence/persistance
  - chronologie,
  - localisation,
  - présence et type de matériel
  - stratégies chirurgicales et médicales
- Modèle(s) pertinent(s) → simplification du développement clinique des nouvelles molécules (FDA)

Guide de lecture des modèles thérapeutiques

1. Le modèle



Quel animal ?

- **Considérations pratiques**
  - Taille / chirurgie
  - Coût
  - Éthique

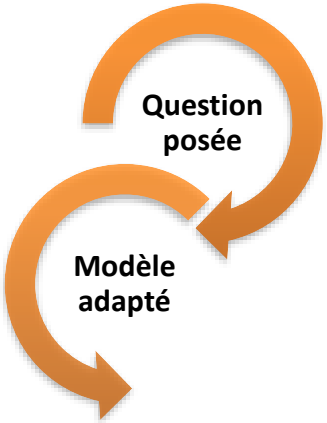
- **Système squelettique**

	Densité minérale	Système haversien	Remodelage	Mécanique
Souris / rats	–	–	+++	+/-
Lapins	+++	+/-	rapide	+/-
Gros animaux	+++	+++	+++	+++

- **Système immunitaire**

Ex : résistance au LPS (souris/rat)

1. Le modèle



Quel animal ?

- **Considérations pratiques**
  - Taille / chirurgie
  - Coût
  - Éthique

LAPIN +++
- Susceptibilité à l'infection
- Réponse à l'infection
- Faisabilité chirurgie
- Coût acceptable

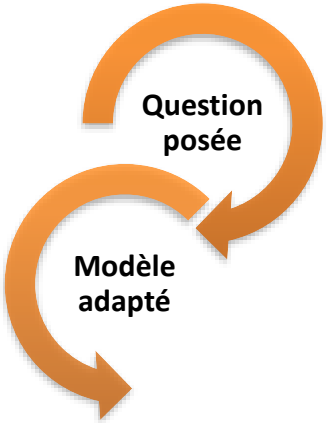
- **Système squelettique**

	Densité minérale	Système haversien	Remodelage	Mécanique
Souris / rats	–	–	+++	+/-
Lapins	+++	+/-	rapide	+/-
Gros animaux	+++	+++	+++	+++

- **Système immunitaire**

Ex : résistance au LPS (souris/rat)

1. Le modèle



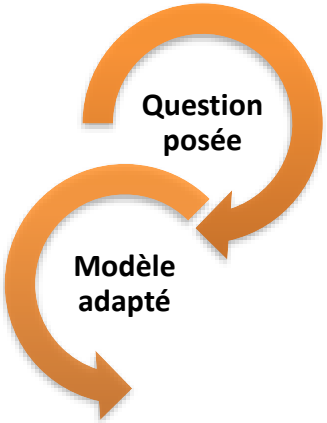
Quel animal ?

Un implant ? Lequel ?

REPRODUCTION DE L'ENVIRONNEMENT PERI-PROTHETIQUE

Stabilité, mise en charge	(Fonction du membre)
Matériaux, porosité, aspérités	Biofilm
Interface articulation + médullaire	Immunité

1. Le modèle

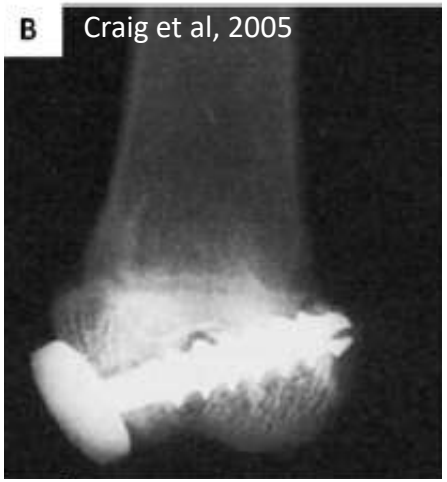


Quel animal ?

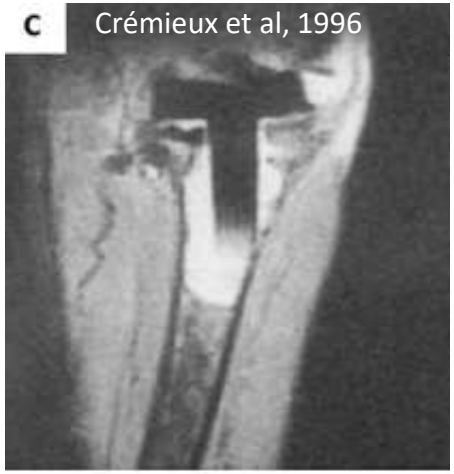
Un implant ? Lequel ?

REPRODUCTION DE L'ENVIRONNEMENT PERI-PROTHETIQUE

Souris / Fémur
Broche Kirschener +/- ciment
SA / Evaluation coating
Lâche, pas de charge, uniquement médullaire



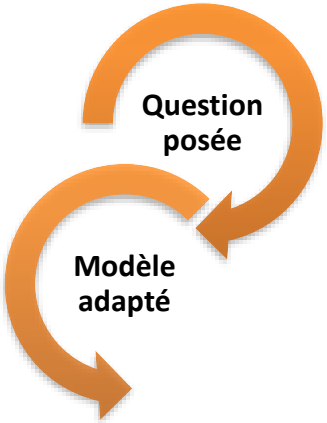
Lapin / Fémur
Vis acier +/- ciment
SA / Evaluation ATB
Pas de charge, pas de composant médullaire



Lapin / Fémur
Orteil H silicone + ciment
SA / Evaluation ATB
Matériau non pertinent

Souris / Tibia
Implant imprimé 3D
Titanium-Vanadium-Aluminium
+++

1. Le modèle



Quel animal ?

Un implant ? Lequel ?

Mode d'infection

Inoculation	Ref	Infect	†	Spontaneous healing
Intra-operative intra-articular	Schurman, 1978 Craig, 2005 Bernthal, 2010 Niska, 2013 Crémieux, 1996 Carli, 2017	81% 75% 100% 77% 93% 100%	9% 5% - - 23% 0%	19% 25% 0% 23% 7% 0%
Intra-operative intra-medullar	Southwood, 1985 Alt, 2006 Antoci, 2007	70% 88% 100%	17% 11% -	30% 12% 0%
Post-operative intravenous	Blomgren, 1980 Blomgren, 1981 Southwood, 1985	50% 70% 47%	56% - 28%	50% 30% 53%
Postoperative intra-arterial	Poultsides, 2008	100%	37%	0%

Critical analysis of experimental models of periprosthetic joint infection

L. Gatin[a,*], A. Saleh-Mghir[a,b], P. Massin[c,d], A.-C. Crémieux[a,b]

INOCULATION PER / POST-OPERATOIRE

- Intra-articulaire (après implantation) ou intra-médullaire (avant implantation)
- Quantification exacte inoculum
- Infection post-opératoire
- Meilleur taux d'infection (75-100%)
- Plus faible mortalité (5-20%)

VOIE HEMATOGENE

- Veine périph / Artère fémorale
- Taux d'infection 50-70%
- Létalité de la bactériémie

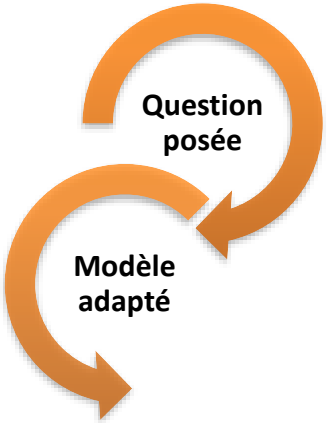
PRE-INCUBATION DE L'IMPLANT

- Standardisation plus difficile
- Pertinence clinique ?

Lésion locale préalable

- Mécanique ou chimique : facilitation infection
- Pertinence ?

1. Le modèle



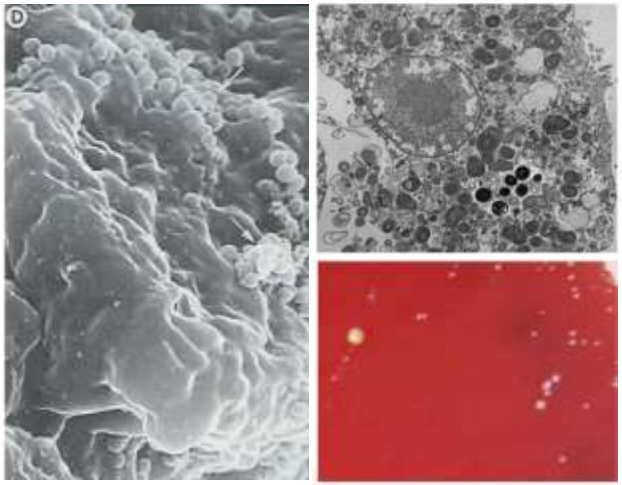
- Quel animal ?
- Un implant ? Lequel ?
- Mode d'infection
- Timing

Si implant : délai chirurgie / infection ?
Dans tous les cas : délai infection / analyse ?

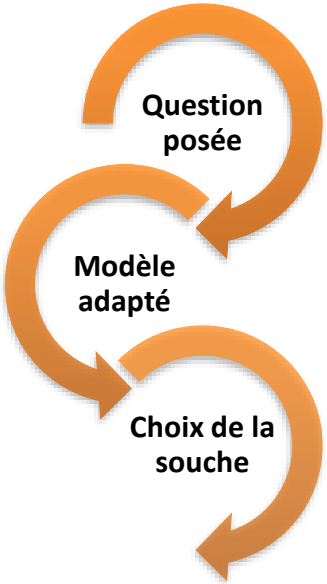
Deux problématiques :

1. **Validation du modèle** : capacité d'évoluer vers la chronicité
2. **Evaluations thérapeutiques**, notamment anti-biofilm : non pertinent si aigu

- Temps / argent
- Évolution de l'infection : fistulisation, bactériémie … ou clairance spontanée
- Maintien animaux : mortalité, douleur, poids
- Read out chronicité difficiles



2. La bactérie



QUELLE ESPECE ? QUELLE SOUCHE ?

SOUCHE CLINIQUE

- Pertinence +++
- Mécanistique difficile (mutants)
- Virulence parfois faible
- Effet mode (USA300, MDR, etc.)

SOUCHE DE LABORATOIRE

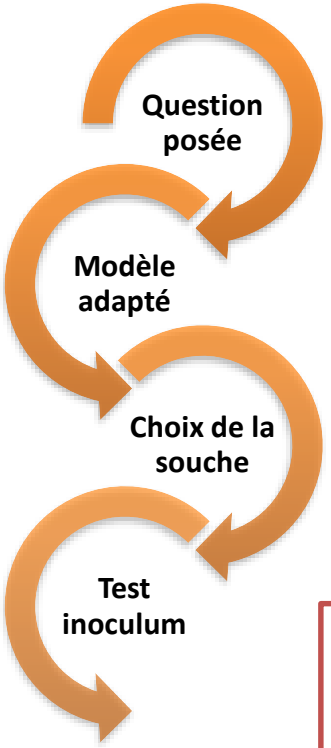
- Parfois peu pertinent
- Bien caractérisée
- Disponibilité de mutants (+/-)
- Virulence, biofilm … connus

PEU DE SOUCHES EVALUABLES (mises au point)

↓

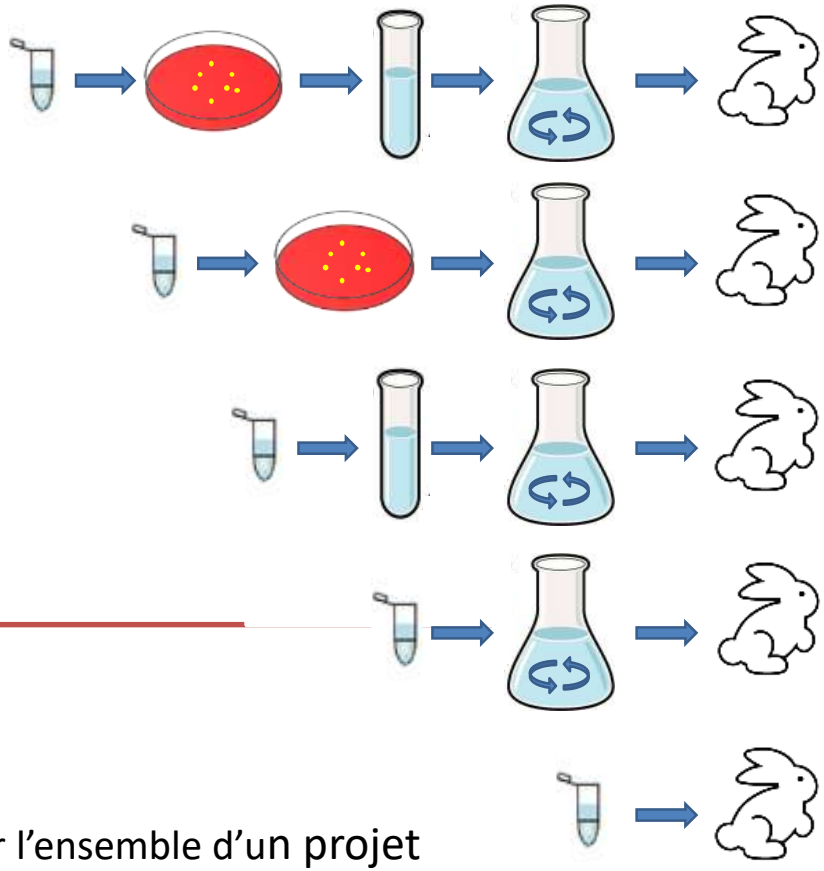
+++ PERTINENCE et GENERALISATION +++

2. La bactérie



MODE DE PREPARATION

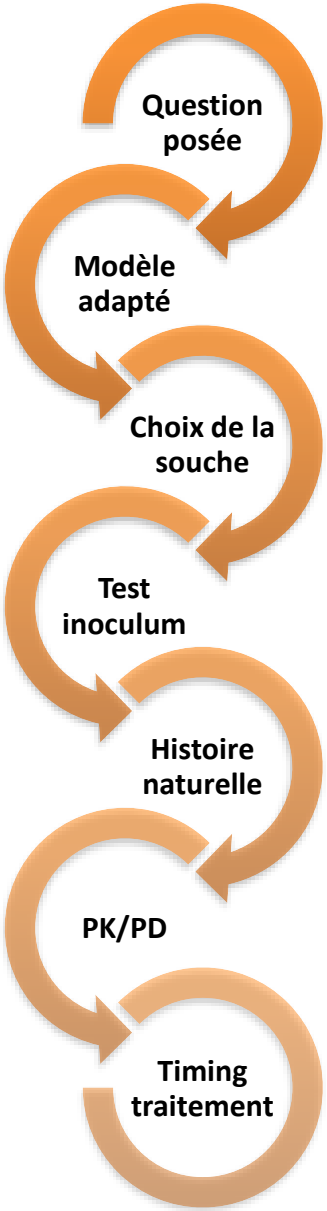
- Stationnaire / exponentielle
- Nombre de repiquage
- Congélation



OBJECTIFS

- **REPRODUCTIBILITE +++**
  - Inoculum tests +++
  - Si congélation : prévoir pour l'ensemble d'un projet
- 100% des animaux infectés ?
- Dose minimale
- Dose cliniquement pertinente
  (modèles actuels : 10 à 100 000 fois la dose clinique <u>supposée</u>)
- Infection uniquement locale
- Infection chronique et maintien des animaux (poids …)

3. L'intervention thérapeutique



TIMING DE L'INTERVENTION et VALIDATION DU MODELE

1. Détermination de l'**histoire naturelle de la maladie** +++
selon l'ensemble des read-outs
Déterminer le moment le plus approprié sur des critères objectifs
- Infection établie (risque de faux positifs)
- Chance de succès maintenue (risque de faux négatifs)

2. **Etude thérapeutique de validation** : même outcome que chez l'homme

---

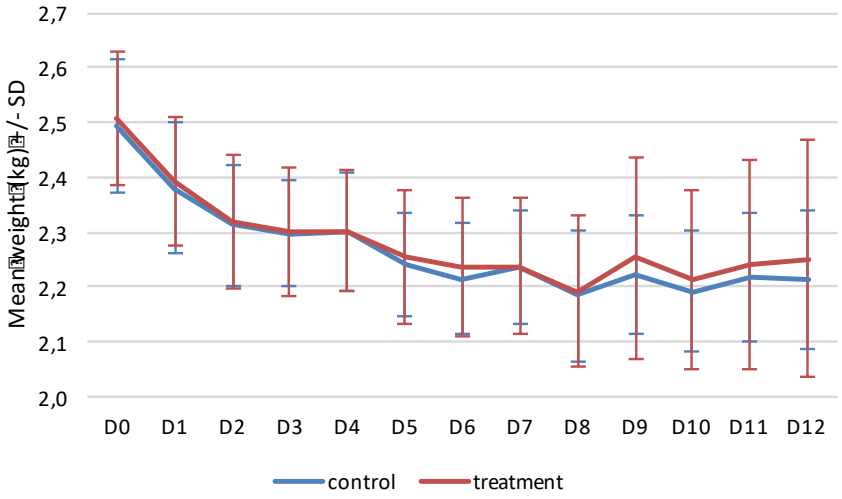
1. Chirurgie
- Faisabilité d'une 2e chirurgie
- Reproductibilité
- Timing ?

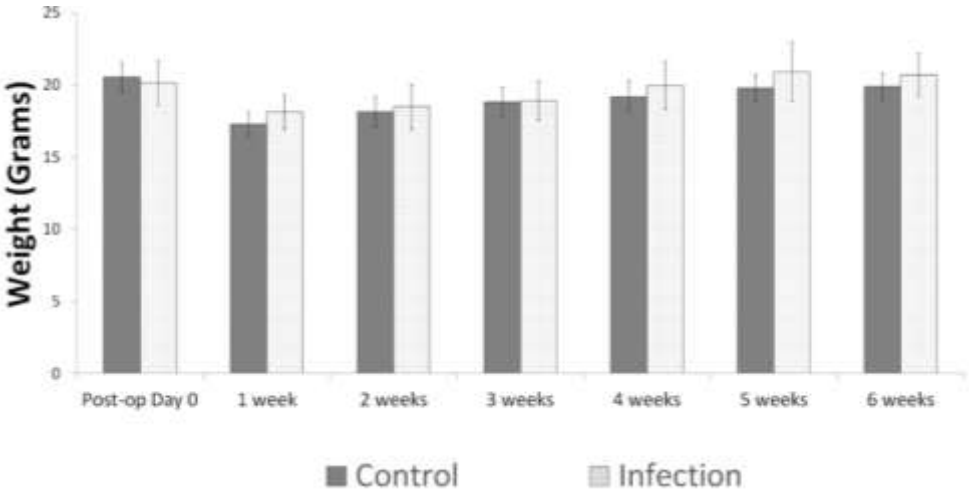
2. Antibiothérapie
- PK/PD +++
- Timing de l'initiation et durée du traitement ?
- Timing de l'évaluation de l'efficacité ?
  - *Immédiatement après X jours de traitement ?*
  - *X heures/jours après arrêt du traitement pour éviter faux négatifs ?*

4. Quels read-outs ?

Réponse globale

- Poids
- Température
- Biomarqueurs
  - Cytokines (Il1, Il6, TNFa)
  - CRP (rongeurs, lapins : faible élévation)
  - Orosomucoïde (rats)
  - Serum amyloïd A ++

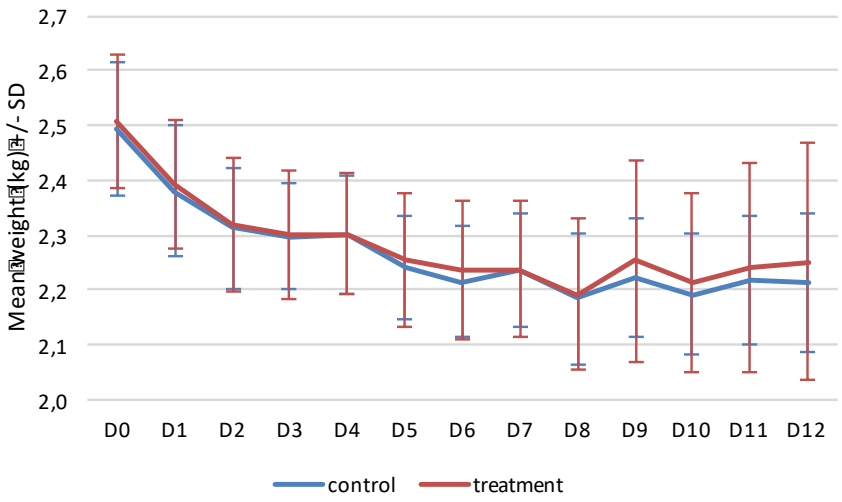




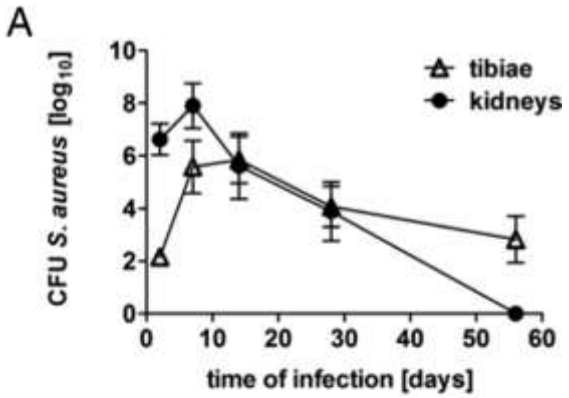
4. Quels read-outs ?

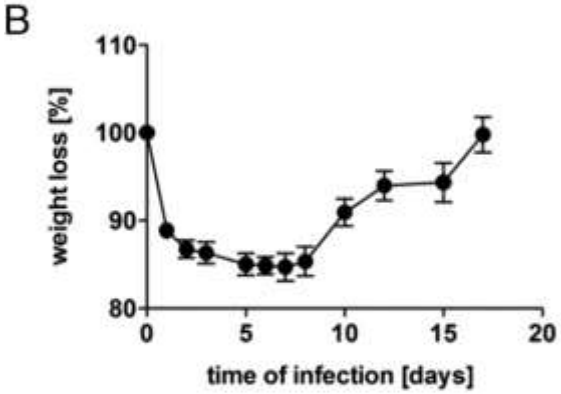
Réponse globale

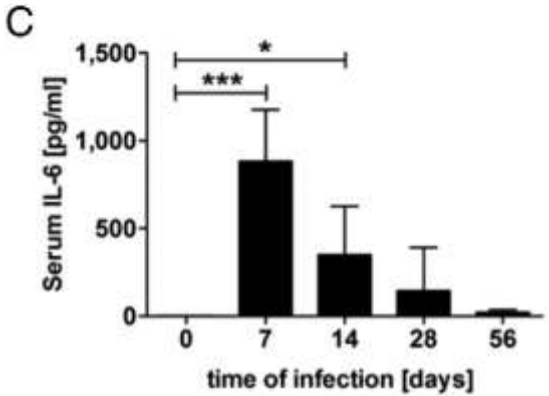
- Poids
- Température
- Biomarqueurs
  - Cytokines (Il1, Il6, TNFa)
  - CRP (rongeurs, lapins : faible élévation)
  - Orosomucoïde (rats)
  - Serum amyloïd A ++



Horst et al 2012 – OM souris SA





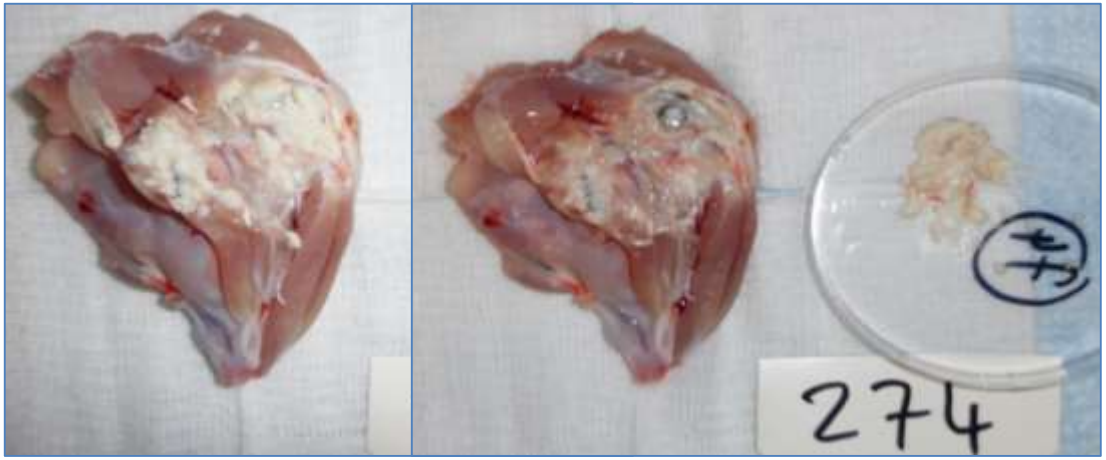


4. Quels read-outs ?

Réponse globale

Réponse locale

- Aspect local (score)
- Poids du pus
- Imagerie (score)
- Histologie (animaux dédiés le plus souvent, score)



Grade	*Appearance*	*Score*	*Clinical meaning*
A	No abnormal signs	0	No infection
B	Erythema and moderate soft swelling	0.5	Early infection or due to surgery
C	Large soft swelling or pus exudation	1.0	Definite infection
D	Pus exudation and systemic illness	1.5	Definite infection

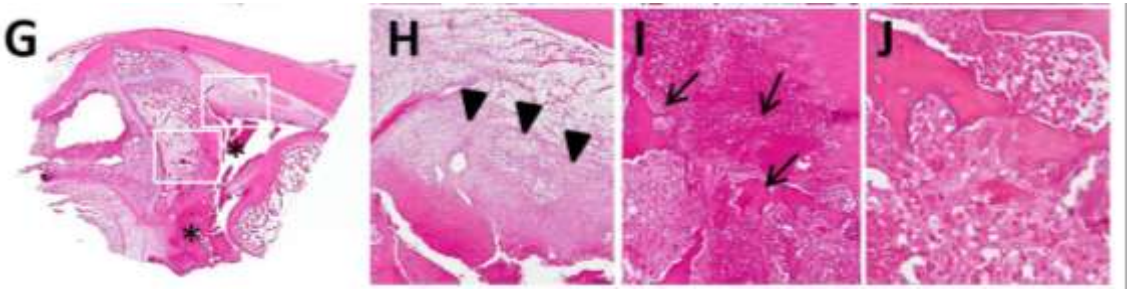
Petty et al, J Bone Joint Surg 1985

4. Quels read-outs ?

Réponse globale

Réponse locale

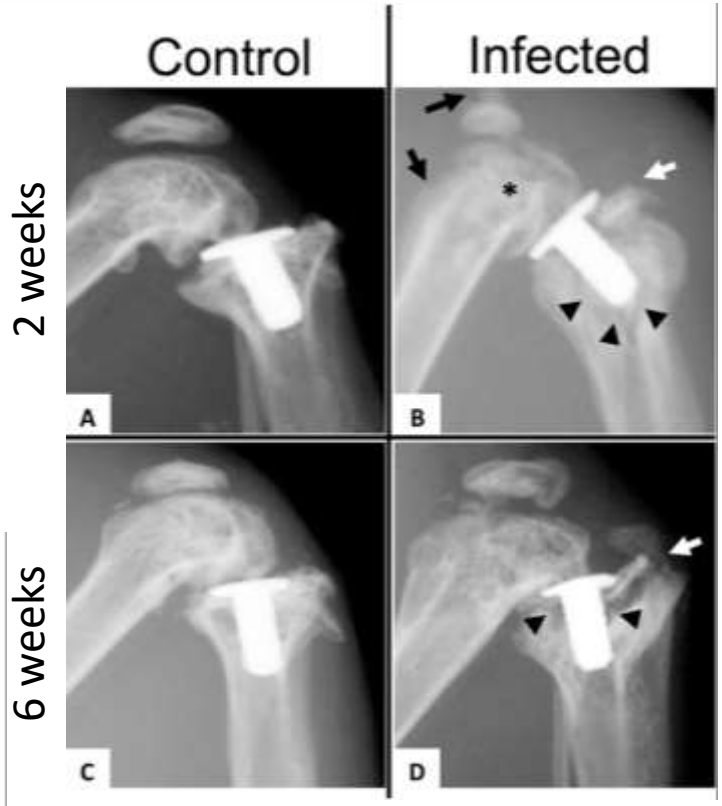
- Aspect local (score)
- Poids du pus
- Imagerie (score)
- Histologie (animaux dédiés le plus souvent, score)



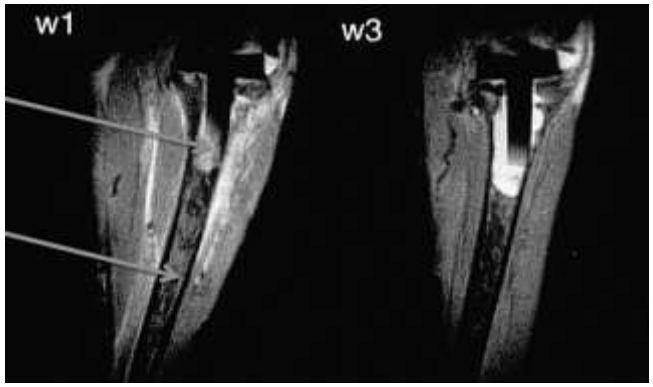
Variable	Definition	Score
1. Diaphyseal periosteal reaction	+/present	1
	−/absent	0
2. Osteolysis	+/present	1
	−/absent	0
3. Sequestrum formation	+/present	1
	−/absent	0
4. Joint effusion	+/present, widening of joint space	1
	−/absent	0
5. Soft tissue swelling	+/present	1
	−/absent	0

SCORE RADIOLOGIQUE

An and Friedman 2009



Carli et al 2017 – Mouse PJI



Crémieux et al, rabbit PJI

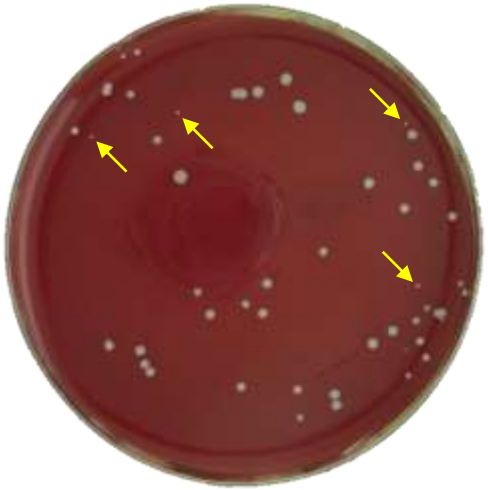
4. Quels read-outs ?

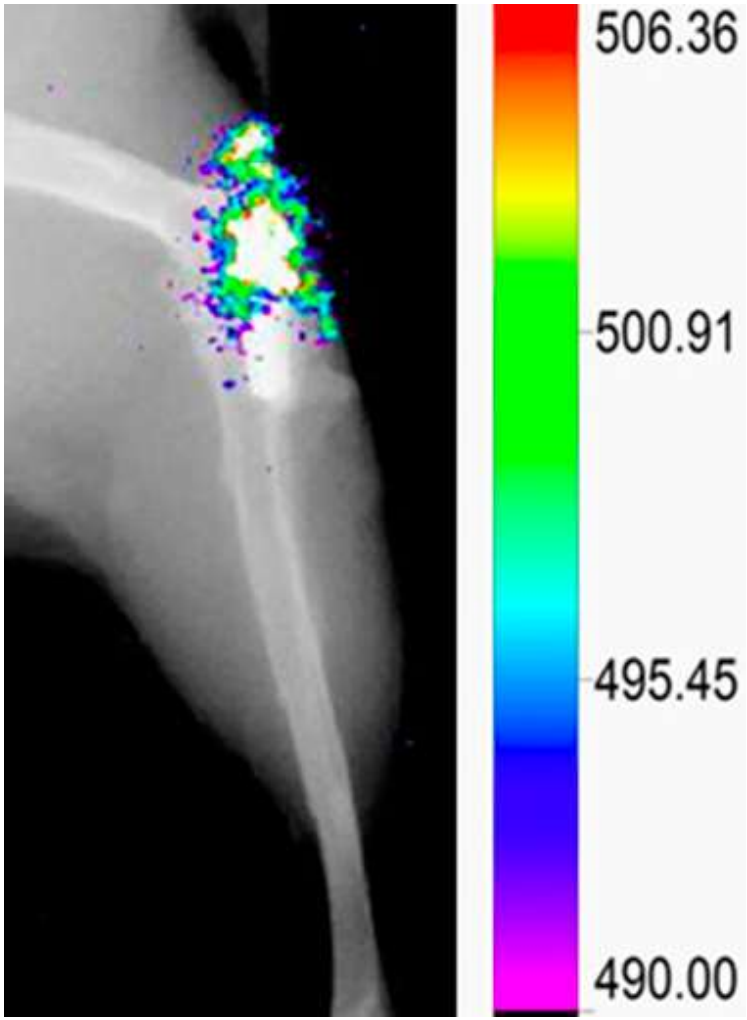
Réponse globale

Réponse locale

Microbiologie

- Comptes bactériens +/- SCV
  - Pus
  - Capsule / synoviale
  - Tissu osseux (préparation ?)
  - Implants (préparation ?)
- Bactéries bioluminescentes (luciférine) : mauvaise corrélation avec biomasse (os cortical, SCV)
- Biologie moléculaire





Carli et al 2017 – Mouse PJI

4. Quels read-outs ?

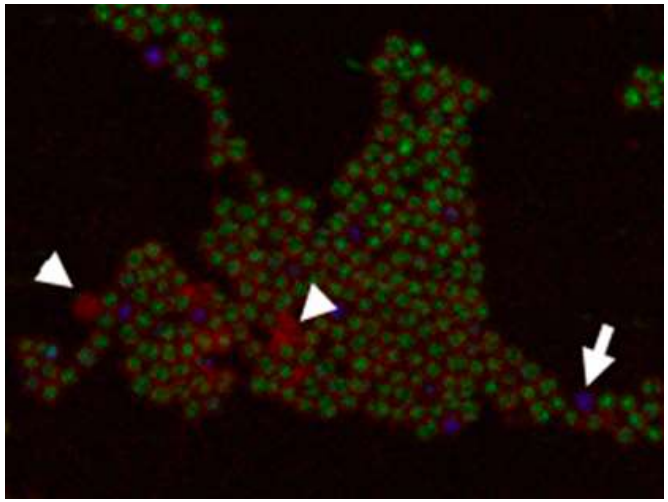
Réponse globale

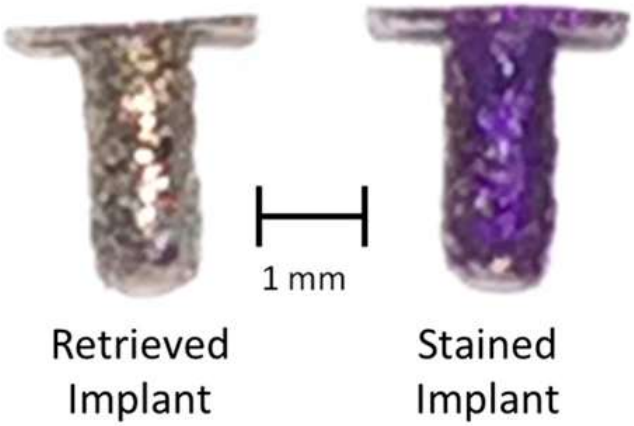
Réponse locale

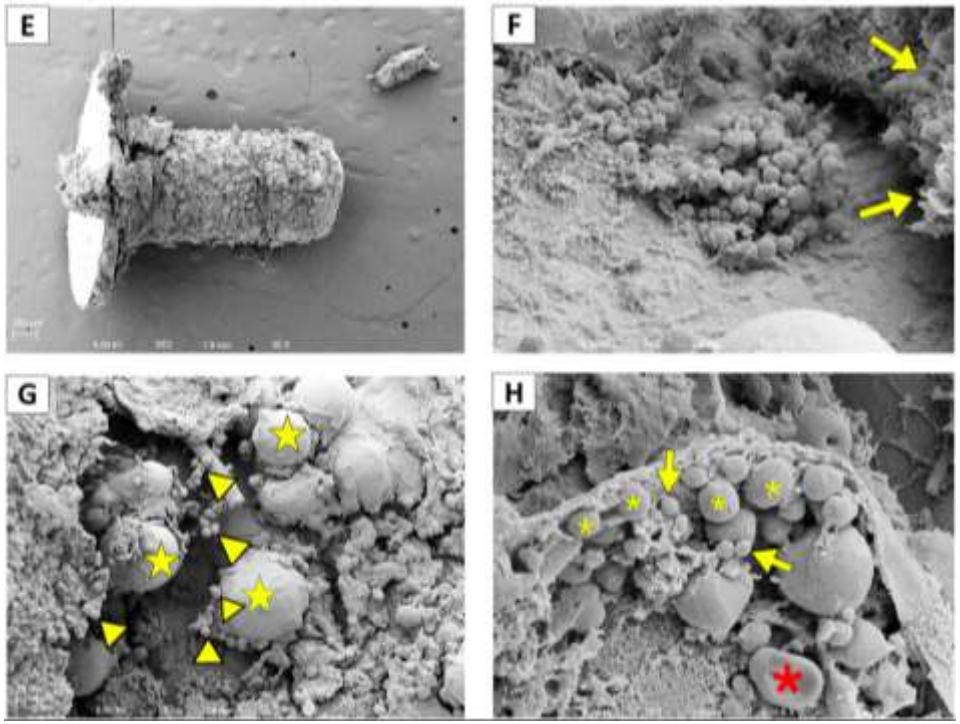
Microbiologie

Biofilm

- Crystal violet / implant
- Comptes bactériens / matériel
- Microscopie confocale live/dead (surface)
- Microscopie électronique (surface, coût)







Carli et al 2017 – Mouse PJI

Principaux modèles existants

Arthrite septique sur articulation native

Knee Joint Infections with *Staphylococcus aureus* and Micrococcus Species

INFLUENCE OF ANTIBIOTICS, METAL DEBRIS, BACTEREMIA, BLOOD, AND STEROIDS IN A RABBIT MODEL*

BY DAVID J. SCHURMAN, M.D.†, B. LAMAR JOHNSON, JR., M.D.‡, AND HARLAN C. AMSTUTZ, M.D.‡, LOS ANGELES, CALIFORNIA

Espèce	Lapin
Site	Genou
Intervention	+/- Particules acier en suspension
Bactéries	SA, SE
Inoculation	IIA
Readouts	Ponction/sem Culture liq. articulaire Histologie
Limites	Pas d'interface matériel/tissus
Apports	Description modèle AINS
Principales références	Schurman, 1978

Arthrite septique sur articulation native

Knee Joint Infections with *Staphylococcus aureus* and Micrococcus Species

INFLUENCE OF ANTIBIOTICS, METAL DEBRIS, BACTEREMIA, BLOOD, AND STEROIDS IN A RABBIT MODEL*

BY DAVID J. SCHURMAN, M.D.†, B. LAMAR JOHNSON, JR., M.D.‡, AND HARLAN C. AMSTUTZ, M.D.‡, LOS ANGELES, CALIFORNIA

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, July 1986, p. 184–186
0066-4804/86/070184-03$02.00/0
Vol. 30, No. 1
Copyright © 1986, American Society for Microbiology

Comparative Efficacy of Ciprofloxacin and Ceftriaxone in Experimental Arthritis Caused by *Escherichia coli*

ARNOLD S. BAYER,[1,2]* DEAN C. NORMAN,[1,2] AND INGRID K. BLOMQUIST[1]

Espèce	Lapin
Site	Genou
Intervention	+/- Particules acier en suspension
Bactéries	SA, SE, E. coli
Inoculation	IIA
Readouts	Ponction/sem Culture liq. articulaire Histologie
Limites	Pas d'interface matériel/tissus
Apports	Description modèle AINS Antibiothérapie
Principales références	Schurman, 1978

Therapeutic group (dose)	No. of infected samples/total no. of samples (%) for: Joint fluid: Day 3 postinfection	Joint fluid: Day 7 postinfection[b]	Synovial tissue (day 7 postinfection)
Control	10/10 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)
Ciprofloxacin (10 mg/kg per day)	24/24 (100)	16/20 (80)	11/20 (52)
Ciprofloxacin (20 mg/kg per day)	26/26 (100)	10/14 (86)	5/14 (36)
Ceftriaxone (50 mg/kg per day)	27/27 (100)	18/24 (75)	18/24 (75)

Meilleure efficacité de la ciprofloxacine / stérilisation

PK/PD

TABLE 2. Antibiotic levels in serum and joint fluid

Drug (mg/kg per day)	Antibiotic level (μg/ml) [mean ± SEM (range)] in sample[a]: Plasma	Joint fluid	Mean % penetrance[b] ± SEM
Ciprofloxacin (10)	0.91 ± 0.11 (0.43–1.49)	0.36 ± 0.05 (0.13–0.76)	44 ± 7.7 (13–76)
Ciprofloxacin (20)	1.57 ± 0.25 (0.99–3.24)		
Ceftriaxone (50)	405 ± 49 (130–770)		

4 x plus faible vs homme

2 x plus élevé vs homme

Arthrite septique sur articulation native

Knee Joint Infections with *Staphylococcus aureus* and Micrococcus Species

INFLUENCE OF ANTIBIOTICS, METAL DEBRIS, BACTEREMIA, BLOOD, AND STEROIDS IN A RABBIT MODEL*

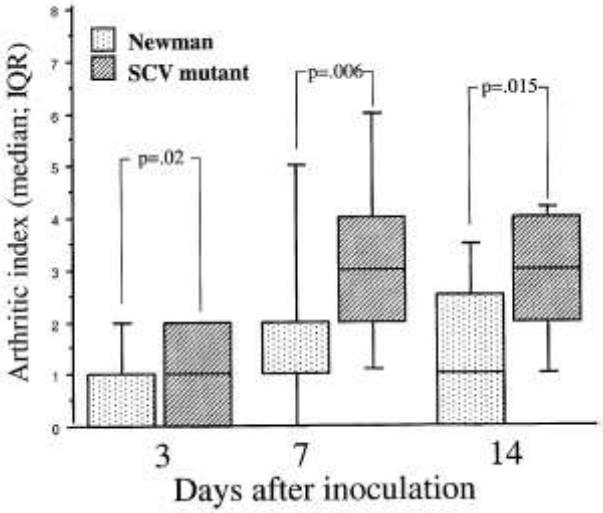
BY DAVID J. SCHURMAN, M.D.†, B. LAMAR JOHNSON, JR., M.D.‡, AND HARLAN C. AMSTUTZ, M.D.‡, LOS ANGELES, CALIFORNIA

Virulence of a *hemB* mutant displaying the phenotype of a *Staphylococcus aureus* small colony variant in a murine model of septic arthritis

Ing-Marie Jonsson[a,*], Christof von Eiff[b], Richard A. Proctor[b,c], Georg Peters[b], Cecilia Rydén[d], Andrzej Tarkowski[a]

Espèce	Lapin	Souris
Site	Genou	Membres
Intervention	+/- Particules acier en suspension	-
Bactéries	SA, SE, E. coli	SA, strepto B, *C. diphteriae*
Inoculation	IIA	IV / IIA
Readouts	Ponction/sem Culture liq. articulaire Histologie	Taux d'arthrite clinique Bactériologie positive ou non Histologie Mortalité
Limites	Pas d'interface matériel/tissus	Readouts
Apports	Description modèle AINS Antibiothérapie	Description modèle Rôle SCV Immunologie Prévention vaccinale
Principales références	Schurman, 1978	Jonnson, 2003 Tissi, 1990, 2006 Corado, 2016

IIA



SCV (mutant *hemB*):

- Taux d'arthrite plus élevé
- Sévérité plus élevée, plus de protéases
- Réplication plus faible

Arthrite septique sur articulation native

Knee Joint Infections with *Staphylococcus aureus* and Micrococcus Species

INFLUENCE OF ANTIBIOTICS, METAL DEBRIS, BACTEREMIA, BLOOD, AND STEROIDS IN A RABBIT MODEL*

BY DAVID J. SCHURMAN, M.D.†, B. LAMAR JOHNSON, JR., M.D.‡, AND HARLAN C. AMSTUTZ, M.D.‡, LOS ANGELES, CALIFORNIA

Virulence of a *hemB* mutant displaying the
aureus small colony variant in a murin

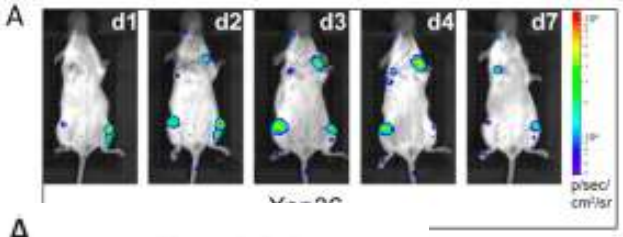
Ing-Marie Jonsson[a,*], Christof von Eiff[b], Richa
Cecilia Rydén[d], Andrzej T

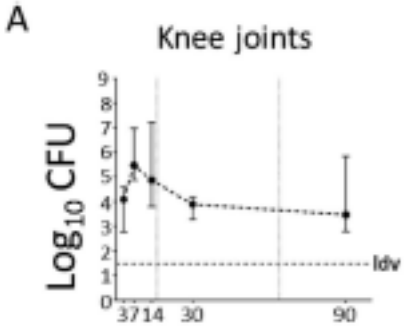
***Staphylococcus aureus*-dependent septic arthritis in murine knee joints: local immune response and beneficial effects of vaccination**

Alessia Corrado[1], Paolo Donato, Silvia Maccari, Raffaella Cecchi, Tiziana Spadafina[1], Letizia Arcidiacono, Simona Tavarini, Chiara Sammicheli, Donatello Laera, Andrea Guido Oreste Manetti, Paolo Ruggiero, Bruno Gallotti, Sandra Nuti, Ennio De Gregorio, Sylvie Bertholet, Anja Seubert, Fabio Bagnoli, Giuliano Bensi & Emiliano Chiarot

Espèce	Lapin	Souris
Site	Genou	Membres
Intervention	+/- Particules acier en suspension	-
Bactéries	SA, SE, E. coli	SA, strepto B, *C. diphteriae*
Inoculation	IIA	IV / IIA
Readouts	Ponction/sem Culture liq. articulaire Histologie	Taux d'arthrite clinique Bactériologie positive ou non Histologie Mortalité
Limites	Pas d'interface matériel/tissus	Readouts
Apports	Description modèle AINS Antibiothérapie	Description modèle Rôle SCV Immunologie Prévention vaccinale
Principales références	Schurman, 1978	Jonnson, 2003 Tissi, 1990, 2006 Corado, 2016

Injection IV – SA bioluminescent





Description réponse immune
Efficacité vaccin tétra-valent

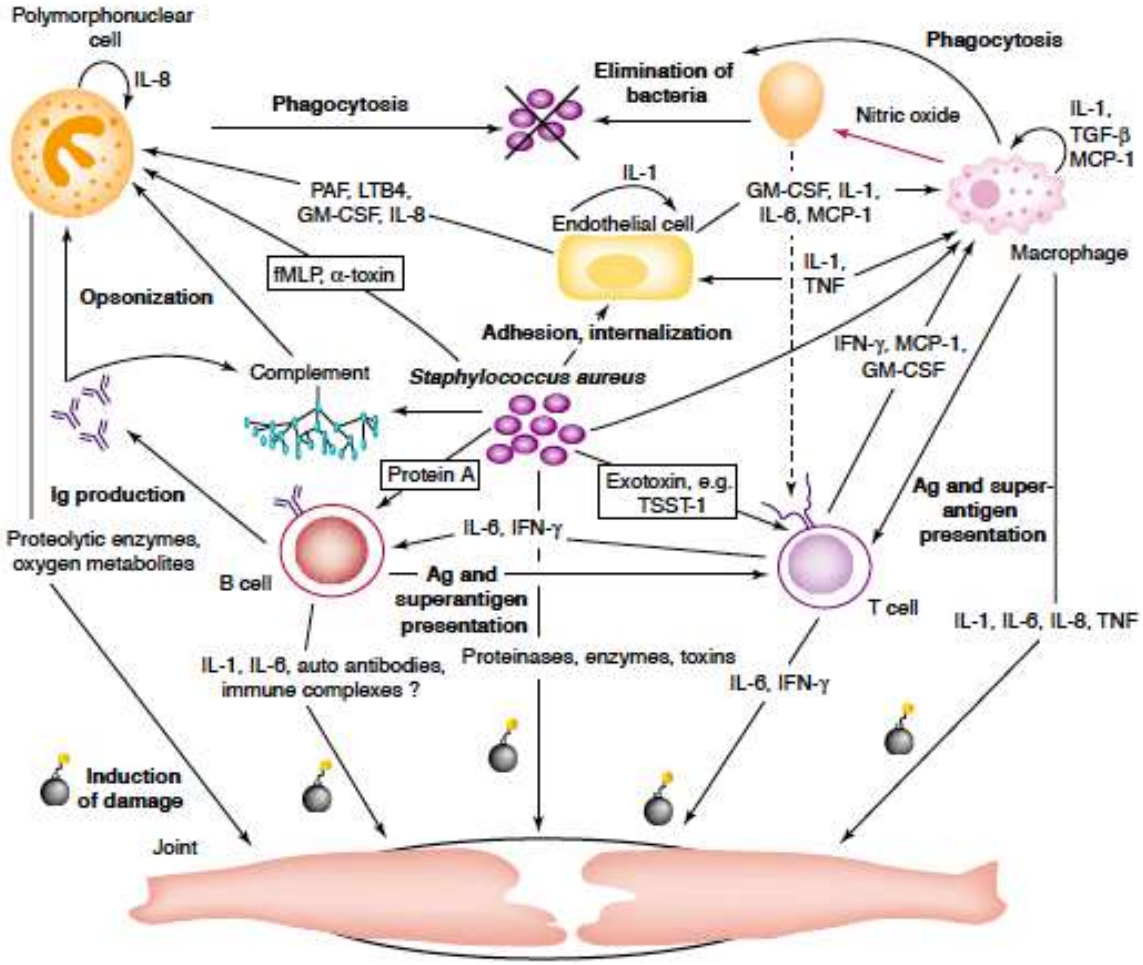
Nature Scientific Reports, 2016

Arthrite septique sur articulation native : souris

Model systems: Modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse

Andrej Tarkowski, L.Vincent Collins, Inger Gjertsson, Olof H. Hultgren, Ing-Marie Jonsson, Egidija Sakiniene and Margareta Verdrengh

FACTEURS DE VIRULENCE BACTERIENS
REPONSE IMMUNE +++



Ostéite sur os natif : modèle princeps

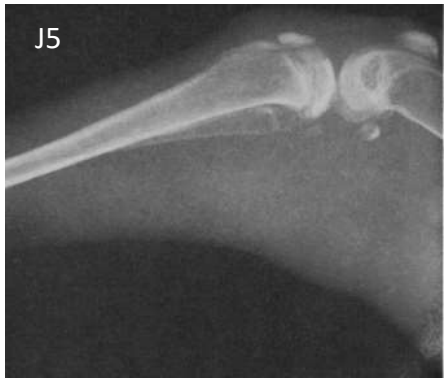
Intervention	Agent ostéo-sclérosant + bactéries
Espèces	Lapin NZW Rat
Site	Tibia
Matériel	Non Sclérosant (morrhuate)
Inoculation	IIM
Evolution	Jusqu'à 6 ms
Principales références	Norden, 1970 Zak, 1982

THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES • VOL. 122, NO. 5 • NOVEMBER 1970
© 1970 by the University of Chicago. All rights reserved.

Experimental Osteomyelitis. I. A Description of the Model

Carl W. Norden, with the technical assistance of Elizabeth Kennedy

From the Depa
Rochester



Ostéite sur os natif : évolutions

Intervention	Agent ostéo-sclérosant + bactéries	Canal +/-ciment + bactéries	Fracture + bactériémie	Agent sclérosant + bactériémie	Bactériémie
Espèces	Lapin NZW Rat	Rat Chien	Lapin NZW	Rat	Porc Poulet
Site	Tibia	Tibia	Tibia	Mandibule Tibia	Divers
Matériel	Non Sclérosant (morrhuate)	Non	Non	Non	Non
Inoculation	IIM	IIM	IV	IV	IV
Evolution	Jusqu'à 6 ms	Jusqu'à 12 sem			
Principales références	Norden, 1970 Zak, 1982	Subasi, 2001 Burch, 2005 Fitzgerald, 1983	Morrissy, 1989 Whalen, 1988	Hienz, 1995	Johansen, 2012 Emslie, 1983

Ostéite sur os natif : diagnostic morphologique

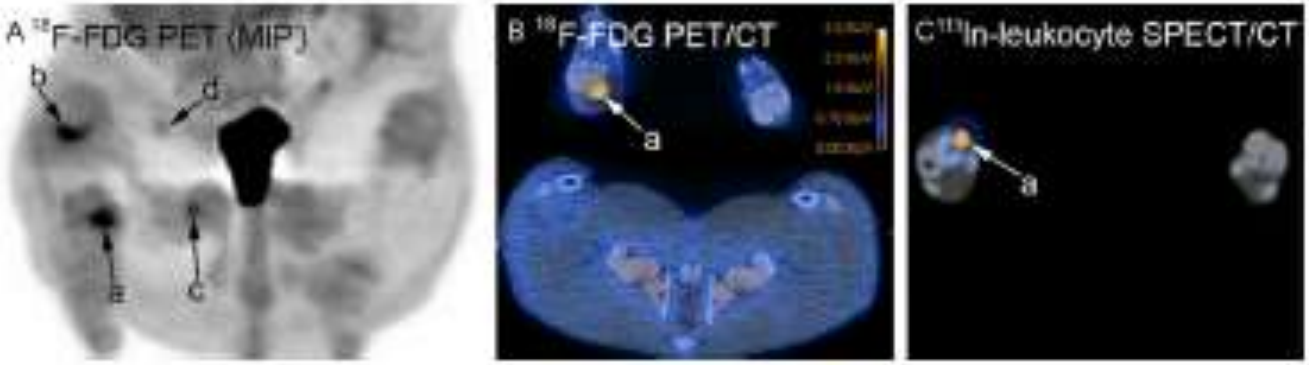
Comparison of autologous ^{111}In-leukocytes, ^{18}F-FDG, ^{11}C-methionine, ^{11}C-PK11195 and ^{68}Ga-citrate for diagnostic nuclear imaging in a juvenile porcine haematogenous *staphylococcus aureus* osteomyelitis model

Ole L Nielsen[1], Pia Afzelius[2], Dirk Bender[3], Henrik C Schønheyder[4,5], Páll S Leifsson[1], Karin M Nielsen[1,6], Jytte O Larsen[7], Svend B Jensen[6,8*], Aage KO Alstrup[3*]

Table 3. Number of gross pathology and/or CT lesions identified by the individual tracers

Lesion	Total number	Tracers				
		^{18}F-FDG	^{68}Ga-citrate	^{11}C-methionine	^{11}C-PK11195	^{111}In-leukocytes
Osteomyelitis	5	4	1	2	0	4[a]
Soft tissue abscess	5	5	3	4	1	4
Arthritis	3	0	0	0	0	0
Enlarged lymph node	5	3	2	2	1	0[b]

[a]In one of these four lesions, the patella, the ^{111}In-leukocytes had only accumulated in the cortical part of the bone. [b]Only two lymph nodes were scanned.



Ostéite sur os natif : évaluations physiopathologiques

LOCAL LEVELS OF INTERLEUKIN-1β, -4, -6, AND TUMOR NECROSIS FACTOR α IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF MURINE OSTEOMYELITIS DUE TO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Takashi Yoshii,[1,2] Shinya Magara,[2] Daisuke Miyai,[2] Hidetaka Nishimura,[2] Eiji Kuroki,[2] Shungo Furudoi,[2] Takahide Komori,[2] Chiho Ohbayashi[3]

Osteoblasts produce monocyte chemoattractant protein-1 in a murine model of *Staphylococcus aureus* osteomyelitis and infected human bone tissue

Ian Marriott[a,*], David L. Gray[a], Dana M. Rati[a], Vance G. Fowler Jr.[b], Martin E. Stryjewski[b], L. Scott Levin[c], Michael C. Hudson[a], Kenneth L. Bost[a]

Osteoblasts Express the Inflammatory Cytokine Interleukin-6 in a Murine Model of *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis and Infected Human Bone Tissue

Ian Marriott,* David L. Gray,*
Susanne L. Tranguch,* Vance G. Fowler Jr.,†
Martin Stryjewski,† L. Scott Levin,‡
Michael C. Hudson,* and Kenneth L. Bost*

From the Departments of Biology, University of North Carolina at Charlotte, Charlotte; and the Departments of Medicine† and Surgery,‡ Duke University Medical Center, Durham, North Carolina*

increasing.[2] What is of particular concern is the ch
nature of antibiotic resistance in *S. aureus*. Wh
incidence of methicillin-resistant *S. aureus* was o
stricted to large university-based teaching ho
such infections are now emerging among patients
identifiable risk factors.[3] With the rapid increase
biotic resistance of bacteria long known to be ass
with bone pathology, as is the case with *S. aure*
becoming apparent that we must focus attention

Ostéite sur os natif : évaluations thérapeutiques

ANTIBIOTHERAPIE

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Nov. 2011, p. 4999–5003 Vol. 55, No. 11
0066-4804/11/$12.00 doi:10.1128/AAC.00584-11
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Daptomycin, Fosfomycin, or Both for Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis in an Experimental Rat Model[▽]

W. Poeppl,[1] S. Tobudic,[1] T. Lingscheid,[1] R. Plasenzotti,[2] N. Kozakowski,[3] H. Lagler,[1] A. Georgopoulos,[1] and H. Burgmann[1]*

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2005) 55, 995–1002
doi:10.1093/jac/dki109
Advance Access publication 27 April 2005
JAC

Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model

Li-Yan Yin[1], Luca Lazzarini[2], Fan Li[3], C. Melinda Stevens[3] and Jason H. Calhoun[1]*

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, May 2008, p. 1618–1622 Vol. 52, No. 5
0066-4804/08/$08.00+0 doi:10.1128/AAC.00638-07
Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Efficacies of Ceftobiprole Medocaril and Comparators in a Rabbit Model of Osteomyelitis Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*[▽]

Li-Yan Yin,[1] Jason H. Calhoun,[1]* Jacob K. Thomas,[1] Stuart Shapiro,[2] and Anne Schmitt-Hoffmann[2]

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, June 1990, p. 1014–1016 Vol. 34, No. 6
0066-4804/90/061014-03$02.00/0
Copyright © 1990, American Society for Microbiology

Comparative Efficacies of Ciprofloxacin, Pefloxacin, and Vancomycin in Combination with Rifampin in a Rat Model of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Chronic Osteomyelitis

R. DWORKIN,[1] G. MODIN,[1] S. KUNZ,[2] R. RICH,[2] O. ZAK,[2] AND M. SANDE[1]*

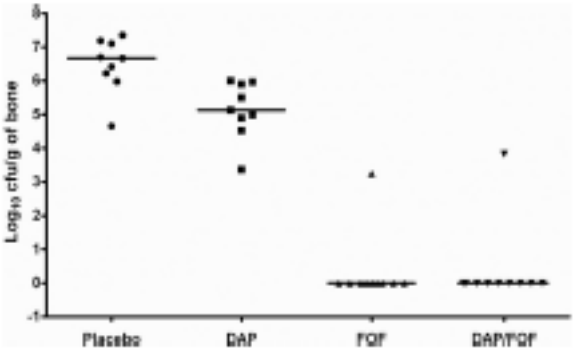


TABLE 3. Pairwise comparisons of clearance of MRSA from infected tibiae after different treatments

Treatment	% MRSA clearance (t_1:t_2)[a]	Sample size (n_1:n_2)	*P* value
Untreated:vancomycin	7:73	14:15	<0.01
Untreated:linezolid	7:73	14:11	<0.01
Untreated:ceftobiprole	7:100	14:13	<0.01
Vancomycin:linezolid	73:73	15:11	0.34
Vancomycin:ceftobiprole	73:100	15:13	0.07
Linezolid:ceftobiprole	73:100	11:13	0.08

TABLE 2. Titers of antibiotics in bone 4 days after completion of therapy in groups of rats with osteomyelitis caused by *S. aureus* A68 (methicillin resistant)

Group[a]	No.	Mean ± SD titer ($\log_{10}$ CFU/g of bone)[b]	Comparison with controls (*P* value)
Control	24	6.10 ± 0.43	
P60	6	6.06 ± 0.26	NS[c]
CIP30	6	6.04 ± 0.38	NS
V60	8	5.43 ± 1.05	NS
R20	6	4.74 ± 0.60	<0.01
P60-R20	6	2.88 ± 1.25	<0.01
CIP30-R20	16	3.07 ± 1.15	<0.002
V60-R20	18	2.76 ± 1.49	<0.002

Ostéite sur os natif : évaluations thérapeutiques

TRAITEMENTS LOCAUX

Local Application of Free Antibiotic Powder in the Treatment of Osteomyelitis in a Rat Model

E'Stephan J. Garcia, MD; Ryan N. Sieg, MD; Amr A. Abdelgawad, MD

Examination of a Novel, Specified Local Antibiotic Therapy through Polymethylmethacrylate Capsules in a Rabbit Osteomyelitis Model

László Börzsei[a] Tibor Mintál[a] Zoltán Koós[a] Béla Kocsis[b]
Zsuzsanna Helyes[c] László Kereskai[d] József Nyárády[a]

Departments of [a]Traumatology and Hand Surgery, [b]Microbiology, [c]Pharmacology and [d]Pathology, Faculty of Medicine, University of Pécs, Pécs, Hungary

Ostéite sur os natif : évaluations thérapeutiques

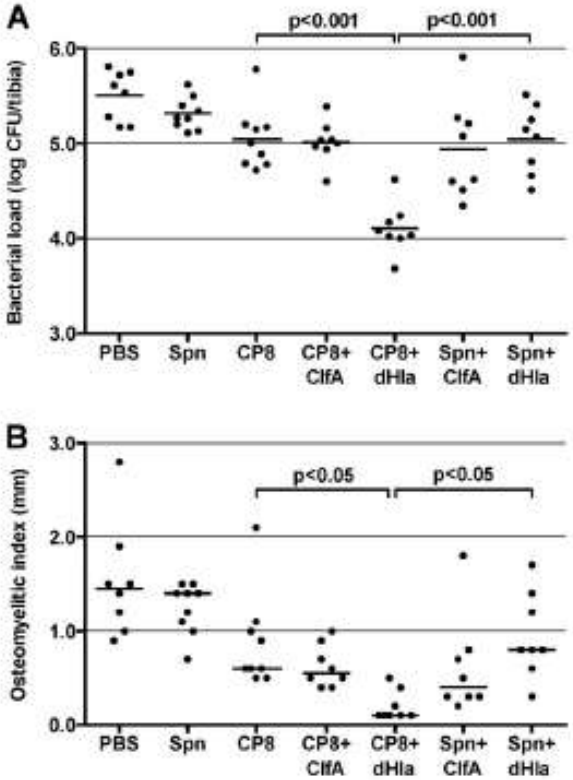
PREVENTION VACCINALE

IAI

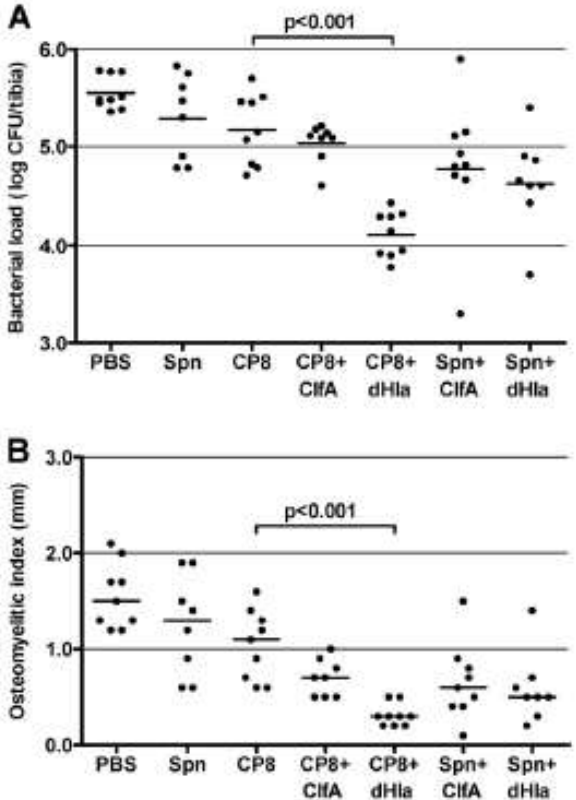
Protein Antigens Increase the Protective Efficacy of a Capsule-Based Vaccine against *Staphylococcus aureus* in a Rat Model of Osteomyelitis

Santiago M. Lattar,[a] Mariángeles Noto Llana,[a] Philippe Denoël,[b] Sophie Germain,[b] Fernanda R. Buzzola,[a] Jean C. Lee,[c] Daniel O. Sordelli[a]

PREVENTION

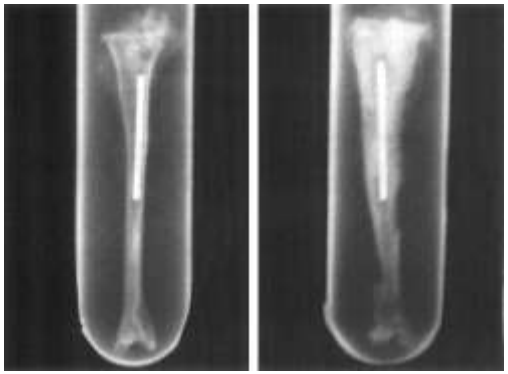


TRAITEMENT



Ostéite sur matériel

Intervention	Synthèse + Bactéries	Fracture + Synthèse + Bactéries	Fracture ouverte + Synthèse + Bactéries	Synthèse + bactériémie
Espèces	Lapin NZW Rat, souris Chien Cochon d'Inde	Lapin NZW Rat, souris Chien Mouton	Lapin NZW Rat Mouton Chèvre	Lapin, NZW
Site	Tibia, fémur	Tibia, fémur	Tibia, fémur	
Matériel	Fiche acier Vis, cerclages +/- ciment	Fiche acier Plaque + vis	Plaques Fiche	Plaque
Inoculation	IIM Pré-incubation	IIM Pré-incbation	via plaie Mb + biofilm	
Evolution	Jusqu'à 18 ms	Jusqu'à 18 ms		
Principales références	Andriole, 1973 Eerenberg, 1994 Castro, 2003 Darouiche, 2007 Giavaresi, 2008 Sheehan, 2004 Solberg, 1999 Lucke, 2003 Alt, 2001 Fuano, 2012 Varoga, 2008 Li, 2008 Huneault, 2004 Fischer, 1996	Arens, 1999 Moriarty, 2010 Skott, 2006 Tuzuner, 2006 Ozturan, 2010 Matsuno, 2006 Stewart, 2012 Khodaparast, 2003	Ashhurst, 1982 Worlock, 1988 Kraft, 2001 Li, 2009 Lindsey, 2010 Williams, 2012 Hill, 2002 Wenke, 2006	Johansson, 1999 Poultsides, 2008



Ostéite sur matériel

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Mar. 2011, p. 1182–1186 Vol. 55, No. 3
0066-4804/11/$12.00 doi:10.1128/AAC.00740-10
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

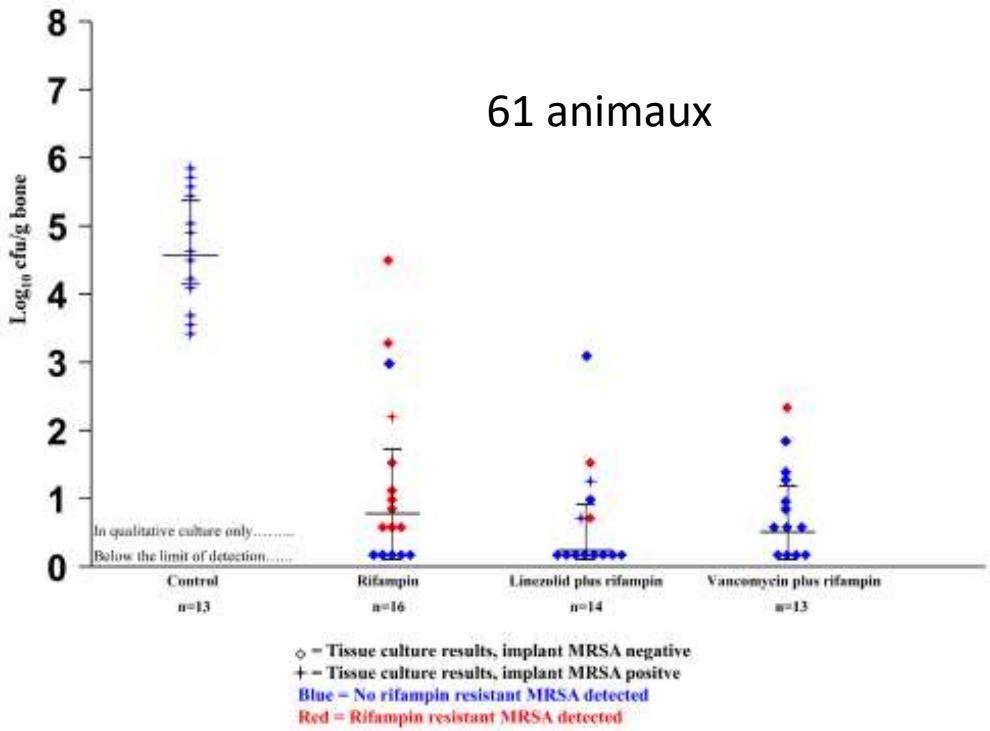
Treatment with Linezolid or Vancomycin in Combination with Rifampin Is Effective in an Animal Model of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Foreign Body Osteomyelitis[▽]

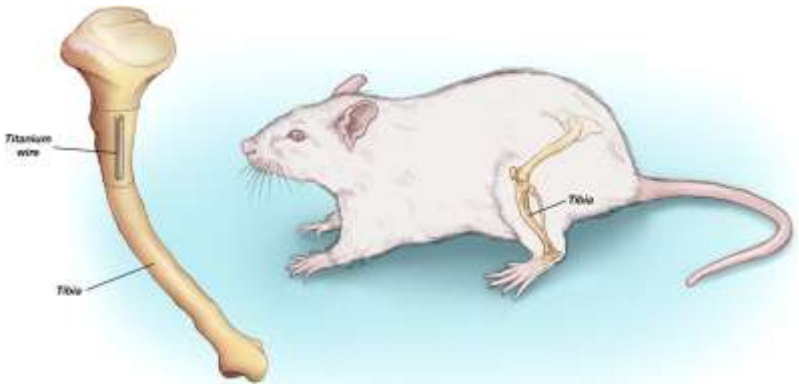
Paschalis Vergidis,[1] Mark S. Rouse,[2] Gorane Euba,[1]† Melissa J. Karau,[2] Suzannah M. Schmidt,[2] Jayawant N. Mandrekar,[3] James M. Steckelberg,[1] and Robin Patel[1,2]*

Rats
Canal intra-médullaire tibial
Bactéries (SA 10^6 CFU)
puis implant en titane

Traitement après 4 semaines
pendant 3 semaines

Euthanasie 12h après fin ATB
- Culture broyat os
- Culture sonicats implant



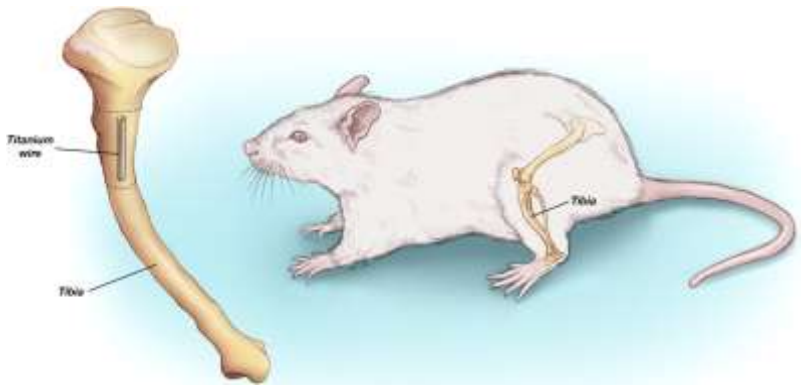


Moins d'émergence de résistance à la RMP en association

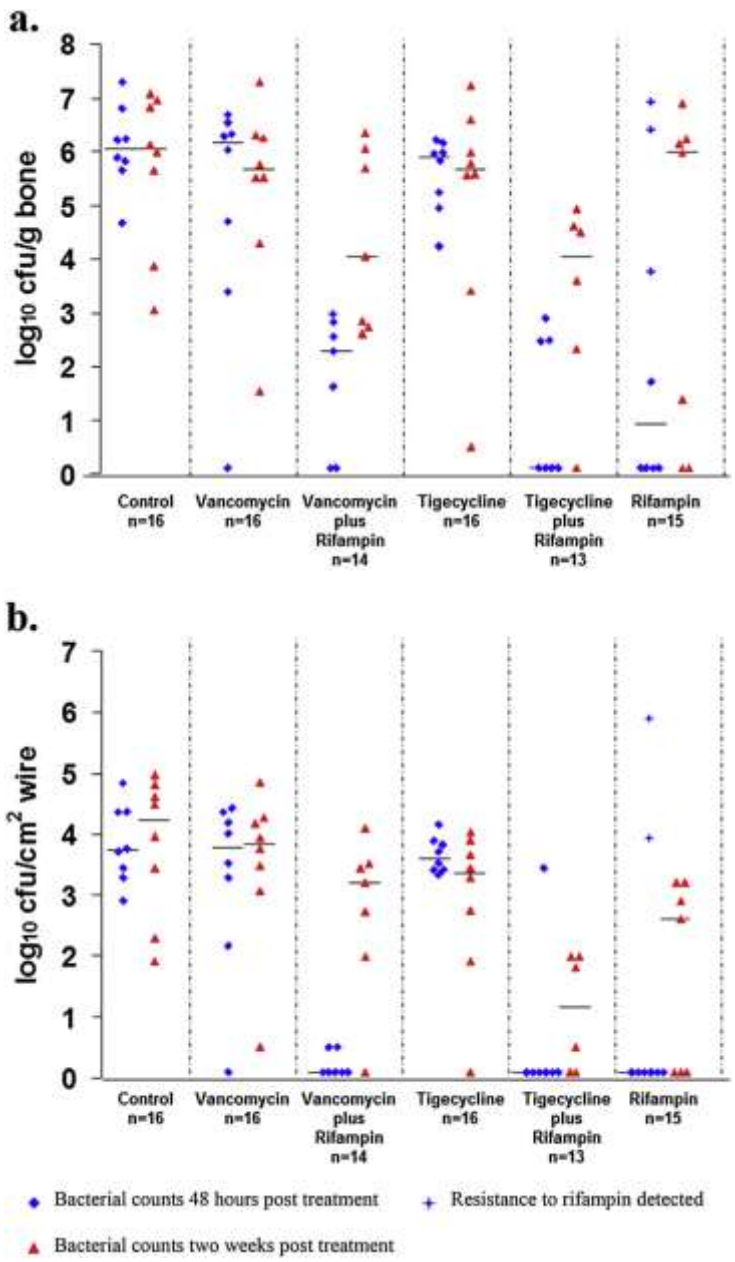
Ostéite sur matériel

Comparative activities of vancomycin, tigecycline and rifampin in a rat model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis

Paschalis Vergidis [a], Suzannah M. Schmidt-Malan [a], Jayawant N. Mandrekar [b], James M. Steckelberg [c], Robin Patel [a,c,*]



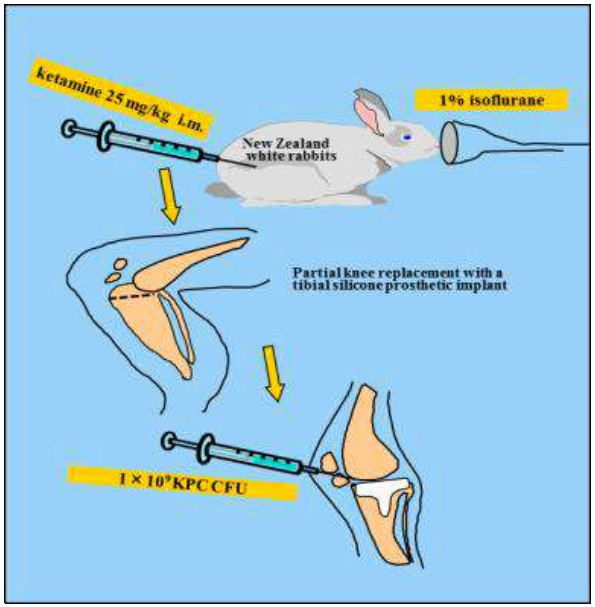
Evaluation 48h et 2 sem après traitement



Infection sur prothèse articulaire

Intervention	Fiche intra-médullaire à débord IA	Vis + PE intra-articulaire	Implant Changement 1 temps	Prothèse
Espèces	Rat, souris	Lapin, NZW	Lapin, NZW	Lapin, NZW
Site	Fémur / Genou	Genou	Genou	Genou
Matériel	Fiche acier	Vis + PE + ciment	Fiche + crochet intra-articulaire	MTP silicone
Inoculation	IIA	IIA	IIA	IIA
Evolution	Jusqu'à 6 sem			
Limites				
Principales références	Antoci, 2007 Bernthal, 2010	Craig, 2005	Nijhof, 2001	Belmatoug, 1996 Southwood, 1985 Crémieux

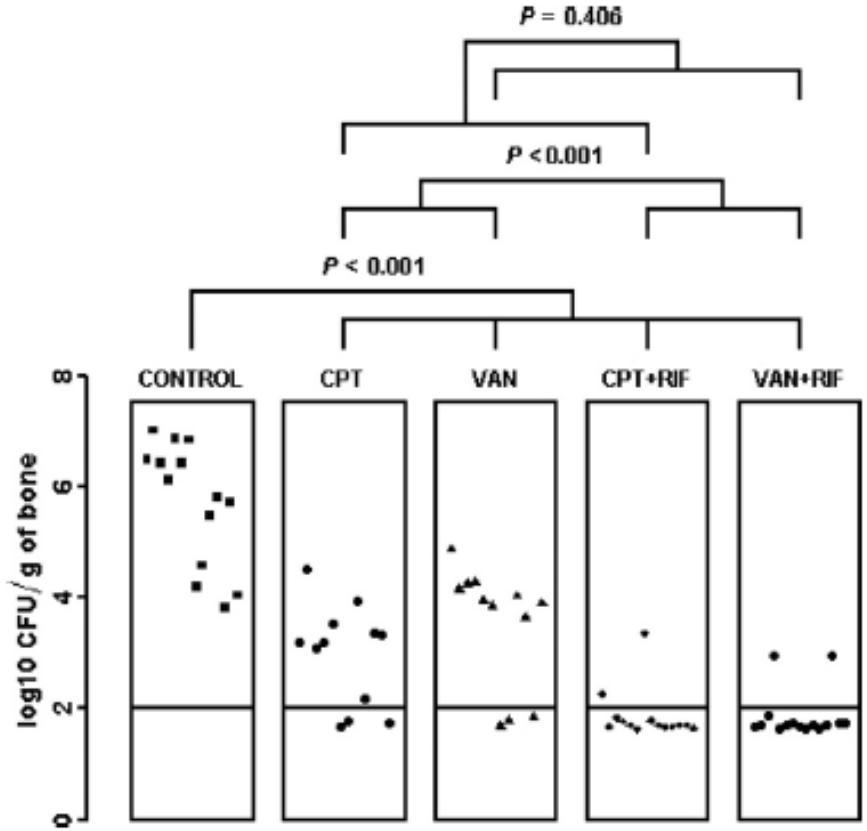
Infection sur prothèse articulaire : exemple 1



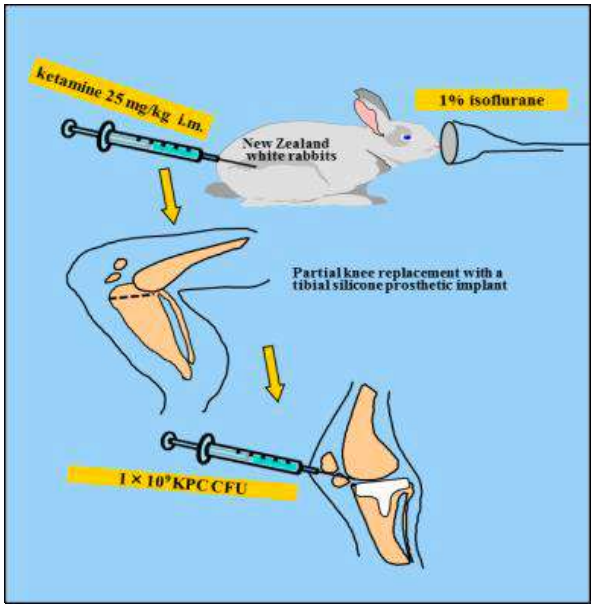
Ceftaroline-Fosamil Efficacy against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Rabbit Prosthetic Joint Infection Model

Laure Gatin,[a] Azzam Saleh-Mghir,[a] Jason Tasse,[b] Idir Ghout,[c] Frédéric Laurent,[b] Anne-Claude Crémieux[a]

Implant silicone (prothèse phalange)
Traitement à J7 pendant 2 semaines



Infection sur prothèse articulaire : exemple 1

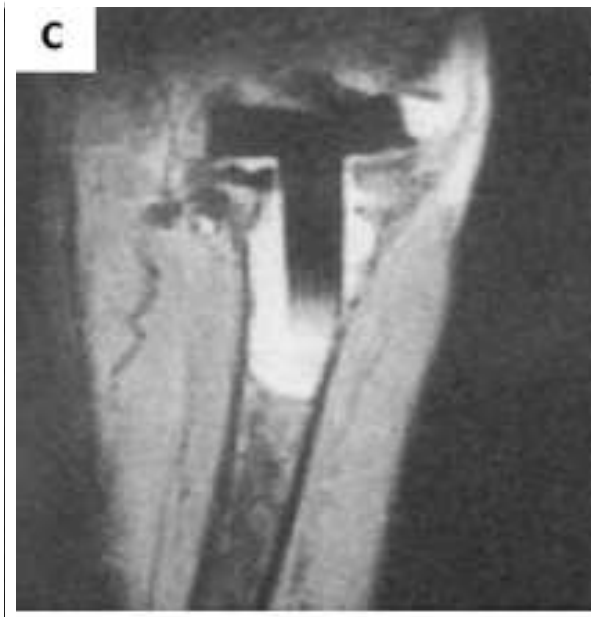


ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, OCT. 2011, p. 4589–4593 Vol. 55, No. 10
0066-4804/11/$12.00 doi:10.1128/AAC.00675-11
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Adjunctive Rifampin Is Crucial to Optimizing Daptomycin Efficacy against Rabbit Prosthetic Joint Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*▽†

Azzam Saleh-Mghir,[1,2] Claudette Muller-Serieys,[3] Aurélien Dinh,[1,2] Laurent Massias,[4] and Anne-Claude Crémieux[1,2]*

Implant silicone (prothèse phalange)
Traitement à J7 pendant 7 jours
Euthanasie J3 après arrêt du traitement



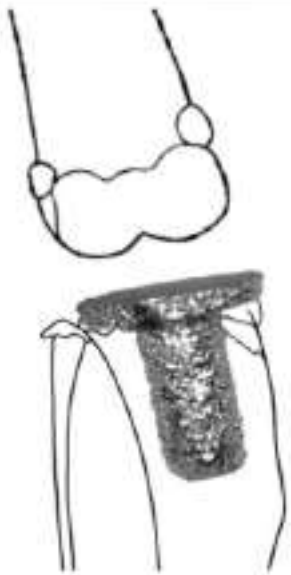
Treatment[a]	No. of rabbits with sterile bone/total	Log_{10} CFU/g of bone (mean ± SD)	No. of rabbits with daptomycin mutant strain/no. infected
None	0/9	5.93 ± 1.15	2/9
Daptomycin	2/12	4.23 ± 1.44[b]	6/10[c]
Vancomycin	0/12	4.63 ± 1.08[b]	3/12
Daptomycin + rifampin	11/11	1.47 ± 0.04[d,e]	
Vancomycin + rifampin	6/8	1.50 ± 0.12[d]	0/2[d]

Infection sur prothèse articulaire : exemple 2

Quantification of Peri-Implant Bacterial Load and in Vivo Biofilm Formation in an Innovative, Clinically Representative Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection

Alberto V. Carli, MD, MS, FRCSC, Samrath Bhimani, BS, Xu Yang, MD, MSc, Matthew B. Shirley, BS, Karen L. de Mesy Bentley, MSc, F. Patrick Ross, PhD, and Mathias P.G. Bostrom, MD

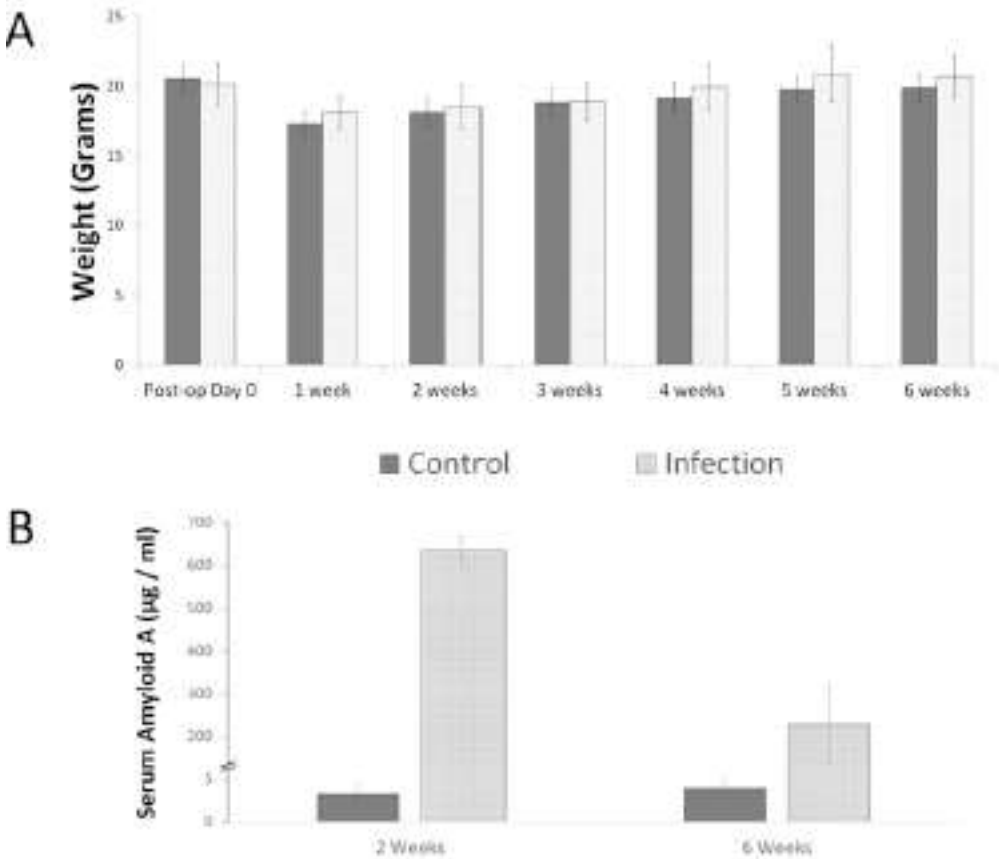
Prothèse en alliage titanium (Ti-6al-4V)
Impression 3D



Systemic Parameters
1. Weight
2. Serum Amyloid A

Clinical Presentation
3. Gait Analysis
4. Radiograph Score
5. Soft Tissue Score

Infection Analysis
6. Tissue CFU Counts
7. Implant CFU Counts
8. Biofilm Visualization

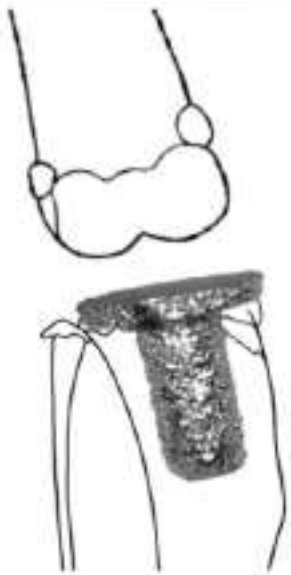


Infection sur prothèse articulaire : exemple 2

Quantification of Peri-Implant Bacterial Load and in Vivo Biofilm Formation in an Innovative, Clinically Representative Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection

Alberto V. Carli, MD, MS, FRCSC, Samrath Bhimani, BS, Xu Yang, MD, MSc, Matthew B. Shirley, BS, Karen L. de Mesy Bentley, MSc, F. Patrick Ross, PhD, and Mathias P.G. Bostrom, MD

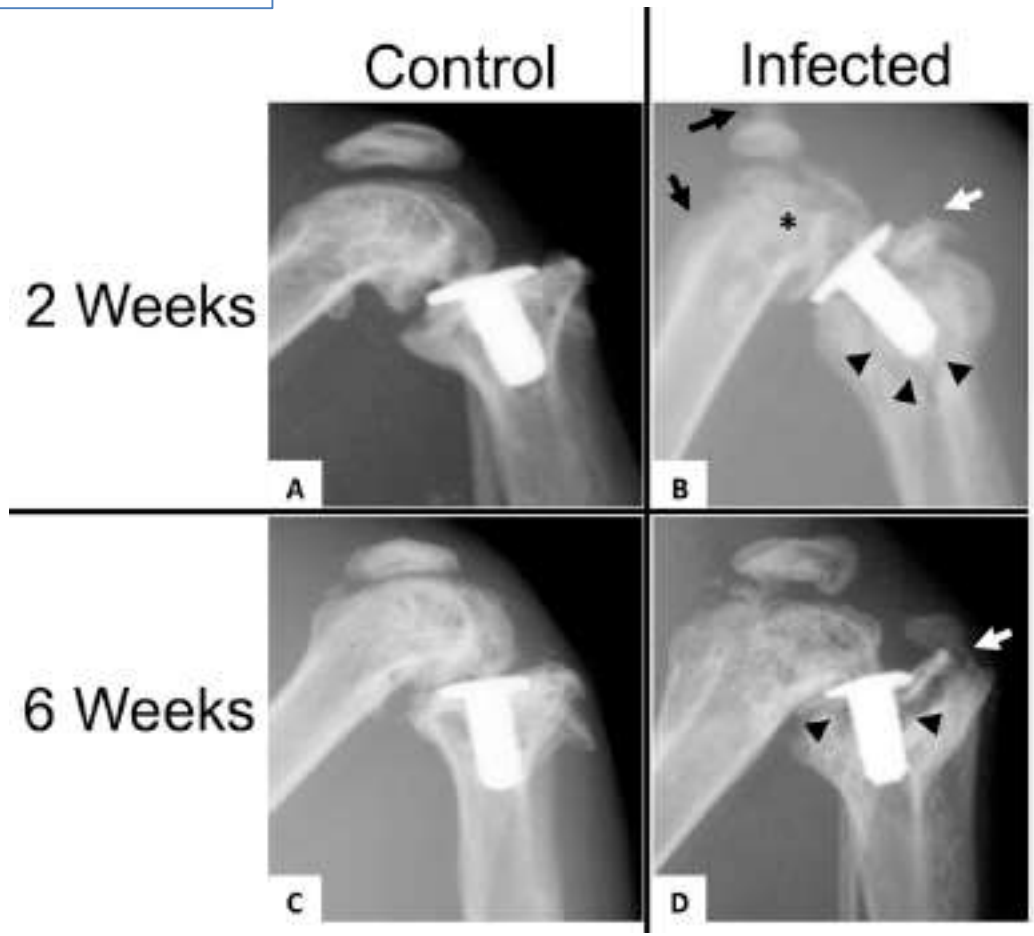
Prothèse en alliage titanium (Ti-6al-4V)
Impression 3D



Systemic Parameters
1. Weight
2. Serum Amyloid A

Clinical Presentation
3. Gait Analysis
4. Radiograph Score
5. Soft Tissue Score

Infection Analysis
6. Tissue CFU Counts
7. Implant CFU Counts
8. Biofilm Visualization

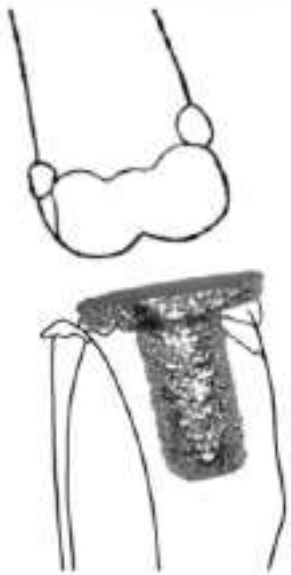


Infection sur prothèse articulaire : exemple 2

Quantification of Peri-Implant Bacterial Load and in Vivo Biofilm Formation in an Innovative, Clinically Representative Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection

Alberto V. Carli, MD, MS, FRCSC, Samrath Bhimani, BS, Xu Yang, MD, MSc, Matthew B. Shirley, BS, Karen L. de Mesy Bentley, MSc, F. Patrick Ross, PhD, and Mathias P.G. Bostrom, MD

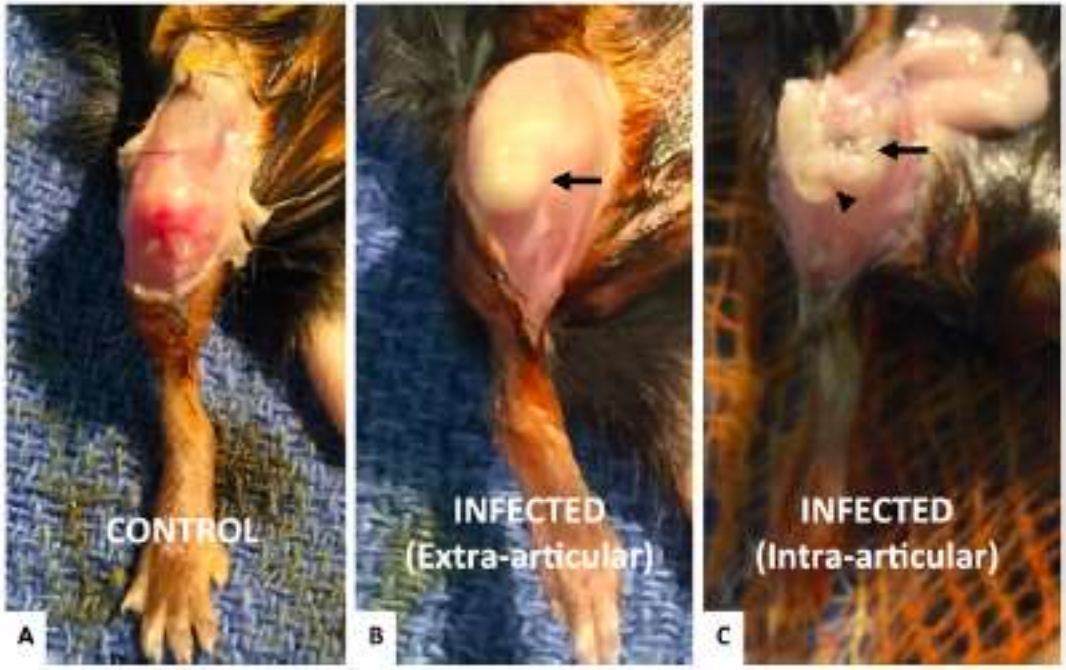
Prothèse en alliage titanium (Ti-6al-4V)
Impression 3D



Systemic Parameters
1. Weight
2. Serum Amyloid A

Clinical Presentation
3. Gait Analysis
4. Radiograph Score
5. Soft Tissue Score

Infection Analysis
6. Tissue CFU Counts
7. Implant CFU Counts
8. Biofilm Visualization

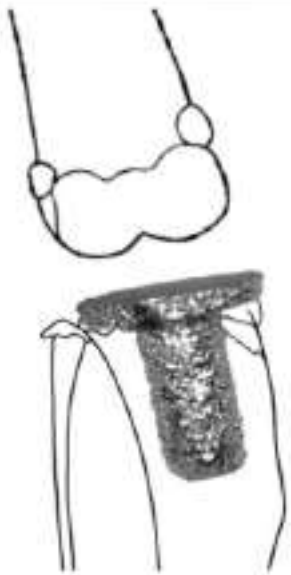


Infection sur prothèse articulaire : exemple 2

Quantification of Peri-Implant Bacterial Load and in Vivo Biofilm Formation in an Innovative, Clinically Representative Mouse Model of Periprosthetic Joint Infection

Alberto V. Carli, MD, MS, FRCSC, Samrath Bhimani, BS, Xu Yang, MD, MSc, Matthew B. Shirley, BS, Karen L. de Mesy Bentley, MSc, F. Patrick Ross, PhD, and Mathias P.G. Bostrom, MD

Prothèse en alliage titanium (Ti-6al-4V)
Impression 3D



Systemic Parameters

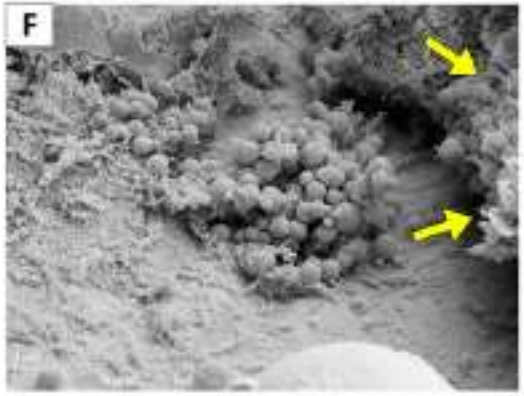
1. Weight
2. Serum Amyloid A

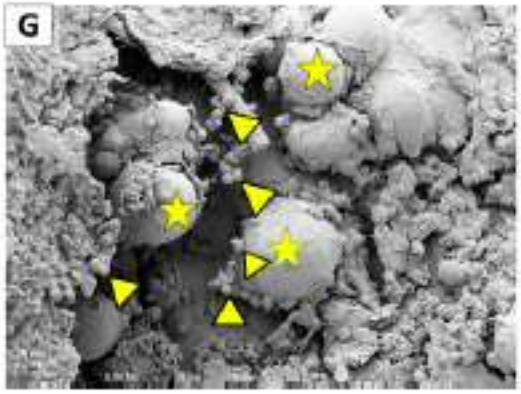
Clinical Presentation

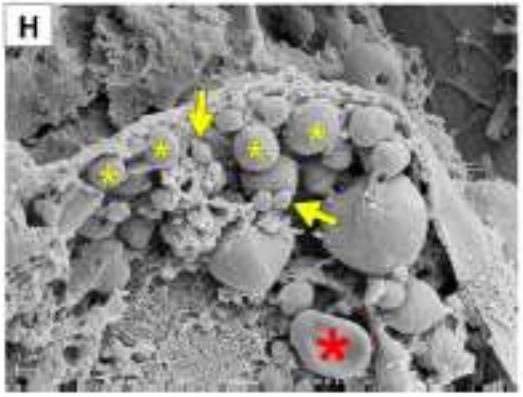
3. Gait Analysis
4. Radiograph Score
5. Soft Tissue Score

Infection Analysis

6. Tissue CFU Counts
7. Implant CFU Counts
8. Biofilm Visualization



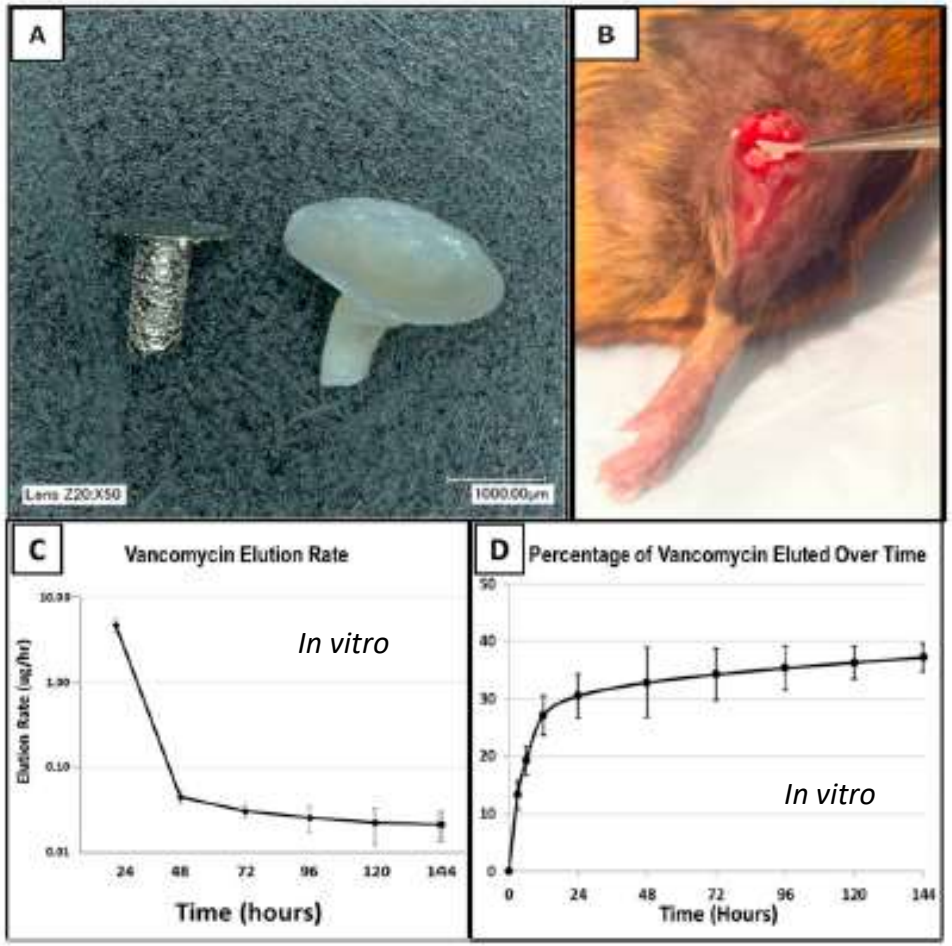




Infection sur prothèse articulaire : exemple 2

Vancomycin-Loaded Polymethylmethacrylate Spacers Fail to Eradicate Periprosthetic Joint Infection in a Clinically Representative Mouse Model

Alberto V. Carli, MD, MSc, FRCSC, Samrath Bhimani, MD, Xu Yang, MD, MSc, Karen L. de Mesy Bentley, MSc, F. Patrick Ross, PhD, and Mathias P.G. Bostrom, MD



Prothèse en alliage titanium (Ti-6al-4V)
Impression 3D

Infection per opératoire

Chirurgie de révision à J15 (n=9) : débridement, ablation de l'implant, spacer vanco

vs contrôle : pas de reprise (n=9)

- Diminution pus
- Diminution bactéries articulaires
- Pas de biofilm / bactéries sur matériel
- Persistance de la même charge bactérienne dans les tissus péri-prothétiques

Infection sur prothèse articulaire : exemple 3

ZUCKERBERG
SAN FRANCISCO GENERAL
Hospital and Trauma Center

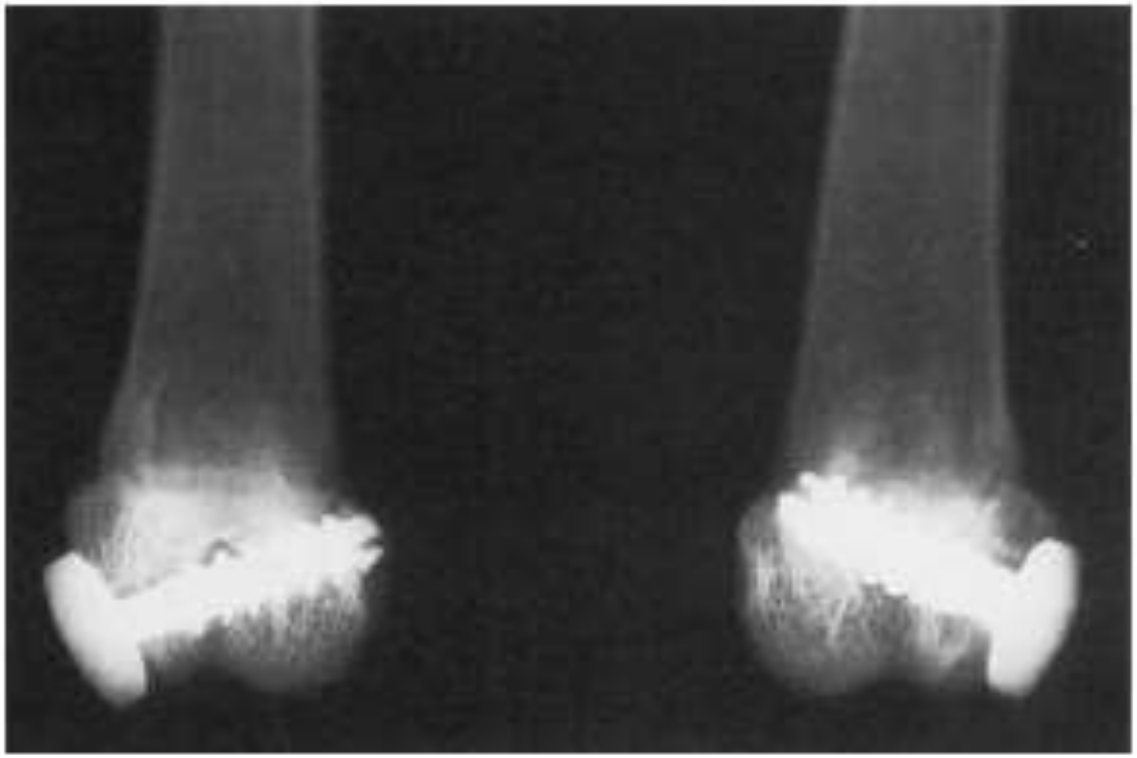
UCSF
University of California
San Francisco

Modèle utilisé

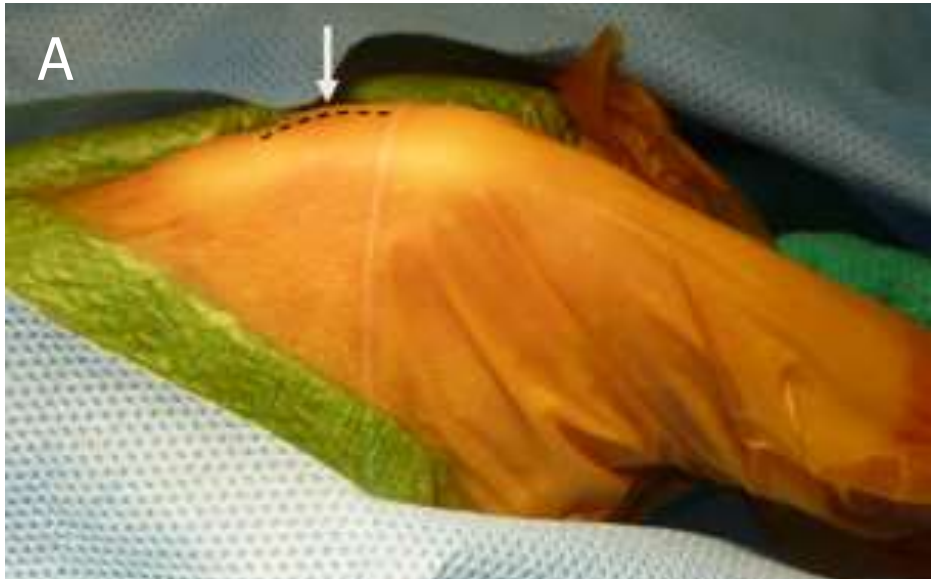
A novel total knee arthroplasty infection model in rabbits

Matthew R. Craig [a], Kornelis A. Poelstra [a], J. Christopher Sherrell [a], Michael S. Kwon [a], Etienne L. Belzile [b], Thomas E. Brown [a,*]

J Orthop Res 2005



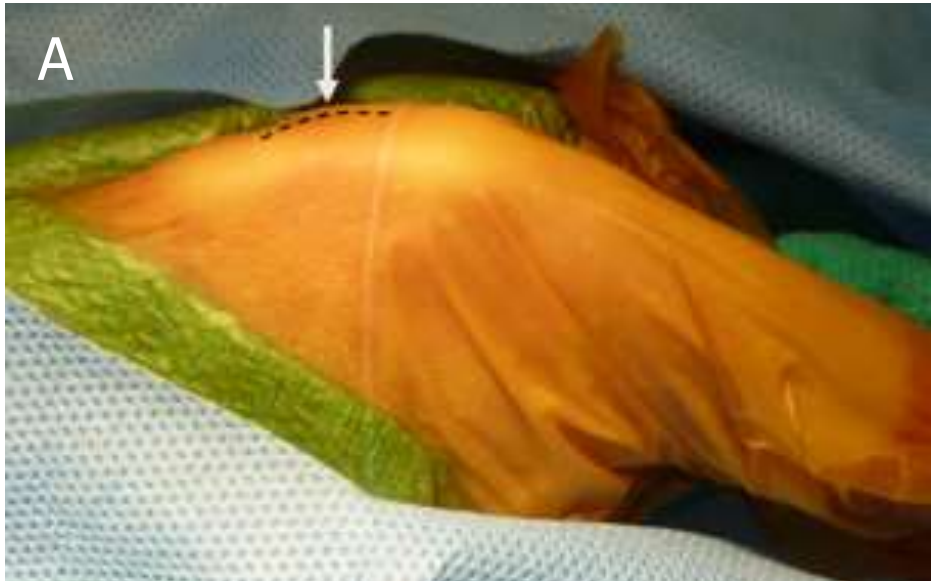
Modèle utilisé : chirurgie



Modèle utilisé : chirurgie

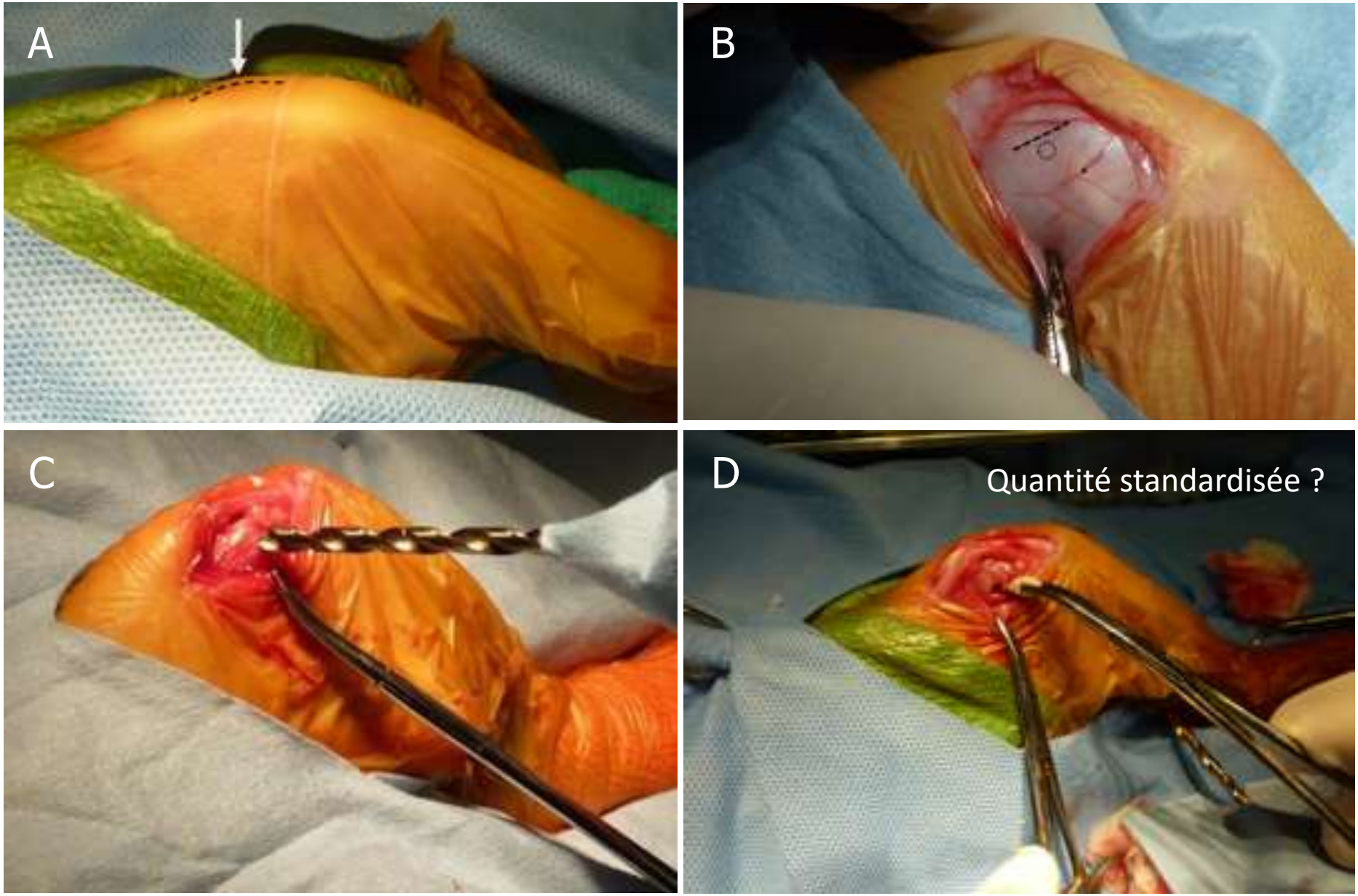
Anesthésie
Rasage
Installation

Modèle utilisé : chirurgie



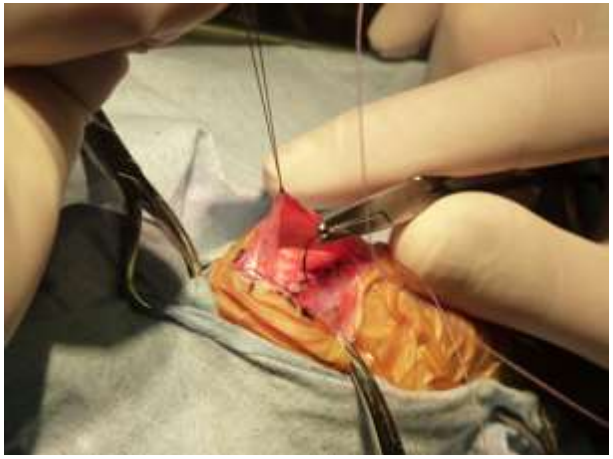
Positionnement exact
Fonction post-opératoire +++

Modèle utilisé : chirurgie



Modèle utilisé : chirurgie

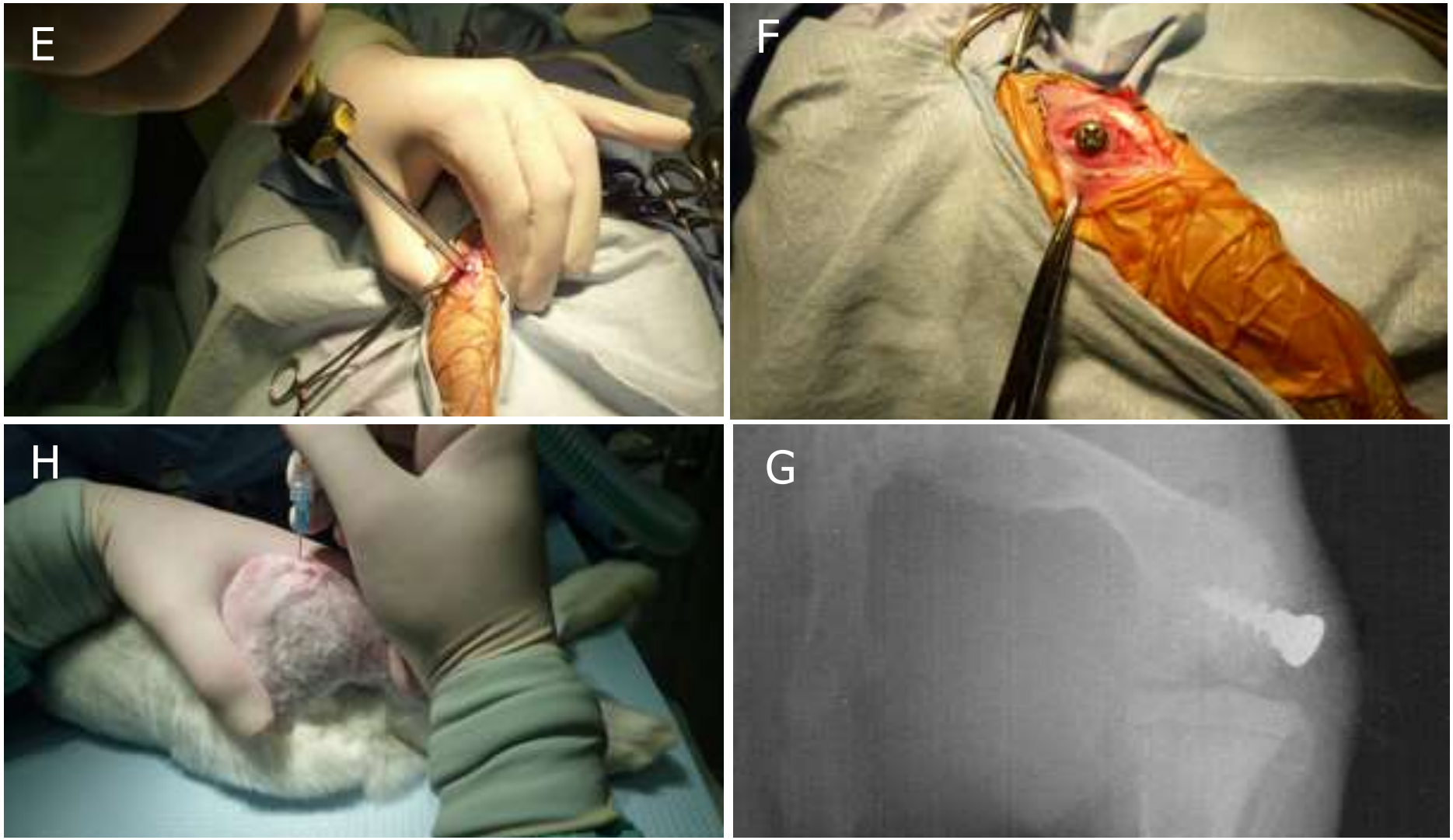
- Vis en acier + rondelle PE (type castorama …)
- Suture +++ : capsule / fascia + capsule / peau / colle



Modèle utilisé : chirurgie

- Mode d’injection
- Risque de fuite / infection sous-cutanée

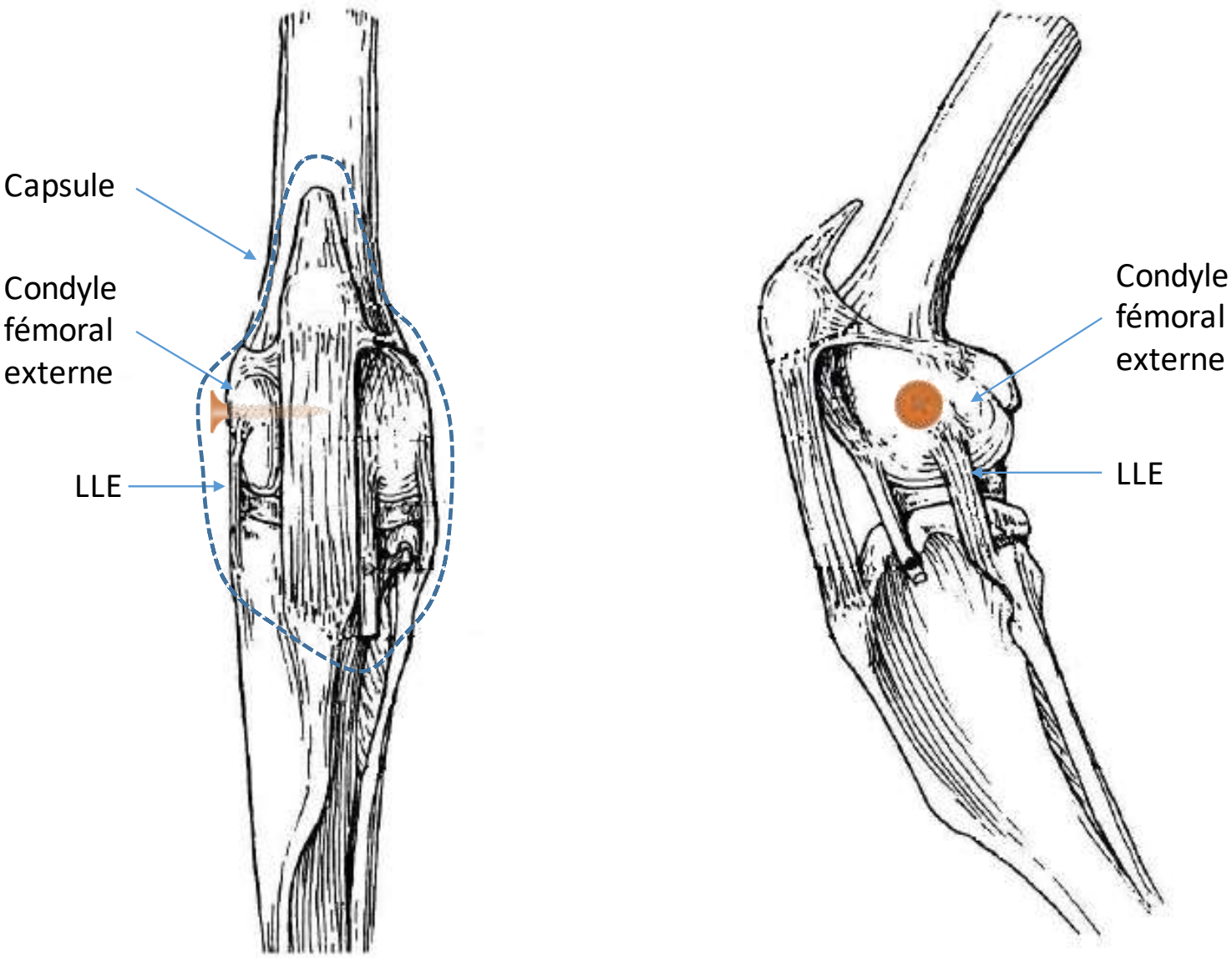
Modèle utilisé : chirurgie



Durée chirurgie : 30 minutes

Durée totale procédure : 2h

Modèle utilisé : chirurgie



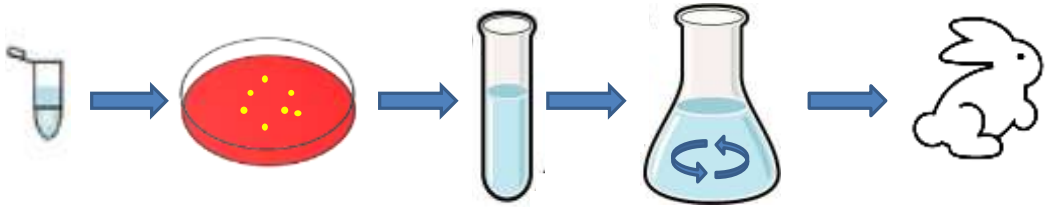
Choix de la bactérie

PROJET 1 : modèle de co-infection *S. aureus* / *P. aeruginosa*

- 3 couples de souches cliniques : choix / fond génétique (futures mutations dirigées ?)

- Inoculum *S. aureus*

- Inoculum *P. aeruginosa*



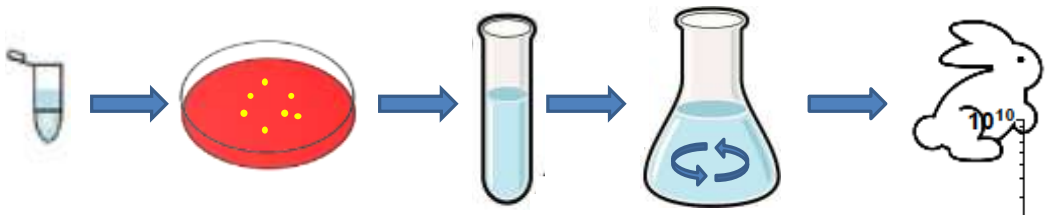
Choix de la bactérie

PROJET 1 : modèle de co-infection *S. aureus* / *P. aeruginosa*

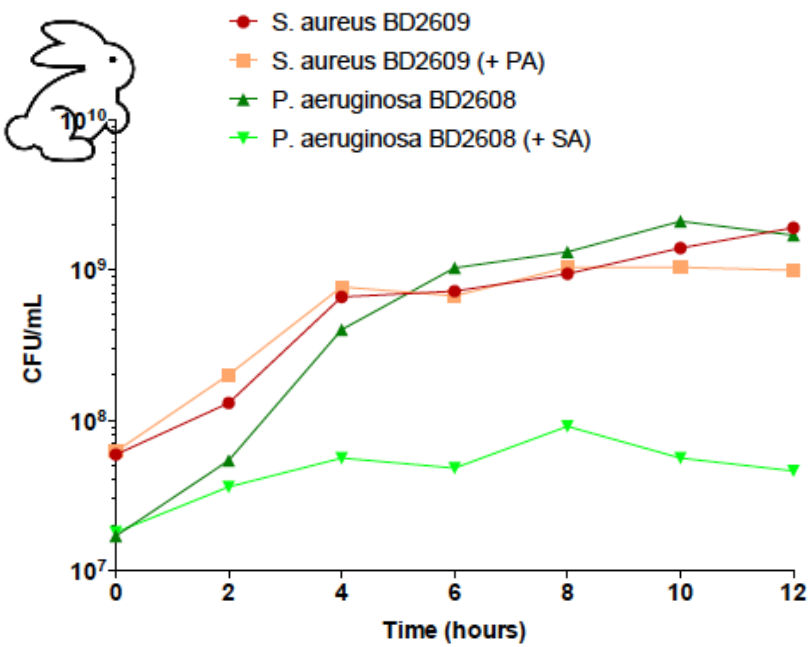
- 3 couples de souches cliniques : choix / fond génétique (futures mutations dirigées ?)

- Inoculum *S. aureus*

- Inoculum *P. aeruginosa*



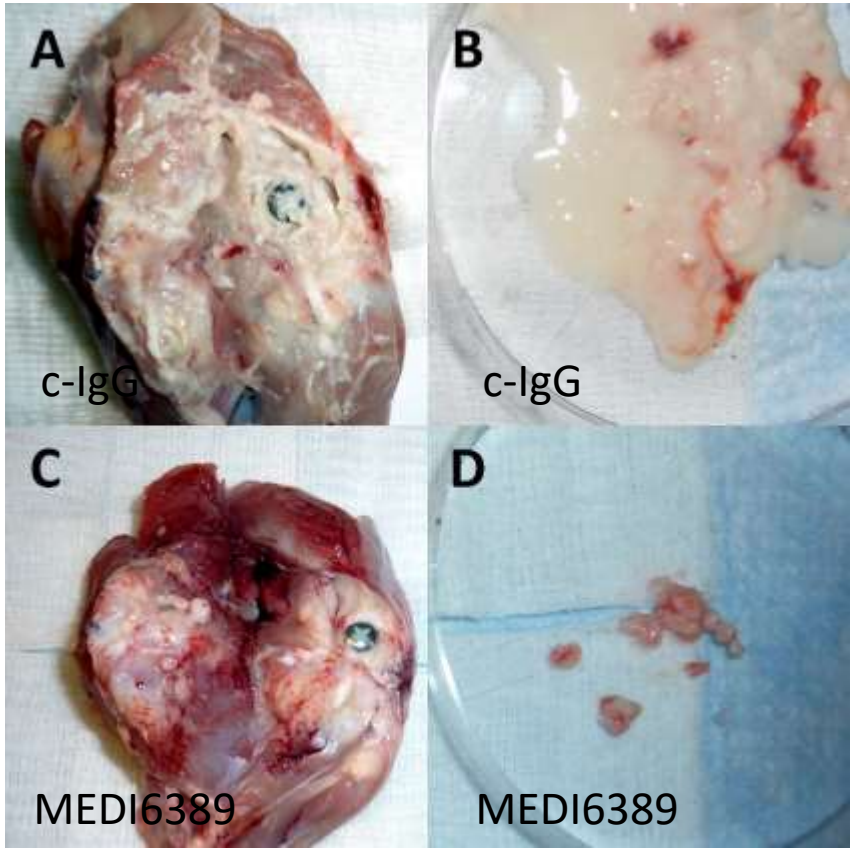
- Co-infection
  - Résultats variables avec *S. aureus*
  - Taux d'infection à *P. aeruginosa* = 0%

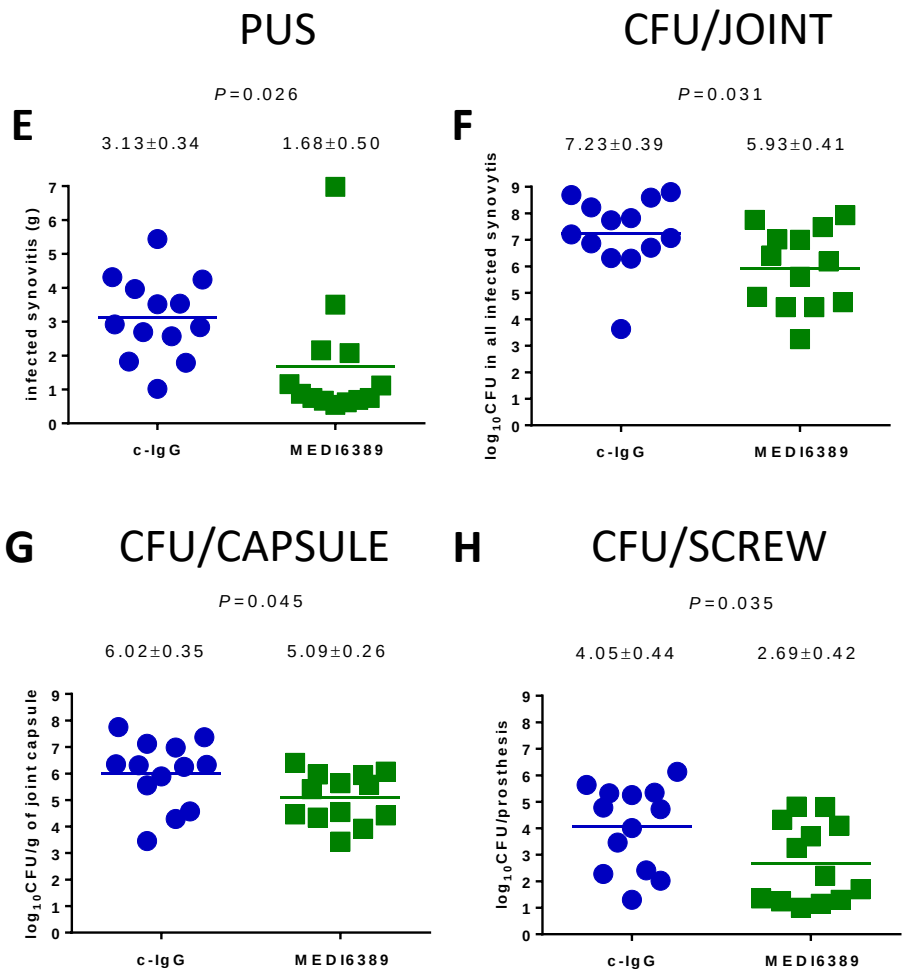


Choix de l'inoculum

PROJET 2 : Anticorps préventis anti-*S. aureus*

Injection d'Ac spécifiques 12h avant la chirurgie

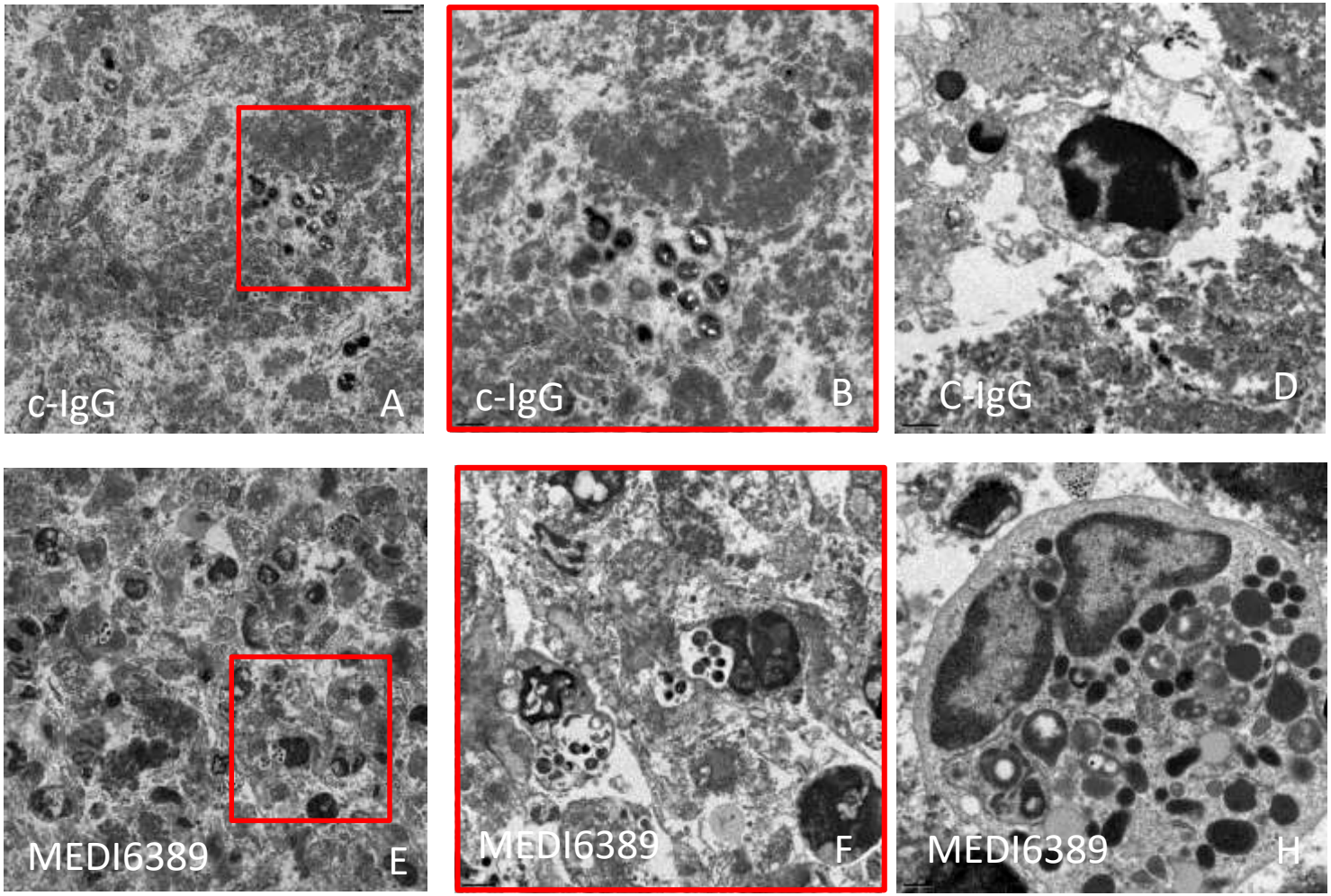


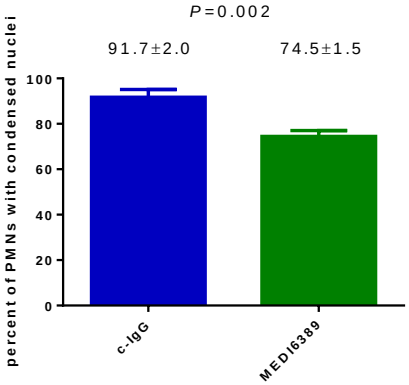


Choix de l'inoculum

PROJET 2 : Anticorps préventis anti-*S. aureus*

Injection d'Ac spécifiques 12h avant la chirurgie

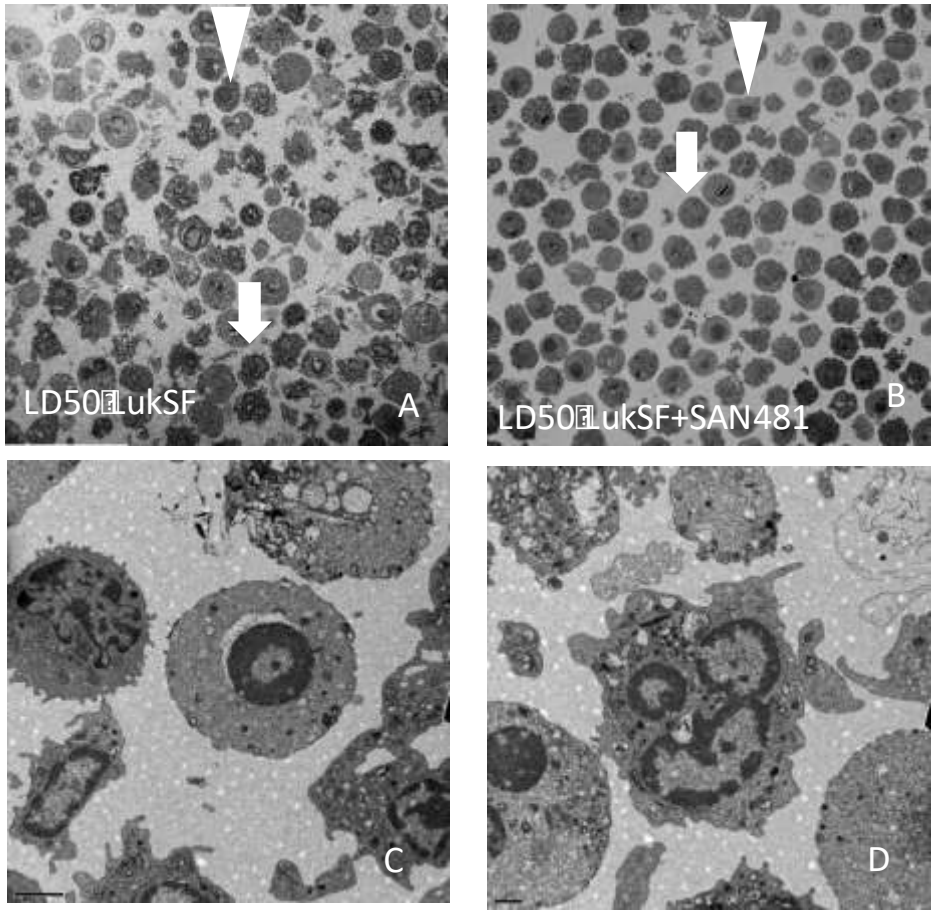


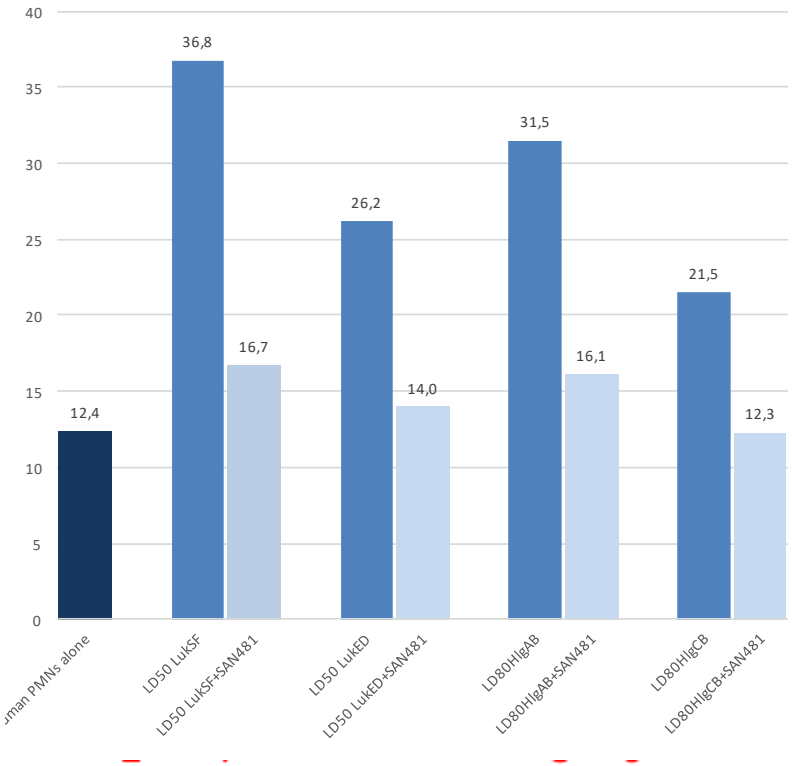


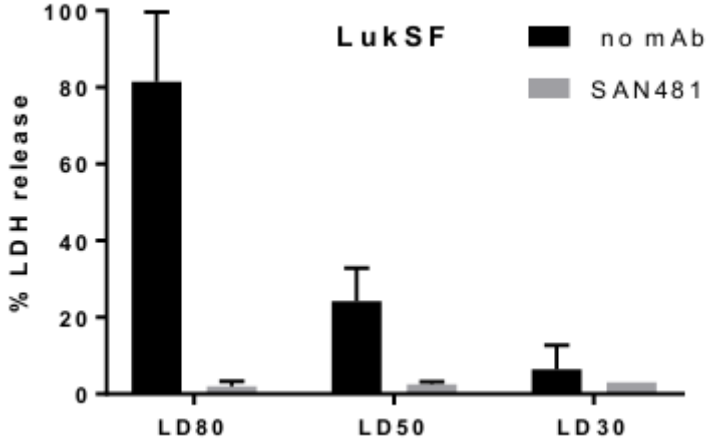
Choix de l'inoculum

PROJET 2 : Anticorps préventis anti-*S. aureus*

Injection d'Ac spécifiques 12h avant la chirurgie







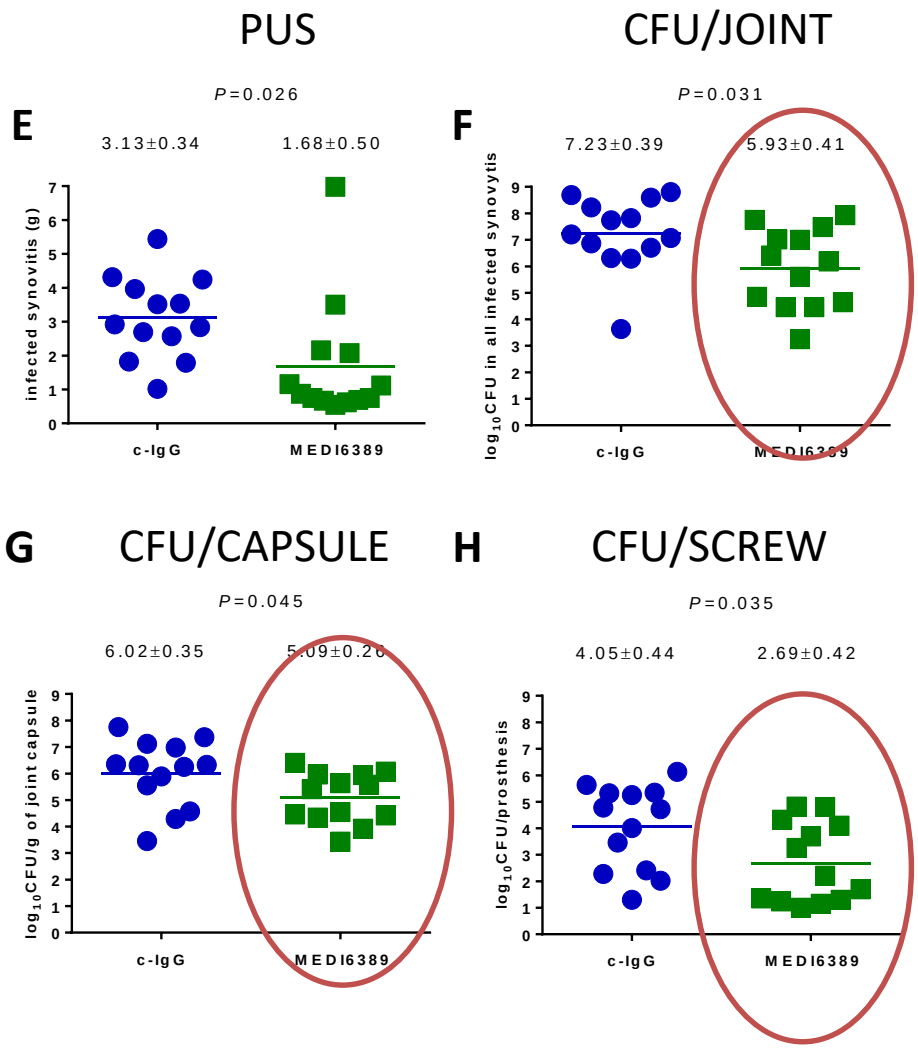
Choix de l'inoculum

PROJET 2 : Anticorps préventis anti-*S. aureus*
Injection d'Ac spécifiques 12h avant la chirurgie

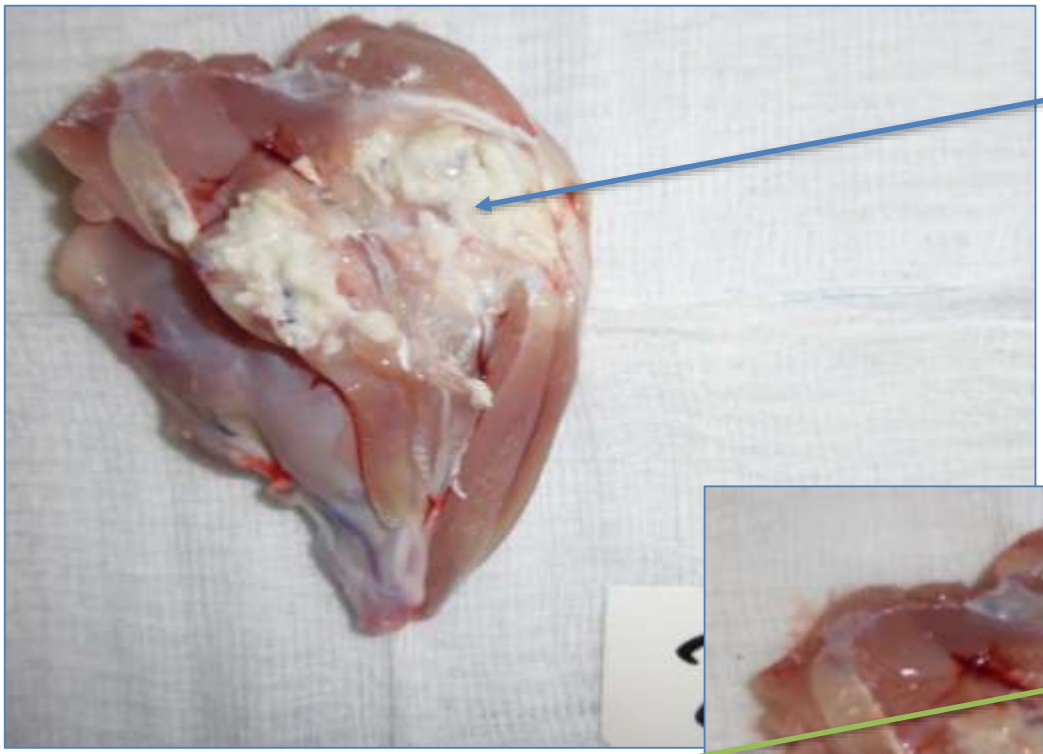
Pertinence ?
Interprétation ?
… favorise l'infection chronique ??

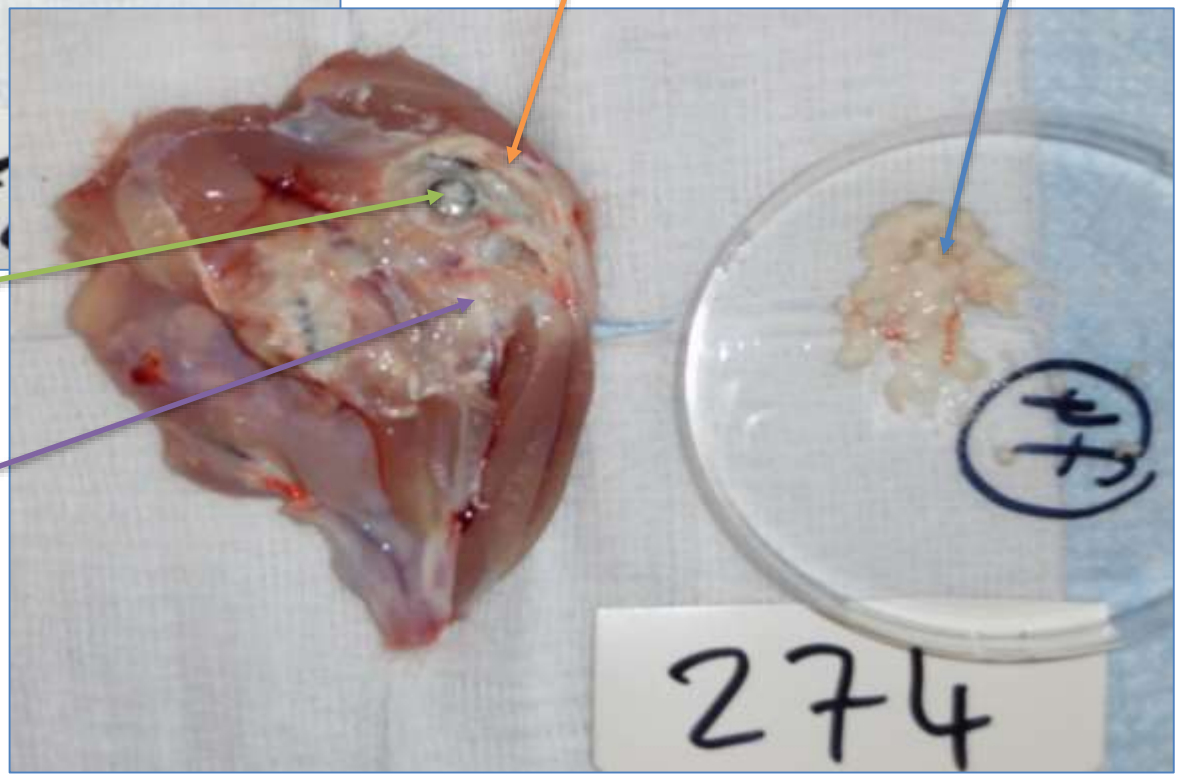
Problème : choix de l'inoculum
Objectif : infectivité de 100%
---> ineffectivité des procédures préventives

Proposition : réduire l'inoculum
Infectivité de 20% ? 30% ? 50% ?
Read out : réduction de l'infectivité
Problème : coût, temps, nombre d'animaux



Read outs : macroscopie et prélèvements





Pus « total »
- 1, 2, 3 échantillons ?
- Totalité ?
- Homogénéisation

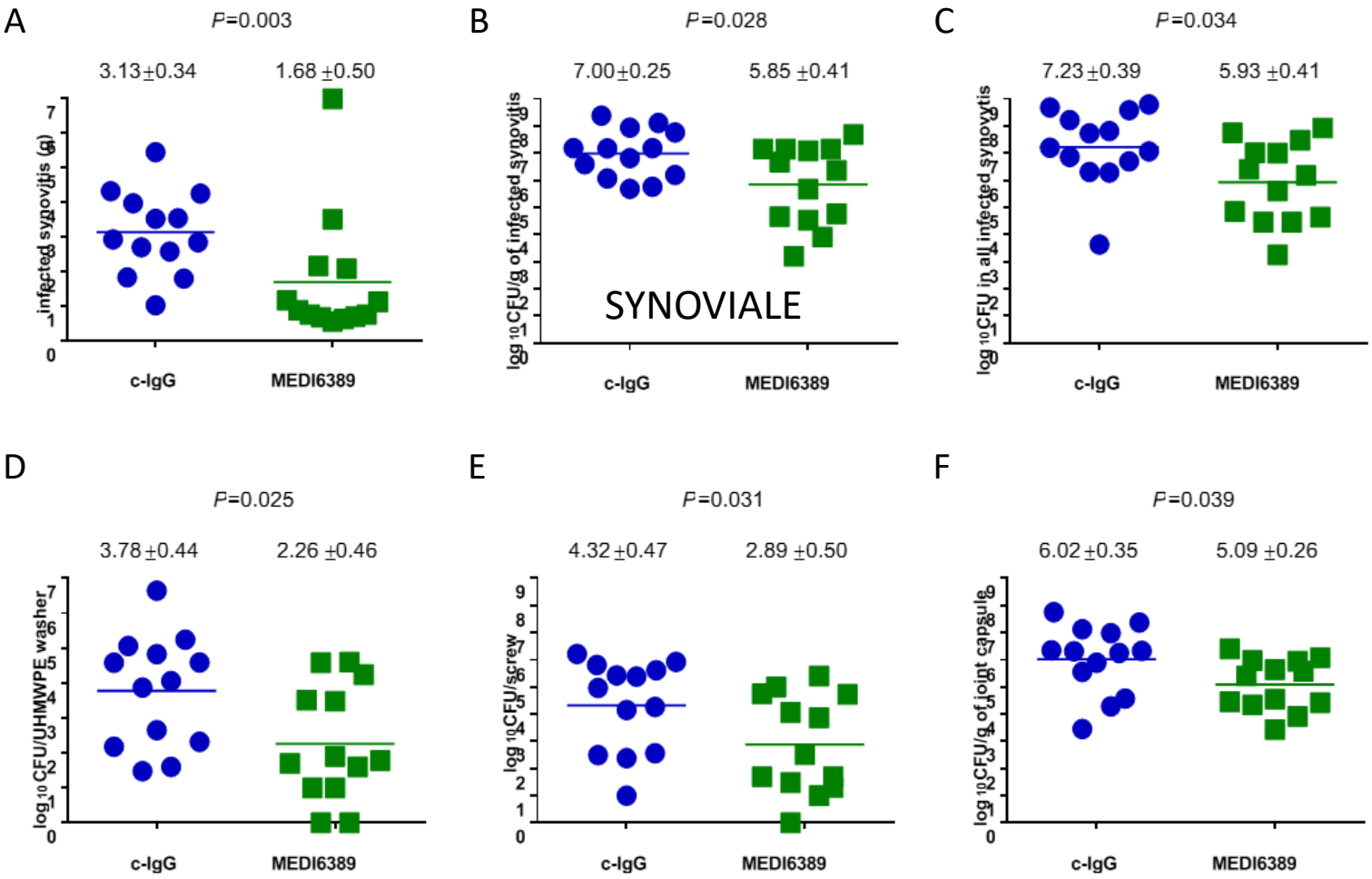
Synoviale
- 1, 2, 3 échantillons ?
- Homogénéisation

Vis, rondelle
- « Nettoyage » ?
- Sonication ?

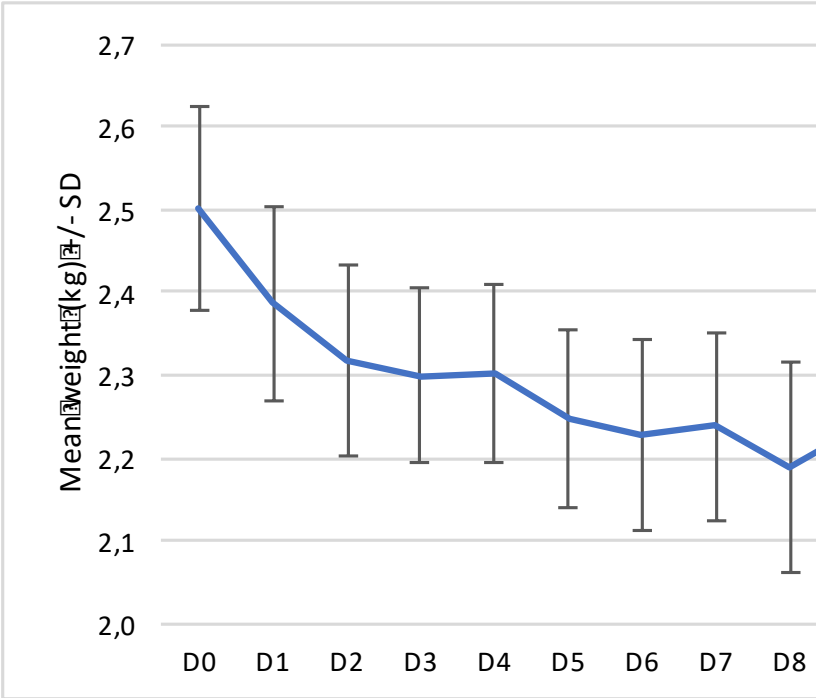
Os ?
- 1, 2 3 échantillons ?
- Où ?
- Homogénéisation

Read outs : quantifications bactériennes / biofilm

PROJET 1 : Ac préventifs anti-*S. aureus*



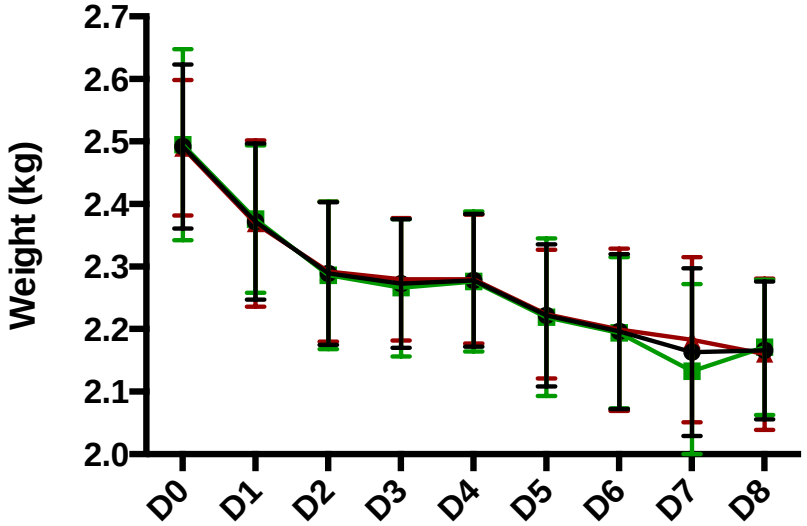
Evaluations thérapeutiques : chronicité



-15%

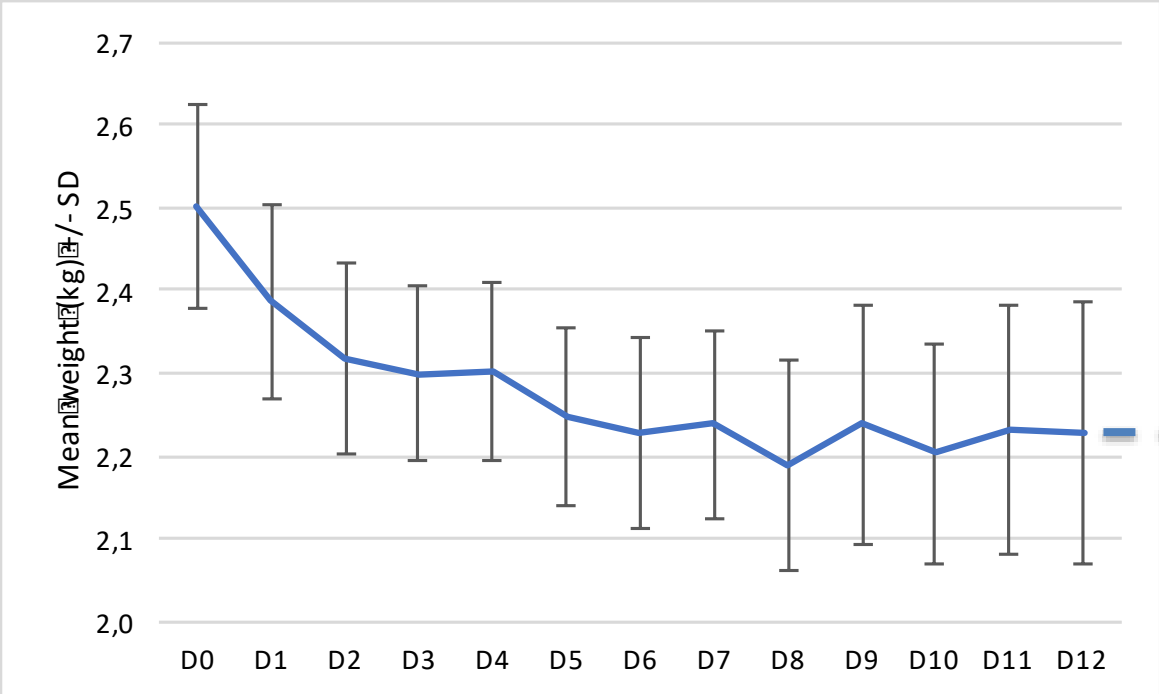
Difficulté du maintien des animaux

- Poids
- Clairance / inhomogénéité



Treatment
Control
All

Evaluations thérapeutiques : chronicité

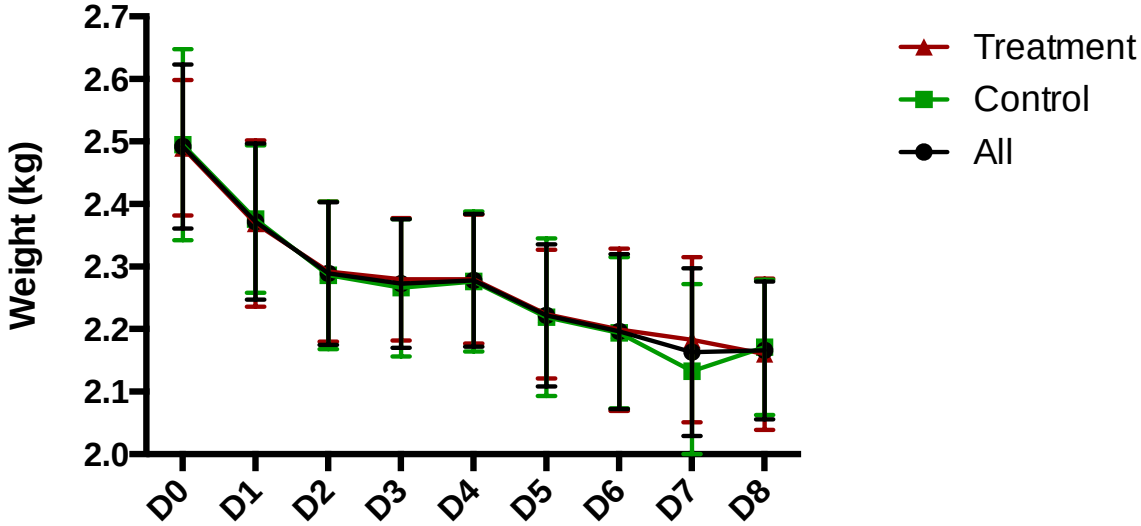


Difficulté du maintien des animaux

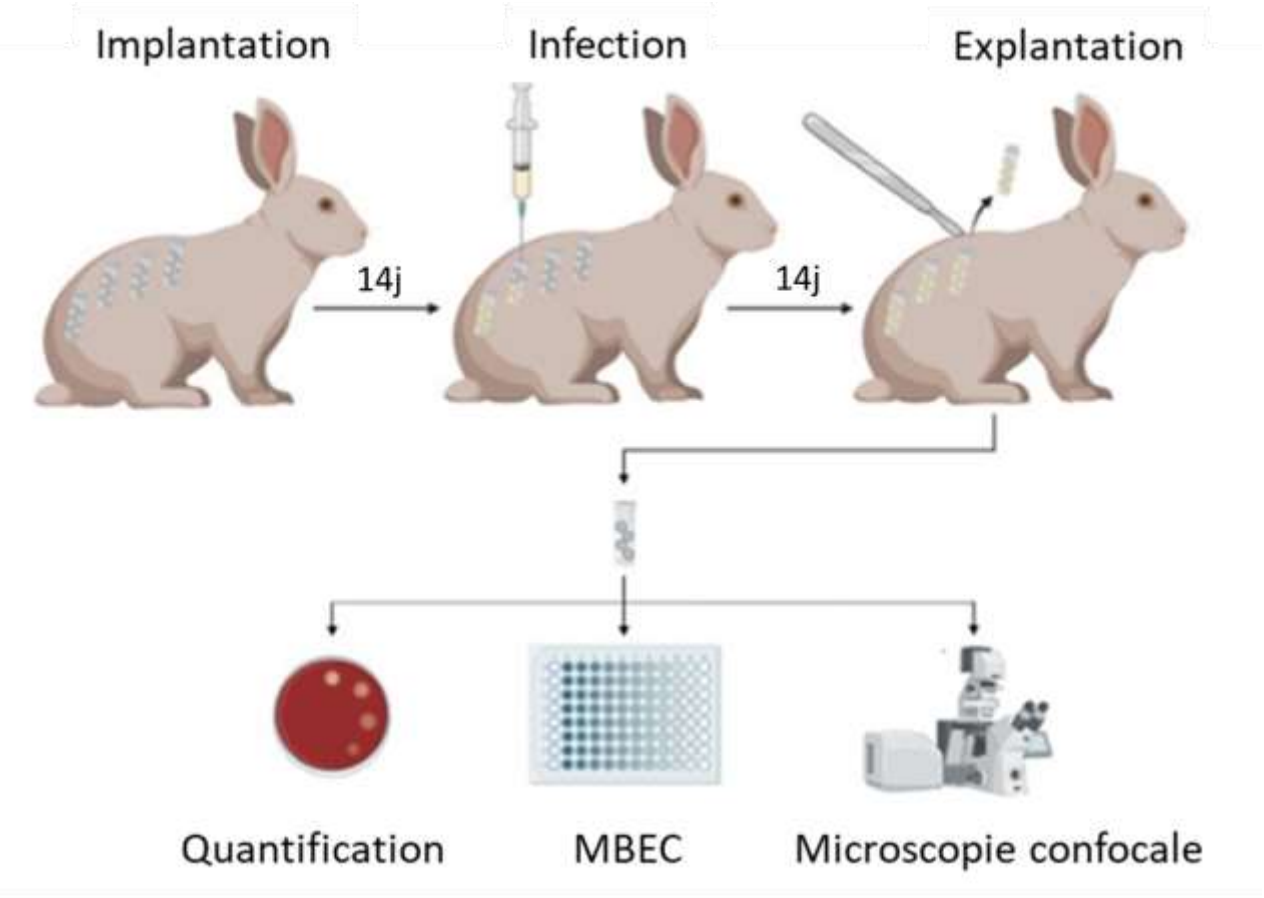
- Poids
- Clairance / inhomogénéité

Pertinence des évaluations +++

Notamment biofilm +++

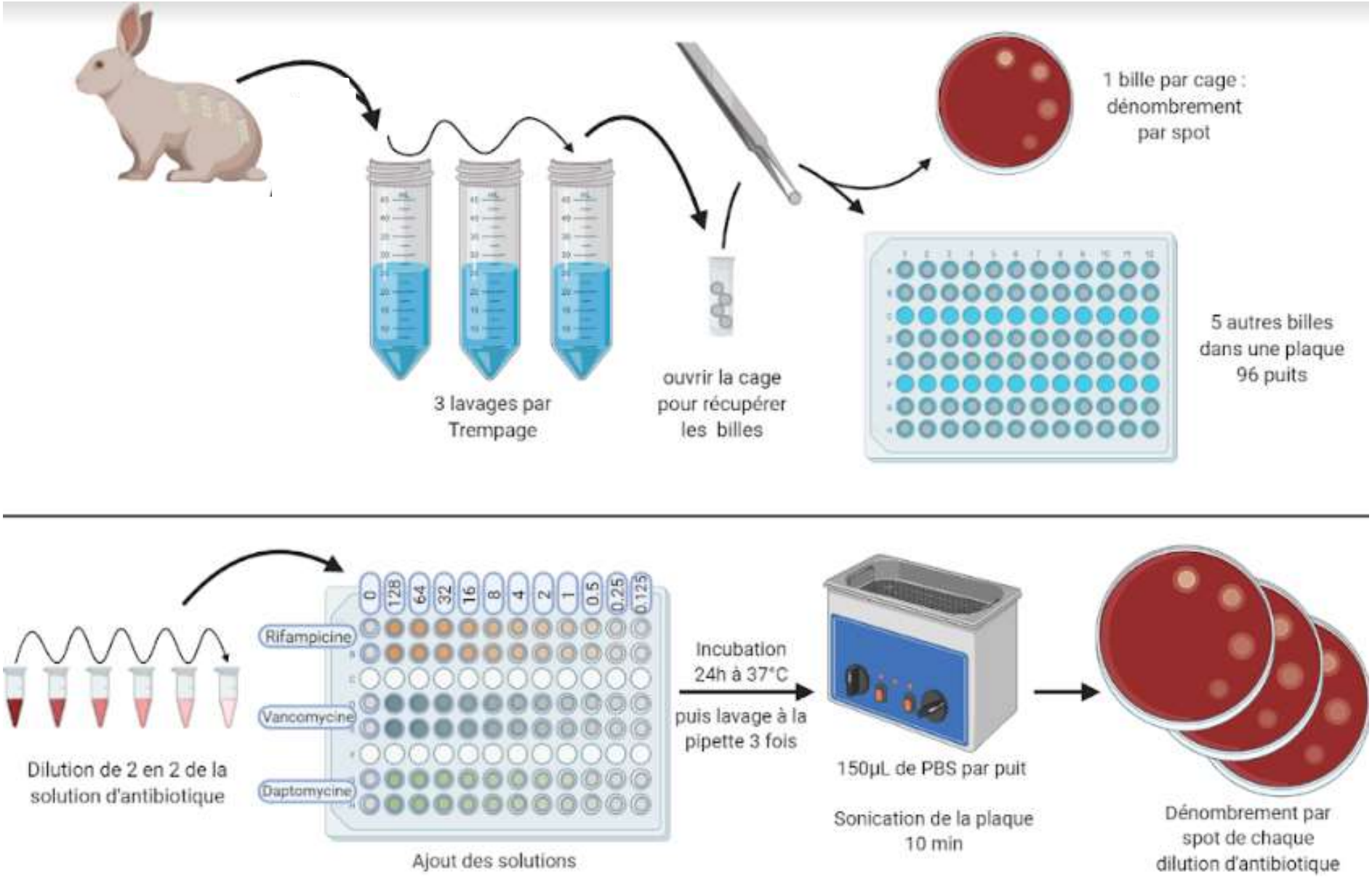


Autre utilisation : raffiner les modèles *in vitro*

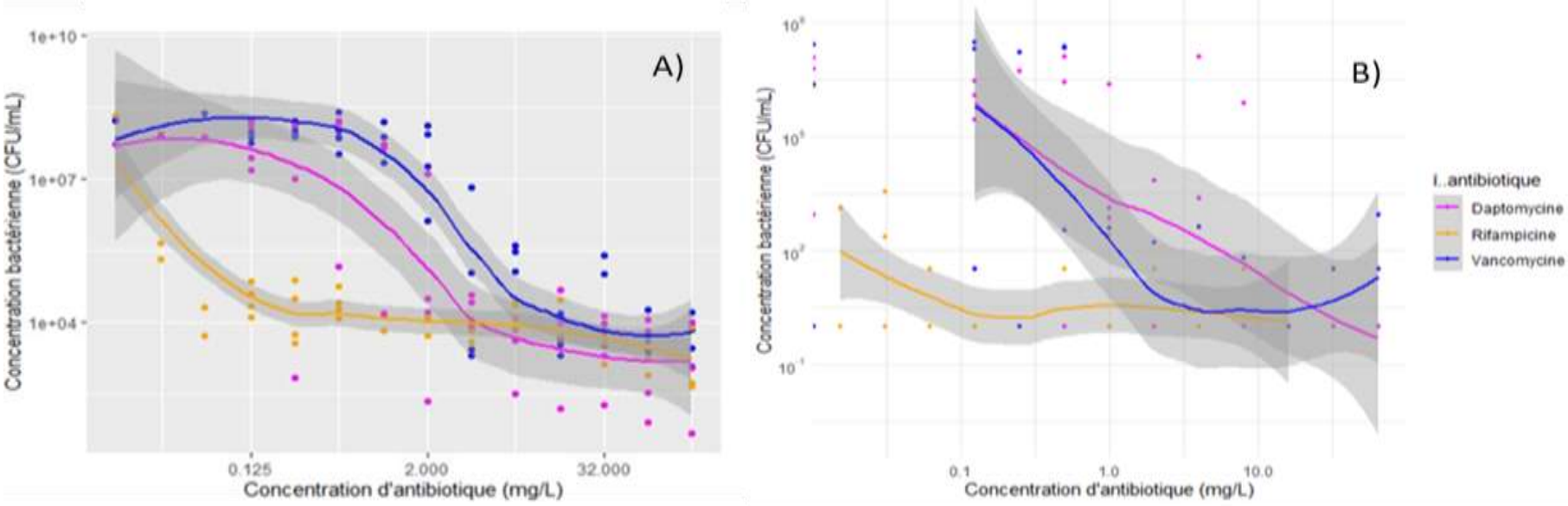


Autre utilisation : raffiner les modèles *in vitro*

Autre utilisation : raffiner les modèles *in vitro*



Autre utilisation : raffiner les modèles *in vitro*



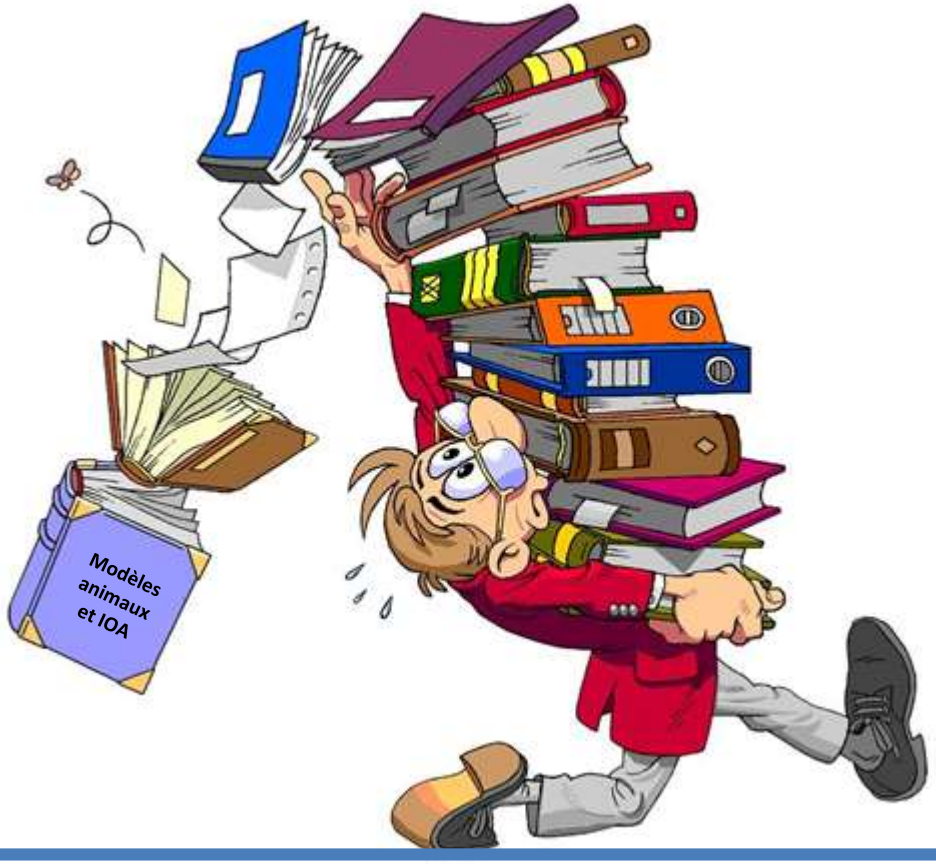
MBEC (mg/L)	Billes *ex vivo*	Billes *in vitro*	MBEC assay®
Vancomycine	**1**	13,3	4,5
Daptomycine	**1,5**	4,0	3,3
Rifampicine	**< 0,016**	0,3	0,06

Autre utilisation : raffiner les modèles *in vitro*

Modèle lapin permettant :

i) de **screener *ex vivo*** un large panel de conditions (souches, molécules) contre du **biofilm formé *in vivo*** en permettant une comparaison objective (MBEC) entre molécules

ii) d'envisager l'évaluation de différentes stratégies de traitement local



Take-home messages

Synthèse

MODELES ANIMAUX INDISPENSABLE

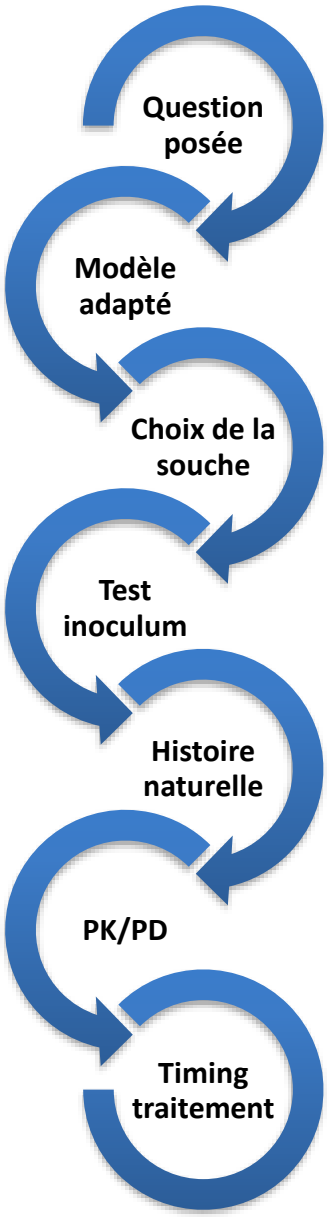
- Physiopathologie
- Évaluations thérapeutiques

CONNAÎTRE LES DIFFICULTES +++

- Interprétation des données existantes
- Feuille de route pour la construction d'un modèle

ETHIQUE

- Règle des 3 R
- Formation des expérimentateurs
  - Modèle lui-même
  - Scientifique +++++++++++++
  - Ethique +++++++++++++++++
- Evaluation systématique des protocoles



Pour en savoir plus …

CURRENT CONCEPTS REVIEW

Developing a Clinically Representative Model of Periprosthetic Joint Infection

Alberto V. Carli, MD, MSc, FRCSC, F. Patrick Ross, PhD, Samrath J. Bhimani, BS, Scott R. Nodzo, MD, and Mathias P.G. Bostrom, MD

J Bone Joint Surg 2016

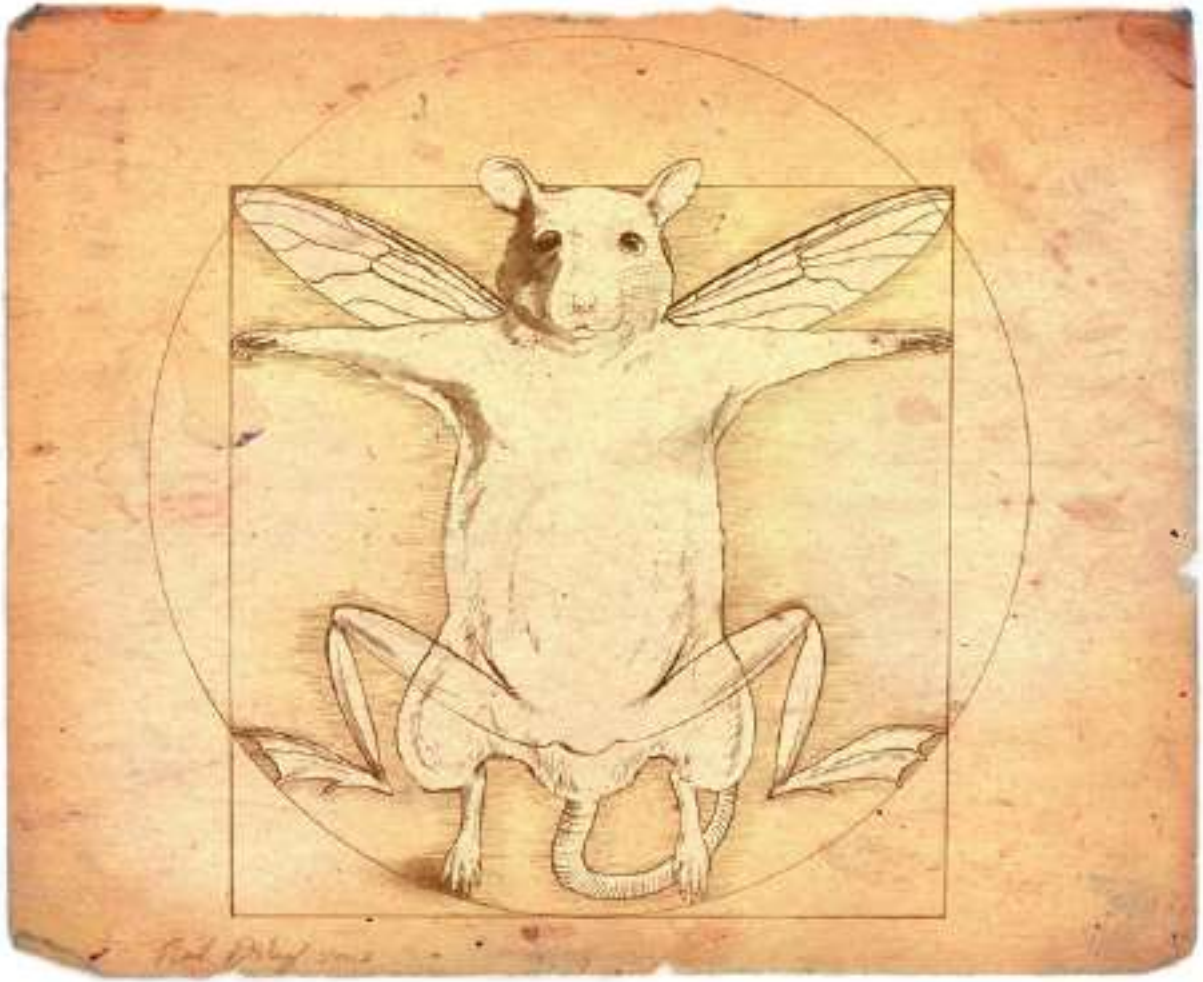
A systematic review of animal models for *Staphylococcus aureus* osteomyelitis

W. Reizner, J.G. Hunter, N.T. O'Malley, R.D. Southgate, E.M. Schwarz, and S.L. Kates*
Department of Orthopaedics and Rehabilitation, University of Rochester Medical Center, Rochester, NY 14642, USA

Eur Cell Mater 2015

Model systems: Modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse

Andrej Tarkowski, L.Vincent Collins, Inger Gjertsson, Olof H. Hultgren, Ing-Marie Jonsson, Egidija Sakiniene and Margareta Verdrengh



There's more to life than rats and flies