

关节腔积液细胞形态学检验中国专家共识(2023)

君安医学细胞平台专家委员会

摘要: 关节腔积液细胞学检验是临床常用的检验项目之一, 其对关节疾病的诊断、鉴别诊断、指导治疗具有重要意义。该文通过介绍关节腔积液细胞学检验目的、标本采集、检验程序、临床意义等内容, 使其操作规范化、标准化, 更好地发挥临床检验价值。

关键词: 关节腔积液; 细胞学检验; 专家共识

中图分类号: R446.19 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 03-024-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.03.005

Consense of Chinese Experts on Cellular Morphological Examination of Joint Cavity Effusion (2023)

Expert Committee of J.EDU Medical Cell Platform Soliciting Contributions

Abstract: The cytology of joint cavity effusion is one of the most commonly used tests in clinical practice, and is of great significance in the diagnosis, differential diagnosis and guidance of treatment of joint diseases. This article introduces the purpose, specimen collection, test procedure and clinical significance of the cytology test for joint cavity effusion in order to standardise and normalize its operation and better utilize its clinical value.

Keyword: joint cavity effusion; cytological examination; expert consense

正常关节腔内分泌极少量的无色透明、黏稠度极高的滑膜液, 不易抽取^[1]。当关节有炎症、损伤等病变时, 滑膜液增多, 称为关节腔积液。关节疾病是临床上的常见病和多发病, 关节腔积液细胞形态学检验可为关节疾病诊断、鉴别诊断、疗效观察和预后评估提供有效证据, 但目前国内关节腔积液细胞形态学检验的水平参差不齐, 检验操作和结果报告尚未规范化。为进一步推广关节腔积液细胞形态学检验, 使其操作及报告规范化、标准化, 经国内多位长期从事该领域研究的君安医学细胞平台专家共同商讨, 整合国内外最新研究进展, 制定出关节腔积液细胞形态学检验专家共识。

1 检验目的

通过理学检查、细胞计数及分类, 准确识别各类细胞及结晶种类, 发现细菌或真菌及其他有形成分, 结合关节腔积液其他实验室检查综合分析, 从细胞学的角度为关节疾病的诊断、鉴别诊断、治疗效果和预后评估提供检验诊断依据。

2 标本采集

关节腔积液由临床医生穿刺获得, 细胞形态学检验标本建议至少留取 1 ~ 3 ml, 当标本量较少时, 应实施让步检验, 不宜拒收。使用标本专用管[有盖、带刻度、肝素钠(25 U/ml)或 EDTA 溶液抗凝, 禁止使用会使黏蛋白沉淀的草酸盐抗凝剂], 采集后加盖, 及时颠倒混匀至少 6 ~ 8 次。采集后需要

做唯一标识(推荐使用条码标签), 至少包括患者姓名、住院号或门诊号及标本类型等信息。

3 标本运送与接收

3.1 标本的运送 标本采集后尽快送检, 应注意生物安全防护, 避免标本外溢。

3.2 标本的接收 标本由检验科人员接收, 仔细核对标本信息、标本种类、标本留取时间、标本容器及标本量等是否符合要求。对于标本量较少时, 检验人员应与临床医生沟通。

4 标本预处理

标本接收后应及时处理检测, 如果标本中有凝块, 可用玻棒轻轻搅拌使凝块中的细胞尽量释放出来, 此时细胞计数和分类结果仅供临床参考, 应在报告单上备注说明, 必要时重新采样复查。

因关节腔积液黏稠度大, 标本计数前更需充分混匀, 可置于自动混匀器混匀 5 ~ 10 min 或手动将试管翻转混匀至少 15 次以上。对于极度黏稠的标本, 推荐 1ml 的关节腔积液加入约 400 单位的透明质酸酶, 37℃水浴 10min 降低黏稠度。

5 细胞计数

5.1 宜使用牛鲍计数板进行有核细胞计数及红细胞计数。

5.2 细胞过多时, 标本需进行稀释。细胞计数时可使用生理盐水稀释标本; 血性标本有核细胞计数时, 可以使用低渗盐水溶液[0.3%(v/v)]裂解红细胞^[2-3],

不能使用冰醋酸裂解红细胞,原因是黏蛋白遇酸会凝固。

5.3 细胞计数按以下程序进行:①吸取少量充分混匀的标本,充入计数板两侧的计数池,静置5~10min。②低倍镜(10×)观察每个大方格内细胞数量相差不超过10个并均匀分布,否则应重新充液。③在高倍镜(40×)下进行细胞计数:若初步估计9个大方格中细胞数少于200个,则计数9个大方格;若估计9个大方格中细胞数大于200个,则计数4个角的大方格;若估计1个大方格中细胞数大于200个,则计数中央大方格内4个角和中央1个中方格。计数压线细胞时,应遵循“数上不数下,数左不数右”的原则^[2-3]。

5.4 有核细胞计数和红细胞计数宜在同一计数池中完成,取两个计数池计数结果的均值进行报告^[2-3]。

6 标本离心

不黏稠或用透明质酸酶处理过后的标本,用相对离心力400g离心5~10min。

7 制片

所有关节腔积液除常规细胞学计数检查外,均需湿片和推片进行显微镜检查。

7.1 湿片法 先滴一滴关节腔积液于玻片上,然后盖上盖玻片,立即观察。

7.2 推片法 将离心后的标本管平稳拿出,避免晃动或颠倒,用一次性塑料吸管缓慢吸出上清液,靠近底部沉淀时可用加样器吸取多余上清液。将底部沉渣混匀,取大约5~20μl标本滴加在载玻片一端,用推片向另一端推制成约2~4cm长度的涂片,推片角度30°~45°;黏稠度较大时,适当减小推片角度和降低推片的速度;黏稠度较小时,适当增加推片角度和速度。对于血性标本,离心后可吸取红细胞层与上清液之间的“白膜”层制片。注意多份标本制片时,推片应避免交叉污染。

7.3 仪器法制片 细胞较少时,推荐使用细胞涂片离心机制片。此法制片细胞收集率明显提高,分布均匀,结构清晰,利于形态辨识。

7.4 制片数量 建议每份标本制作2~4张涂片,用偏振光显微镜查找结晶时推荐厚涂片。如增加其他染色,可增加制片数量。制片结束后,贴上标签纸注明患者的姓名、病历号、日期、标本种类。

8 常用染色方法

8.1 瑞-吉染色 待涂片自然干燥后,采用瑞-吉染色,染色5~10min,根据涂片厚薄和室内温度酌情增减染色时间,沿着玻片的一端用流水冲掉染液,冲洗后涂片置于染色架上片尾朝上自然晾干。

8.2 其他染色 若考虑结核性关节炎需增加抗酸染色,化脓性关节炎可增加革兰染色;怀疑脂质物质

可用苏丹Ⅲ或油红O染色鉴别;普鲁士蓝染色(铁染色)用于检测积液中的含铁血黄素颗粒或含铁血黄素细胞^[4]。

9 阅片与细胞分类

9.1 湿片直接镜检 观察结晶时,光源亮度不宜调太高,应在暗视野下观察,如果有条件使用偏振光观察结晶,此时应先对照阳性质控片^[5]。并尽可能在湿片中间部分观察镜下的有形成分,若只在盖玻片四周出现晶体则可能为伪差,所用盖玻片必须无灰尘及划痕,因为灰尘可呈双折光阳性^[1]。

9.2 涂片染色镜检 使用普通光学显微镜观察,低倍镜浏览全片,观察细胞分布,评估染色效果,查找有无体积较大的细胞或成堆细胞。再用油镜观察和鉴定其性质;选择染色满意、细胞分布均匀的部位以“弓”字形分类100~200个有核细胞,分类结果以百分比形式报告。注意观察病原微生物及其他有形成分。

10 报告

推荐采用图文报告的形式,内容包括常规、细胞学和实验室报告提示三部分。

10.1 常规部分 包括颜色、透明度、黏蛋白凝块形成试验、红细胞计数,有核细胞计数及分类^[3,6]。

10.2 细胞学部分 包括图像的采集和形态学的描述,异常细胞的分级报告、提示和建议等。同时报告其他有形成分如结晶、细菌、真菌、脂肪滴及其他有价值的信息。

10.2.1 形态学描述:通过图像采集系统在镜下选择2~4幅有代表性的图片进行报告。对特殊细胞如肿瘤细胞进行形态学描述,包括细胞的分布、大小、胞质量、胞质内容物、胞质颜色、胞核大小、核形、核染色质排列、核仁数量与大小等。若实验室条件允许,建议用偏振光显微镜进行采图及鉴定结晶。

10.2.2 异常细胞的分级报告:未查见恶性细胞、查见核异质细胞、查见可疑恶性细胞及查见恶性细胞。

10.3 提示及建议 根据细胞的数量、分类情况、形态学上的变化及其他检出的有价值成分(如结晶、微生物等),结合患者临床资料综合分析,向临床提供细胞学检验的合理提示或建议。

11 临床意义

11.1 细胞计数 健康人滑膜液中白细胞极少,一般小于 $500 \times 10^6/L$,关节炎时白细胞总数增高,急性痛风、风湿性关节炎时细胞总数可达 $20\,000 \times 10^6/L$,化脓性关节炎的细胞总数常超过 $50\,000 \times 10^6/L$ 。

11.2 细胞分类计数 健康人滑膜液中单核巨噬细胞约为65%,中性粒细胞和淋巴细胞分别占20%

和10%左右, 偶见滑膜细胞和组织细胞^[1,7]。各有形成分的临床意义如下:

11.2.1 软骨素颗粒: 软骨素颗粒也称软骨素结晶, 健康人滑膜液中大量存在, 瑞-吉染色后呈紫红色、粗沙状、散在分布, 起到润滑、营养、保护关节的作用。软骨素减少意味着关节液质量变差, 应该予以重视^[5,8]。

11.2.2 中性粒细胞: 在非炎性积液中性粒细胞比例常低于50%, 在炎症性积液中高于50%(见图1), 常见于类风湿性关节炎(中、晚期)、赖特(Reiter)综合征、晶体性关节炎急性发作、强直性脊柱炎累及关节、银屑病关节炎、细菌、真菌感染等。典型的化脓性关节炎中性粒细胞比例常高于90%。创伤性关节炎、退变性关节炎、肿瘤(非感染性疾病)等中性粒细胞小于30%^[9]。

11.2.3 淋巴细胞: 健康人滑膜液中仅见少量淋巴细胞, 当免疫性损伤时, 如类风湿性关节炎、红斑狼疮性关节炎、骨性关节炎、系统性硬化症或结核性关节炎时, 滑膜液中成熟淋巴细胞会增多(见图2)。当一些炎症刺激时, 还可伴随胞质变化的反应性淋巴细胞增高^[8]。

11.2.4 单核巨噬细胞: 增高提示慢性炎症, 可见于病毒性关节炎、系统性红斑狼疮等(见图3)。

11.2.5 吞噬细胞: 可吞噬各种物质, 吞噬红细胞(见图4)、含铁血黄素颗粒、血红素结晶可提示不同时间的陈旧性出血; 吞噬脂滴提示外伤性关节炎、类风湿性关节炎等; 吞噬细菌、真菌, 提示相应的感染性关节炎; 吞噬尿酸钠结晶提示痛风; 吞噬焦磷酸钙结晶提示焦磷酸钙晶体沉积病。

11.2.6 滑膜细胞: 是关节内衬细胞, 是保护关节软骨的第一防线, 与间皮细胞形态相似。当成堆或成片脱落时, 说明滑膜损伤严重, 易加速关节结构的破坏和功能损伤, 此时也可见退化、变性的不规则滑膜细胞^[8]。

11.2.7 赖特(Reiter)细胞: 是指吞噬了凋亡的多

核中性粒细胞的单核巨噬细胞。该细胞在防止中性粒细胞自溶方面发挥重要作用, 从而防止局部组织损伤。多见于赖特综合征(结膜炎、关节炎、尿道炎三联征), 也可见于其他多种关节炎, 不具有特异性。

11.2.8 狼疮(LE)细胞: 可见于系统性红斑狼疮(SLE)、自身免疫性疾病、慢性活动性肝炎、结核等, 在新鲜涂片上发现狼疮细胞则有助于系统性红斑狼疮的诊断^[1]。此细胞应与吞噬细胞核的中性粒细胞-塔特(tart)细胞相鉴别^[10]。

11.2.9 类风湿细胞: 又称为“包涵体细胞”, 中性粒细胞吞噬了由免疫复合物、补体、类风湿因子、纤维蛋白等组成的包涵体, 多位于胞质周边位置。主要出现于类风湿性关节炎的患者中, 往往提示预后不良, 但也可见于其他炎症性关节炎。

11.2.10 嗜酸性粒细胞: 可见于莱姆病、类风湿性关节炎、寄生虫感染、过敏反应等。

11.2.11 红细胞: 常见于穿刺本身造成的出血, 也可能是创伤、骨折、血管瘤、凝血功能障碍、色素沉着绒毛结节性滑膜炎、肿瘤等原因造成的陈旧性的出血。

11.2.12 多核巨细胞: 可见于痛风性关节炎、结核病、骨肿瘤等。

11.2.13 肿瘤细胞: 关节腔积液中肿瘤细胞很罕见, 可以是原发的, 也可以来自于其他原发性肿瘤的转移, 如白血病、淋巴瘤、腺癌等。

11.2.14 微生物: 最常见的感染细菌主要是金黄色葡萄球菌, 也可见大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、淋病奈瑟菌、结核分枝杆菌的感染。真菌感染比较罕见, 主要是免疫抑制状态、广谱抗生素的使用或关节的直接感染。

11.2.15 结晶: 普通光学显微镜及偏振光显微镜均可以查找结晶, 偏振光相差显微镜检出率更高, 其中碱性磷酸钙结晶通过茜素红染色可以有一定鉴别作用^[11]。关节腔积液中主要晶体及特征见表1。

表1 偏振光相差显微镜可见关节腔积液中主要晶体及特征

主要晶体	形状	光强度	光延展性	大小(μm)	常见疾病
尿酸钠结晶(MSU)	针尖状或短杆	强	阴性	亚显微~40	痛风性关节炎 ^[12] (见图5)
二水焦磷酸钙结晶(CPPD)	菱形或宽条状	弱	阳性	亚显微~40	骨性关节炎、焦磷酸钙晶体沉积病(假性痛风) ^[13] (见图6)
羟磷灰石结晶	单个为六边形, 或成簇的光亮钱币样	/	/	1.9~15.6	钙化性肩周炎、密尔沃基综合征(MSS)和骨关节炎、关节羟基磷灰石沉积病 ^[14]
类固醇结晶	针棒状、不定形	常强	不定	1~40	关节注射治疗后形成
胆固醇结晶	缺角的矩形	弱	阴性	5~40	慢性滑囊炎、滑膜炎、类风湿性关节炎、骨性关节炎 ^[15]

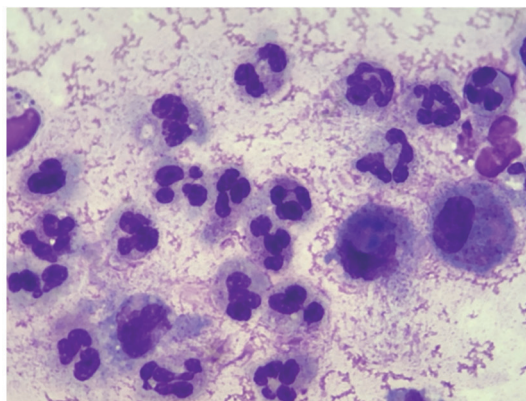


图1 急性炎症(瑞-吉染色 1000×)

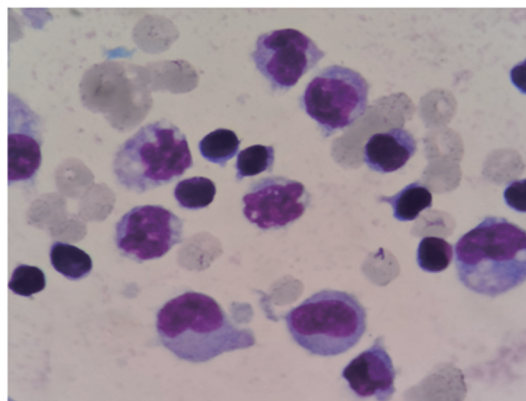


图2 免疫性损伤关节病(瑞-吉染色 1000×)

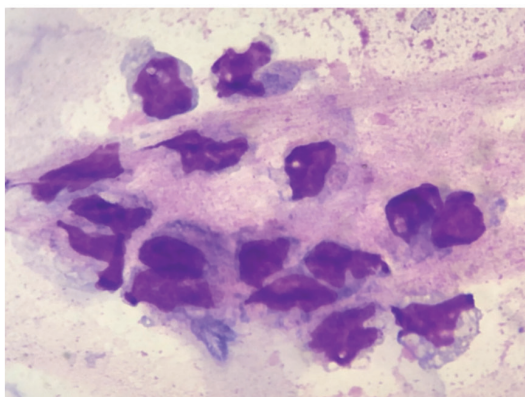


图3 慢性炎症(瑞-吉染色 1000×)

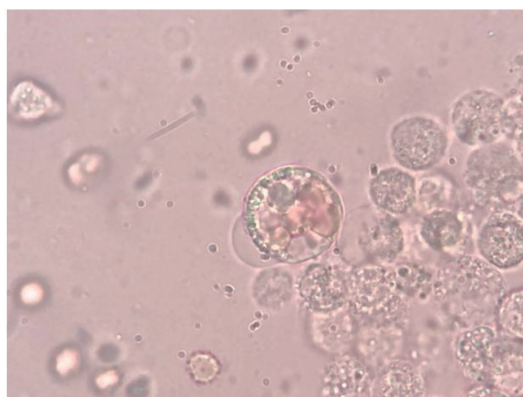


图4 吞噬红细胞提示陈旧性出血(湿片未染色 1000×)

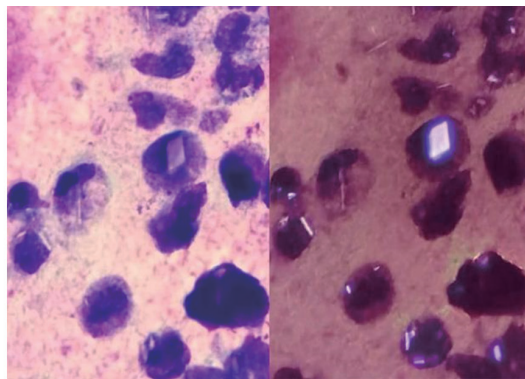
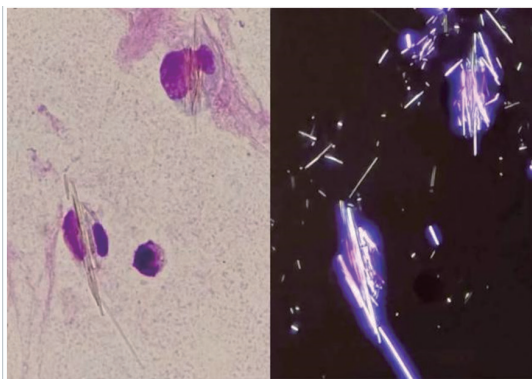


图5 痛风性关节炎(瑞-吉染色/偏振光 1000×) 图6 焦磷酸钙晶体沉积病(假性痛风)(瑞-吉染色/偏振光 1000×)

11.2.16 其他有形成分:偶见成纤维细胞、脂肪细胞、肥大细胞、软骨细胞、血小板、浆质体、纤维蛋白样丝状物等。

12 涂片保存

发出报告后,将涂片的油滴擦拭后进行保存归档,保存时间根据各个实验室的标准操作规程实施,一般保存3~5年。

13 生物安全与防护

13.1 所有标本均应按照传染性标本处置,操作人员严格按照标准预防做好个人防护。

13.2 废弃标本按照医疗废物处置条例相关要求执行。

执笔:杨清兰,曹喻

主审:吴茅,许绍强,段爱军,闫立志,梁勤,高建军,黄道连,赵成艳

参加共识讨论的专家(按姓氏拼音排序):

白咪红(陕西省宝鸡市人民医院),包雪芬(杭州市桐庐县妇幼保健院),曹科(深圳市儿童医院),曹喻(遵义医科大学附属医院,遵义医科大学检验医学院),柴丽娟(山西省运城同德医院),崔燕(西安大兴医院),杜丽娟(青海省人民医院),杜彦懿(宁夏回族自治区中西医结合医院),窦心灵(酒泉市人民医院),段爱军(河南信合医院),高菊兴(临沂市人民医院),高建军(河北邯郸市第一医院),

高海燕(哈尔滨医科大学附属第六医院), 龚道元(佛山科学技术学院医学院), 黄道连(南方医科大学附属中山市博爱医院), 黄俊(成都市第三人民医院), 胡阳(西安市第一医院), 胡晶(重庆医科大学检验医学院), 华星(陕西省安康市中心医院), 蒋锦文(浙江省东阳市人民医院), 金鑫(浙江省立同德医院), 金月丹(义乌复元医院), 卢毓(嘉兴市第一医院), 罗燕萍(深圳市罗湖医院集团罗湖区人民医院), 罗志强(乐山市人民医院), 李宏波(浙江大学医学院附属第二医院), 李相磊(开封市中心医院), 李周扬(三亚市人民医院), 林慧君(浙江省人民医院), 刘超群(金华职业技术学院), 刘朝红(四川省德阳市人民医院), 梁勤(甘肃省中医院), 缪峰(山东省寄生虫病防治研究所), 潘巍(海盐县人民医院), 浦怡菁(海宁康华医院), 邱庆华(攀枝花市中西医结合医院), 茹进伟(乐昌市人民医院), 沈燕(浙江省人民医院), 孙冬梅(金华市中心医院), 孙梦佳(杭州艾迪康医学检验中心有限公司), 王海鲜(临海市第一人民医院), 王敏敏(杭州市第一人民医院), 王莹(深圳市第二人民医院), 吴茅(浙江省人民医院), 吴建国(浙江省人民医院), 吴佗(山东医学高等专科学校), 徐卫益(浙江大学医学院附属第一医院), 许绍强(广东省三九脑科医院), 夏万宝(上海市松江区中心医院), 岳保红(郑州大学第一附属医院), 杨清兰(泉州市正骨医院), 闫立志(南方医科大学南方医院), 赵成艳(大连医科大学附属第二医院), 张春莹(四川大学华西医院), 张健(山东省立医院), 张建富(江苏省人民医院), 张静(杭州艾迪康医学检验中心有限公司), 张军格(象山县红十字台胞医院), 张时民(北京协和医院), 曾强武(贵阳市第二人民医院), 赵成艳(大连医科大学附属第二医院), 朱凤娇(浙大一院三门湾分院), 庄顺红(金华市中心医院), 周道银(上海长海医院), 周玉利(杭州市第一人民医院), 郑慧妮(宜昌市第一人民医院), 郑巧飞(浙江省台州医院), 周麟(诸暨市中医医院), 郑瑞(浙江省台州医院)。

参考文献:

- [1] 施桂英. 关节炎概要 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000:155.
SHI Guiying. Summary of arthritis [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2000:155.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Body fluid analysis for cellular composition; Approved Guideline H56-A [S]. Wayne: PA, Clinical and Laboratory Standards Institute H56-A, 2006.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T662-2020. 临床体液检验技术要求 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
- [4] National Health Commission of the People's Republic of China. WS/T 662-2020: Technical requirements for clinical fluid examination [S]. Beijing: China Standards Press, 2020.
- [5] MARTÍNEZ GIRÓN, MARTÍNEZ TORRE. Citodiagnóstico del líquido sinovial (Synovial fluid cytodiagnosis) [J]. Rev Esp Patol. 2020, 53(2):100-112.
- [6] 杨清兰, 饶华春, 游玉权, 等. 660例关节腔积液有形成分分析 [J]. 临床检验杂志, 2020, 38(1):37-40.
YANG Qinglan, RAO Huachun, YOU Yuquan. Analysis of 660 cases of joint cavity effusion with organic fraction [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2020, 38(1): 37-40.
- [7] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [S]. 第4版, 北京: 人民卫生出版社, 2015.
SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National guide to clinical laboratory procedures [S]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015.
- [8] 刘成玉, 罗春丽. 临床检验基础 [M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2014:231.
LIU Chengyu, LUO Chunli. Foundation clinical laboratory medicine [M]. 5th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014:231.
- [9] 龚道元, 张时民, 黄道连. 临床基础检验形态学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 185.
GONG Daoyuan, ZHANG Shimin, HUANG Daolian. Morphology of basic clinical laboratory [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2019:185.
- [10] 许文荣, 林东红. 临床基础检验学技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015:224.
XU Wenrong, LIN Donghong. Basic clinical laboratory techniques [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015:224.
- [11] 三轮史朗. 血细胞图谱 [M]. 4版. 日本: 东京文光堂出版社, 1986:68.
SANLUN Shilang. Atlas of blood cells [M]. 4th Ed. Japan: Tokyo Manguido Press, 1986:68.
- [12] FRALLONARDO P, OLIVIERO F, PERUZZO L, et al. Detection of calcium crystals in knee osteoarthritis synovial fluid: a comparison between polarized light and scanning electron microscopy [J]. Journal of Clinical Rheumatology. 2016, 22(7):369-371.
- [13] 连建谦. 关节腔积液实验室检查在痛风性关节炎诊断中的应用 [J]. 检验医学与临床, 2015, 12(24): 3740-3742.
LIAN Jianqian. Laboratory tests for joint cavity effusion in the diagnosis of gouty arthritis [J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2015. 12(24):3740-3742.
- [14] ROSENTHAL L, AKRYAN L M. Calcium pyrophosphate deposition disease [J]. The New England Journal of Medicine. 2016, 374(26): 2575-2784.
- [15] MOLLOY E S, MCCARTHY G M. Hydroxyapatite deposition disease of the joint [J]. Current Rheumatology Reports 2003, 5(3):215-221.
- [16] ROBIN F, CADIOU S, BERTHOUD O. et al. Thick and yellowish articular effusion: a challenging diagnosis! Focus on cholesterol crystal deposition in joint [J]. Inflammation Research, 2020, 69(8):713-714.