

L'ESAME LIQUIDO SINOVIALE

Dott.ssa Sandri Gilda

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto

Università di Modena e Reggio Emilia

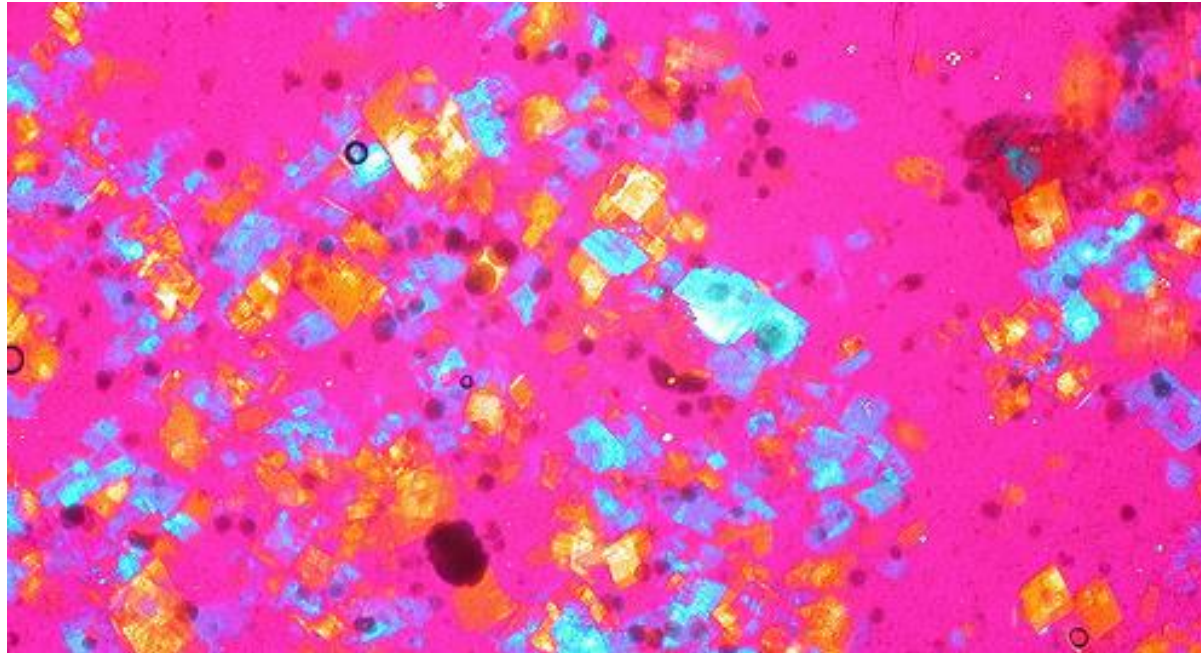




- In ambito reumatologico gli esami di laboratorio - in fase diagnostica - sono determinanti nel 10-15 % dei casi
- Una anamnesi accurata può risultare determinante in oltre l'80 % dei casi



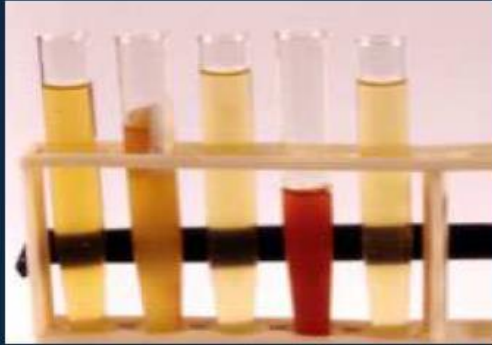
- In Reumatologia (tranne pochissime eccezioni) nessun esame è patognomnico di una determinata patologia



L'analisi del liquido sinoviale costituisce uno degli esami di laboratorio più importanti in Reumatologia

Synovial fluid analysis is helpful for determining the underlying cause of arthritis, particularly for septic or crystal-induced arthritis. The white cell count, differential count, cultures, Gram stain, and crystal search using polarized light microscopy are the most useful studies.

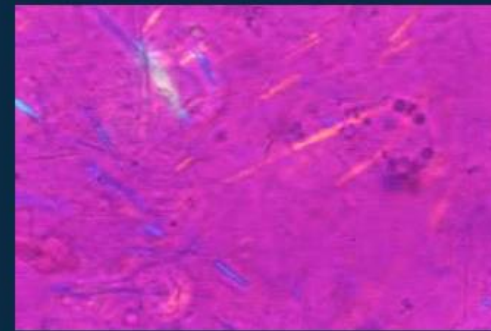




Esame del liquido sinoviale

Fornisce informazioni utili soprattutto :

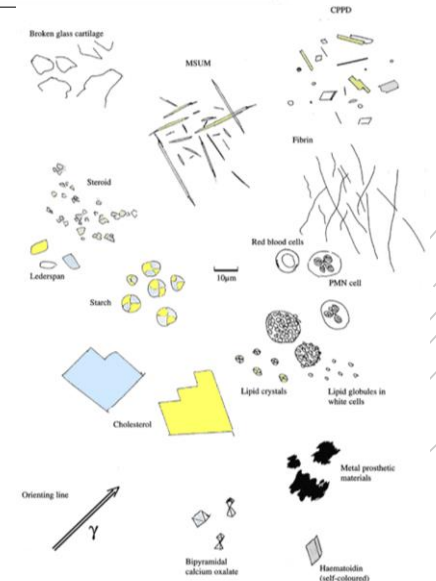
- in caso di monoartrite
- nel sospetto di una artropatia microcristallina (MSU, CPPD, HA)
- nel sospetto di una artrite settica
- nel sospetto di una emartro

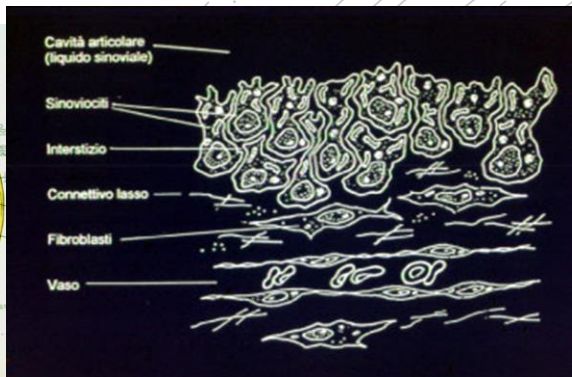
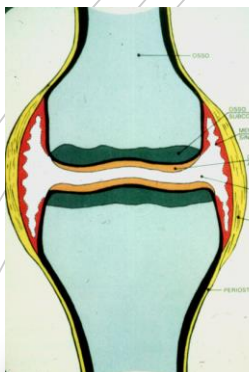


Liquido sinoviale

Tabella 4 Esami di laboratorio utili nell'inquadramento diagnostico e nel monitoraggio delle malattie reumatiche

Malattia reumatica	Esami diagnostici	Monitoraggio attività	Monitoraggio tossicità farmaci
Artrite reumatoide	ACPA, FR	PCR, VES	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Spondilite anchilosante	HLA-B27		ALT, Creatinina, Urine, Hem
Connettiviti			
LES	ANA, dsDNA, ENA	VES, PCR, C3, C4	ALT, Creatinina, Urine, Hem
S. di Sjögren	ANA, ENA	PCR	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Sclerodermia	ANA, ENA	PCR	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Polimiosite	ANA, ENA, CPK	PCR	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Vasculiti			
Arterite di Horton	VES	PCR	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Panarterite nodosa		VES, Hem	ALT, Creatinina, Urine, Hem
Wegener/MPA	ANCA		
APS	aCL, anti-β ₂ GPI, LAC		
Artriti da microcristalli	Liquido sinoviale		
Gotta	Uricemia		





Artrocentesi

■ L'aspirazione di un versamento articolare da un'articolazione tumefatta e/o dolente è indicata nei pazienti in cui non è stato possibile effettuare diagnosi clinica o in alternativa, per attenuare il dolore.

■ I possibili rischi legati a tale tecnica sono molto bassi. Le possibilità di infezione da procedure intraarticolari sono infatti comprese tra lo 0.002% e lo 0.007%.

■ Non esistono controindicazioni all'artrocentesi, se non infezioni intorno alla zona da infiltrare.



Hollander JL, Reginato AJ, Torralba TP. Examination of synovial fluid as a diagnostic aid in arthritis. Med Clin North Am 1966; 50:1281-93.

Ropes MW, Bauer W. Synovial fluid changes in joint disease. Cambridge, Harvard University Press; 1953.

Oliviero F, Punzi L, Valvason C, Ramonda R, Todesco S. L'analisi del liquido sinoviale. Progressi in Reumatologia 2004; 5:103-13.

Mattara L. Synovial fluid. Diagnostic and predictive aspects. Reumatismo 1996; 48(suppl 2):39-42.

Baer PA, Tenenbaum J, Fam AG, Little H. Coexistent septic and crystal arthritis. Report of four cases and literature review. J Rheumatol 1986; 13:604-7.



■ Procedura

- a. materiale sterile, tranne i guanti, da sostituire ad ogni artrocentesi
- b. evitare di parlare durante la procedura
- c. il paziente deve essere disteso e rilassato
- d. anestesia eventualmente con spray di cloruro di etileo xilocaina intradermica al 2%, spesso non necessaria
- e. aghi da utilizzare:
 - anca: 1.3 x 45 mm (18 G x 1^{1/2})
 - ginocchio: 0.90 x 40 mm (20 G x 1^{1/2})
 - spalla e caviglia: 0.70 x 30 mm (22 G x 1⁴)
 - piccole articolazioni: 0.50 x 16 mm (25 G ^{5/3})
 - sottocute: 0.40 x 4 mm

■ Raccolta del campione

■ Per le analisi di routine, il liquido sinoviale, deve essere suddiviso in tre provette, non necessariamente sterili e in una quarta, obbligatoriamente sterile, se si vogliono effettuare esami microbiologici:

- a. provetta contenente anticoagulante EDTA (esamicitologici)
- b. provetta senza anticoagulante (vetrino a fresco e ca-ratteri macroscopici)
- c. provetta contenente eparina (esame dei cristalli)⁶.

■ Il liquido sinoviale proveniente da artrocentesi andrebbe analizzato entro le quattro ore dall'aspirazione; si possono tollerare le ventiquattro ore se opportunamente conservato a 4°C⁷.



Tipi di indagini

Le indagini che si effettuano durante l'analisi di routine del liquido sinoviale sono le seguenti:

- ❖ indagini macroscopiche (caratteristiche chimico-fisiche)
- ❖ indagini microscopiche (citologia numerica e differenziale, ricerca microcristalli)
- ❑ indagine microbiologica (ricerca microrganismi),
- ❑ determinazioni proteiche, determinazioni sostanze o particelle particolari.

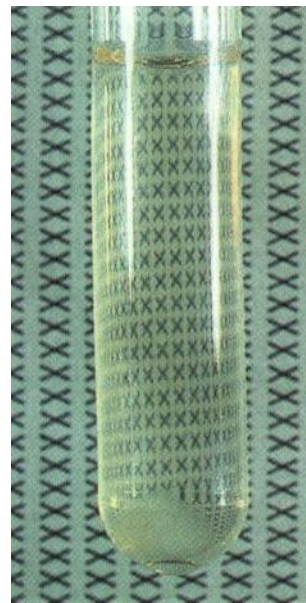
Canoso JJ. Aspiration and injection of joints and periarticular tissue. In: Klippel JH, Dieppe PA, eds. Rheumatology, second edition. London: Mosby, 1998; 12:1

Salvati G, Punzi L, Pianon M, Valvason C, Schiavon F, NoalN, et al. Frequency of the bleeding risk in patients receiving warfarin submitted to arthrocentesis of the knee. Reumatismo 2003; 55:159-63

Gálavez J, Sáiz M, Linares LF, Climent A, Marras C, PinaMF, et al. Delayed examination of synovial fluid by ordinary and polarised light microscopy to detect and identify crystals. Ann Rheum Dis 2002; 61:444-7.

Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assay in the diagnosis of joint disease: a literature survey. Ann Rheum Dis 2006; 61:493-8.

Liquido
sinoviale



سليم
مريض
معدوم

Viscosità

- Caratteristica chimico-fisica legata alle proprietà dell'acido ialuronico.
- **String test:** (direttamente dalla siringa, verificare la lunghezza del filamento prodotto dal liquido, oppure effettuare il test con pipetta pasteur utilizzando liquido proveniente da provetta senza anticoagulante).

3. Viscosity

Viscous — drops of it from a syringe needle will form a "string" a few inches long

Abnormal: Reduction of viscosity in infections and inflammation



Prof. Mahmoud Rushdi

filamento di 3-6 cm (non infiammatorio, viscosità mantenuta)

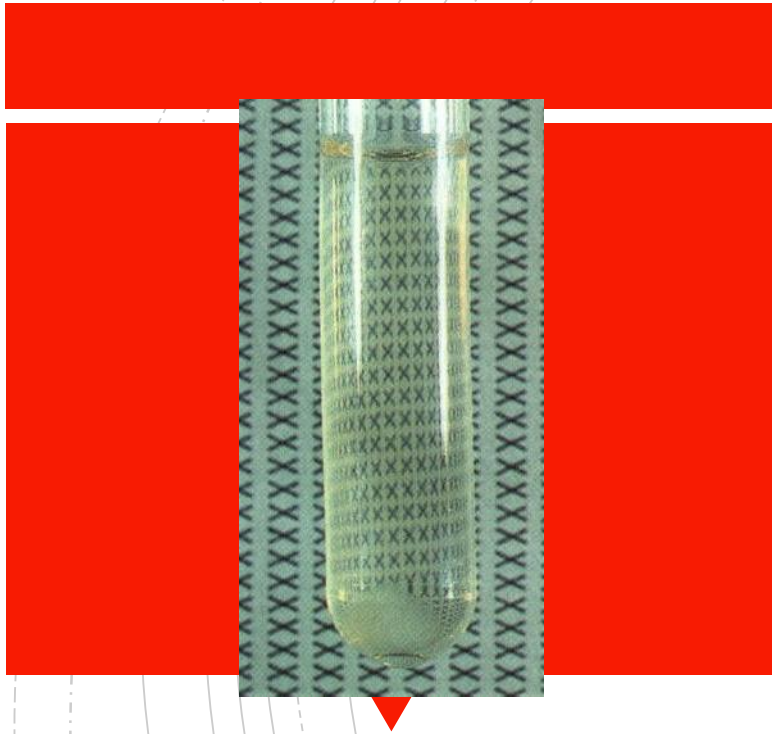
filamento < 3 cm (infiammatorio, viscosità non mantenuta)

filamento > 6 cm (nei casi di artrite settica)

Mucin-test: a 5 ml di acido acetico al 5%, vengono aggiunti 500 µl di liquido da analizzare.

- Oliviero F, Punzi L, Valvason C, Ramonda R, Todesco S.L'analisi del liquido sinoviale. Progressi in Reumatologia 2004; 5:103-13.
- Fam H, Bryant JT, Kontopoulou M. Rheological property of synovial fluids. Biorheology 2007; 44:59-74.

**Caratteri chimico fisici e
microscopici del liquido sinoviale
normale**



Volume 2-4 ml (ginocchio)

Cellule/mm³ < 800

Colore giallo pallido

Trasparenza limpido

Viscosità molto elevata

Formula leucocitaria (%) mononucleati 75

polinucleati 25

Altre cellule assenti

Cristalli assenti

Microrganismi assenti

Fisiologicamente, una cavità articolare contiene da 0.1 a 4 ml di liquido sinoviale, in base al tipo di articolazione ed alla variabilità soggettiva. Quantità di liquido > 30 ml sono difficilmente riscontrabili in liquidi non infiammatori anche di grandi articolazioni; mentre, in caso di flogosi, possono essere presenti anche volumi > di 100 ml!

Tabella Riassuntiva dei caratteri macroscopici riscontrabili nei vari liquidi sinoviali.			
Colore	Aspetto	Viscosità	Liquido sinoviale
giallo chiaro	trasparente	conservata	non infiammatorio
giallo chiaro o citrino	lievemente torbido	moderatamente ridotta	moderatamente infiammatorio
giallo scuro	torbido	ridotta	francamente infiammatorio
Giallo-verdastro	purulento o lattescente	variabile	settico

Indagini microscopiche

Le indagini microscopiche dell'esame del liquido sinoviale comprendono: la conta dei leucociti, la formula citologica delle cellule eventualmente presenti nel liquido)

Conta dei leucociti

Per essere accurata, la conta dei leucociti dovrebbe essere effettuata entro le due ore dall'artrocentesi,

La conta viene effettuata utilizzando la camera di Burkner o Thoma, aggiungendo alla frazione di liquido un colorante come il blu di metilene in opportuna diluizione .

cellule

PMN

Normale

< 200

< 25%

Non-infiammatorio

< 2-3.000

< 25%

Infiammatorio

3.000-50.000

> 70%

Settico

> 50.000

> 90%

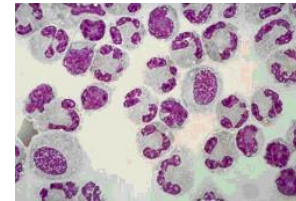
Cells seen in synovial fluid

Cell	Description	significance	shape
1. Neutrophil	Polymorphonuclear leukocyte	Indicate septic inflammation > 80% 1. Bacterial arthritis 2. Gouty arthritis 3. Rheumatoid arthritis	
2. Lymphocyte	Mononuclear leukocyte	indicate non septic inflammation 1. Viral infection 2. Rheumatoid arthritis in which lymphocytes may be found.	
3. Eosinophil	leukocyte	Increased No. of Eosinophil > 2 % 1. Metastatic carcinoma in the synovium. 2. Acute rheumatic fever. 3. Rheumatoid arthritis.	

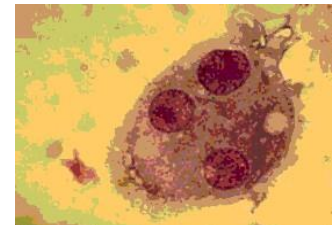
Esempi di citotipi presenti in un liquido sinoviale patologico:

**Preparato a
fresco**

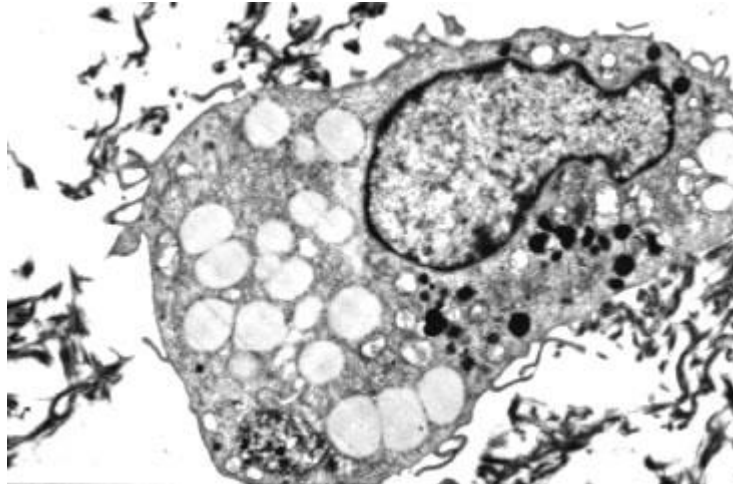
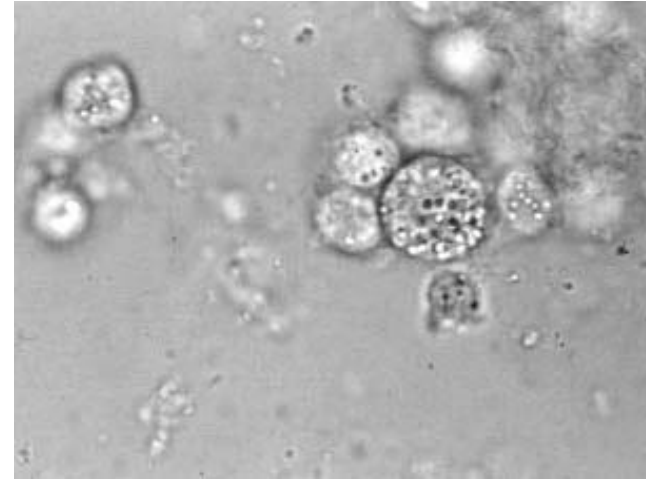
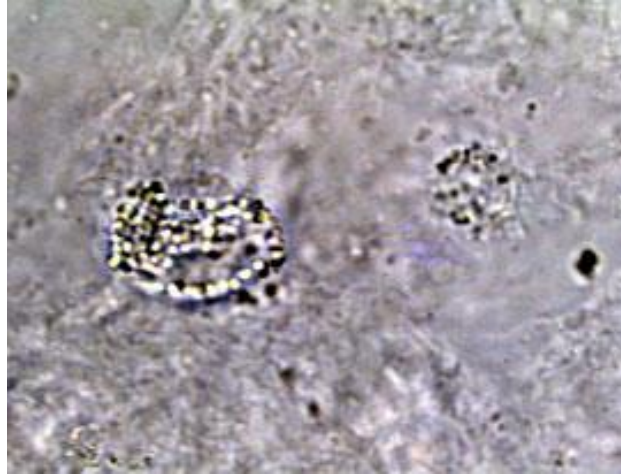
Leucociti Microscopia ottica 40x.



**Sinoviocita multinucleato. Microscopia ottica
100x**



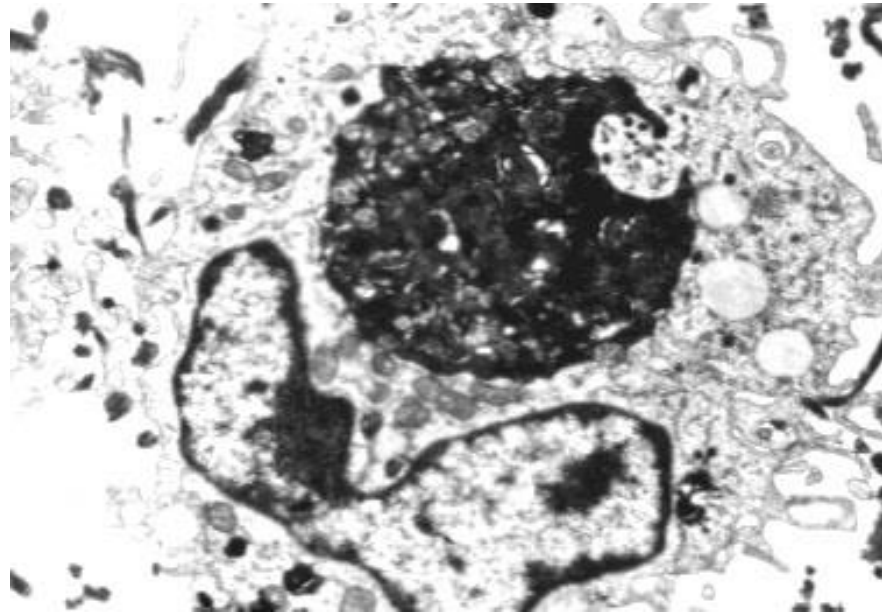
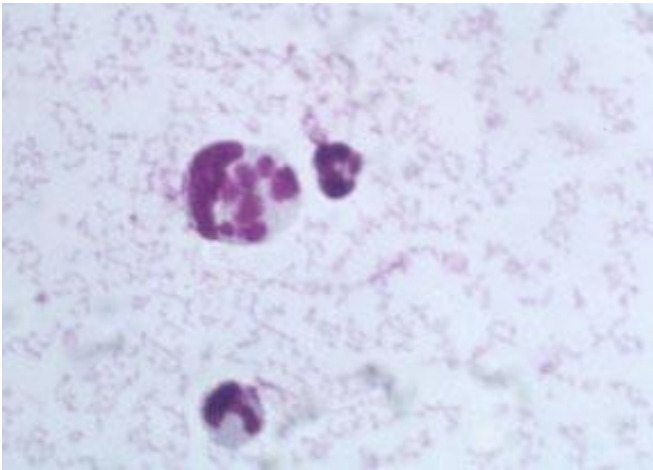
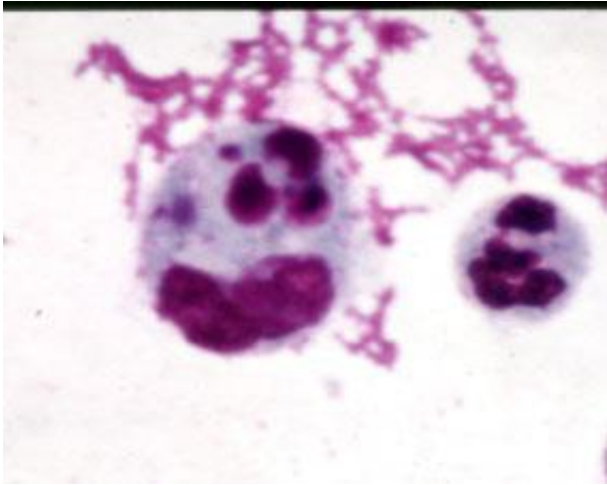
Ragociti



Cellule (PMN, Sinoviociti, Macrofagi) contenenti granuli citoplasmatici ($0.2 - 0.5 \mu$) al cui interno sono rinvenibili IC contenenti FR, Ig, ANA

“Ragocyte is any phagocyte containing large intracytoplasmic granules”

Cellule di Reiter



Cellule mononucleate che hanno fagocitato un neutrofilo (generalmente Con nucleo picnotico)

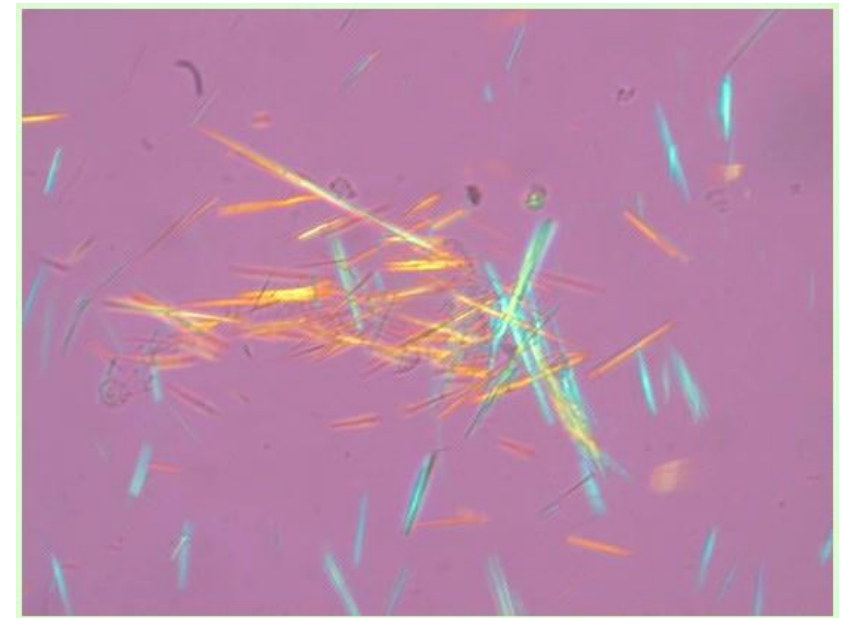
Si possono ritrovare :

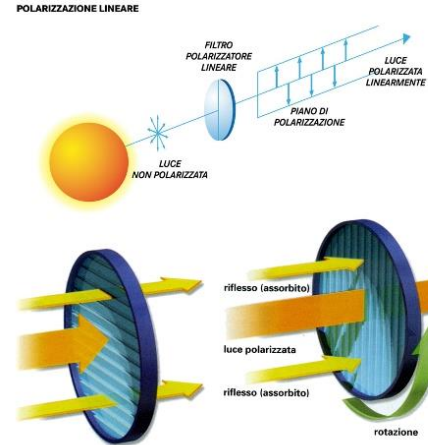
- *S. di Reiter e artriti reattive*
- *artrite settica*
- *Artrite psoriasica*
- *M. di Lyme*
- *JCA*

Si utilizza il microscopio a luce polarizzata per identificare dettagliatamente la maggior parte dei cristalli.
I cristalli possono essere inglobati nei GB o depositati a livello extracellulare.

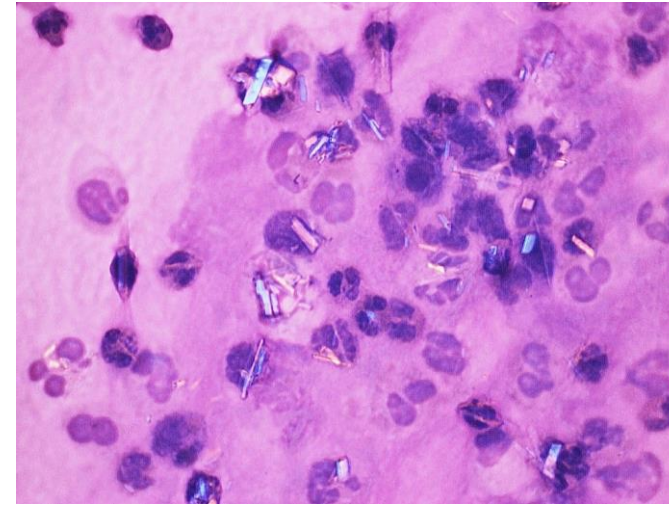


2.304,25 €

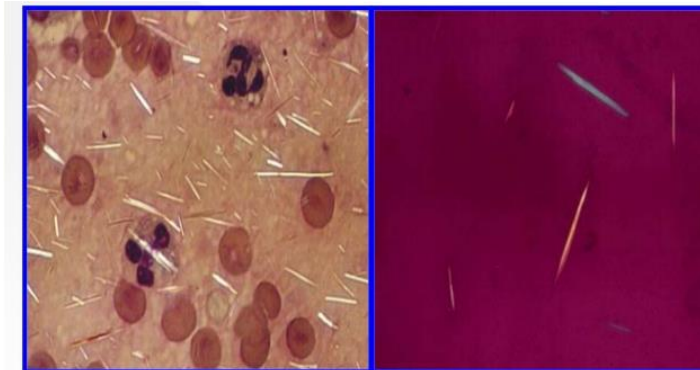




Microscopio a luce polarizzata

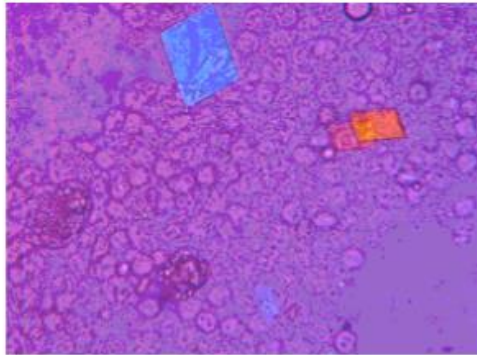


Cristalli PPF hanno solitamente forma romboidale birifrangenza positiva

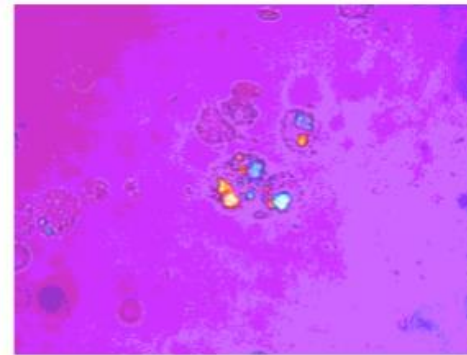


Cristalli di urato hanno forma aghiforme birifrangenza negativa

Esempi di quadri microscopici in luce polarizzata e compensata di alcune tipologie cristalline.



Cristalli di colesterolo.
Microscopia ottica 40x.



Cristalli di cortisone.
Microscopia ottica 40x.



Cristalli di pirofosfato di calcio.
Microscopia ottica 40x.



Cristalli di urato monopodico.
Microscopia ottica 40x.

1. Reginato AJ, Schumacher HR. Crystal-associated arthropaties. Clin Geriatr Med 1988; 4: 295-322.
2. Dieppe P, Campion G, Doherty M. Mixed crystal deposition. Rheum Dis North Am 1988; 14:415-26

Gotta

Le manifestazioni dell'artropatia gottosa nell'anziano sono differenti da quelle che si osservano nel paziente più giovane. L'attacco gottoso può verificarsi in un maggior numero di articolazioni, comprese quelle delle ginocchia, polsi, caviglie, spalle e le piccole articolazioni delle mani, con caratteristiche cliniche molto simili a quelle dell'artrite reumatoide. Sovente sono interessate più articolazioni contemporaneamente e, nonostante l'interessamento sia spesso asimmetrico, questa non è sempre la regola. Benché l'artrite gottosa abbia una netta prevalenza nel sesso maschile, caratteristicamente la gotta che si manifesta avanti con l'età colpisce quasi esclusivamente il sesso femminile.

- Oggi si calcola che complessivamente dal 41 al 53% delle persone sopra i 65 anni siano affetti da una malattia reumatica
- In ogni caso, l'aumento della durata di vita nella popolazione ci pone davanti al fatto che nei prossimi anni sia la prevalenza che l'impatto sociale ed economico di tutte le patologie reumatiche aumenteranno probabilmente in maniera esponenziale
- <https://www.researchgate.net/publication/255684705> La malattia reumatica nel paziente anziano [accessed Sep 29 2018].

Tabella 2 Incidenza e prevalenza delle principali malattie reumatiche nella popolazione generale e nell'età anziana. (Nota: i dati sono ricavati da più studi epidemiologici)

Patologia	Incidenza per 1000 persone/anno	Età media	Sesso F:M	Prevalenza per 1000/persone <65 anni	Prevalenza per 1000/persone >65 anni
Artrite reumatoide					
Sud Europa	1,6	59	3:1	3,3	6
Nord Europa	2,9	59	3:1	5,0	9,8
Nord America	3,8	55	7:1	10,7	19,2
Osteoartrite	-	45	1:1	90	325
Artrite psoriasica	0,034	48	1:1	1	-
LES	0,07	25	9:1	0,24	-
Sjögren	0,053	50	9:1	0,15	1,5
Scleroderma	0,012	50	9:1	2	-
Miositi	0,008	38	7:1	0,05	-
Vasculiti	0,1	62	2:1	1	2,2
Polimialgia reumatica	0,5	75	3:1	0,2	12
Fibromialgia	-	40	8:1	2	8
Gotta	1,7	60	1:5	9	-

Synovial Fluid Analysis for Diagnosis of Intercritical Gout

Eliseo Pascual, MD, PhD; Enrique Batlle-Gualda, MD, PhD; Agustín Martínez, MD; José Rosas, MD; Paloma Vela, MD, PhD

Abstract

Background:The diagnosis of gout in the intercritical phase can be difficult.

Objective:To determine whether synovial fluid analysis allows the diagnosis of intercritical gout.

Design:Cross-sectional study.

Setting:Outpatient rheumatology clinics.

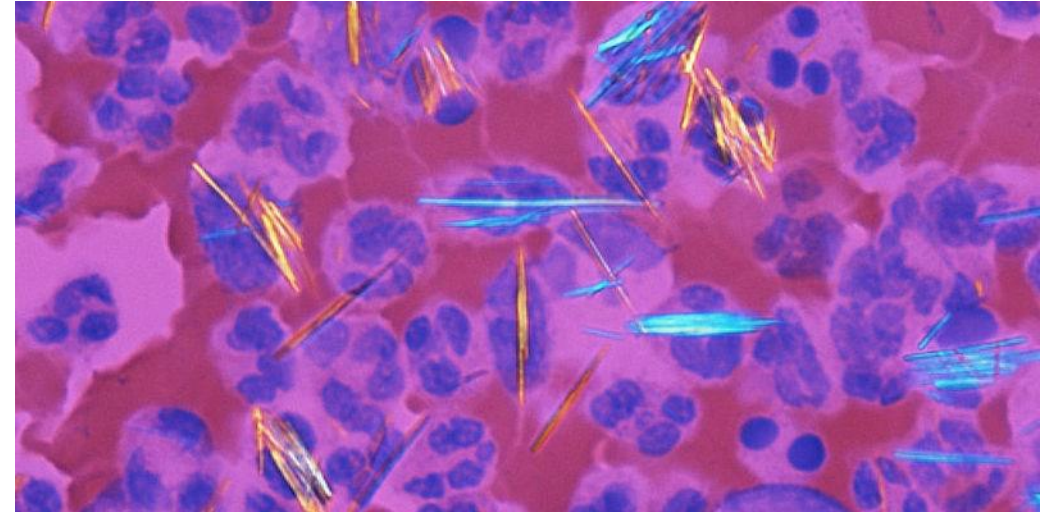
Patients:101 patients with gout.

Intervention:Arthrocentesis of 80 knees and 21 first metatarsophalangeal joints (each joint from a different patient) that had been inflamed but were currently asymptomatic.

Measurements:Frequency with which arthrocentesis yielded synovial fluid; presence of monosodium urate crystals in the synovial fluid sample; and, for synovial fluid with crystals, the number of microscope fields that had to be scanned before crystals were found.

Results:Synovial fluid was obtained from 91 of 101 joints. The fluid from all 43 patients not receiving hypouricemic agents contained monosodium urate crystals. These crystals were found in the synovial fluid of only 34 of 48 patients receiving hypouricemic agents. In 90% of the synovial fluid samples that contained crystals, crystals were seen in the first five microscope fields examined.

Conclusions: Arthrocentesis of asymptomatic knees and first metatarsophalangeal joints and synovial fluid analysis are simple procedures that facilitate the diagnosis of gout during intercritical periods.



Artrite da microcristalli

- L'artrite da microcristalli può derivare da deposizione intra-articolare di cristalli:
- Urato monosodico
- Pirofosfato calcico diidrato
- Fosfato basico di calcio (apatite)
- Raramente, altri come i cristalli di ossalato di Ca

Misura, morfologia
e birifrangenza dei
cristalli riscontrabili
in liquidi sinoviali.

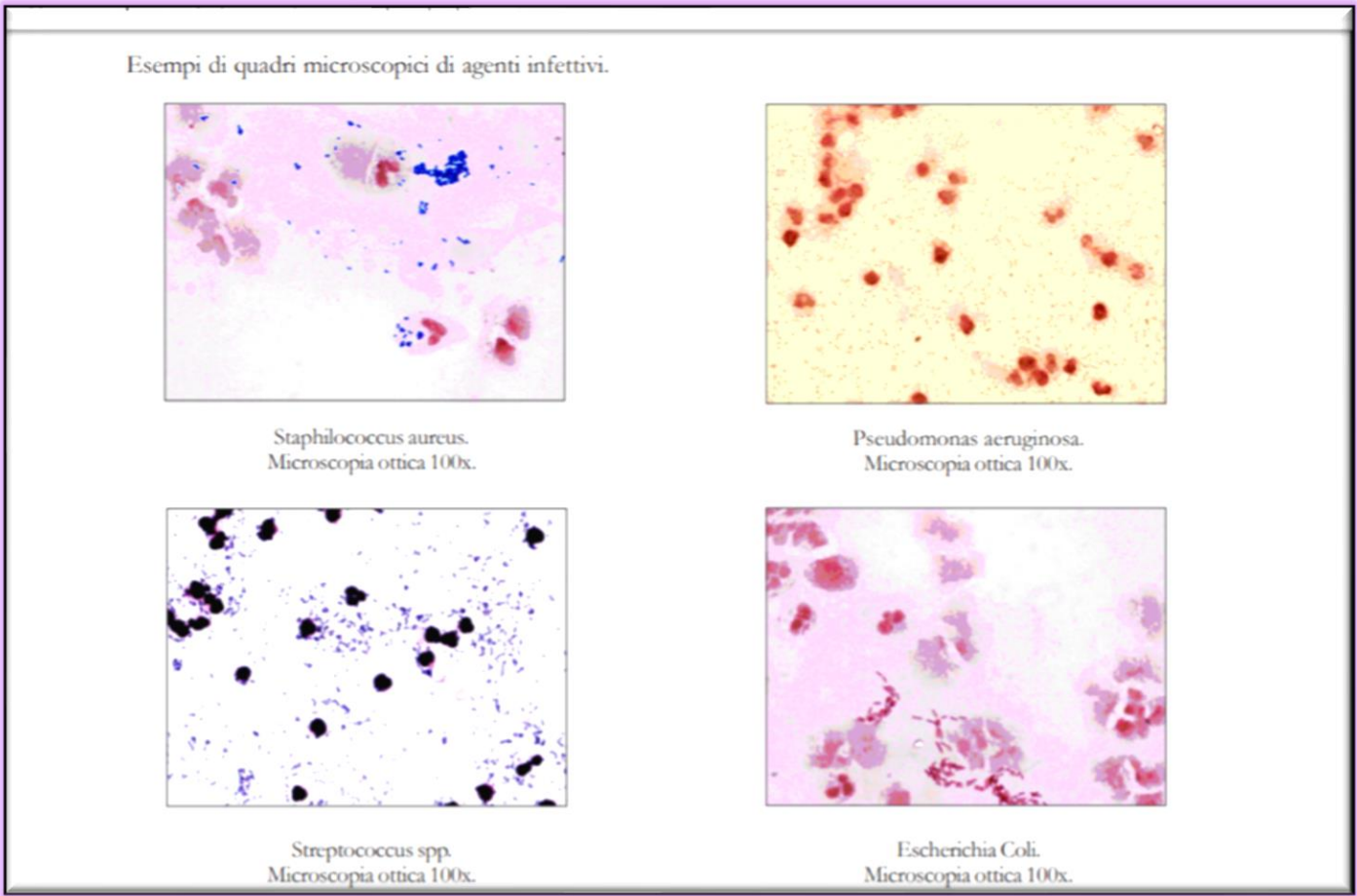
Cristalli	Misura (µm)	Morfologia	Birifrangenza	Patologie
urato monosodico	2-20	aghiformi bastoncino	negativa intensa	Gotta acuta o cronica
pirofosfato di calcio	2-10	romboidali bastoncino	positiva debole	Pseudogotta o Condrocalcinosi
apatite	5-20	rotondi irregolari	nessuna	Calcificazione periarticolare
colesterolo	10-80	rettangola riquadrate	negativa o positiva	Versamenti reumatoidi cronici
liquidi lipidici	2-8	croce di Malta	positiva intensa	Borsite, artrite acuta
ossalato di calcio	2-10	bipiramidali polimorfi	positiva intensa o debole	Ossalosi primaria, secondaria
fosfolipasi o Charcot-Leyden	17-25	bipiramidali esagonali	positiva e negativa	Sinovite eosinofila
immunoglobuline	3-60	polimorfi: bastoncini, poligonali, quadrati	positiva e negativa	Crioglobulinemia, Mieloma multiplo

1. Dieppe P, Campion G, Doherty M. Mixed crystal deposition. Rheum Dis North Am 1988; 14:415-26.
2. Shumacher HR Jr, Reginato AJ. Atlas of synovial fluid analysis and crystal identification. Malvern, Pennsylvania, USA: Lea & Febiger; 1991.
3. Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assay in the diagnosis of joint disease: a literature survey. Ann Rheum Dis 2006; 61:493-8.

Indagine Microbiologica

La ricerca di microrganismi è una importante indagine da potersi effettuare sul liquido sinoviale. Shmerling nel 1994 sostenne che la “best reason” per eseguire un’artrocentesi sia la diagnosi di una infezione:

- Lo Staphylococcus aureus è il più comune agente infettivo, seguito dagli Streptococcus spp.
- I bacilli gram negativi sono responsabili in circa il 10-20% dei casi, i più comuni sono Pseudomonas aeruginosa ed Escherichia coli.



•Shmerling RH, Synovial fluid analysis. A Critical Reappraisal. Rheumatic disease clinics of North America 1994; 20:503-12.
•Shmerling RH, Delbanco TL. Synovial fluid test. What should be ordered? JAMA 1990; 264:1009-14.
•Shirliff ME, Mader JT. Acute Septic Arthritis. Clinical Microbiology Reviews 2002; 15: 527-44.
•Morgan DS, Fisher D, Merianos A, Currie BJ. An 18 year clinical review of septic arthritis from tropical Australia. Epidemiol Infect 1996; 117:423-8.
•Deesomchok U, Tumrasvin T. Clinical study of culture proven cases of non-gonococcal arthritis. J Med Assoc Thai 1990; 73:615-23.
•Bowerman SG, Green NE, Mencia GA. Decline of bone and joint infections attributable to Haemophilus influenzae type b. Clin Orthop Relat Res 1997; 341:128-33.
•Brause BD. Infections associated with prosthetic joint. Clin Rheum Dis 1986; 12:523-36.
•Goldenberg DI. Septic arthritis. Lancet 1998; 351:197-202.
•Ryan MJ, Kavanagh R, Wall PG, Hazleman BL. Bacterial joint infections in England and Wales: analysis of bacterial isolates over a four year period. Br J Rheumatol 1997; 36:370-3.
•Bourbeau P, Riley J, Heiter BG. Use of the BacT/alert Blood Culture System for Culture of Sterile Body Fluids Other than Blood. J Clin Microbiol 1998; 36:3273-7.
•Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey. Ann Rheum Dis 2002; 61:493-8.
•Atlas RM. Handbook of microbiological media, 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2000.
•Murray PR, Baron EJ, Pfaller M, Tenover FC, Tenover RH. Manual of clinical microbiology, 6th ed. Washington DC: ASM Press; 1995.
•Bourbeau P, Riley J, Heiter BG. Use of the BacT/alert Blood Culture System for Culture of Sterile Body Fluids Other than Blood. J Clin Microbiol 1998; 36:3273-7.

Eseguire l'esame del liquido sinoviale più volte nello stesso paziente può essere utile per valutare l'evoluzione della patologia articolare, oppure per verificare gli effetti della terapia.

Studi sul controllo di qualità hanno dimostrato che la mancata esecuzione dell'analisi del liquido sinoviale potrebbe indurre ad una diagnosi erronea in una percentuale che oscilla tra il 20 e 25% dei pazienti con versamenti acuti o cronici al ginocchio

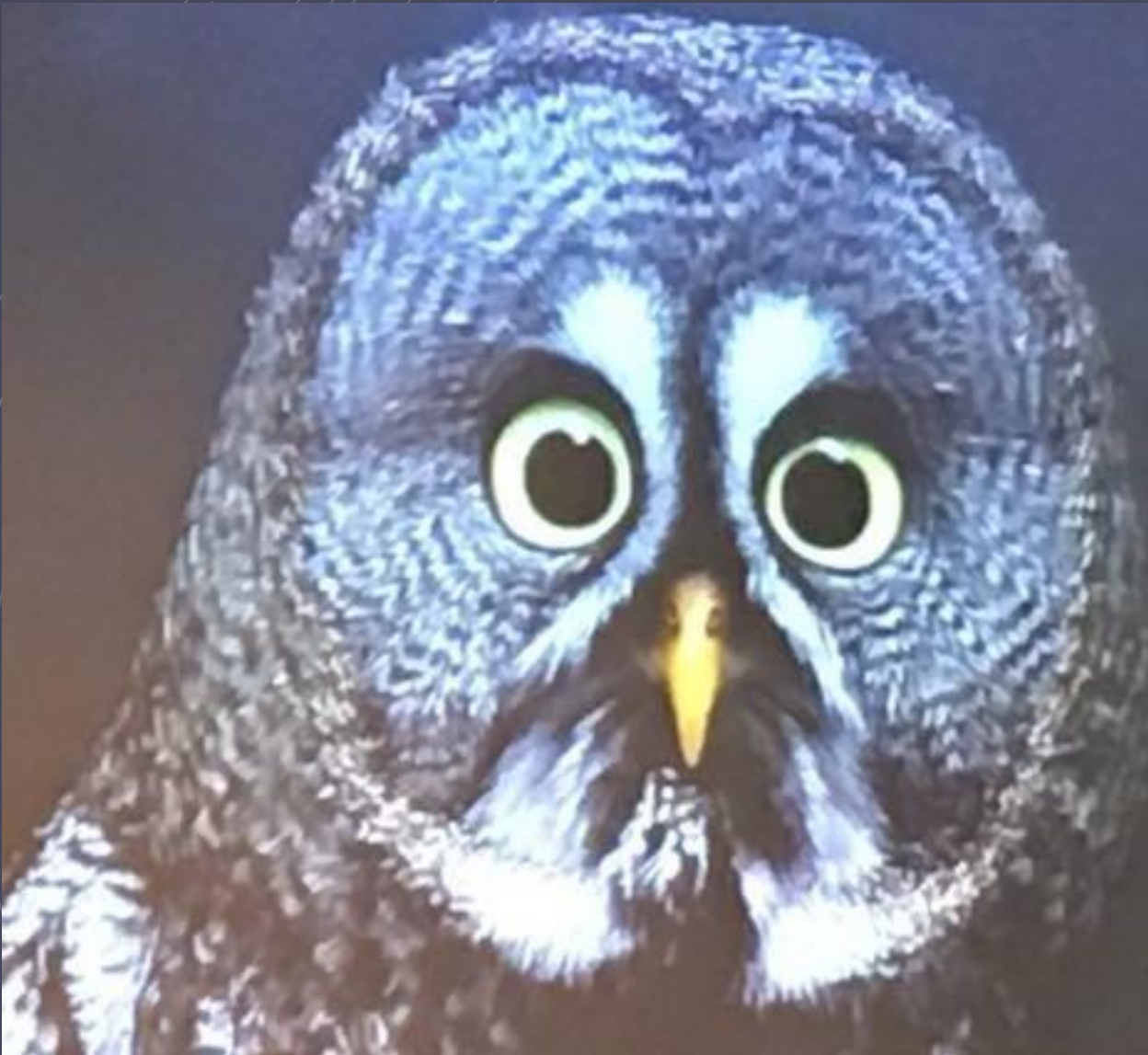
Esame del liquido sinoviale



Conclusioni

L'esame del liquido sinoviale è una procedura diagnostica, in alcuni casi di insostituibile valore, nella pratica clinica di patologie dell'apparato locomotore.

L'esame del liquido sinoviale permette di definire una diagnosi rapidamente, a basso costo ed in maniera inequivocabile come nel caso di artropatie da microcristalli, senza ricorrere ad ulteriori accertamenti diagnostici.



**Chi legge sa
molto; chi
osserva sa
molto di più.**

Alexandre Dumas figlio