Synovial Fluid analysis/Joint Fluid Analysis

آنالیز مایع مفصلی

ارائه: رضا جعفری

دکترای ایمونولوژی

هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود

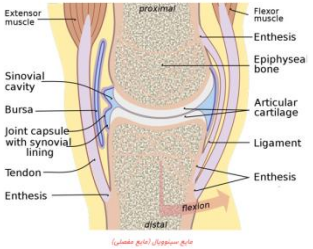
مسئول فنی آزمایشگاه پلی کلینیک تخصصی و فوق تخصصی دانشگاه

rezajafari5599@gmail.com

اهداف این بخش

- آشنایی با ساختار مایع مفصلی
- آشنایی با کاربرد آنالیز مایع مفصلی
- روش جمع آوری مایع مفصلی
- آشنایی با آزمایشات روتین مایع مفصلی

ساختارمایع مفصلی



- یک مایع اولترافیلتراسیون* شده ناکامل از پلاسمای خون به همراه اسید هیالورونیک است که توسط سلول های مفصلی (سینوویال) تولید می شود.

- مولکول‌ها و یون‌های کوچک نظیر Na, K, Glu, Urea به سهولت به داخل فضای مفصلی انتشار می‌یابند بنابراین غلظت آنها با غلظت پلاسمایی برابر است.

- علیرغم یکسان بودن غلظت مایع مفصلی و پلاسمایی اما مولکول‌های بزرگ در مایع مفصلی یا وجود ندارند یا مقدار آنها بسیار کم است. بازجذب موکول‌های مفصلی توسط سیستم لنفاتیک مستقل از اندازه صورت می‌پذیرد.

*اولترا فیلتراسیون (UF) نوعی فیلتراسیون غشایی است که در آن فشار هیدرواستاتیک مایع را بر روی یک غشای نیمه نفوذ پذیر عبور می دهد. مواد جامد معلق و املاح با وزن مولکولی بالا حفظ می شوند، در حالی که آب و املاح کم وزن مولکولی از غشاء عبور می کنند.

مقایسه ترکیبات مایع مفصلی و پلاسما

Constituent	Synovial Fluid	Plasma
Total protein	1–3 g/dL	6–8 g/dL
Albumin	55%–70%	50%–65%
Hyaluronic acid	0.3–0.4 g/dL	-
Glucose	70–110 mg/dL	70–110 mg/dL
Uric acid	2–8 mg/dL	2–8 mg/dL
Lactate	9–29 mg/dL	9–29 mg/dL

کاربرد آزمایش مایع مفصلی

- کمک به تشخیص علت تشکیل مایع مفصلی
- کمک به تشخیص علت التهاب، درد و تورم مفاصل
- کمک به افتراق علل التهابی(RA, SLE, Rheumatic fever) و غیر التهابی(استئوآرتریت، آرتریت تروماتیک) مفاصل (ضروری است)
- کمک به تشخیص آرتریت ناشی از کریستال ها (نقرس و نقرس کاذب)
- کمک به تشخیص تومور بدخیم (سینوویوما)
- کمک به پایش بیماری های مزمن آرتریتی
- تزریق داروهای ضد التهابی مثل کورتون ها

یافته های SF بر اساس گروه بندی نوع بیماری

یافته	طبیعی	گروه ۱ غیر التهابی	گروه ۲ التهابی	گروه ۳ عفونی	گروه ۴ هموراژیک
وضوح	شفاف	شفاف	شفاف/مات	مات	مات
رنگ	زرد روشن/زرد رنگ پریده	زانتوکرومیک	زانتوکرومیک * تا سفید/خونی	سفید	قرمز قهوه ای یا زانتوکرومیک
WBC	0-150	3000>	3000-7500	50000-200000	50-10000
Neutrophil	25>	30>	50<	90<	50>
Rbc	ندارد	ندارد	ندارد	دارد	دارد
اختلاف گلوکز SF/خون	0-10mg/dl	0-10mg/dl	0-40mg/dl	20-100mg/dl	0-20mg/dl

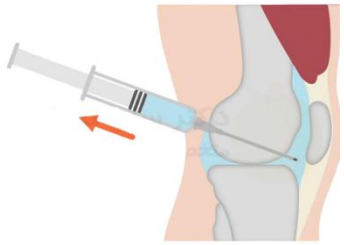
*غالبا به معنی ته رنگ نارنجی یا زرد	استئوآرتریت، آرتریت روماتیک، استئوآرتروپاتی نوروپاتیک	سندرم رایتر، تب روماتیسمی، آرتریت روماتوئید، SLE، آرتریت پسوریاتیک و سینوویت ذرات چربی	عفونت های باکتریایی، قارچی و سل مفصلی	آرتریت روماتیک، آنمی داسی شکل، اختلالات انعقادی و استئوآرتروپاتی نوروپاتیک

جمع آوری نمونه

- نمونه گیری مایع مفصلی که به آن آرتروسنتز گفته می‌شود بایستی در موارد بسیار ضروری انجام شود و نباید در هر موردی مانند درد مفاصل یا یک تغییر بالینی جزئی استفاده شود.

- اگر نمونه گیری توسط یک فرد کار آزموده و با تکنیک استریل انجام نشود خطر باکتریمی یا عفونت خون وجود دارد.

- در هنگام نمونه‌گیری از مفصل این نکته حائز اهمیت است که مفصل بزرگی مثل زانو بیشتر از ۴۰ میلی لیتر مایع مفصلی ندارد بنابراین تا جایی که امکان دارد نمونه‌ای با اندازه کوچک تهیه شود.



- **مشاهده فیلم آرتروسنتز**

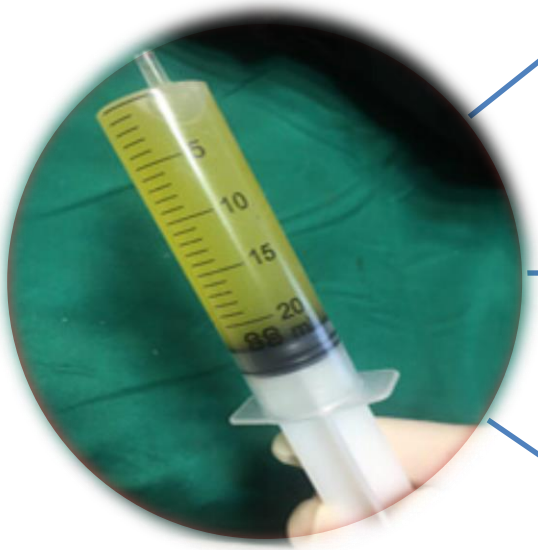
جمع آوری نمونه

- نمونه گیری از مایع مفصلی با یک سرنگ یکبار مصرف استریل انجام می‌شود تا آلودگی اتفاق نیفتد.

- آرتروسنتز باید با یک سرنگ 25U آغشته به هپارین انجام شود. از ضد انعقادهای اکسالات، هپارین لیتیوم و EDTA پودری نباید استفاده کرد (بدلیل ایجاد کریستال).

- پیش از نمونه گیری مفصل بایستی چرخیده شود تا محتویات مایع مفصلی با هم مخلوط شود.

جمع آوری نمونه



- کشت
  - 3-10cc
  - هپارینه
- میکروسکوپی
  - 2-5cc
  - مایعEDTA
- بیوشیمی
  - 5cc
  - بدون ضدانعقاد

چند نکته

- نکته اول: مایع مفصلی به علت عدم وجود فیبرینوژن منعقد نمی‌شود.
- نکته دوم: غلظت بالاتر از 125 lu/ml هپارین اثر مهاری روی باکتری‌های پاتوژن دارد.
- نکته سوم: در صورتی که آسپیره کردن مایع مفصلی به علت خشک بودن مفصل به سختی صورت می‌گیرد؛ تزریق نرمال سالین می‌تواند کمک کننده باشد.

آزمایشات روتین SF

- بررسی ظاهری شامل رنگ و وضوح
- شمارش تام و افتراقی لوکوسیت‌ها
- رنگ آمیزی گرم و کشت باکتریایی هوازی و بی هوازی
- بررسی کریستال با میکروسکوپ پلاریزه

آزمایش SF برای شرایط خاص

- کشت و رنگ آمیزی اسید فست قارچی
- آزمایش PCR برای DNA باکتریایی و مایکو باکتریایی
- لاکتات و دیگر اسیدهای آلی
- کمپلمان
- آنزیم‌ها
- اسید اوریک

بررسی ظاهری SF

- حجم تامSF باید در کنار بستر بیمار ثبت شود؛ بویژه اگر قرار باشد نمونه به بخش‌های مختلف آزمایشگاه ارسال شود

- مایع مفصلی سالم و طبیعی بی رنگ است. اما به علت دیاپدز یا ترومای خفیف ممکن است تعداد اندکی RBC به رنگ زرد کمرنگ دیده شود.

- در موارد التهابی و غیر التهابی ممکن است به رنگ زرد قهوه‌ای یا سبز هم دیده شود.

وضوح SF

- ظاهر مایع مفصلی بستگی به تعداد و نوع ذرات دارد. مایع مفصلی طبیعی شفاف است به طوری که از درون لوله به راحتی می‌توان یک کاغذ روزنامه را قرائت کرد و نواحی سیاه و سفید از پشت لوله قابل تمایز هستند اما در مایع تیره زمینه مبهم دیده می‌شود.

- عامل اصلی تغییر در ظاهر مایع مفصلی لوکوسیت ها هستند. البته تعداد بسیار زیاد کریستال‌ها هم ممکن است یک مایع تیره و شیری مات را ایجاد کنند.

- نمونه براق با ظاهری روغنی احتمال وجود تعداد زیاد کریستال‌های کلسترول را مطرح می‌کند که ممکن است شبیه چرک باشد.

بررسی میکروسکوپی

- شمارش تام سلولی: برای جلوگیری از دست رفتن سلول‌ها ناشی از تخریب، شمارش باید در عرض یک ساعت پس از آرتروسنتز انجام پذیرد.

- شمارش سلول‌ها هم به کمک لام نئوبار و هم سل کانتر می‌تواند انجام شود. در مواقعی که تعداد گلبول‌های سفید بیش از ۵۰ هزار در هر میلی لیتر باشد بایستی نمونه را با نرمال سالین رقیق کرد؛ تا تجمع سلول‌ها اتفاق نیفتد.

- نکته‌ای که در خصوص سل کانتر وجود دارد این است که خطر گرفته شدن روزنه شمارش سلولی به علت وجود ذرات غیر از WBC، کریستال‌ها و سلول‌های چربی وجود دارد.

بررسی میکروسکوپی

- دامنه طبیعی WBCدر مایع مفصلی ۲۰۰ تا ۱۵۰ عدد در هر میکرو لیتر است.

- تعداد گلبول‌های سفید بالاتر از ۱۰۰۰۰ و اغلب بالاتر از ۵۰۰۰۰ در هر میلی لیتر مشخصه آرتریت القا شده در اثر کریستال(نقرس و نقرس کاذب) آرتریت التهابی مزمن مثل آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، اسپوندیلیت انکیلوزان(گرفتگی و خشکی عضلات کمر) و آرتریت سپتیک است.

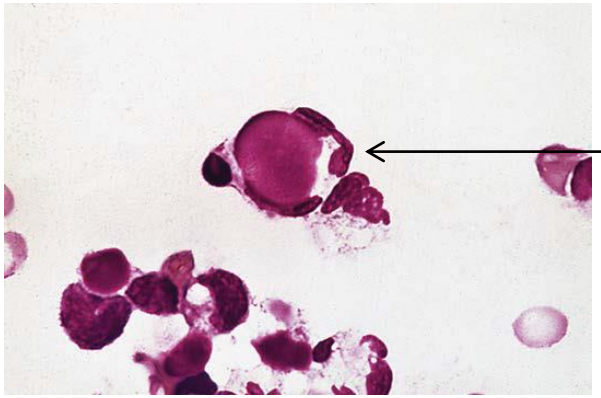
- در استئوآرتریت، تروما و سینوویوما معمولا تعداد گلبول های سفید کمتر از ۱۰ هزار در هر میلی‌متر است.

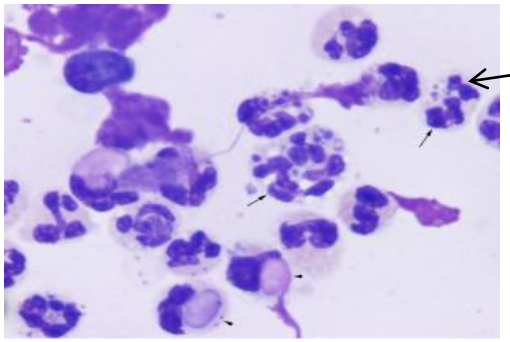
- تعداد گلبول‌های قرمز به جز در مواردی که تروما آشکار دیده می‌شود بایستی شمارش شود. تعداد بالای Rbc ممکن است در شمارش WBC تداخل ایجاد کند.

شمارش افتراقی WBC

- در حالت طبیعی نوتروفیل‌ها ۲۰٪ لکوسیت های مایع مفصلی را شامل می شوند. در نقرس اورات و نقرس کاذب بیش از ۵۰ ٪، درآرتریت باکتریایی حاد نیز بیش از ۷۵ ٪ افزایش می‌یابند. وجود راگوسیت در بیماران مبتلا به نشان دهنده پیامد بدتری باشد.

- در بیماران مبتلا به آرتریت لوپوسی نوتروفیل‌هایی در مایع مفصلی دیده می‌شوند که هسته سلول‌های تخریب شده را فاگوستیت کرده اند که به آنها سلول‌ها سلول‌های LE یا (لوپوس اریتروماتوزی) گفته می‌شود. البته این سلول‌ها درمایع مفصلی بیماران آرتریت روماتوئید نیز دیده می‌شوند.

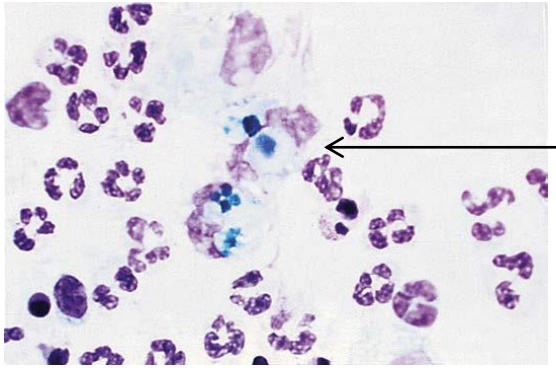




شمارش افتراقی WBC

- حدود ۱۵ % از سلول‌های مایع مفصلی را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند در ابتدای بیماری آرتریت روماتوئید و دیگر اختلالات خود ایمنی و همچنین عفونت‌های مزمن لنفوسیت‌ها در مایع مفصلی غالب هستند.

- رایج ترین سلول موجود در مایع مفصلی که تقریباً ۶۵ ٪ کل تعداد سلول‌ها را شامل می‌شود مونوسیت و ماکروفاژ هستند.
- مونوسیتوز ممکن است خود به خود محدود شود. سلول‌های رایتر در سندروم رایتر(Reiters syndrome) ماکروفاژهای حاوی نوتروفیل های تجزیه شده هستند.



شمارش افتراقی WBC

- ائوزینوفیلی ممکن است در بیماری آرتریت روماتوئید، کارسینوم متاستاز دهنده، عفونت‌های انگلی، کهیر مزمن، آنژیوادم و یا افراد دریافت کننده اشعه دیده شوند.

نکته:

- اجسام لیپیدی در اثر تروما نکروز غیرعفونی و آرتریت روماتوئید در مایع مفصلی دیده می‌شود. این اجسام در زیر نور به شکل صلیب درآمده و ممکن است باعث افزایش کاذب گلبول‌های سفید در سل کانتر شوند.

بررسی کریستال

- وجود کریستال در مایع مفصلی منجر به التهاب حاد و همچنین افزایش تعداد گلوله‌های سفید که بیشتر آنها نوتروفیل بوده می‌شود.

- تشخیص کریستال مخصوصاً اگر داخل سلول های نوتروفیل‌ها یا ماکروفاژها باشد شاخص بیماری آرتریت القا شده در اثر کریستال است.

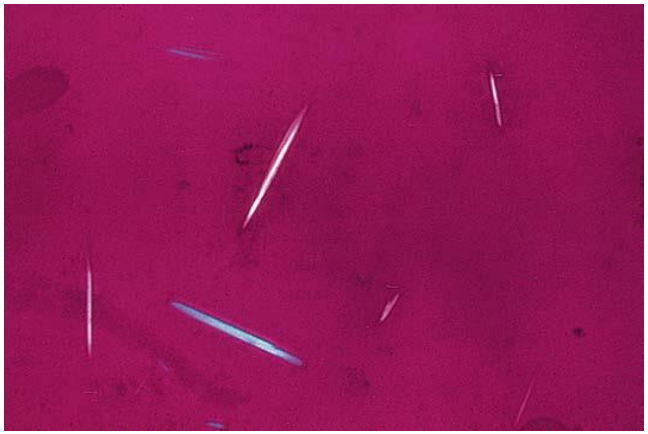
- به فرایند رسوب کریستال در بافت‌های غضروفی نقرس اطلاق می‌گردد و آرتریت نقرس یک پاسخ التهابی به رسوب کریستال‌هاست.

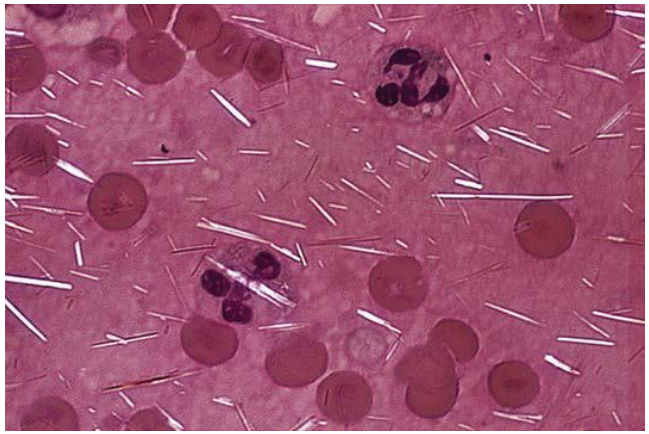
- رایج‌ترین کریستال‌های آندوژن ایجاد کننده آتریت نقرسی مونوهیدرات اورات مونو سدیم (نقرس اورات)، دی هیدرات پیرو فسفات کلسیم(نقرس آپاتیت)، اگزالات کلسیم (نقرس اگزالات) و لیپیدها (نقرس لیپیدی) هستند.

بررسی کریستال

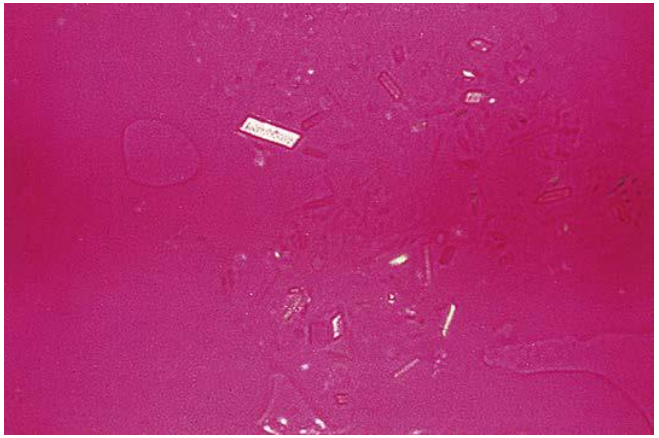
- به جز در مورد نقرس آپاتیت تمام کریستال‌های فوق را می‌توان با میکروسکوپ نور پلاریزه تشخیص داد. برای این کار نیاز به یک نمونه مرطوب و لام و لامل تمیز و خشک می باشد.

- کریستال‌های مونو سدیم اورات به صورت میله‌های سوزنی شکل نوک تیز با طول ۲۰ تا ۵۰ میکرومتر هستند. اگرچه ممکن است یک تا ۲ میکرومتر طول داشته باشند و حتی به صورت کروی و گرد هم دیده شود در زیر میکروسکوپ پلاریزه به رنگ زرد دیده می‌شوند.





کریستال‌های دی هیدرات پیروفسفات



- کریستال های دی هیدرات پیروفسفات (CPDD) در وضعیت‌های تحت عنوان کلی بیماری‌های رسوب کریستال دی هیدرات پیروفسفات مشاهده می‌شوند. این کریستال‌ها به اشکال لوزی میله‌ای یا چهارگوش با طول ۱ تا ۲۰ میکرومتر نمایان می‌شود.

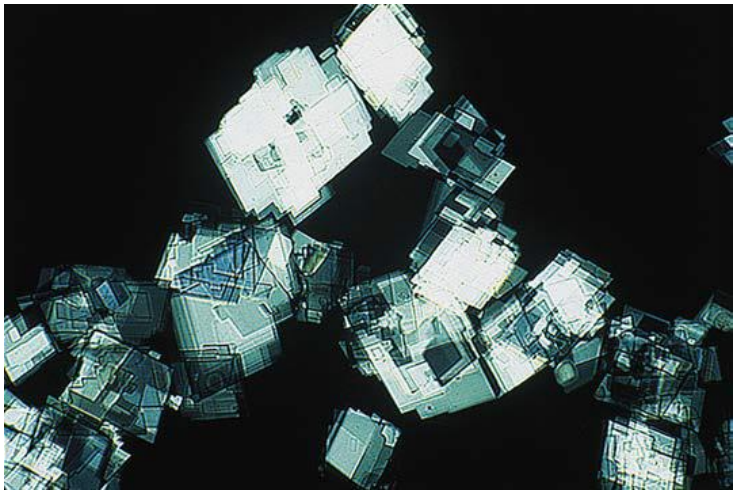
- کریستال‌های CPDD به رنگ آبی دیده می‌شوند و بهتر است برای دیدن آنها از میکروسکوپ فاز کنتراست استفاده شود. زیرا اندازه آنها بسیار کوچک است و با میکروسکوپ پلاریزه به خوبی دیده نمی‌شوند.

- کریستال‌های CPDD با آرتریت تحلیل رونده در ارتباط بوده و در مواردی هم در هایپومنیزیمی، هموکروماتوس، هایپرپاراتیروئیدیسم و هایپوتیروئیدیسم نیز مشاهده می‌شوند.

سایر کریستال ها

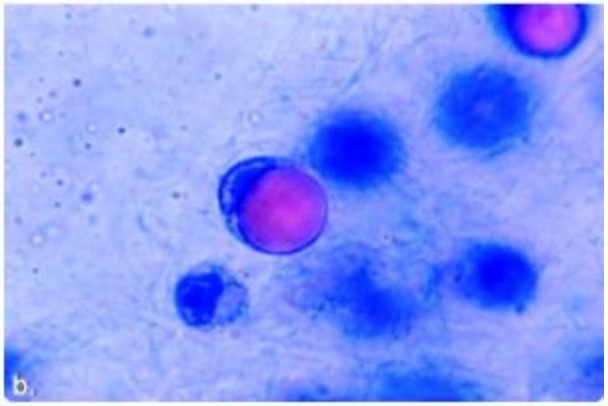
- کریستال های کورتیکو استروئیدهای کریستالین حاصل از تزریق داخل مفصلی هستند ظاهری شبیه کریستال‌های اورات یا CPDD دارند و تا یک ماه پس از تزریق پایدار هستند.

- کریستال‌های کلسترول در مواردی مانند آرتریت سلی، آرتریت روماتوئید و لوپوس دیده می‌شوند.

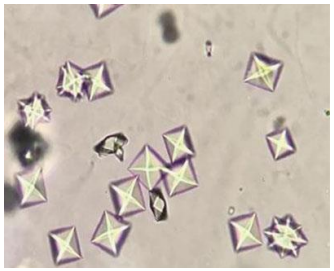


سایر کریستال ها

- کریستال های لیپیدی به عنوان یکی از علل آرتریت حاد مطرح هستند.



- کریستال های دی هیدرات اگزالات پاکت های دو هرمی هشت وجهی هستند که در بیماری نادری به نام آرتروپاتی ناشی از اگزالوزیس دیده می شوند. این کریستال ها همچنین در بیماری مزمن کلیوی و بیماران دیالیزی دیده می شوند.



آنالیز شیمیایی

- آنالیز شیمیاییSF تنها اطلاعات کمکی به آزمایشات روتین می‌افزاید. اگر مایع مفصلی دارای ویسکوسیته بالا باشد بایستی قبل از آنالیز شیمایی با نرمال سالین یا هالونیداز رقیق شود.

- **آنالیز شیمیایی شامل:**

1. آزمایش لخته موسینی
2. اندازه گیری گلوکز
3. اندازه گیری پروتئین
4. اندازه گیری آنزیم ها
5. اندازه گیری اسید های آلی

آزمایش لخته موسینی

- اضافه کردن اسید استیک (۵-۲٪) به مایع مفصلی موجب رسوب هیالورونیدات در درون لخته موسین می‌شود که به صورت خوب، نسبتا خوب، یا ناچیز درجه بندی می‌شود.

- یک آزمایش لخته موسین نسبتا خوب تا ناچیز نشان دهنده رقیق شدن و دپلیمریزاسیون اسیدهیالورونیک است.

- امروزه کاربرد بالینی لخته موسینی بسیار اندک است.

گلوکز

- تفسیر صحیح مقادیر گلوکز، به مقایسه آن با سطح سرمی گلوکز ناشتا نیاز دارد. اختلاف سطح سرمی- سینویال در افراد سالم و بسیاری از شرایط غیر التهابی، کمتر از 10mg/dl است.

- در آرتریت عفونی این تفاوت از 20-60mg/dl متغیر است.

- گلیکولیز داخل لوله آزمایش توسط تعداد زیادی WBC ممکن است مقدار گلوکز مایع مفصلی را به طور کاذب کاهش دهد. لوله‌های آزمایش حاوی فلوراید مانع از کاهش گلوکز مایع مفصلی می‌شود.

پروتئین

- میانگین غلظت طبیعی پروتئین در افراد داوطلب 1.38g/dl است.
- مقدار مرجع قابل اعتماد نیز 1-3g/dl می‌باشد.
- با افزایش التهاب پروتئین‌های بزرگتر مثل فیبرینوژن وارد فضای سینویال می‌شوند و باعث افزایش میزان پروتئین مایع مفصلی می شوند.

- احتمال ایجاد لخته‌های خود به خودی در لوله‌های فاقد ضد انعقاد وجود دارد.

- اندازه‌گیری پروتئین مایع مفصلی غیر اختصاصی است به طوری که برای اختلالات التهابی حساسیت آن ٪۵۲ و اختصاصیت آن ٪۵۶ درصد است.

آنزیم‌ها

- آنزیم‌های مختلف از جمله لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آدنوزین د آمیناز، اسید و آلکالن فسفاتاز و لیزوزیم‌ها در مایع مفصلی وجود دارند.

- لاکتات دهیدروژناز در روماتیسم مفصلی (RA)، نقرس و آرتریت عفونی و آتروپلاستی‌ها افزایش می‌یابند. این افزایش بیشتر به دلیل نفوذ نوتروفیل‌ها می‌باشد.

- افزایش اسید فسفاتاز در روماتیسم مفصلی ارزش پیشگویی کننده منفی دارد.

اسیدهای آلی

- سطح اسید لاکتیک مایع مفصلی در بیماران مبتلا به آرتریت عفونی در مقایسه با آرتریت تک مفصلی غیر عفونی بیشتر است.

- افزایش بیش از 30mg/dl اسید لاکتیک با آرتریت عفونی ناشی از کوکسی‌های گرم مثبت و باسیل‌های گرم منفی در ارتباط است.

- به نظر می‌رسد اندازه‌گیری سطح دی لاکتات در مایع مفصلی روش سودمندی برای تشخیص التهاب باکتریایی است.

بررسی ایمونولوژیکی

- در مایع مفصلی حدود ۶۰ ٪ بیماران مبتلا به روماتیسم مفصلی فاکتور RF دیده می‌شود.

- در مایع مفصلی ۷۰ ٪ از بیماران مبتلا به لوپوس و ۲۰ ٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید آنتی بادی‌های ضد هسته (ANA) دیده می‌شود.

بررسی میکروبیولوژی

- انتقال سریع مایع مفصلی به آزمایشگاه در تشخیص سریع یک عامل عفونی حائز اهمیت است.

- آرتریت عفونی می تواند حاد یا مزمن باشد. حساسیت رنگ آمیزی گرم برای عفونت‌های استافلیکوکوکی حدود ٪۷۵، برای اکثر ارگانیسم‌های گرم منفی ۵۰ ٪ و برای عفونت‌های گونوکوکی کمتر از ۲۵ ٪ است.

- کشت مایع مفصلی برای عفونت‌های غیرگونوکوکی در بیمارانی که آنتی بیوتیک مصرف نکرده‌اند حساسیت ۷۵ تا ۹۵ ٪ دارد.

- در بیماران عفونی شده با گونوره آ حساسیت تنها ۱۰ تا ۵۰ ٪ است. در بیماران مبتلا به آرتریت مزمن رنگ آمیزی زیل نلسون توصیه می‌شود.

یافته های مهم مایع مفصلی در ضایعات مختلف

بیماری ها	ویسکوزیته	گلوکز	تعداد کل سلول ها	نوتروفیل ها	تست های اختصاصی
مایع سینوویال طبیعی	طبیعی یا افزایش	بعد از روزه در همان سطح	0 تا 200 بر سانتی متر مربع	0 تا 25 درصد	*
نقرس	کم	طبیعی تا 30 میلی گرم در دسی لیتر، زیر سطح خون	2000 تا 50000 بر سانتی متر مربع	40 تا 90 درصد	بلورهای اورات
نقرس کاذب	کم	طبیعی	2000 تا 50000 بر سانتی متر مربع	35 تا 85 درصد	بلورهای کلسیم پیروفسفات
روماتیسم مفصلی	کم	طبیعی تا 30 میلی گرم در دسی لیتر، زیر سطح خون	2000 تا 50000 بر سانتی متر مربع	70 تا 80 درصد	فاکتور RA مثبت است
لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE)	معمولی یا کم	طبیعی تا 20 میلی گرم زیر سطح خون	2000 تا 5000 بر سانتی متر مربع	10 تا 30 درصد	آماده سازی سلول های LE
آرتروز	طبیعی	*	500 سلول بر سانتی متر مربع	25 درصد	قطعات غضروف
تروما همراه با خونریزی	طبیعی	*	بیشتر از 5000 سلول در سانتی تر مربع	25 تا 50 درصد	گلبول های قرمز فراوان
آرتریت باکتریایی حاد	کم	بیش از 40 میلی گرم زیر سطح خون	بیشتر از 50000 سلول بر سانتی متر مربع	75 تا 95 درصد	کشت و رنگ آمیزی گرم
تب روماتیسمی حاد	کم	کاهش اندک	2000 تا 15000 سلول بر سانتی متر	50 تا 60 درصد	*

جمع بندی

- مایع مفصلی یک مایع اولترافیلتراسیون* شده ناکامل از پلاسمای خون به همراه اسید هیالورونیک است که توسط سلول های مفصلی (سینوویال) تولید می شود.

- آنالیز مایع مفصلی برای کمک به تشخیص علت التهاب، درد و تورم مفاصل کاربرد دارد.

- آنالیز مایع مفصلی عمدتا شامل بررسی ظاهری شامل رنگ و وضوح، شمارش تام و افتراقی لوکوسیت‌ها، رنگ آمیزی گرم و کشت باکتریایی هوازی و بی هوازی و بررسی کریستال با میکروسکوپ پلاریزه می باشد.

منابع

1. HENRY'S CLINICAL DIAGNOSIS AND MANAGEMENT BY LABORATORY ISBN: 978-0-323-67320-4 TWENTY-FOURTH EDITION, 2022

1. https://metaorganon.com/synovial-fluid-analysis/

2. Synovial fluid analysis, Scott R. Brannan MD, David A. Jerrard MD, 2006

3. Synovial fluid analysis, Seidman AJ , Limaiem, 2019

سپاس
بابت
توجه شما