



เกณฑ์ปรับปรุงใหม่ในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวกับกระดูกหัก

เสริมศักดิ์ สุขพานิชยั้งยง¹, สุรชัย แซ่จิ่ง²

¹กลุ่มงานออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น

²ภาควิชาออร์โธปิดิกส์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Updated Criteria for Diagnosing Fracture-Related Infection

Sermsak Sukpanichyingyong¹, Surachai Sae-Jung²

¹Department of Orthopaedics, Khon Kaen Hospital

²Department of Orthopaedics, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Received: 1 October 2021/Edit: 11 November 2021/Accepted: 20 December 2021

บทคัดย่อ

การติดเชื้อที่เกี่ยวกับกระดูกหัก (fracture-related infection) เป็นภาวะแทรกซ้อนรุนแรงที่พบได้ภายหลังกระดูกหักโดยเฉพาะกระดูกหักแบบเปิด (open fracture) การวินิจฉัยภาวะดังกล่าวเป็นสิ่งสำคัญและท้าทาย หากแพทย์ทำการวินิจฉัยถูกต้องและรวดเร็วจะสามารถเพิ่มความสำเร็จในการรักษา ป้องกันสภาพการที่เสี่ยงต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย เช่น กระดูกไม่ติดหรือการตัดขา ตลอดจนลดค่าใช้จ่ายในการรักษาได้ อย่างไรก็ตามเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวกับกระดูกหักยังคงมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนอย่างจำกัดจุดประสงค์ของบทความนี้เพื่อสรุปหลักฐานและคำแนะนำสำหรับใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวกับกระดูกหัก

คำสำคัญ: การติดเชื้อที่เกี่ยวกับกระดูกหัก, เกณฑ์การวินิจฉัย, คำนิยาม, การติดเชื้อ, กระดูกหัก

Abstract

Fracture-related infection (FRI) is a severe complication after fracture especially open fracture and can pose an important diagnostic challenge. Accurate and rapid diagnosis of FRI is critical issue for increasing clinical outcomes, preventing risks to patients' quality of life such as nonunion or amputation, and decreasing in healthcare costs. However, there is a limited amount of scientific evidence regarding diagnostic criteria for FRI. The purpose of this article was to summarize the available evidence and provide recommendations for the diagnosis of FRI.

Keywords: fracture-related infection, criteria, definition, infection, fracture

บทนำ

ปัจจุบันมีหลักฐานเชิงประจักษ์น้อยมากที่จะให้คำนิยามหรือเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกิดขึ้นหลังกระดูกหักและมักไม่เป็นไปตามมาตรฐานเดียวกัน¹⁻³ ส่งผลให้การวินิจฉัยเพื่อกำหนดแนวทางการรักษามีความแตกต่างกันในแต่ละแห่ง อีกทั้งการนำข้อมูลในแต่ละงานวิจัยมาสรุปเปรียบเทียบกันด้วยการวิเคราะห์อภิมาน (meta-analysis) ก็สามารถทำได้ยากเนื่องจากใช้เกณฑ์คัดเข้า (inclusive criteria) ต่างกัน ด้วยเหตุนี้ทางกลุ่มผู้เชี่ยวชาญและแพทย์เฉพาะทางหลายสาขา ภายใต้การสนับสนุนของ AO foundation ตลอดจนสมาคมการติดเชื้อกระดูกและข้อต่อแห่งยุโรป (European Bone and Joint Infection Society; EBJIS) ได้ร่วมกันเสนอเกณฑ์มาตรฐานเพื่อปรับปรุงการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหัก เพื่อเป็นแนวทางให้แพทย์ใช้ในการประเมินการรักษาและใช้สำหรับการศึกษาวินิจฉัยในอนาคตซึ่งทำให้สามารถเปรียบเทียบและอ้างอิงผลการศึกษาโดยใช้เกณฑ์มาตรฐานเดียวกันได้

ความเป็นมาของการปรับปรุงเกณฑ์การวินิจฉัย

การปรับปรุงเกณฑ์การวินิจฉัยเกิดจากการประชุมร่วมกันของสมาชิกใน 2 องค์กร ได้แก่ AO foundation และสมาคมติดเชื้อกระดูกและข้อต่อแห่งยุโรป ในการประชุมครั้งที่ 1 จัดขึ้นในเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 2016 ณ เมืองดาวอส ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ มีการสำรวจความคิดเห็นของสมาชิกของสมาคมและอภิปรายร่วมกัน ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องและลงมติเอกฉันท์ ทั้งหมด 3 ระยะ โดยใช้หลักของโมดิฟายด์เดลฟาย* (modified Delphi process) ใน 4 ประเด็น ดังนี้ การจำแนกการติดเชื้อ ตำแหน่งการติดเชื้อ นิยามศัพท์ และการวินิจฉัยโรค อย่างไรก็ตามในการประชุมครั้งที่ 2 มีองค์กร Orthopaedic Trauma Association และ PRO-Implant foundation เข้าร่วมและให้ข้อสรุปที่เห็นพ้องต้องกันในการวินิจฉัย FRI และถูกตีพิมพ์บทความดังกล่าวในปี ค.ศ. 2020⁵ โดยการวินิจฉัยมีลำดับกระบวนการที่หลากหลาย เนื่องจากจากการขาดแคลนหลักฐานทางการแพทย์ในการให้คำนิยาม ดังนั้นบางเกณฑ์การวินิจฉัยที่รวมเข้ามามีอยู่ภายใต้ความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ

หมายเหตุ *การวิจัยด้วยเทคนิคเดลฟายเป็นวิธีการรวบรวมความรู้ของผู้เชี่ยวชาญ เพื่อมุ่งศึกษาและวิเคราะห์องค์

ความรู้ที่ยังไม่มีคำตอบแน่ชัด โดยการรวบรวมและกลั่นกรองความรู้จากผู้เชี่ยวชาญในสาขานั้นๆ ทั้งนี้จะต้องมีการเปิดโอกาสให้ผู้เชี่ยวชาญได้ใคร่ครวญความคิดเห็น โดยการให้ข้อมูลย้อนกลับไปยังกลุ่มผู้เชี่ยวชาญเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลในรอบถัดไป องค์ความรู้ใหม่ที่รับจะเกิดจากการพิจารณาตัดสินคัดกรองโดยเสียงข้างมาก⁶

เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหัก สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม^{4,5} (ตารางที่ 1)

1. เกณฑ์ที่ยืนยันว่าเป็นจริง (confirmatory criteria)

มีอาการแสดงหรือสิ่งที่ตรวจพบอย่างน้อย 1 ข้อ

1.1 อาการและอาการแสดงทางคลินิกที่พบ ได้แก่ มีรูเปิดหนองและมีแผลฉีกขาดเองโดยลึกถึงระดับกระดูกและสิ่งปลูกฝังเทียมหรือมีหนองไหลออกจากรอยแผลผ่าตัดหรือพบหนองระหว่างการผ่าตัด

1.2 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบเชื้อก่อโรคจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ อย่างน้อย 2 ตำแหน่ง ที่เป็นเชื้อชนิดเดียวกัน ในเนื้อเยื่อชั้นพังผืดและกล้ามเนื้อหรือสิ่งปลูกฝังเทียม (รวมถึงของเหลวจากสิ่งปลูกฝังเทียมที่ผ่านการล้างสะอาดด้วยคลีนอัลตราโซนิค) ซึ่งเก็บด้วยวิธีปราศจากเชื้อระหว่างทำการผ่าตัดจากสิ่งส่งตรวจอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง อนึ่งพบเชื้อจุลชีพในกล้องจุลทรรศน์จากการตรวจด้วยวิธีย้อมพิเศษทางจุลพยาธิวิทยาหรือในระหว่างการติดเชื้อแบบเรื้อรังจะพบเม็ดเลือดขาวชนิดโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์นิวโทรฟิล (polymorphonuclear neutrophils; PMN) มากกว่า 5 เซลล์ต่อพื้นที่เลนส์วัตถุกำลังขยายสูง 400 เท่า

2. เกณฑ์ที่บอกเป็นนัย (suggestive criteria) มีอาการแสดงหรือสิ่งที่ตรวจพบอย่างน้อย 1 ข้อ

2.1 อาการและอาการแสดงทางคลินิก ได้แก่ ปวดขณะไม่ได้ลงน้ำหนักและปวดเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป หรือเกิดปวดขึ้นมาใหม่ บริเวณแผลมีลักษณะร้อน บวมและแดงขึ้น มีไข้มากกว่าหรือเท่ากับ 38.3 องศาเซลเซียส (วัดใช้ทางช่องปาก) พบอุบัติใหม่หรือเพิ่มขึ้นของเหลวในข้อ (new-onset joint effusion) พบการมีอยู่เพิ่มขึ้นหรือเกิดใหม่ของแผลที่มีของเหลวไหล มากกว่า 2-3 วันแรกหลังการผ่าตัดโดยไม่ทราบสาเหตุ

2.2 การตรวจทางภาพถ่ายรังสีและการตรวจวินิจฉัยทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์พบการละลายตัวของกระดูก (bone lysis) รอบบริเวณกระดูกหักหรือสิ่งปลูกฝังเทียม สิ่งปลูกฝังเทียมหลวม (implant loosening) เกิดขึ้นกระดูกตาย (sequestration) ไม่มีกระบวนการสร้างกระดูก เช่น กระดูกไม่ติด พบการสร้างกระดูกบริเวณรอบๆ มากกว่าตำแหน่งกระดูกหัก ในขณะที่พบผลบวกในการส่งตรวจเม็ดเลือดขาวทางเทคนิคเวชศาสตร์นิวเคลียร์ชนิด (white blood cell scintigraphy) หรือ fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET)

2.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบเชื้อก่อโรคจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง ในเนื้อเยื่อชั้นพังผืดและกล้ามเนื้อหรือสิ่งปลูกฝังเทียม ซึ่งเก็บด้วยวิธีปราศจากเชื้อระหว่างทำการผ่าตัด จากสิ่งส่งตรวจอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง หรือมีการเพิ่มขึ้นของตัวชี้วัดสารอักเสบในเซรัม เช่น erythrocyte sedimentation rate (ESR), white blood cell count (WBC) และ C-reactive protein (CRP)

ตารางที่ 1 ตารางแสดงการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหัก^{4-5, 7}

เกณฑ์ที่ยืนยันว่าเป็นจริง	เกณฑ์ที่บอกเป็นนัย
<p>อาการแสดงทางคลินิก</p> <ul style="list-style-type: none"> มีรูเปิดหนอง มีแผลผ่าตัดลักษณะเฉพาะ โดยลึกถึงระดับกระดูกและสิ่งปลูกฝังเทียม มีหนองไหลออกจากรอยแผลผ่าตัดหรือพบหนองระหว่างการผ่าตัด 	<p>อาการแสดงทางคลินิก</p> <ul style="list-style-type: none"> ปวด บวม แดงและร้อน บริเวณแผล มีไข้ $\geq 38.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ พบของเหลวในข้อ พบการมีอยู่เพิ่มขึ้นหรือเกิดใหม่ของแผลที่มีของเหลวไหล
<p>ด้านจุลชีววิทยา</p> <ul style="list-style-type: none"> เพาะพบเชื้อก่อโรคอย่างน้อย 2 ตำแหน่งที่เป็นเชื้อชนิดเดียวกันในเนื้อเยื่อชั้นพังผืดและกล้ามเนื้อหรือสิ่งปลูกฝังเทียม 	<p>ด้านจุลชีววิทยา</p> <ul style="list-style-type: none"> เพาะพบเชื้อก่อโรคอย่างน้อย 1 ตำแหน่งที่เป็นเชื้อชนิดเดียวกันในเนื้อเยื่อชั้นพังผืดและกล้ามเนื้อหรือสิ่งปลูกฝังเทียม
<p>ด้านจุลพยาธิวิทยา</p> <ul style="list-style-type: none"> พบเชื้อจุลชีพจากการตรวจด้วยวิธีย้อมพิเศษ การตรวจพบ PMNs ≥ 5 เซลล์ต่อ HPF กำลังขยาย 400 เท่า* ในระยะการติดเชื้อเรื้อรัง 	<p>ด้านพยาธิเคมีคลินิก</p> <ul style="list-style-type: none"> ตัวชี้วัดสารอักเสบในซีรัมเพิ่มขึ้น เช่น ESR, WBC, CRP ภาพถ่ายรังสีและเวชศาสตร์นิวเคลียร์ มีการเปลี่ยนแปลง

ESR, erythrocyte sedimentation rate; WBC, white blood cell count; CRP, C-reactive protein; PMNs, polymorphonuclear neutrophils; HPF, high-power field. *เกณฑ์ปรับปรุงใหม่ที่ถูกรวบรวมเพิ่มเติมในปี ค.ศ. 2020

ประเด็นที่ต้องพิจารณาและอภิปรายเพิ่มเติม ดังนี้

การจำแนกการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหัก จากการทบทวนวรรณกรรมการจำแนกประเภทการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหักนิยมใช้ช่วงเวลาที่เกิดการติดเชื้อเป็นตัวแบ่ง ซึ่งมีได้หลายรูปแบบ เช่น การติดเชื้อฉับพลัน (acute infection) การติดเชื้อเรื้อรัง (chronic infection) ซึ่งกำหนดระยะเวลาการติดเชื้อที่เกิดขึ้นน้อยกว่าและมากกว่า 6 สัปดาห์ ตามลำดับ หรือการติดเชื้อระยะแรก (early infection) ระยะต่อมา (delayed infection) ระยะหลัง (late onset infection) ใช้จุดเวลาที่น้อยกว่า 2 สัปดาห์ ระหว่าง 2-10 สัปดาห์และมากกว่า 10 สัปดาห์ ตามลำดับ⁸⁻¹¹ ปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานยืนยันว่าระบบการจำแนกระบบไหนดีกว่า แต่ประเด็นสำคัญคือทั้ง 2 ระบบใช้หลักการแบ่งตามช่วงเวลาการเจริญเติบโตเต็มที่ของชุมชนเชื้อจุลชีพ (biofilm maturation) อย่างไรก็ตามในที่ประชุม AO มีมติเป็นเอกฉันท์ว่าจะไม่แบ่งจำแนกการติดเชื้อตามผลการศึกษาก่อนและให้ใช้นิยามการติดเชื้อรวมเป็นกลุ่มเดียวกันด้วยเหตุผลหลัก 2 ประการคือ (1) การแบ่งกลุ่มย่อยทำให้เกิดความซับซ้อนและยากต่อการนำไปใช้ในทางปฏิบัติจริง (2) การแบ่งกลุ่มมักใช้ลำดับเวลาเป็นตัวกำหนดซึ่งยังไม่มีหลักฐานเชิงประจักษ์หรือการศึกษาใดสนับสนุนขอบเขตเวลาที่เคยกำหนดกันแต่เดิมมา อย่างไรก็ตามทางกลุ่มก็มีความเห็นพ้องกันว่าควรให้การรักษาริดเชื้อแบบชนิดเฉียบพลันกับเรื้อรังมีความแตกต่างกัน ซึ่งในการประชุมครั้งต่อไปจะกล่าวถึงหัวข้อนี้เพิ่มเติม

ตำแหน่งการติดเชื้อ การแบ่งตำแหน่งการติดเชื้อของแผลผ่าตัดของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคของสหรัฐอเมริกา (Centers for Diseases Control and Prevention: CDC)¹²⁻¹⁴ ได้กำหนดเกณฑ์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่ตำแหน่งผ่าตัด (surgical site infection; SSI) แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ (1) การติดเชื้อที่ชั้นตื้น (superficial incisional infection) (2) การติดเชื้อที่ชั้นลึก (deep incisional infection) (3) การติดเชื้อที่อวัยวะหรือโพรงของร่างกาย (organ/ space infection) ตรงกันข้ามกันในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหัก คณะทำงานมีมติไม่แบ่งตำแหน่งการติดเชื้อดังกล่าวข้างต้น เนื่องจากเหตุผล 2 ประการ ดังนี้ ประการแรกจากงานวิจัยปัจจุบันทำให้เราทราบว่าการเก็บสิ่งส่งตรวจจากได้ผิวหนึ่งชั้นตื้นด้วยสำลีพันปลายไม้จะไม่ถูกยอมรับอีกต่อไป¹⁵ เพราะการเก็บสิ่งส่งตรวจที่ดีที่สุดคือเก็บจากชั้นเนื้อเยื่อชั้นพังผืดและกล้ามเนื้อในระหว่างการผ่าตัดแบบเปิดเข้าไปถึงกระดูกหรือสิ่งปลูกฝังเทียม ดังนั้นผลบวกจากการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจะสามารถ แปลผลได้ว่าเกิดการติดเชื้อที่ชั้นกล้ามเนื้อและพังผืดเท่านั้น การนับที่ประชุมจึงไม่เห็นความสำคัญของการแบ่งชนิดการติดเชื้อที่ชั้นตื้น ประการที่ 2 การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหักไม่เหมือนการติดเชื้อบริเวณโดยรอบข้อเทียม (periprosthetic joint infection; PJI) เพราะกระดูกหักเกิดขึ้นได้หลายตำแหน่ง มีรูปแบบการหักและความรุนแรงต่อเนื้อเยื่อที่หลากหลาย ดังนั้นการแบ่งตามตำแหน่งก็ไม่มีความสัมพันธ์กับการวินิจฉัยการติดเชื้อ อีกทั้งยังเพิ่มความยุ่งยากซับซ้อนต่อการนำไปใช้งาน ในทางคลินิกการจำแนกเกณฑ์ 2 แบบข้างต้นเพียงพอที่จะกระตุ้นเตือนแพทย์ถึงความจำเป็นที่ต้องให้การรักษาริดเชื้อหลังจากกระดูกหักและหากเข้าเกณฑ์ที่บอกโดยนัยว่ามีการติดเชื้อ แพทย์จะได้ทำการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมอย่างเร่งด่วน เช่น เมื่อพบการมีอยู่เพิ่มขึ้นหรือเกิดใหม่ของแผลที่มีของเหลวไหล แพทย์ควรตัดสินใจนำเนื้อเยื่อที่ตาย (devitalized tissue) หรือเนื้อตาย (necrotic tissue) หรือเนื้อพังผืดมีสี (slough) ออกจากบาดแผลเปิดหรือบาดแผลติดเชื้อและเก็บตัวอย่างส่งตรวจเพื่อหาเชื้อก่อโรค ความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อจุลชีพซึ่งใช้ในการเลือกการรักษาต่อไป

นิยามศัพท์ ที่ผ่านมามีคำศัพท์ที่ใช้เรียกการติดเชื้อภายหลังกระดูกหัก เช่น infection after fracture fixation, implant-associated infection, orthopedic device-related infection, osteosynthesis-associated infection, deep surgical site infection, internal fixation-associated infection, post-operative osteomyelitis, fracture-related infection, posttraumatic osteomyelitis และ osteitis อนึ่งมักมีความใกล้เคียงกันระหว่าง osteomyelitis และ osteitis โดยที่ประเทศอังกฤษมักเรียกการติดเชื้อที่กระดูกว่า osteomyelitis¹⁶ ในขณะที่ประเทศอื่นๆ การติดเชื้อภายหลังกระดูกหัก ใช้คำว่า osteitis อย่างไรก็ตามความแตกต่างของสองคำนี้มาจากทิศทางที่เริ่มการติดเชื้อมาถึงกระดูก โดยที่ osteitis เป็นการติดเชื้อในกระดูกที่เริ่มจากกระดูกส่วนเปลือกนอก (cortex bone) มักเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียส่วน osteomyelitis การติดเชื้อเริ่มจากไขกระดูก (marrow bone) แล้วจึงเริ่มขยายไปที่กระดูกส่วนเปลือกนอกและเยื่อหุ้มกระดูก¹⁷ ในทางคลินิกและการตรวจเพิ่มเติมจะพบว่า 2 โรคนี้มีความคล้ายกันและยากที่จะวินิจฉัยแยกโรค ในที่ประชุม AO กล่าวว่าการให้คำนิยามดังกล่าวเฉกเช่น 2 โรคนี้ไม่มีความสำคัญ

เกณฑ์ที่บอกเป็นนัยสำหรับการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกระดูกหัก

เนื่องจากอาการแสดงทางคลินิก เช่น ปวด บวม แดง ร้อน ที่บ่งบอกการติดเชื้อนั้นจะค่อนข้างแยกจากขบวนการหายปกติของกระดูกหัก หลังการผ่าตัดช่วงแรกเพราะมีลักษณะร่วมที่เหมือนกัน ต่อมาอาการปวดที่ต่อเนื่องและกระดูกยังไม่ติด (nonunion) ก็สามารถพบได้ทั้งภาวะติดเชื้อ (septic nonunion) และไม่ติดเชื้อ (aseptic nonunion) ดังนั้น ดังนั้นอาการข้างต้นจึงจัดเป็นเกณฑ์ที่บอกเป็นนัย ลักษณะเดียวกับการเพิ่มขึ้นของตัวชี้วัดสารอักเสบในเซรัมที่นิยมใช้ในการผ่าตัดศัลยกรรมกระดูก ได้แก่ ESR WBC และ CRP โดยที่ leukocyte count (LC) แพทย์มักใช้ตรวจหาการติดเชื้อหลังผ่าตัด โดยจะพบปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามค่าที่สูงขึ้นกว่าปกตินี้เกิดจากเซลล์ถูกทำลายซึ่งก็ยังมีกรณีอื่นๆ นอกจากการติดเชื้อ เช่น การมีแผลฉีกขาดจากการผ่าตัด การอักเสบโดยทั่วไป มะเร็ง^{18,19} เช่นเดียวกับระดับของ CRP ที่เพิ่มขึ้นมาจากสิ่งเร้าต่างๆ เช่น การติดเชื้อ การถูกทำลายของเนื้อเยื่อ ภูมิแพ้²⁰ ด้วยเหตุนี้ตัวชี้วัดสารอักเสบที่เพิ่มขึ้นจะไม่สามารถใช้เพื่อยืนยันว่าเกิดจากภาวะการติดเชื้อ จึงจัดอยู่ในเกณฑ์ที่บอกเป็นนัย

ตารางที่ 2 แสดงช่วงเวลาเพิ่มขึ้นและคืนสู่ภาวะปกติของตัวชี้วัดสารอักเสบในภาวะต่างๆ

ตัวชี้วัดสารอักเสบ	หัตถการ	ค่าสูงสุด (เวลา)	ค่าปกติ (เวลา)
Leukocyte count (LC) ²¹	ผ่าตัดกระดูก ไขสันหลัง	1-3 วัน	4-6 วัน
C-reactive protein (CRP) ²²	กระดูกหัก	1-2 วัน	2 สัปดาห์
Erythrocyte sedimentation rate (ESR) ²³	ผ่าตัดกระดูก ไขสันหลัง	7-11 วัน	6 สัปดาห์

ภาพถ่ายรังสีและเวชศาสตร์นิวเคลียร์ (medical imaging)

ข้อบ่งชี้ในการส่งตรวจการวินิจฉัยด้วยภาพ (diagnostic imaging) มี 3 ข้อ ดังนี้ 1) เพื่อยืนยันการเกิดหรือไม่เกิด FRI 2) เพื่อประเมินรายละเอียดและขอบเขตทางกายวิภาคของโรคเพื่อการวางแผนการผ่าตัด 3) เพื่อประเมินระดับการติดของกระดูกและความมั่นคงของเหล็กตาม อนึ่งภาพถ่ายรังสี plain film เป็นเครื่องมือแรกๆที่ควรส่งตรวจเมื่อสงสัย FRI แม้จะให้ความไวและความจำเพาะที่ไม่ดี แต่เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่มีทั่วไป รวดเร็ว และราคาถูก สามารถให้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับตำแหน่งกระดูกหัก การติดของกระดูกและความมั่นคงของเหล็กตาม ส่วนการส่งเอกซเรย์คอมพิวเตอร์จะให้ข้อมูลเพิ่มเติมในเรื่องของกระดูกตาย (bony sequestrum) และช่องว่างในกระดูก (bone cavity) ในขณะที่ CT scan ให้ความไวและความจำเพาะเพียงร้อยละ 47 และ 60²⁴ การตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic imaging resonance; MRI) ประเมินพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออ่อน แยกความแตกต่างระหว่างการเปลี่ยนแปลงจากการติดเชื้อ การอักเสบและการหายของเนื้อเยื่อตามปกติได้ยาก และการกระจายของรังสีจากโลหะอาจทำให้รายละเอียดภาพถ่ายไม่ชัดเจน ซึ่ง MRI

ให้ความไวและความจำเพาะร้อยละ 82-100 และ 43-60^{24,25} ส่วนภาพถ่ายทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ (nuclear imaging) คือ bone scan (BS) มีความไวค่อนข้างสูง (ร้อยละ 89-100) แต่ให้ความจำเพาะที่ต่ำมาก (ร้อยละ 0-10) จึงไม่แนะนำให้ส่งตรวจเพื่อวินิจฉัย FRI^{26,27} ตรงกันข้ามกับการส่งตรวจ WBC scintigraphy โดยเฉพาะส่งร่วมกับ single photon emission CT (SPECT) ให้ความไวและความจำเพาะสูงที่ ร้อยละ 79-100 และ 89-97^{28,29} ซึ่งข้อดีของ WBC scintigraphy คือมีความแม่นยำ แม้การส่งตรวจจะทำภายหลังการผ่าตัดไม่นานแต่ข้อเสียคือขั้นตอนการตรวจที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน ในขณะที่ fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่อาจมีความแม่นยำน้อยกว่า WBC scintigraphy เล็กน้อย แต่ข้อได้เปรียบที่สำคัญคือความละเอียดเชิงพื้นที่ที่สูงขึ้นและใช้การสแกนเพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตามการส่งตรวจ FDG-PET ไม่สามารถส่งภายหลังการผ่าตัดภายใน 1 เดือนได้ และให้ความไวและความจำเพาะอยู่ที่ร้อยละ 65-94 และ 76-100 ตามลำดับ^{30,31}

เกณฑ์การวินิจฉัยด้านจุลชีววิทยา (microbiology)

การเก็บส่งตรวจถูกแนะนำให้เก็บ 5 ตำแหน่งหรือมากกว่าจากเนื้อเยื่อพังผืดและกล้ามเนื้อหรือบริเวณสิ่งปลูกฝังเทียมด้วยเครื่องมือและบรรจุภัณฑ์แต่ละตำแหน่งที่แยกออกจากกันและไม่ควรรวมเข้าด้วยกัน (no pooling of specimens) การเก็บตัวอย่างส่งตรวจเพื่อวินิจฉัย FRI ได้ปรับปรุงวิธีเก็บมาจากมาตรฐานการเก็บตัวอย่างจาก PJI³² โดยควรงดใช้ยาปฏิชีวนะก่อนผ่าตัดและเก็บส่งตรวจอย่างน้อย 2 สัปดาห์ มีรายงานพบว่าแม้ให้ยาปฏิชีวนะไปเพียง 1 โดสก่อนผ่าตัดก็มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพในการเลี้ยงระดับห้องปฏิบัติการ³³ ผลการเพาะเชื้อที่เป็นบวกลวงหรือลบลวงนั้นมีผลต่อการตัดสินใจในการรักษา ฉะนั้นการให้ยาปฏิชีวนะควรให้ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างเสร็จในกรณีที่สูงสงสัย FRI และหลีกเลี่ยงการเก็บคือบริเวณผิวหนัง ชั้นใต้ผิวหนังหรือบริเวณทางเปิดของรูไชนัส³⁴ อีกทั้งเทคนิค swab ก็ไม่ควรถูกใช้เพราะให้ค่าความแม่นยำต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเก็บตัวอย่างจากชิ้นเนื้อ³⁵ เทคนิคการเจาะชิ้นเนื้อด้วยเข็มถึงแม้ว่าจะมีความสำคัญในการตรวจหาการติดเชื้อทางคลินิกในกระดูกเด็ก เช่น โรค osteomyelitis และ vertebral osteomyelitis^{36,37} แต่ยังไม่ปรากฏว่ามีประโยชน์ในงาน FRI เพราะหลักในการรักษา FRI คือต้องผ่าตัดเปิดเข้าไปทำความสะอาดแผลติดเชื้อ หากเพียงแค่อุดชิ้นเนื้อมาจะทำให้ขาดขบวนการรักษานี้ไป โดยตามรายงานยังไม่พบผลสำเร็จของการเก็บส่งตรวจด้วยเทคนิคนี้กับ FRI สอดคล้องกันกับสิ่งส่งตรวจจากเลือดควรจะเก็บในกรณีที่ผู้ป่วยมีไข้มากกว่า 38.3 องศาเซลเซียส เพราะกรณี FRI แบบเรื้อรังพบภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดน้อยมาก การตรวจเลือดจึงเกิดประโยชน์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเก็บตัวอย่างจากชิ้นเนื้อ

กระบวนการทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาควรพิจารณาวิธีที่เหมาะสม (optimization) และต้องการการศึกษาเพิ่มเติมใน 4 ประเด็น ดังนี้ 1) การเก็บชิ้นเนื้อ 2) การเก็บเชื้อในรูปแบบไปโอฟิล์ม มีรายงานการใช้เครื่องเขย่าสารสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกแบคทีเรียให้อยู่ในภาวะอิสระ (planktonic stage) มากขึ้น^{38,39} สอดคล้องกับการใช้วิธีแยกเชื้อจากไปโอฟิล์มด้วยวิธีการสั่นสะเทือนด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่เก็บจากสิ่งปลูกฝังเทียม (sonicate fluid) พบรายงานว่าให้ผลที่ดีกว่าการเก็บจากชิ้นเนื้อในการวินิจฉัย PJI⁴⁰

แต่ตรงกันข้ามกับการวินิจฉัย FRI ที่มีการศึกษาพบว่า การเก็บจากชิ้นเนื้อให้ผลความไว (sensitivity) มากกว่า^{41, 3} อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นขวดเลือด⁴² ใช้ในกรณีที่มีเชื้อจุลชีพมีจำนวนน้อยและเพาะเลี้ยงยากโดยเชื้อทั่วไปมักพบการเจริญเติบโตที่ 3-5 วัน ส่วนเชื้อจุลชีพที่มีการเจริญเติบโตช้า อาจพิจารณาเลี้ยงนานถึง 14 วัน 4) เทคนิคการระบุชนิดของเชื้อและความไวต่อยาปฏิชีวนะ โดยเชื้อที่พบบ่อย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Coagulase-negative staphylococci (CoNS)*, *Enterobacteriaceae*, *anaerobes* และ *Streptococci* ตามลำดับ กระนั้นหากเปลี่ยนแปลงบ้างปัจจัยลำดับหรือชนิดเชื้อก่อโรคก็เปลี่ยนแปลงไป จากการศึกษาของศูนย์อุบัติเหตุและฉุกเฉิน ระดับที่ 1 ทั้ง 7 ภูมิภาคของทวีปอเมริกา พบว่าแต่ละภูมิภาคมีเชื้อก่อโรคไม่เหมือนกัน อีกทั้งในภูมิภาคเดียวกันยังเปลี่ยนแปลงเชื้อก่อโรคตามฤดูกาลอีกด้วย⁴³

เกณฑ์การวินิจฉัยด้านจุลพยาธิวิทยา (histopathology)

การตรวจพบ PMN มากกว่าหรือเท่ากับ 5 เซลล์/HPF (x400) แสดงการวินิจฉัยเกณฑ์ที่ยืนยันว่าเป็นจริงเนื่องจากมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์สูงในภาวะ aseptic nonunion กับการตรวจไม่พบ PMN (specificity 98%, positive predictive value 98%) ในทางตรงกันข้ามพบการติดเชื้อที่สัมพันธ์กับการตรวจเจอ PMN (specificity 100%; positive predictive value 100%) อีกทั้งหากพิจารณาอาการแสดงทางคลินิกร่วมกับการเพาะเชื้อและผลด้านจุลพยาธิวิทยา พบว่าให้ผลที่แม่นยำในการวินิจฉัยสูงถึง 96.8%⁴⁴ ด้วยเหตุนี้ทางสมาคมจึงพิจารณาเพิ่มเกณฑ์การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาโดยการหา PMN เข้าเกณฑ์ที่ยืนยันว่าเป็นจริงในการประชุมที่จัดขึ้นครั้งที่ 2

เกณฑ์การวินิจฉัยด้านอณูชีววิทยา (molecular diagnostics)

เนื่องจากเชื้อจุลชีพบางชนิดไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการได้ ทำให้รายงานผลการเพาะเชื้อเป็นลบ จากการศึกษากรณี PJI พบอัตราการรายงานผลไม่พบเชื้อถึงร้อยละ 15⁴⁵ ดังนั้น ข้อจำกัดนี้อาจจะเป็นโอกาสให้เทคนิคทางอณูชีววิทยาเข้ามา มีบทบาทในการวินิจฉัยมากขึ้นในอนาคต เพราะเป็นการตรวจสอบระดับยีนหรือดีเอ็นเอของชุมชนเชื้อจุลชีพซึ่งพบในแผลติดเชื้อ อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีคำแนะนำให้ใช้ในการวินิจฉัย FRI ทางคลินิก มีเพียงการศึกษาและค้นคว้าเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อจุลชีพ ซึ่งเครื่องมือทางอณูชีววิทยามีความหลากหลาย เช่น ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบมุ่งเป้า (targeted polymerase chain reaction-targeted PCR), multiplex panels^{46,47} เป็นชุดตรวจที่ตรวจหาส่วนของเชื้อก่อโรค ส่วน targeted metagenomics เป็นการตรวจหาทั้งชุมชนเชื้อจุลชีพในระดับจีโนม และสปีชีส์ (taxonomy) อีกทั้งยังสัมพันธ์ในเชิงความสัมพันธ์ (relative abundance) ได้ ยิ่งไปกว่านั้นเทคนิค shotgun metagenomics นอกจากระบุเชื้อในชุมชนจุลชีพได้แล้วยังมีการตรวจสอบที่ลิกระดับหายาก (antimicrobial resistance genes) หรือยีนก่อโรค (virulence genes) ที่แสดงออกในชุมชนเชื้อจุลชีพได้อีกด้วย โดยสามารถทำได้ทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ปรสิตร และโปรโตซัวในการทดสอบเพียงครั้งเดียว โดยใช้เวลาเพียง 48 ชั่วโมง^{48,49} อนึ่งวิธีนี้มีข้อจำกัดเรื่องค่าใช้จ่ายที่สูงและสิทธิประโยชน์การเบิกจ่าย ซึ่งคาดว่าอนาคตอันใกล้นี้ จะสามารถเข้าถึงเทคโนโลยีได้ในราคาที่ถูกลงตามกฎของมัวร์ (Moore's law)⁵⁰

สรุป

เกณฑ์ปรับปรุงใหม่ในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหักนี้ ผ่านการประชุมและอยู่ภายใต้มติเอกฉันท์ของกลุ่มผู้เชี่ยวชาญในองค์กรที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของกระดูกและข้อ เนื่องจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่จะสนับสนุนการวินิจฉัยมีจำนวนน้อยมาก ที่ประชุมจึงได้แบ่งเกณฑ์การวินิจฉัยออกเป็น 2 แบบคือ เกณฑ์ที่ยืนยันว่าเป็นจริงและเกณฑ์ที่บอกเป็นนัยซึ่งแพทย์สามารถใช้อ้างอิงเป็นเกณฑ์มาตรฐานในการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหักได้ นอกจากนี้จะช่วยแพทย์ตระหนักถึงความเร่งด่วนในการรักษาและยังช่วยให้งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับภาวะดังกล่าวมีเกณฑ์คัดเข้า (inclusion criteria) ที่เหมือนกันเพื่อใช้เปรียบเทียบแต่ละผลการศึกษาที่ทำการศึกษาได้ อีกทั้งสามารถพัฒนางานวิจัยต่อยอดทั้งเรื่องการรักษา การศึกษา ตลอดจนช่วยตรวจทวนเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับกระดูกหักให้ถูกต้องมากขึ้น เป็นผลให้เกิดความสำเร็จในการรักษาและลดภาวะแทรกซ้อนที่อาจจะเกิดขึ้นจากการรักษาด้วย

References

1. Metsemakers WJ, Smeets B, Nijs S, Hoekstra H. Infection after fracture fixation of the tibia: Analysis of healthcare utilization and related costs. *Injury* 2017;48:1204–10.
2. Bezstarosti H, Van Lieshout EMM, Voskamp LW, Kortram K, Obremskey W, McNally MA, et al. Insights into treatment and outcome of fracture-related infection: a systematic literature review. *Arch Orthop Trauma Surg* 2019;139:61–72.
3. Metsemakers WJ, Onsea J, Neutjens E, Steffens E, Schuermans A, McNally M, et al. Prevention of fracture-related infection: a multidisciplinary care package. *Int Orthop* 2017;41:2457–69.
4. Metsemakers WJ, Morgenstern M, McNally MA, Moriarty TF, McFadyen I, Scarborough M, et al. Fracture-related infection: A consensus on definition from an international expert group. *Injury* 2018;49:505–10.
5. Govaert GAM, Kuehl R, Atkins BL, Trampuz A, Morgenstern M, Obremskey WT, et al. Diagnosing Fracture-Related Infection: Current Concepts and Recommendations. *J Orthop Trauma* 2020;34:8–17.
6. Dalkey N. An experimental study of group opinion: The Delphi method. *Futures* 1969 1;1:408–26.
7. Depypere M, Morgenstern M, Kuehl R, Senneville E, Moriarty TF, Obremskey WT, et al. Pathogenesis and management of fracture-related infection. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:572–8.
8. Borens O, Helmy N. Infizierte Osteosynthese. *Chirurg* 2016;87:822–30.

9. Willenegger H, Roth B. Treatment tactics and late results in early infection following osteosynthesis. *Unfallchirurgie* 1986;12:241–6.
10. Metsemakers WJ, Kuehl R, Moriarty TF, Richards RG, Verhofstad MHJ, Borens O, et al. Infection after fracture fixation: Current surgical and microbiological concepts. *Injury* 2018;49:511–22.
11. Kleber C, Schaser KD, Trampuz A. Complication management of infected osteosynthesis: Therapy algorithm for peri-implant infections. *Chirurg* 2015;86:925–34.
12. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13:606–8.
13. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1999;27:97–132; quiz 133–4; discussion 96.
14. Surgical Site Infection | Guidelines | Infection Control | CDC [Internet]. 2019 [cited Sep 21, 2021]. Available from: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/ssi/index.html>
15. Bonneville P, Bonnomet F, Philippe R, Loubignac F, Rubens-Duval B, Talbi A, et al. Early surgical site infection in adult appendicular skeleton trauma surgery: a multicenter prospective series. *Orthop Traumatol Surg Res* 2012;98:684–9.
16. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *N Engl J Med* 1997;336:999–1007.
17. Tiemann AH, Hofmann GO. Principles of the therapy of bone infections in adult extremities. *Strategies Trauma Limb Reconstr* 2009;4:57–64.
18. Teng TS, Ji AL, Ji XY, Li YZ. Neutrophils and Immunity: From Bactericidal Action to Being Conquered. *J Immunol Res* 2017;2017:9671604.
19. Nicolás-Ávila JÁ, Adrover JM, Hidalgo A. Neutrophils in Homeostasis, Immunity, and Cancer. *Immunity* 2017;46:15–28.
20. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol* 2018;9:754.
21. Kraft CN, Krüger T, Westhoff J, Lüring C, Weber O, Wirtz DC, et al. CRP and leukocyte-count after lumbar spine surgery: fusion vs. nucleotomy. *Acta Orthop* 2011;82:489–93.
22. Neumaier M, Scherer MA. C-reactive protein levels for early detection of postoperative infection after fracture surgery in 787 patients. *Acta Orthop* 2008;79:428–32.
23. Kunakomsawat S, Tungsiripat R, Putthiwara D, Piyakulkaew C, Pluemvitayaporn T, Pruttikul P, et al. Postoperative Kinetics of C-Reactive Protein and Erythrocyte Sediment Rate in One-, Two-, and Multilevel Posterior Spinal Decompressions and Instrumentations. *Global Spine J* 2017;7:448–51.
24. Govaert GA, Ijma FF, McNally M, McNally E, Reininga IH, Glaudemans AW. Accuracy of diagnostic imaging modalities for peripheral post-traumatic osteomyelitis - a systematic review of the recent literature. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017;44:1393–407.
25. Kaim A, Ledermann HP, Bongartz G, Messmer P, Müller-Brand J, Steinbrich W. Chronic post-traumatic osteomyelitis of the lower extremity: comparison of magnetic resonance imaging and combined bone scintigraphy/immunoscintigraphy with radiolabelled monoclonal antigranulocyte antibodies. *Skeletal Radiol* 2000;29:378–86.
26. Ballani NS, Al-Huda FA, Khan HA, Al-Mohannadi S, Mahmood H, Al-Enezi F. The value of quantitative uptake of (99m)Tc-MDP and (99m)Tc-HMPAO white blood cells in detecting osteomyelitis in violated peripheral bones. *J Nucl Med Technol* 2007;35:91–5.
27. Meller J, Köster G, Liersch T, Siefker U, Lehmann K, Meyer I, et al. Chronic bacterial osteomyelitis: prospective comparison of (18)F-FDG imaging with a dual-head coincidence camera and (111)In-labelled autologous leucocyte scintigraphy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:53–60.
28. Glaudemans AWJM, de Vries EFJ, Vermeulen LEM, Start RHJA, Dierckx RAJO, Signore A. A large retrospective single-centre study to define the best image acquisition protocols and interpretation criteria for white blood cell scintigraphy with 99mTc-HMPAO-labelled leucocytes in musculoskeletal infections. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013;40:1760–9.
29. Horger M, Eschmann SM, Pfannenbergs C, Storek D, Dammann F, Vonthein R, et al. The value of SPET/CT in chronic osteomyelitis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:1665–73.
30. Lemans JVC, Hobbelink MGG, Ijma FFA, Plate JDJ, van den Kieboom J, Bosch P, et al. The diagnostic accuracy of 18F-FDG PET/CT in diagnosing fracture-related infections. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2019;46:999–1008.
31. Hartmann A, Eid K, Dora C, Trentz O, von Schulthess GK, Stumpe KDM. Diagnostic value of 18F-FDG PET/CT in trauma patients with suspected chronic osteomyelitis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:704–14.

32. Hellebrekers P, Rentenaar RJ, McNally MA, Hietbrink F, Houwert RM, Leenen LPH, et al. Getting it right first time: The importance of a structured tissue sampling protocol for diagnosing fracture-related infections. *Injury* 2019;50:1649–55.
33. Bedenčič K, Kavčič M, Faganeli N, Mihalič R, Mavčič B, Dolenc J, et al. Does Preoperative Antimicrobial Prophylaxis Influence the Diagnostic Potential of Periprosthetic Tissues in Hip or Knee Infections? *Clin Orthop Relat Res* 2016;474:258–64.
34. Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis. *JAMA* 1978;239:2772–5.
35. Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, Parvizi J, Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:3196–203.
36. Schlung JE, Bastrom TP, Roorcroft JH, Newton PO, Mubarak SJ, Upasani VV. Femoral Neck Aspiration Aids in the Diagnosis of Osteomyelitis In Children With Septic Hip. *J Pediatr Orthop* 2018;38:532–6.
37. Pupaibool J, Vasoo S, Erwin PJ, Murad MH, Berbari EF. The utility of image-guided percutaneous needle aspiration biopsy for the diagnosis of spontaneous vertebral osteomyelitis: a systematic review and meta-analysis. *Spine J* 2015;15:122–31.
38. Roux A-L, Sivadon-Tardy V, Bauer T, Lortat-Jacob A, Herrmann J-L, Gaillard J-L, et al. Diagnosis of prosthetic joint infection by beadmill processing of a periprosthetic specimen. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:447–50.
39. Suren C, Harrasser N, Pohlig F, Banke IJ, Lenze U, Lenze F, et al. Prospective Analysis of a Sterile, Semi-automated Tissue Biopsy Homogenization Method in the Diagnosis of Prosthetic Joint Infections. *In Vivo* 2017;31:937–42.
40. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007;357:654–63.
41. Dudareva M, Barrett L, Figtree M, Scarborough M, Watanabe M, Newnham R, et al. Sonication versus Tissue Sampling for Diagnosis of Prosthetic Joint and Other Orthopedic Device-Related Infections. *J Clin Microbiol* 2018;56:e00688-18.
42. Peel TN, Dylla BL, Hughes JG, Lynch DT, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, et al. Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles. *mBio* 2016;7:e01776-15.
43. Sagi HC, Donohue D, Cooper S, Barei DP, Siebler J, Archdeacon MT, et al. Institutional and Seasonal Variations in the Incidence and Causative Organisms for Posttraumatic Infection following Open Fractures. *J Orthop Trauma* 2017;31:78–84.
44. Morgenstern M, Athanasou NA, Ferguson JY, Metsmakers W-J, Atkins BL, McNally MA. The value of quantitative histology in the diagnosis of fracture-related infection. *Bone Joint J* 2018;100-B:966–72.
45. Berbari EF, Marculescu C, Sia I, Lahr BD, Hanssen AD, Steckelberg JM, et al. Culture-negative prosthetic joint infection. *Clin Infect Dis* 2007;45:1113–9.
46. Hartley JC, Harris KA. Molecular techniques for diagnosing prosthetic joint infections. *J Antimicrob Chemother* 2014;69 (Suppl 1):i21-24.
47. Renz N, Cabric S, Morgenstern C, Schuetz MA, Trampuz A. Value of PCR in sonication fluid for the diagnosis of orthopedic hardware-associated infections: Has the molecular era arrived? *Injury* 2018;49:806–11.
48. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet* 2019;20:341–55.
49. Esteban J, Gómez-Barrena E. An update about molecular biology techniques to detect orthopaedic implant-related infections. *EFORT Open Rev* 2021 1;6:93–100.
50. DNA Sequencing Costs: Data [Internet]. Genome.gov. [cited Sep 23, 2021]. Available from: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>