

Un liquido sinoviale da indagare attentamente

Paolo Salari¹, Lara Mosconi², Sabrina Buoro³, Andrea Baldini¹, Fiamma Balboni²

¹UO Ortopedia, Istituto Fiorentino Cura e Assistenza IFCA Firenze

²Laboratorio Analisi, Istituto Fiorentino Cura e Assistenza IFCA Firenze

³Centro di Riferimento Regionale per la qualità dei servizi di medicina di laboratorio ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda Milano

ABSTRACT

A synovial fluid to be looked with care

A 82 years old female patient with total knee replacement, attended to our clinic with a swollen knee, pain and signs suggesting periprosthetic joint infection (PJI). An automated cell count of the synovial fluid was performed showing significantly elevated number of cells (85 000/ μ L) and a particular distribution of the scatter-plots. The count was compatible with PJI but, due to very particular scattergrams, the synovial fluid was consequently examined at the optical microscopy (OM) displaying an abundant amount of amorphous debris compatible with plastic fragments. An interference from plastic debris with the analytic system of the automated cell counter (sheath flow direct current and flow cytometry) has been confirmed. Only the OM could catch this interference, avoiding wrong diagnosis and additional unnecessary surgery to the patient.

Parole Chiave: liquido sinoviale, fluidi biologici, infezione periprotetica

CASO CLINICO

Una paziente di 82 anni, portatrice di protesi totale di ginocchio destra con fissazione cementata effettuata 5 anni fa, ha richiesto una visita specialistica ortopedica presso UO Ortopedia dell' Istituto Fiorentino Cura e Assistenza (IFCA), per gonalgia ingravescente progressiva, prevalentemente in carico, deambulazione difficoltosa e dolore alla flessione. L'asse dell'arto si presentava in varo grave. Il ginocchio era instabile agli stress in varo-valgo e alla radiografia si osservava un franco scollamento e una franca mobilizzazione delle componenti tibiali e femorali, con perdita del bone stock (qualità della massa ossea in prossimità della protesi), soprattutto a livello femorale. Si poneva pertanto indicazione alla revisione dell'impianto. Dal momento

che per tutti gli scollamenti protesici va sempre esclusa la presenza di una infezione periprotetica (PJI) latente (soprattutto se sono recenti e a carico di impianti che vengono descritti in letteratura come caratterizzati da, una buona sopravvivenza), si è deciso di effettuare un'analisi del liquido sinoviale, prima del reimpianto, in accordo con i criteri diagnostici di PJI (1). Veniva quindi eseguito l'aspirato di liquido sinoviale per conta cellulare ed esame colturale. Il liquido, di aspetto torbido, colore paglierino e con un discreto deposito di colore biancastro (Figura 1), è raccolto in provette K3EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) e analizzato con contaglobuli XN 2000 Dasit (Sysmex, Inc. Kobe, Japan). Il contaglobuli XN è equipaggiato con un apposito modulo dedicato alla conta cellulare nei fluidi biologici (XN-BF) (2). Il liquido sinoviale è stato prelevato e conservato secondo

Corrispondenza a: Fiamma Balboni, UO Ortopedia, Istituto Fiorentino Cura e Assistenza IFCA Firenze
E-mail: fiamma.balboni@hotmail.com

Ricevuto: 27.04.2023

Revisionato: 17.05.2023

Accettato: 02.06.2023

Pubblicato on-line: 07.07.2023

DOI: 10.19186/BC_2023.044

le raccomandazioni CLSI H56-A (3) e dell'International Council for Standardization of Hematology (ICSH) (4).

Come raccomandato (2), il campione è stato pretrattato con ialuronidasi (Sigma Chemical Co., St.Louis, Mo) portata alla concentrazione finale di 0,5 mg/mL. La soluzione è stata preparata dissolvendo 2,5 mg di ialuronidasi in 5 mL di tampone 0,1 mol/L tampone fosfato (PBS) a pH 7,4. Il pre-trattamento con ialuronidasi consiste nell'aggiungere 20 µL della soluzione di ialuronidasi a 1 mL di liquido sinoviale e nella successiva incubazione, per 5 minuti, a temperatura ambiente.

La conta automatizzata ha mostrato un numero elevato di cellule, pari a 85000 µL, e la conta differenziale ha evidenziato; l'83% di cellule mononucleate e il 17% di polimorfonucleati. L'analizzatore non ha fornito allarmi morfologici o strumentali. Questi elementi suggeriscono una PJI (5). Lo scattergram strumentale è però peculiare: di colore grigio e forma allungata mostra una popolazione monomorfa di elementi cellulari, la cui peculiarità allerta il personale tecnico. Viene quindi allestita la camera di Burkner, per la conta al microscopio ottico (MO), delle cellule presenti. Il liquido sinoviale è diluito 1:20 con Stromatol (Biolife, Masha Brunelli, Italy). Viene anche predisposto un preparato per conta differenziale allestendo un cytopspin (Cytospin2 Thermo Scientific) che viene colorato con May-Grunwald-Giemsa (Carlo Erba, Italy). Il cytopspin è un preparato per microscopia ottica derivante da una concentrazione delle cellule presenti nei fluidi, concentrazione che avviene tramite l'utilizzo di una centrifuga apposita dove il campione nativo, addizionato con ialuronidasi, viene centrifugato a 600 rpm per 6 minuti. Sia la conta in camera che



Figura 1

Aspetto del liquido sinoviale in cui si nota la presenza di abbondante deposito biancastro

il vetrino da cytopspin hanno mostrato assenza totale di elementi figurati e presenza in grande quantità di materiale amorfo, di colore biancastro, somigliante a materiale plastico (Figura 2) compatibile con frammenti di porzioni di protesi. Viene mostrata per completezza (come materiale supplementare) anche lo scattergram strumentale (Figura 1S).

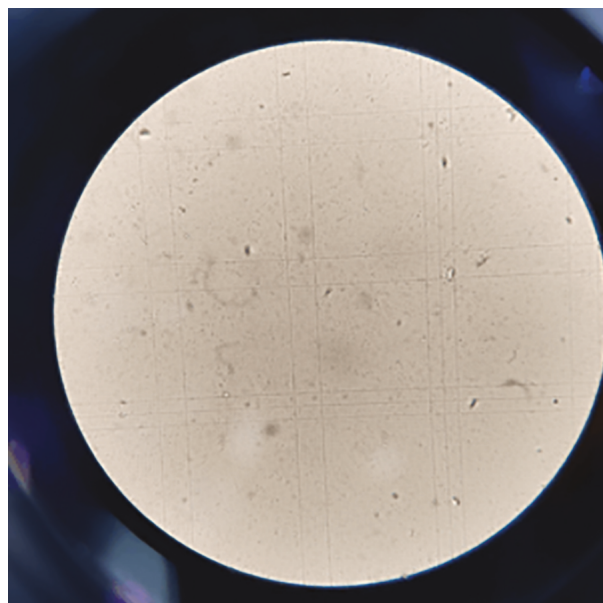


Figura 2

Campo microscopico di preparato in camera di Burkner: si nota la totale assenza di elementi cellulari e la presenza di abbondante materiale amorfo

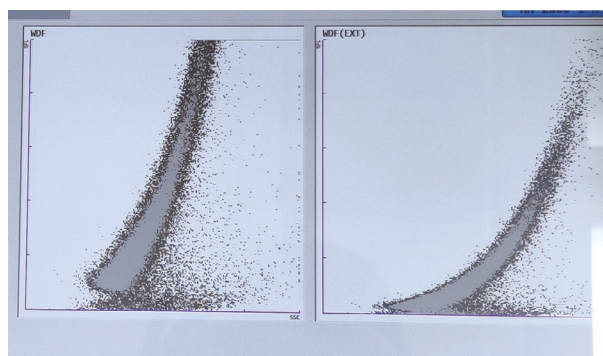


Figura 1S

Scattergram strumentale: si nota una distribuzione di elementi peculiare con forma allungata e posizionata in gran parte nel gate dei polimorfonucleati

DISCUSSIONE

Le PJI sono una delle complicanze più serie e più temute delle protesi articolari e sono associate ad un alto tasso di morbidità e mortalità. Sono anche correlate all'aumento dei costi sociali e di assistenza nei servizi sanitari mondiali (6). Sfortunatamente la diagnosi di infezione periprotetica rimane difficoltosa dal momento che non esiste un esame che possa essere considerato

gold standard e nessun test diagnostico possiede una accuratezza tale da garantire la diagnosi certa di questa patologia. Non sono rari i casi in cui la diagnosi viene posta tardivamente quando i tessuti periprotetici sono oramai deteriorati e la prognosi del paziente è compromessa. Per queste ragioni sono stati intrapresi notevoli sforzi volti alla produzione di inee guida con indicazioni che tracciassero la strada da seguire per giungere alla diagnosi (7). La Musculoskeletal Infection Society ha proposto nel 2011 dei criteri per la definizione di PJI e nel 2013 durante l'International Consensus Meeting (ICM) di Philadelphia (8) un panel di esperti li ha aggiornati e modificati rendendoli il riferimento internazionale per la diagnosi di PJI. In accordo con questi criteri, la definizione di PJI comprende vari parametri fra cui la presenza/assenza di fistola, l'analisi del liquido sinoviale con conta cellulare totale e differenziale, l'esame colturale del liquido sinoviale, la determinazione di marcatori ematici di flogosi quali la velocità di eritrosedimentazione (VES) e della proteina C reattiva (PCR), nonché analisi tissutali istologiche e microbiologiche. Per stabilire la diagnosi è necessario che siano presenti o uno dei due criteri maggiori o tre dei sei minori. I due criteri maggiori sono positività per lo stesso microorganismo in due campioni di liquido sinoviale o nelle biopsie intraoperatorie e la presenza di fistola. I criteri minori sono: elevazione della PCR, del D-Dimero o della VES, conta leucocitaria >3 000 cellule/uL, percentuale di polimorfonucleati >80%, esterasi leucocitaria >+++ nel liquido sinoviale.

D'altro canto il conteggio cellulare al contaglobuli, sebbene validato e affidabile, soffre di alcune interferenze. Frammenti di materiale metallico o amorfo si possono generare quando i capi articolari sfregano l'uno sull'altro in presenza di protesi con componenti metalliche o plastiche. Questo evento va considerato se il tipo di impianto è soggetto a usura precoce o se instabilità e mobilitazione generano alterata cinematica articolare con formazione di particolato anomalo. Nel caso clinico in questione frammenti plastici amorfici hanno generato segnali che sono stati captati dal contaglobuli e classificati come eventi attribuibili a cellule, fornendo un dato numerico errato. Inoltre, l'aspetto del campione, che aveva un discreto deposito biancastro, traeva ulteriormente in inganno perché mimava la presenza di una grande quantità di globuli bianchi, che era poi apparentemente confermata dalla conta automatizzata. Nessun allarme strumentale (indice di anomalia nel conteggio) è stato generato, e quindi basandosi solo sulla conta automatizzata, il paziente sarebbe stato classificato come infetto esponendo il clinico ad una diagnosi errata ed il paziente ad una procedura chirurgica aggiuntiva e non necessaria.

E' stata l'osservazione attenta della popolazione cellulare, nel grafico di distribuzione volumetrica e fluorescente, che ha suggerito agli operatori la possibile presenza di un interferente. Sebbene i grafici generati dalla strumentazione in oggetto siano frequentemente di colore grigio quando la conta cellulare è sopra la soglia di linearità, e richiedano pertanto una diluizione manuale, in questo caso la forma particolare allungata e compatta dello scattergram ha fatto sospettare che si fosse davanti ad un caso di interferenza.

La peculiarità del caso in questione è stata attribuita al particolare colore del liquido sinoviale che ricordava molto una leucocitosi. Nei casi, non rari, di metallosi, in cui i frammenti rilasciati dalla protesi nel liquido sinoviale sono neri, il liquido assume un colore verde bruno scuro inconfondibile e quindi facilmente identificabili, nonostante anche in questi casi l'interferenza con i sistemi di lettura del contaglobuli sia importante. Inoltre nel caso in questione, nella storia clinica della paziente parametri come VES elevata accompagnata da scollamento di entrambe le componenti protesiche e storia clinica di dolore, rendevano possibile la presenza di PJI. Come accennato precedentemente, questa eventualità va sempre accuratamente indagata, sia per escluderla che per confermarla, dato che la gestione clinico-ortopedica dei pazienti con o senza PJI è completamente differente.

L'approccio ragionato all'intero ciclo diagnostico, che comprende il prelievo di un campione di liquido sinoviale, il trattamento e l'analisi della matrice biologica, è fondamentale per gestire il rischio di diagnosi errate. In questo caso l'approfondimento al MO ha permesso di evidenziare la presenza dell'interferenza ed evitare un danno al paziente.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

1. Parvizi J, Tan TL, Goswami K, Higuera C, Della Valle C, Chen AF, et al. The 2018 Definition of Periprosthetic Hip and Knee Infection: An Evidence-Based and Validated Criteria. *J Arthroplasty* 2018;5:1309-14.
2. Seghezzi M, Buoro S, Manenti B, Mecca T, Ferrari R, Zappalà G, et al. Optimization of Cellular analysis of Synovial Fluids by optical microscopy and automated count using the Sysmex XN Body Fluid Mode. *Clin Chim Acta* 2016;462:41-8.
3. Clinical and Laboratory Standard Institute. Body Fluid analysis for cellular composition; approved guidelines. CLSI document H56-A. CLSI Wayne, PA, 2006
4. Bourner G., De La Salle B., George T., Tabe Y., Baum H, Culp N, et al. ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids, *Int J Lab Hematol* 2014; 36:598-612.
5. Osmon DR, Berbari EF, Berend AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013;56:1-10.
6. Lavernia CJ, D'Apuzzo MR, Hernandez VH, Lee DJ, Rossi MD. Postdischarge costs in arthroplasty surgery. *J Arthroplasty* 2006;21:144-50.
7. Carpenter CR, Schuur JD, Everett WW, Pines JM. Evidence-based diagnostics: adult septic arthritis. *Acad Emerg Med* 2011;18:781-96.
8. Zmistowski B, Della Valle C, Bauer TW, Malizos KN, Alavi A, Bedair H, et al. Diagnosis of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty* 2014;29:77-83.