

Синовиальная жидкость – часть 2: лабораторная оценка

В первой части статьи SEED о синовиальной жидкости были описаны анатомия и состав синовиальной жидкости, показания для проведения анализа, а также несколько полезных советов по сбору образцов и обращению с ними. Во второй части описываются общие лабораторные анализы.

**Лабораторная оценка**

Подобно обработке других образцов жидкости организма, обычная лабораторная оценка синовиальной жидкости включает следующие этапы:

1. Физическое исследование

2. Клеточный анализ - автоматизированный или микроскопический

3. Химический анализ

4. Микробиологические тесты

5. Серологические тесты

**1. Физическое исследование**

**Цвет и прозрачность**

Отчет об общем виде - важная часть анализа синовиальной жидкости. Нормальная синовиальная жидкость кажется прозрачной, от бесцветной до бледно-желтой (рис. 1 слева). Цвет становится более темно-желтым в присутствии не воспалительных выпотов (рис. 1 в центре изображения) и может иметь зеленоватый оттенок при бактериальной инфекции (рис. 1 правое изображение).

Если присутствует кровь, цвет изменяется от красного до коричневого или ксантохромного. Следует отличать кровь, являющуюся следствием геморрагического артрита от травматической аспирации. Это достигается в первую очередь путем наблюдения за неравномерным распределением крови, типичным для образцов, полученных при травматической аспирации.

Мутность - хороший индикатор воспалительных состояний. Мутно-желтые образцы указывают на воспаление, в основном из-за наличия лейкоцитов (WBC); однако остатки синовиальных клеток и фибрин также вызывают помутнение. При наличии кристаллов жидкость может казаться беловатой и молочной.



Рис. 1 Внешний вид синовиальной (или суставной) жидкости

**Вязкость**

Вязкость синовиальной жидкости обусловлена полимеризацией гиалуроновой кислоты и необходима для правильной смазки суставов. Артрит влияет как на выработку гиалуроновой кислоты, так и на ее способность к полимеризации, что снижает вязкость синовиальной жидкости. Доступно несколько методов для измерения вязкости жидкости. Самый простой - это наблюдать за способностью жидкости образовывать нить из кончика шприца, это исследование, которое можно провести у постели больного. Нормальной считается нить длиной 4-6 см.

Полуколичественное измерение осаждения может быть выполнено с использованием теста на сгусток муцина, также известного как «тест веревки». При добавлении к раствору 2–5% уксусной кислоты, нормальная синовиальная жидкость образует твердый сгусток, окруженный прозрачной жидкостью. По мере того, как способность гиалуроновой кислоты к полимеризации снижается, сгусток становится менее твердым, а окружающая жидкость становится мутной. Тест на образование муцинового сгустка оценивается как «хороший» (твердый сгусток), «удовлетворительный» (мягкий сгусток), «низкий» (рыхлый сгусток) и «плохой» (без сгустка). Тест на сгусток муцина больше не проводится, потому что все формы артрита снижают вязкость, что дает мало диагностической информации. Образование сгустка муцина после добавления уксусной кислоты может быть использовано для идентификации сомнительной жидкости как синовиальной.

Очень вязкие жидкости могут нуждаться в предварительной обработке для дальнейшего анализа, для этого к 1 мл жидкости добавляют 400 единиц фермента гиалуронидазы и инкубируют смесь при 37°C в течение 10 минут [1].

**2. Клеточный анализ**

**Подсчет клеток**

Для подсчета клеток образец следует подвергнуть антикоагуляции, используя гепарин или ЭДТА. Общий подсчет лейкоцитов (WBC) - это наиболее часто выполняемый подсчет клеток в синовиальной жидкости. Подсчет эритроцитов (RBC) запрашивается не часто. Согласно литературным данным, обычно общее количество WBC со временем уменьшается, что может привести к ошибочным результатам, препятствующим постановке правильного диагноза пациенту [2]. Поэтому, крайне важно проводить эти анализы без промедления, сразу после получения образцов. В общем, после получения материала важно как можно быстрее проанализировать аспирированные образцы синовиальной жидкости, чтобы избежать ложных результатов. В частности, подсчет WBC и их дифференциация, в идеале, должны выполняться на свежих образцах.

Ручной подсчет тщательно перемешанных образцов синовиальной жидкости выполняется с использованием счетной камеры Нойбауэра таким же образом, как и для подсчета спинномозговой жидкости (CSF). Обычно прозрачные жидкости можно подсчитывать, не разбавляя их, но разбавления необходимы, когда жидкости мутные или кровянистые. Если перед подсчетом необходимо лизировать эритроциты, подходящими разбавителями являются гипотонический физиологический раствор (0,3%) или физиологический раствор, содержащий сапонин. Метиленовый синий, добавленный к изотоническому солевому раствору, окрашивает ядра лейкоцитов, позволяя различать эритроциты и лейкоциты при подсчете образцов, содержащих эритроциты.

Несмотря на то, что оптическая микроскопия по-прежнему считается эталонным методом для подсчета лейкоцитов, было подчеркнуто множество недостатков. К ним относятся высокая стоимость, низкая пропускная способность, длительное время обработки, отсутствие межлабораторной гармонизации, высокая неточность (особенно в пробах с низкой концентрацией клеток) и потребность в специализированном персонале, выполняющем анализ [3, 4].

Последние оценки эффективности подтверждают, что автоматический подсчет WBC в синовиальной жидкости демонстрирует отличные характеристики, что делает его надежной и практичной альтернативой оптической микроскопии [3–5]. Большинство производителей анализаторов, доступных на рынке, также предоставляют материалы для контроля качества для проверки высокой точности подсчета клеток.

**Дифференциация**

Дифференциальный подсчет лейкоцитов обычно проводят из препаратов цитоцентрифуги или на тонких мазках на предметных стеклах с последующим окрашиванием по Маю-Грюнвальду-Гимзе.

Приблизительно 50% ядерных клеток представляют собой моноциты, 25% лимфоциты, а остальная часть состоит из нейтрофилов, макрофагов и клеток синовиальной оболочки. Доказательства относительно использования общего количества лейкоцитов и их дифференциального подсчета в анализе синовиальной жидкости различаются. Результаты общего подсчета лейкоцитов и их дифференциала заметно различаются, но в целом, в большинстве учебников и публикаций подчеркивается, что комбинация количества лейкоцитов и полиморфонуклеарных клеток (PMN) является важным диагностическим маркером для быстрого отличия невоспалительного от воспалительного и септические расстройства. Тем не менее, как WBC, так и PMN сами по себе ограничены в различении этих конкретных категорий заболеваний из-за их широкого и частично перекрывающегося распределения. Сегодня во многих учебниках и публикациях приводится следующая традиционная система классификации процессов, составленная Американской ассоциацией ревматизма [4]:

* Норма: WBC < 200 x 106 /L, PMN < 25%
* Не воспалительный: WBC < 2,000 x 106 /L, PMN < 25%
* Восполительный: WBC 2,000 – 50,000 x 106 /L, PMN > 50%
* Септический: WBC > 50,000 x 106 /L, PMN > 75%

Наиболее часто встречающиеся клетки и включения в синовиальной жидкости приведены в таблице 1 [6]. При исследовании нормальных и аномальных образцов под микроскопом следует иметь в виду, что клетки могут казаться более вакуолизированными, чем в мазке крови.

**Идентификация кристаллов**

Микроскопическое исследование синовиальной жидкости с использованием поляризованного света для обнаружения кристаллов является важным диагностическим тестом при оценке артрита. Образование кристаллов в суставе часто приводит к острому болезненному воспалению. Это также может стать хроническим заболеванием. Причины образования кристаллов включают нарушения обмена веществ и снижение почечной экскреции, вызывающее повышенный уровень кристаллизующихся химических веществ в крови, дегенерацию хрящей и костей, а также инъекции лекарств в сустав, таких как кортикостероиды. В таблице 2 [6] представлены кристаллы, наиболее часто встречающиеся в синовиальной жидкости.

***Таблица 1*** *Клетки и включения в синовиальной жидкости*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Клетка/включения | Описание | Повышенный уровень при: |
| Хрящевые клетки | Большие, многоядерные клетки | Остеоартроз |
| Жирные капли | Преломляющие внутриклеточные и внеклеточные глобулы, которые можно окрашивать судановыми красителями | Травматическое повреждение и хроническое воспаление |
| Гемосидерин | Включения в скоплениях синовиальных клеток | Пигментный виллонодулярный синовит |
| LE-клетки | Нейтрофилы, содержащие характерное «круглое тело» при поглощении | Красная волчанка |
| Лимфоцит | Мононуклеарные белые кровяные клетки | Несептическое воспаление |
| Макрофаг (моноцит) | Крупные мононуклеарные белые кровяные клетки, которые могут быть вакуолизированы | Вирусные инфекции |
| Нейтрофил | Полиморфноядерные белые кровяные клетки | Бактериальный сепсис, воспаление, вызванное кристаллами |
| Клетка Рейтера | Вакуолизированный макрофаг с поглощенными нейтрофилами | Синдром Рейтера, неспецифическое воспаление |
| Клетка ревматоидного артрита (рагоцит) | Полиморфноядерный фагоцит с темными цитоплазматическими гранулами, содержащий агрегированные иммуноглобулины, фибрин, комплемент и ревматоидный фактор | Ревматоидный артрит, иммунологическое воспаление |
| Рисовые тела | Макроскопически напоминают шлифованный рис, они содержат коллаген и фибрин | Туберкулез, септический и ревматоидный артрит |
| Синовиальная выстилающая клетка | Подобен макрофагу, но может быть многоядерным | Всегда физиологический |

***Таблица 2*** *Характеристики кристаллов синовиальной жидкости*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Кристалл | Форма | Причина |
| Мононатрий урат (MSU) | Иглы | Подагра |
| Пирофосфат кальция | Ромбические квадраты и стержни | Псевдоподагра |
| Холестерин | Зубчатые, ромбические пластины | Высокий уровень холестерина в крови |
| Кортикостероид | Плоские пластины различной формы | Инъекции |
| Оксалат кальция |  Конверты | Почечный диализ |
| Апатит (фосфат кальция) |  Мелкие частицы | Остеоартроз |

**3. Химический анализ: глюкоза, белок, мочевая кислота**

Наиболее часто запрашиваемым тестом является определение глюкозы, так как значительное снижение значения указывает на воспалительные или септические расстройства. Поскольку в нормальных условиях уровень глюкозы в синовиальной жидкости связан с уровнем глюкозы в крови, образцы крови и синовиальной жидкости следует брать одновременно, желательно после того, как пациент голодал в течение восьми часов, чтобы обеспечить уравновешивание между двумя жидкостями. В этих условиях нормальный уровень глюкозы в синовиальной жидкости не должен быть более чем на 10 мг / дл ниже значения в плазме. Чтобы предотвратить ложное снижение значений, вызванное гликолизом, образцы следует анализировать в течение одного часа после сбора или консервировать фторидом натрия [6].

Синовиальная жидкость содержит все белки плазмы, за исключением различных высокомолекулярных белков, таких как фибриноген, бета-2-макроглобулин и альфа-2-макроглобулин. Для измерения белка синовиальной жидкости можно использовать наиболее часто используемые методы определения сывороточного белка. Диапазон белка синовиальной жидкости составляет 1–3 г / дл [6]. Повышенный уровень белка обнаруживается при воспалительных и геморрагических расстройствах; тем не менее, измерение содержания белка в синовиальной жидкости не оказывает большого влияния на классификацию этих заболеваний.

Хорошо известен повышенный уровень мочевой кислоты в сыворотке крови при подагре; поэтому демонстрация повышенного уровня мочевой кислоты в синовиальной жидкости может использоваться для подтверждения диагноза, когда присутствие кристаллов в жидкости не может быть продемонстрировано. Измерение мочевой кислоты в сыворотке часто проводится в качестве первого обследования при подозрении на подагру.

Всем известно, что при подагре уровень мочевой кислоты в сыворотке крови повышен; поэтому регистрация повышенного уровня мочевой кислоты в синовиальной жидкости может использоваться для подтверждения диагноза, когда присутствие кристаллов в жидкости не может быть определено. Измерение мочевой кислоты в сыворотке часто проводится в качестве первого обследования при подозрении на подагру.

**4. Микробиологические тесты [6]**

Инфекция может возникать как вторичное осложнение воспаления, вызванного травмой или распространением системной инфекции; таким образом, окраска по Граму и посевы являются двумя наиболее важными тестами, выполняемыми на синовиальной жидкости. На всех образцах должны быть выполнены оба теста, потому что некоторые организмы будут пропущены, если будет выполнено только окрашивание по Граму. Чаще всего встречаются бактериальные инфекции; однако также могут возникать грибковые и вирусные инфекции. При подозрении на них следует использовать специальные процедуры культивирования. История болезни и другие симптомы могут помочь в запросе дополнительных анализов.

Обычные бактериальные культуры должны включать обогащающую среду, такую как шоколадный агар, потому что, помимо стафилококков и стрептококков, распространенными микроорганизмами, поражающими синовиальную жидкость, являются привередливые виды *Haemophilus* и *Neisseria gonorrhoeae*.

**5. Серологические тесты [6]**

Поскольку заболевания суставов часто имеют иммунологический компонент, серологическое тестирование играет важную роль в их диагностике. Однако большинство тестов проводится на сыворотке крови, а фактический анализ синовиальной жидкости служит лишь подтверждающей мерой в случаях, которые трудно диагностировать. Аутоиммунные заболевания, в частности, ревматоидный артрит и красная волчанка, вызывают очень серьезное воспаление суставов и диагностируются путем определения наличия специфических аутоантител в сыворотке крови пациента. При необходимости те же антитела можно определить в синовиальной жидкости. Артрит - частое осложнение болезни Лайма. Таким образом, наличие антител к возбудителю *Borrelia burgdorferi* в сыворотке крови пациента может подтвердить эту причину артрита. Степень воспаления можно определить путем измерения концентрации реагентов острой фазы, таких как фибриноген и С-реактивный белок (CRP).

**Выводы**

Лабораторные исследования синовиальной жидкости сложны и требуют квалифицированного персонала. Низкие стандарты анализа синовиальной жидкости могут быть частично связаны с тем, что он не включен в стандартные патологические службы, а также из-за относительно низкой производительности таких образцов в большинстве отделений.

Автоматизация лабораторных процедур может способствовать повышению стандартизации результатов тестирования и сокращению не только времени обработки, но и ошибок расшифровки [3, 4, 7].

**Использованная литература**

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute (2006): Body Fluid Analysis for Cellular Composition. Approved Guideline. CLSI document H56-A [ISBN: 1-56238-614-X].

[2] Kerolus G et al. (1989): Is it mandatory to examine synovial fluids promptly after arthrocentesis? Arthritis and Rheumatism. 32 : 271 – 78.

[3] Paris A et al. (2010): Performance evaluation of the body fluid mode on the platform Sysmex XE-5000 series automated hematology analyzer. Int J Lab Hematol. 32:539.

[4] Fleming C et al. (2015): Clinical relevance and contemporary methods for counting blood cells in body fluids suspected of inflammatory disease. Clin Chem Lab Med. 53(11) : 1689.

[5] Mundt LA et al. (2016): Graff’s Textbook of Urinalysis and Body Fluids. Third Edition. © 2016 Wolters Kluwer.

[6] King Strasinger S et al. (2008): Urinalysis and Body Fluids. Fifth Edition. © 2008 F. A. Davis Co.

[7] de Jonge R et al. (2004): Automated counting of white blood cells in synovial fluid. Rheumatology. 43 : 170 – 73.