

Synovialflüssigkeit – Teil 2: Labormedizinische Untersuchung

Im Teil 1 dieses Artikels über Synovialflüssigkeit wurden Anatomie und Zusammensetzung von Synovialflüssigkeit sowie die Indikationen für ihre Untersuchung erörtert sowie einige Tipps zur Probengewinnung und -Handhabung geliefert. Dieser zweite Teil beschreibt nun die üblichen labormedizinischen Analysen.

Labormedizinische Untersuchung

Ähnlich der Aufarbeitung anderer Körperflüssigkeiten folgt die labormedizinische Untersuchung von Synovialflüssigkeit gewöhnlich den folgenden Schritten:

1. Physikalische Untersuchung
2. Zelluläre Untersuchung – automatisiert oder mikroskopisch
3. Klinisch-chemische Analyse
4. Mikrobiologische Analyse
5. Serologische Untersuchungen

1. Physikalische Untersuchung

Farbe und Transparenz

Eine Erfassung des äußerlichen Erscheinungsbilds ist ein essentieller Teil der Untersuchung von Synovialflüssigkeit. Normale Synovialflüssigkeit ist klar und farblos bis leicht gelblich (Abb. 1 links). Die Färbung wird deutlicher Gelb in Anwesenheit von nichtentzündlichen Gelenkergüssen (Abb. 1 mittig) und kann bei bakteriellen Infektionen einen grünlichen Farbstich aufweisen (Abb. 1 rechts).

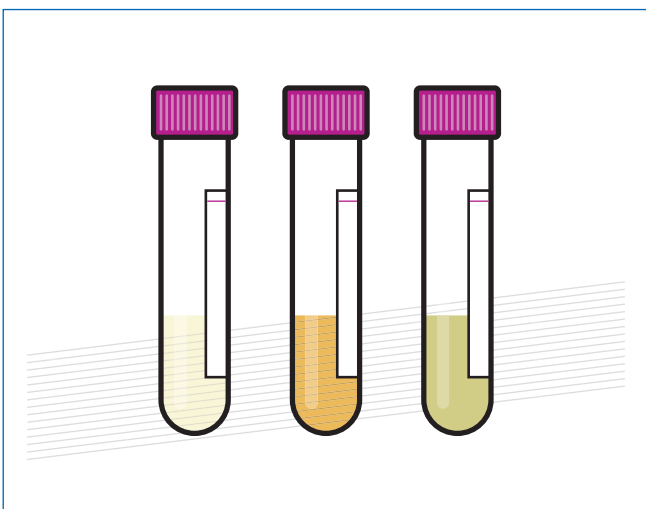


Abbildung 1 Das optische Erscheinungsbild von Synovial- oder Gelenkflüssigkeit

In der Anwesenheit von Einblutungen reicht die Färbung von Rot bis Braun oder Xanthochrom. Zu unterscheiden ist aber zwischen Blut in der Probe aufgrund von Hämarthrose und solchem, dass sich aufgrund von Gefäßverletzungen bei der Aspiration in der Probe befindet. Der entscheidende Hinweis ist hierbei meist eine ungleichmäßige Verteilung des Blutes in Proben, bei denen es zu Gefäßverletzungen kam.

Trübung ist ein starker Hinweis auf entzündliche Erkrankungen. Trübe, gelbliche Proben weisen auf eine Entzündung durch die Anwesenheit von Leukozyten (WBC) hin. Debris von Synovialzellen und Fibrin können aber auch zur Trübung führen. Beim Auftreten von Kristallen kann die Flüssigkeit weißlich oder milchig wirken.

Viskosität

Die Viskosität von Synovialflüssigkeit beruht auf der Polymerisation von Hyaluronsäure und ist für die ausreichende Schmierung der Gelenke notwendig. Arthritis beeinflusst sowohl die Neubildung von Hyaluronsäure als auch ihre Fähigkeit zur Polymerisation und verringert so die Viskosität der Flüssigkeit. Es gibt mehrere Methoden, die Viskosität der Synovialflüssigkeit zu messen: Die einfachste ist, die Fähigkeit der Flüssigkeit, Fäden von der Spitze einer Spritze zu bilden, zu beurteilen – ein Test, der bereits direkt am Patientenbett durchgeführt werden kann. Im Normalfall sollten diese Fäden zwischen 4 und 6 cm lang sein.

Eine semiquantitative Messung kann mit dem Mucinausfällungstest, auch »Ropes-Test« genannt, durchgeführt werden. Wenn sie zu einer 2–5% Essigsäurelösung gegeben wird, bildet normale Synovialflüssigkeit ein kompaktes Gerinnsel, das von klarer Flüssigkeit umgeben wird. Mit abnehmender Polymerisationsfähigkeit der Hyaluronsäure wird das Gerinnsel weniger fest und die Trübung der umgebenden Flüssigkeit nimmt zu. Der Mucinausfällungstest wird als »gut« (festes Gerinnsel), »ausreichend« (weiches Gerinnsel), »niedrig« (krümelige Gerinnsel) und »schlecht« (keine Gerinnsel) ausgewertet. Der Mucinausfällungstest wird gewöhnlich nicht mehr durchgeführt, da alle Formen von Arthritis die Viskosität herabsetzen und so kaum diagnostisch weiterführende Informationen gewonnen werden. Die Bildung eines Mucingerinnsel nach Hinzufügen von Essigsäure kann allerdings verwendet werden, um eine Probe unbekanntes Ursprungs als Synovialflüssigkeit zu identifizieren.

Sehr viskose Synovialflüssigkeit muss möglicherweise für die weitere Analyse vorbehandelt werden, indem man 400 Einheiten des Enzyms Hyaluronidase auf 1 mL Flüssigkeit gibt und die Mischung 10 Minuten bei 37 °C inkubiert [1].

2. Zelluläre Analyse

Zellzählung

Für die Zellzählung müssen Proben mit Antikoagulans – entweder Heparin oder EDTA – behandelt werden. Die Gesamtkonzentration der Leukozyten (WBC#) ist die häufigste bei Synovialflüssigkeit durchgeführte Zellzählung. Erythrozytenkonzentrationen (RBC#) werden selten angefordert. Die vorhandene Literatur zeigt, dass die Gesamtkonzentration der Leukozyten mit der Zeit abnimmt, was zu irreführenden Ergebnissen führen kann, die eine korrekte Diagnose des Patienten verhindern [2]. Es ist daher von besonderer Bedeutung, diese Analysen unverzüglich nach der Probengewinnung durchzuführen. Allgemein ist es wichtig, dass Proben von Synovialflüssigkeit nach Gewinnung so schnell wie möglich analysiert werden, um Fehlmessungen vorzubeugen. Insbesondere die Leukozytenkonzentration und -differenzierung sollten idealerweise nur an frischen Proben bestimmt werden.

Manuelle Zählungen gründlich durchmischter Proben von Synovialflüssigkeit werden in der Neubauer-Zählkammer analog der Auswertung von Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) durchgeführt. Klare Flüssigkeit kann gewöhnlich ohne weitere Verdünnung analysiert werden, aber bei blutigen oder trüben Proben kann eine Verdünnung notwendig sein. Sollte es notwendig sein, vor der Zählung Erythrozyten zu lysieren, bieten sich hypotone Kochsalzlösung (0,3%) oder Kochsalzlösung mit Saponin als Verdünnungsmittel an. Methylenblau in einer isotonischen Kochsalzlösung färbt den Zellkern von Leukozyten und erlaubt so die Unterscheidung zwischen Leukozyten und Erythrozyten in Proben, die RBC enthalten.

Auch wenn optische Mikroskopie immer noch als Referenzmethode für die Leukozytenzählung angesehen wird, wurden die Nachteile in der Vergangenheit bereits herausgestellt: Hierzu zählen hohe Kosten, niedriger Durchsatz, hoher Zeitaufwand, fehlende Harmonisierung zwischen Laboren, hohe Impräzision (besonders bei Proben mit niedriger Konzentration) und die Voraussetzung speziell geschulten Personals für die Durchführung der Analyse [3, 4].

Die neuesten Leistungsbewertungen bestätigen, dass die automatisierte Zählung von WBC in Synovialflüssigkeit exzellente Ergebnisse liefert, die sie zu einer zuverlässigen und praktischen Alternative für die optische Mikroskopie machen [3–5]. Die Mehrzahl der Anbieter entsprechender Analysensysteme im Markt bieten auch Qualitätskontrollmaterial an, um die hohe Präzision der Zellzählungen zu überprüfen.

Differentialbild

Die Leukozytendifferenzierung wird gewöhnlich entweder aus zentrifugierten Präparaten oder aus dünn ausgestrichenen Objektträgern, gefolgt von May-Grünwald-Giemsa-Färbung durchgeführt.

Ungefähr die Hälfte der kernhaltigen Zellen sind Monozyten, 25 % Lymphozyten, der Rest verteilt sich auf Neutrophile, Makrophagen und Zellen des synovialen Mantels.

Die Evidenz für die Verwendung von Leukozytenkonzentration und -differenzierung in Synovialflüssigkeit variieren. Die Ergebnisse zur Gesamtleukozytenkonzentration und der Differenzierung gehen dabei bemerkenswert auseinander. Insgesamt unterstreicht das Gros der Lehrbücher und Publikationen, dass die Kombination der Leukozytenkonzentration mit der Zählung polymorphkerniger Zellen (PMN) ein wichtiges Mittel für die zügige Unterscheidung von nichtentzündlichen gegenüber entzündlichen und septischen Erkrankungen darstellt. Dabei sind allerdings WBC und PMN alleine nur begrenzt bei der Unterscheidung dieser verschiedenen Zustände von Nutzen, da ihre Verteilung sehr breit ist und überlappt. Mittlerweile zitieren viele Lehrbücher und Publikationen das folgende Klassifizierungssystem, das von der American Rheumatism Association (Amerikanischer Rheuma-Verband) aufgestellt wurde [4]:

- Normal: WBC < 200 x 10⁶/L, PMN < 25 %
- Nichtentzündlich: WBC < 2.000 x 10⁶/L, PMN < 25 %
- Entzündlich: WBC 2.000–50.000 x 10⁶/L, PMN > 50 %
- Septisch: > 50.000 x 10⁶/L, PMN > 75 %

Die in Synovialflüssigkeit am häufigsten zu findenden Zellen und Einschlüsse sind in der Tabelle 1 aufgeführt [6]. Bei der Begutachtung sowohl von normalphysiologischen wie von abnormalen Proben im Mikroskop sollte berücksichtigt werden, dass Zellen in Synovialflüssigkeit stärker vakuolisiert erscheinen können als in einem Blutaussstrich.



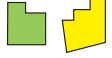



Identifikation von Kristallen

Die mikroskopische Untersuchung von Synovialflüssigkeit mittels Polarisationsmikroskopie zur Erkennung des Vorkommens von Kristallen ist ein wichtiger diagnostischer Test bei der Untersuchung nach Arthritis. Kristallbildung in Gelenken verursacht häufig akute, schmerzhafte Entzündungen – sie kann aber auch chronisch werden. Ursachen für Kristallbildung können Stoffwechsel-Störungen oder verminderte Ausscheidungsraten der Niere sein, die erhöhte Konzentrationen der kristallisierenden Verbindungen im Blut bewirken, die Degeneration von Knorpel oder Knochen, oder auch die direkte Injektion von Medikamenten – wie z. B. Kortikosteroide – in ein Gelenk. Die Tabelle 2 [6] fasst die im Allgemeinen in Synovialflüssigkeit zu findenden Kristalle zusammen.

Tabelle 1 In Synovialflüssigkeit beobachtbare Zellen und Einschlüsse

Zelle/Einschluss	Beschreibung	Tritt häufig auf bei:
Knorpelzellen	Große, mehrkernige Zellen	Arthrose
Fetttröpfchen	Refraktile intra- und extrazelluläre Kügelchen, die mit Sudan angefärbt werden können	Verletzungen und chronische Entzündungen
Hämosiderin	Einschlüsse in Gruppen von Synovialzellen	pigmentierte villonoduläre Synovialitis (tenosynovialer Riesenzelltumor)
LE-Zelle	Neutrophiler mit charakteristischen runden Einschlüssen	Lupus erythematoses
Lymphozyt	Mononukleärer Leukozyt	Nichtseptische Entzündungen
Makrophage (Monozyt)	Großer mononukleärer Leukozyt, der vakuolisiert erscheinen kann	Virale Infektionen
Neutrophil	Mehrkerniger Leukozyt	Bakterielle Sepsis, kristall-induzierte Entzündung
Reiter-Zelle	Vakuolisierter Makrophage mit phagozytierten Neutrophilen	Morbus Reiter, reaktive Entzündungen
Rhagozyt	Mehrkerniger Phagozyt mit zytoplasmischen Körnchen, die aggregierte Immunglobuline enthalten, Fibrin, Komplement und Rhemafaktor	Rheumatoide Arthritis, immunologische Entzündung
Reiskörper	Ähneln makroskopisch glatt polierten Reiskörnern, enthalten Kollagen und Fibrin	Tuberkulose, septische und rheumatoide Arthritis
Synovialozyten	Ähneln Makrophagen, können aber mehrkernig sein	Immer physiologisch

Tabelle 2 Charakteristika von in Synovialflüssigkeit beobachtbaren Kristallen

Kristall	Form		Ursache
Natriumurat (MSU)		Nadeln	Gicht
Kalzium-Pyrophosphat		Rhombische Quadrate und Stäbe	Pseudogicht
Cholesterin		Gekerbte, rhombische Platten	Hohe Konzentration von Cholesterin im Blut
Kortikosteroide		Flache Plättchen von variabler Form	Injektionen
Kalziumoxalat		Briefumschlagartig	Dialyse
Apatit (Kalziumphosphat)		Kleine Partikel	Arthrose

3. Klinisch-chemische Analyse: Glukose, Protein, Harnsäure

Der am häufigsten angeforderte Test ist die Bestimmung der Glukose-Konzentration, da deutlich erniedrigte Werte auf eine Entzündung oder septische Erkrankungen hinweisen. Da unter Normalbedingungen die Glukosewerte der Synovialflüssigkeit eng mit denen des Blutes zusammenhängen, sollten Blut- und Synovialflüssigkeitsproben gleichzeitig abgenommen werden. Dies sollte vorzugsweise geschehen, wenn der Patient nüchtern ist (8 Stunden fasten), um sicherzustellen, dass Blut und Synovialflüssigkeit im Gleichgewicht sind. Unter diesen Bedingungen sollte die Glukosekonzentration in der Synovialflüssigkeit nicht mehr als 10 mg/dL unter der Plasmakonzentration liegen. Um falsch-niedrige Werte durch Glykolyse zu vermeiden, sollten die Proben innerhalb einer Stunde nach Abnahme gemessen oder mit Natriumfluorid konserviert werden [6].

Mit Ausnahme einiger hochmolekularer Proteine wie Fibrinogen, beta-2-Makroglobulin und alpha-2-Makroglobulin enthält Synovialflüssigkeit alle Proteine, die auch im Plasma zu finden sind. Die meisten mit Serum durchgeführten Protein-Testverfahren sind daher auch zur Messung von Proteinen in Synovialflüssigkeit geeignet. Normalerweise finden sich 1–3 g/dL Protein in der Synovialflüssigkeit [6]. Erhöhte Proteinkonzentrationen werden bei entzündlichen und hämorrhagischen Krankheitsbildern beobachtet, allerdings führt die Messung von Synovialprotein bei der Bestimmung dieser Krankheitsbilder nicht unbedingt weiter.

Bekannterweise ist bei Gicht die Konzentration von Harnsäure im Serum erhöht. Die Messung der Harnsäurekonzentration in Synovialflüssigkeit kann daher die Diagnose Gicht erhärten, wenn keine Kristalle in der Flüssigkeit beobachtet werden konnten. Die Messung der Konzentration im Serum dient oft der ersten Überprüfung eines Verdachts auf Gicht.

4. Mikrobiologische Tests [6]

Infektionen des Gelenks können entweder als Komplikation einer verletzungsbedingten Entzündung oder durch das Ausbreiten einer systemischen Infektion auftreten. Gram-Färbungen und Kulturen sind daher zwei der wichtigsten Tests, die mit Synovialflüssigkeit durchgeführt werden. Es müssen dabei grundsätzlich beide Tests durchgeführt werden, da einige Organismen übersehen werden, wenn nur die Gram-Färbung zur Anwendung kommt.

Am häufigsten werden bakterielle Infektionen beobachtet, Pilzinfektionen und virale Infektionen können aber auch vorkommen. Besteht der Verdacht, dass diese vorliegen könnten, sollten spezielle Kulturmethoden verwendet werden. Die Historie des Patienten und andere Symptome können bei der Anforderung weiterer Tests helfen.

Standardkulturen für Bakterieninfektionen sollten ein Anreicherungsmedium wie Kochblut-Agar («Schokoladenagar») verwenden, da neben Staphylokokken und Streptokokken auch anspruchsvolle Haemophilus-Arten sowie *Neisseria gonorrhoeae* häufig Synovialflüssigkeit befallen.

5. Serologische Tests [6]

Da Gelenkerkrankungen oft eine immunologische Komponente haben, spielen serologische Tests eine bedeutende Rolle bei ihrer Diagnose. Allerdings werden die meisten dieser Tests auch im Serum durchgeführt, während die tatsächliche Analyse der Synovialflüssigkeit nur zur Bestätigung in ansonsten schwierig zu diagnostizierenden Fällen dient.

Die Autoimmunerkrankungen rheumatoide Arthritis und Lupus erythematodes verursachen schwerste Entzündungen der Gelenke und werden durch den Nachweis bestimmter Antikörper im Serum des Patienten diagnostiziert. Die gleichen Antikörper sind, falls notwendig, auch in Synovialflüssigkeit nachweisbar.

Arthritis ist aber auch eine häufige Komplikation der Lyme-Borreliose. Können daher Antikörper gegen den Verursacher *Borrelia burgdorferi* im Serum nachgewiesen werden, kann dies den Ursprung einer Arthritis bestätigen. Die Schwere der Entzündung kann bestimmt werden, indem die Konzentration von Akut-Phase-Reaktanten wie Fibrinogen oder C-reaktives Protein (CRP) gemessen wird.

Zusammenfassung

Die labormedizinische Untersuchung von Synovialflüssigkeit ist komplex und bedarf geschulten Personals. Hinzu kommt, dass es aufgrund des niedrigen Probenaufkommens häufig schwierig ist, mit diesem Material ausreichend Erfahrungen zu sammeln.

Die Automatisierung der Labortests kann zur Standardisierung der Tests beitragen und nicht nur die Durchlaufzeit verringern, sondern auch dabei helfen Transkriptionsfehler zu vermeiden [3, 4, 7].

Literatur

- [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] *Seghezzi M et al.* (2016): *Optimization of Cellular analysis of Synovial Fluids by optical microscopy and automated count using Sysmex XN Body Fluid Mode. Clinica Chimica Acta.* 462:41–8.
- [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.

Sysmex Deutschland GmbH

Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Deutschland · Telefon +49 40 534102-0 · Fax +49 40 5232302 · info@sysmex.de · www.sysmex.de

Sysmex Suisse AG

Tödistrasse 50, 8810 Horgen, Schweiz · Telefon +41 44 718 38 38 · info@sysmex.ch · www.sysmex.ch

Sysmex Austria GmbH

Odoakergasse 34–36, 1160 Wien, Österreich · Telefon +43 1 4861631 · Fax +43 1 486163125 · office@sysmex.at · www.sysmex.at

Sysmex Europe GmbH

Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Deutschland · Telefon +49 40 52726-0 · Fax +49 40 52726-100 · info@sysmex-europe.com · www.sysmex-europe.com

Die für Ihre Region zuständige Sysmex Niederlassung finden Sie unter www.sysmex-europe.com/contacts