

## Ocena wartości serodiagnostyki bakteriologicznej u chorych na niesklasyfikowane zapalenie stawów.

### Część II. Analiza badań surowic na obecność przeciwciał dla *Salmonella enteritidis* i *Salmonella typhimurium*; reakcje krzyżowe z *Yersinia enterocolitica* O3, *Chlamydia trachomatis* i *Borrelia burgdorferi*

*Appreciation of value of bacteriological serodiagnostic in patients with undifferentiated arthritis.*

*Part II. The analysis of the presence of the anti-Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium antibodies, the cross-reactivity with Yersinia enterocolitica O3, Chlamydia trachomatis and Borrelia burgdorferi*

**Jacek Noworyta, Maria Brasse-Rumin, Jakub Ząbek**

Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu doc. dr hab. biol. Jakub Ząbek, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

**Słowa kluczowe:** przeciwciała przeciwko *Salmonella*, reaktywność krzyżowa.

**Key words:** antibodies against *Salmonella*, cross-reactivity.

#### Streszczenie

W pracy dokonano retrospektywnej analizy wyników badań na obecność przeciwciał dla *Salmonella enteritidis* i *Salmonella typhimurium* w ok. 2500 surowic pacjentów hospitalizowanych i konsultowanych w Instytucie Reumatologii w Warszawie, przeprowadzonych w latach 2004–2006.

Zastosowano bardzo czułą metodę ELISA. Antygen stanowił firmowy lipopolisacharyd (LPS) ww. gatunków *Salmonella*, najczęściej występujących w populacji krajowej, a zatem diagnozowanych jako czynnik etiologiczny niesklasyfikowanych zapaleń stawów. Oceniano również przydatność serodiagnostyczną tych badań w aspekcie reakcji krzyżowych z innymi drobnoustrojami (*Yersinia enterocolitica* O3, *Borrelia burgdorferi* i *Chlamydia trachomatis*), będącymi najczęściej punktem zainteresowania (oprócz *Ch. trachomatis*) lekarzy z Kliniki Reumatologii Wieku Rozwojowego (ok. 50% badań dzieci i młodzieży).

Odsetki uzyskanych dodatnich wyników na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, niezależnie od klas immunoglo-

#### Summary

In the presented paper a retrospective analysis of the presence of anti-*Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* (done in years 2004–2006) antibodies on the cohort of 2500 sera from patients hospitalized and consulted in the Institute of Rheumatology have been done.

In a high sensitive ELISA method, a commercially available LPS from above mentioned *Salmonella* species – as antigen showing the highest frequency of appearance in Polish population and because of that diagnosed as an etiological, was factor in unclassified arthritis, used as antigen.

Also, usefulness of these methods for serodiagnostic, have been done considering their cross-reactivity with other bacterial species like *Yersinia enterocolitica* O3, *Borrelia burgdorferi* and *Chlamydia trachomatis*, which are objects of interesting for (with exception of *Ch. trachomatis*) physicians especially from Pediatric Clinic (about 50% of estimations was commissioned children and teenagers).

#### Adres do korespondencji:

dr biol. Jacek Noworyta, Zakład Mikrobiologii i Serologii, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa, tel. +48 22 844 30 67

Praca wpłynęła: 25.07.2008 r.

bulin, nie różniły się znacznie od wykrywanych w surowicach zdrowej populacji, co sugerowało, iż rezultaty te mogły być brane pod uwagę jedynie w poszczególnych diagnozowanych przypadkach na podstawie rzetelnego wywiadu lekarskiego i wnikliwej analizy klinicznej.

Retrospektywna analiza poziomów i klas przeciwciał wykazała wyraźne różnice między dwoma gatunkami *Salmonella* (*S. enteritidis* – przewaga przeciwciał klasy IgG, *S. typhimurium* – przewaga przeciwciał klas IgM i IgA).

Bardzo wysoka procentowo (ok. 43%) krzyżowa reaktywność przeciwciał zarówno dla obu badanych gatunków *Salmonella*, jak i *Y. enterocolitica* O3 oraz odległych taksonomicznie *Borrelia* i *Ch. trachomatis* częściowo może być tłumaczona podobieństwem antygenowym ściany komórkowej, ale także ewentualnym nadkażeniem lub infekcją bezobjawową z powikłaniami stawowymi. Sugeruje to konieczność potwierdzenia obecności przeciwciał swoistymi metodami (Western-Blot, metoda zahamowania ELISA).

Pateczki *Salmonella*, a zwłaszcza gatunki *S. enteritidis* i *S. typhimurium* – najczęściej będące czynnikiem etiologicznym chorób przewodu pokarmowego, często mają związek z zapaleniem stawów [1–3]. Zakażenie jelitowe poprzedzające objawy stawowe może mieć na tyle łagodny przebieg, że jest niezauważone przez pacjenta, a przez diagnostę-klinicystę nie jest brane pod uwagę. Obecność pozastawowych objawów, np. mięśniowo-szkieletowych (entezopatia), skórnych (rumień guzowaty), ocznych czy dotyczących układu moczowo-płciowego [4], może wikać reaktywne zapalenie stawów.

Diagnostyka, podobnie jak w większości zapaleń stawów wywołanych przez pateczki jelitowe (*Yersinia*, *Shigella*, *Campylobacter*), także w przypadku *Salmonella*, w dużej mierze oparta jest na metodach hodowlanych – bakteriologicznych. Techniki serologiczne (testy immunoenzymatyczne i zarzucony – Widala) również mogą być przydatne do potwierdzenia wcześniejszego zakażenia z jego powikłaniami stawowymi i pozastawowymi. Przeciwciała klasy IgA mają krótszy okres półtrwania niż klasy IgG, a więc utrzymujące się ich wysokie poziomy są bardziej przydatne w ustaleniu rozpoznania niż przeciwciała klasy IgG, których obecność potwierdza co najwyżej kontakt z drobnoustrojem. W badaniu dotyczącym diagnozowania reaktywnego zapalenia stawów poziom przeciwciał klasy IgG przekraczający normę o 3SD, wraz z obecnością IgA lub IgM, przyjęto za dowód istnienia związku przyczynowego [5, 6].

Z uwagi na duże zainteresowanie udziałem pateczek *Salmonella* [7–10] (oprócz *Y. enterocolitica* O3) w ewentualnym wywoływaniu zapaleń stawów dokonano analizy wyników badań na obecność przeciwciał klas IgA, IgG, IgM dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium* w surowicach pacjentów hospitalizowanych i konsultowanych w Instytucie Reumatologii oraz wyników badań zleczanych przez inne placówki medyczne w latach 2004–2006. Oba ww. gatunki *Salmonella* dominu-

Percentages of positive results for presence of antibodies against *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, independently of Ig-s classes, were this same range like in the healthy population, what means, that these results can be taken under consideration only as a particular cases – basing on anamnestic interview and deep clinical analysis. A retrospective analysis of antibodies levels and class showed evident differences between these two *Salmonella* species (*S. enteritidis* – prevalence of antibodies IgG class, and *S. typhimurium* – prevalence of IgA and IgM class antibodies). A high frequency of cross-reactivity (about 43%) of antibodies against both *S. typhimurium* and *Y. enterocolitica* O3 and for „taxons” like for example *B. burgdorferi* or *Ch. trachomatis* may be (in part) explained by similarity of external part of bacterial cell wall, but we have to considered also co-infection or manifestation-loss infection with going involvements. We strongly suggest, that presence of antibodies should be confirmed by specific method like inhibition ELISA and Western-blotting.

ją w populacji europejskiej, w tym krajowej. Analiza dotyczyła również występowania krzyżowych reakcji serologicznych z pozostałymi drobnoustrojami będącymi obiektem zainteresowania klinicystów w diagnozowaniu zapaleń stawów o ewentualnej etiologii infekcyjnej, tj. oprócz *Y. enterocolitica* O3 – *B. burgdorferi* i *Ch. trachomatis* [4, 5]. Rozmiar zjawiska jednoczesnego współwystępowania przeciwciał dla jednego i/lub kilku pozostałych drobnoustrojów może mieć ogromne znaczenie diagnostyczne z implikacjami terapeutycznymi.

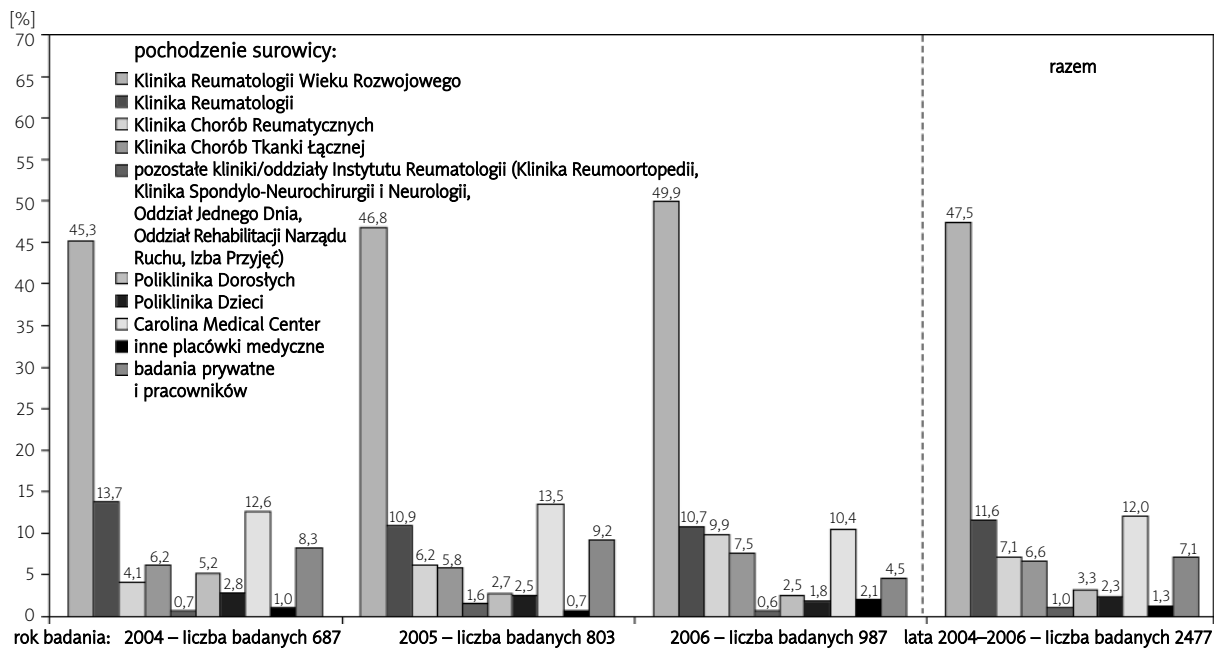
## Materiał i metody

Materiał do analizy stanowiło 2477 surowic pochodzących od 2454 pacjentów, którym zlecono badania na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium*. Dane dotyczące liczby i odsetków surowic pochodzących od poszczególnych grup (źródeł) pacjentów, z rozbiorem na poszczególne lata i łącznie, przedstawiono na rycinie 1.

Surowice od 46 zdrowych dawców krwi postużyły do badań nad ustaleniem norm w zastosowanej metodzie immunoenzymatycznej (ELISA) dla poszczególnych klas immunoglobulin oraz antygenów. Metodę szczegółowo opisano w pracy Noworyty i wsp. [9]. Zastosowane antygeny LPS *S. enteritidis* i *S. typhimurium* do optaszczania płytek titracyjnych zakupiono w firmie Sigma (USA). Za wynik dodatni „+” przyjmowano O. D. =  $x + 2SD$ , „++” O. D. =  $x + 3SD$ , „+++” O. D. =  $x + 4SD$ , gdzie  $x$  oznaczał średnią wartość gęstości optycznej (optical density – O. D.) uzyskaną w badaniach u zdrowych dawców krwi, a SD – odchylenie standardowe.

## Wyniki

Analiza liczby badań na obecność przeciwciał dla pateczek *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, wykonanych w Zakładzie Mikrobiologii i Serologii w latach 2004–2006



**Ryc. 1.** Odsetek badań na obecność przeciwciał w surowicy dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, zleczanych przez poszczególne kliniki, oddziały IR, placówki medyczne oraz osoby prywatne w latach 2004–2006.

**Fig. 1.** Percentages of tests for presence of antibodies against *S. enteritidis* and *S. typhimurium* commissioned by particular Clinics, Divisions and medical centers IR and individual persons in years 2004–2006.

(ryc. 1.), wyraźnie wykazała, że niezależnie od roku i całego okresu zdecydowanie najwięcej badań, tj. ok. 50%, zlecała Klinika Reumatologii Wieków Rozwojowego. Zdecydowanie mniej zleceń, chociaż jeszcze przekraczające 10%, pochodziło z Kliniki Reumatologii (KR) oraz z placówki pozainstytutowej – Carolina Medical Center. Analizując cztery Kliniki Instytutu Reumatologii i biorąc pod uwagę liczbę leczonych w nich pacjentów (dane uzyskane z Działu Statystyki Medycznej), proporcje zleczanych badań różnią się nieco od liczby badań w przeliczeniu na osobę, tj. średnio KRWR zlecała ok. 5 razy częściej badania niż KR i KChTŁ. Przelicznik ten w przypadku KChR wynosił nieco mniej, tzn. niespełna 3 razy. Nie zmienia to faktu zdecydowanej dominacji zleceń pochodzących z KRWR w porównaniu z innymi Klinikami, a zwłaszcza z Poliklinikami: Dorosłych i Dzieci, jak również pozostałymi „źródłami” zleceń.

W kontekście liczby zleczanych badań tym bardziej interesujące było porównanie odsetków dodatnich wyników na obecność przeciwciał dla obu badanych gatunków *Salmonella* (ryc. 2.).

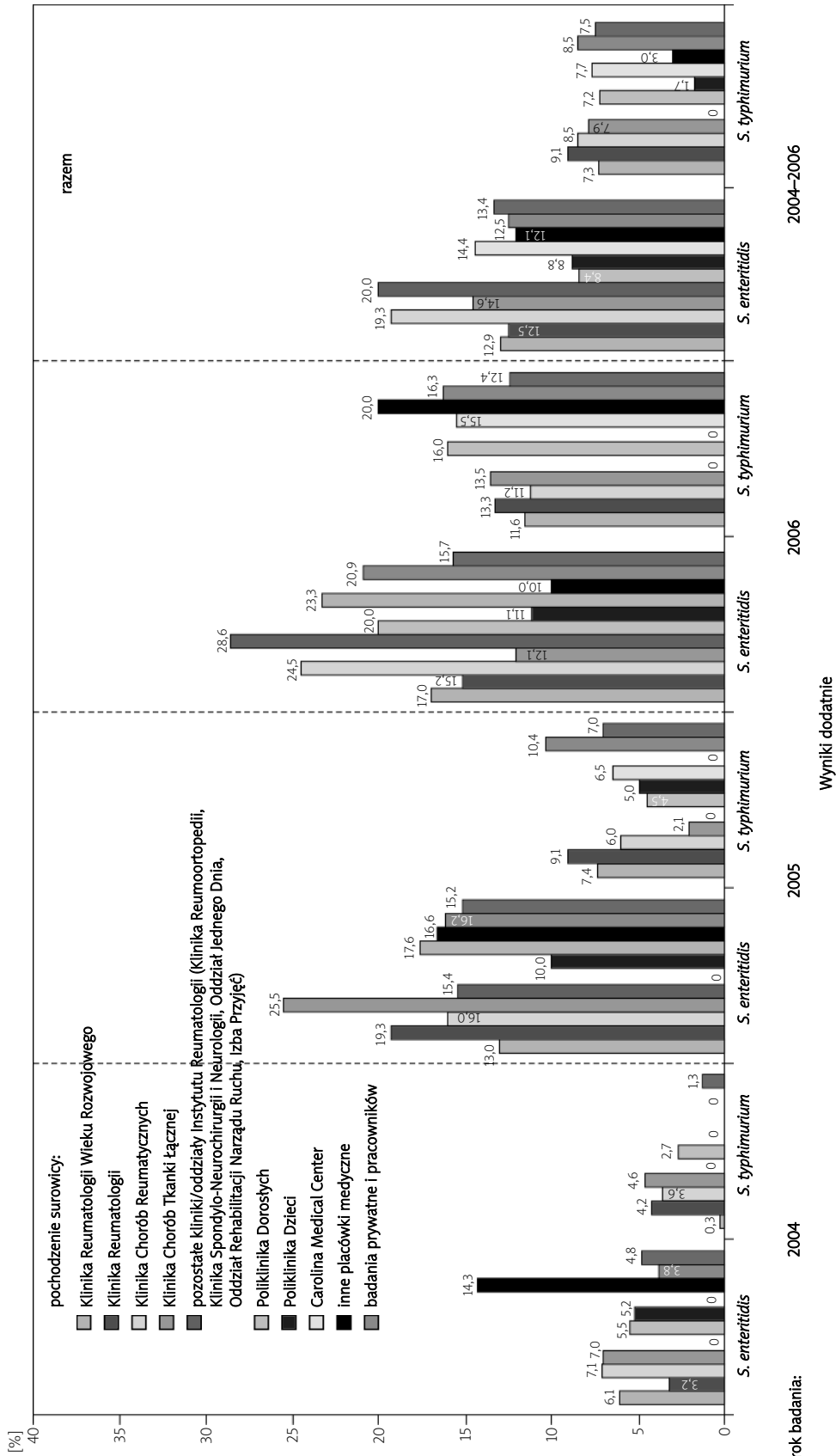
Procenty te zwiększają się wraz z rokiem badania, niezależnie od gatunku drobnoustroju. W całym zaś okresie badań (lata 2004–2006) odsetki wyników dodatnich kształtowały się w zakresie od 8,4% (Poliklinika Dorosłych) do 19,3% (KChR) w przypadku *S. enteriti-*

*dis* oraz od 1,7% (Poliklinika Dzieci) do 9,1% (KR) w przypadku *S. typhimurium*. Wyraźnie przeważała wykrywalność przeciwciał dla *S. enteritidis* (niezależnie od klasy immunoglobulin). Szczegółowe wyniki dotyczące obecności przeciwciał dla obu gatunków *Salmonella* z podziałem na klasy immunoglobuliny i ich poziomu przedstawiono na rycinie 3.

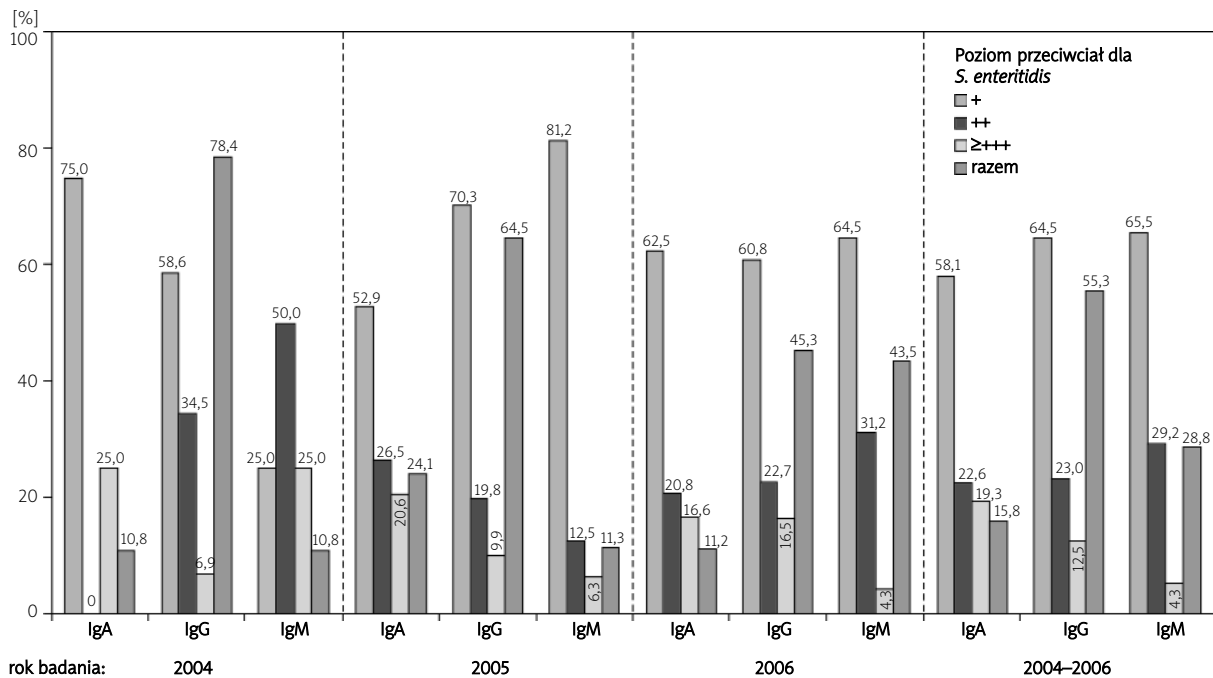
Nie jest zaskakujące, że w przypadku przeciwciał dla *S. enteritidis* – zarówno w poszczególnych latach, jak i łącznie w całym analizowanym okresie – dominowały przeciwciała klasy IgG. Wyjątek stanowił 2006 r., w którym stwierdzono niemal jednakowe odsetki przeciwciał klasy IgG i IgM (odpowiednio 45,3 i 43,5%). Nie dziwi również fakt, że poziom wykrywanych przeciwciał był najczęściej niski ( $x + 2SD$ ) we wszystkich badanych klasach.

Inaczej – odnośnie do wykrywanych klas przeciwciał – wyglądała odpowiedź wobec *S. typhimurium*. Analiza (ryc. 3., 4.) wykazywała dominację przeciwciał klasy IgA (2005 r.) i klasy IgM (2004 r., 2006 r. i łącznie lata 2004–2006). Zaskakująco rzadko (4,8%) wykrywano przeciwciała klasy IgG. Szczegółowe wyniki dotyczące wyłącznego i/lub współwystępowania przeciwciał klas IgA, IgG, IgM dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium* w okresie analizowanym przedstawiono w tabeli I.

Wyłączne występowanie przeciwciał dla *S. enteritidis* dotyczy przede wszystkim klasy IgG, a następnie

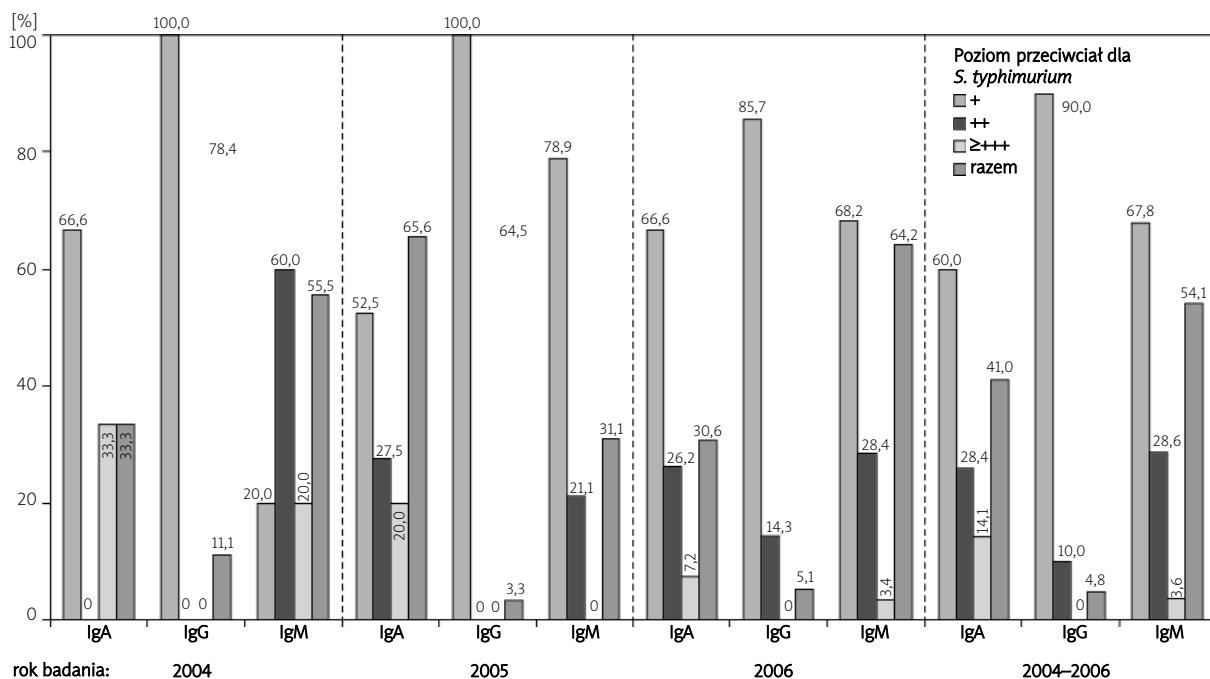


**Ryc. 2.** Odsetek wyników dodatnich w surowicy na obecność przeciwciał (niezależnie od klasy Ig) dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, spośród badań zleczonych przez poszczególne kliniki, oddziały IR i placówki medyczne oraz osoby prywatne w latach 2004–2006.  
**Fig. 2.** Percentages of positive results for presence of serum antibodies (independently of antibody class) against *S. typhimurium* and *S. enteritidis*, between test commissioned by particular Clinics, Divisions and medical centers IR and individual persons in years 2004–2006.



**Ryc. 3.** Obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* odpowiedniej klasy immunoglobuliny (Ig) oraz ich poziom wyrażony jako: + ( $x + 2SD$ ), ++ ( $x + 3SD$ ), ≥+++ ( $x + 4SD$ ).

**Fig. 3.** The presence of antibodies against *S. enteritidis* and (particular IgG class) and their levels – expressed as, weekly positive + ( $x + 2SD$ ), ++ (medium positive) ( $x + 3SD$ ) and strongly positive ≥+++ ( $x + 4SD$ ).



**Ryc. 4.** Obecność przeciwciał dla *S. typhimurium* odpowiedniej klasy immunoglobuliny (Ig) oraz ich poziom wyrażony jako: + ( $x + 2SD$ ), ++ ( $x + 3SD$ ), ≥+++ ( $x + 4SD$ ).

**Fig. 4.** The presence of antibodies against *S. typhimurium* and (particular IgG class) and their levels – expressed as, weekly positive + ( $x + 2SD$ ), ++ (medium positive) ( $x + 3SD$ ) and strongly positive ≥+++ ( $x + 4SD$ ).

IgM i IgA, natomiast przeciwciał dla *S. typhimurium* klasy IgM, a następnie IgA i IgG (zaledwie w 1,6% surowic).

Jednoczesne współwystępowanie przeciwciał klas IgA + IgG dla *S. enteritidis* dotyczyło 4,5% surowic, a IgM + IgG – 5,7%. Obecność wszystkich trzech klas przeciwciał stwierdzono natomiast w całym badanym okresie w 3,3% surowic. Współwystępowanie przeciwciał różnych klas różniło się w przypadku *S. typhimurium*, gdzie stosunkowo często (8,6%) wykazywano „wariant” IgA + IgM, pojedyncze były zaś surowice z obecnością przeciwciał IgA + IgG oraz IgG + IgM (tab. I).

Niezwykle istotna diagnostycznie była analiza jednoczesnego występowania przeciwciał dla poszczególnych drobnoustrojów, dla których badania zlecano. Punktem odniesienia dla tej analizy była obecność w surowicy pacjenta przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*. Analizie poddano zatem 426 surowic, które stanowiły

17,2% ogółu badanych (zleczanych do badania). W takiej liczbie surowic retrospektywnie poszukiwano obecności przeciwciał dla innych drobnoustrojów, tj. dla *Y. enterocolitica* O3, *Ch. trachomatis* i *B. burgdorferi*. W tabeli II przedstawiono szczegółowe wyniki analizy, osobno dla współwystępujących przeciwciał tej samej klasy oraz dla współwystępujących przeciwciał różnych klas.

Biorąc pod uwagę poszczególne rodzaje/gatunki drobnoustrojów, zauważono zdecydowaną dominację w krzyżowej reaktywności między przeciwciałami dla *S. enteritidis* a *S. typhimurium* w klasie IgM i IgA. W sumie krzyżowe reakcje serologiczne dotyczące tych gatunków *Salmonella* stwierdzono w 15,5% surowic (spośród 426). W kolejności reaktywność krzyżową przeciwciał *Salmonella* stwierdzono odnośnie do *Y. enterocolitica* O3 (w sumie w ok. 7% surowic). Jednoczesne występowanie przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub

**Tabela I.** Współwystępowanie przeciwciał klas IgA, IgG, IgM dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium* w surowicach pacjentów badanych w latach 2004–2006

**Table I.** Co-appearance of antibodies (IgA, IgM and IgG class) against *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in the sera of patients hospitalized (tested) in years 2004–2006

Obecność przeciwciał dla <i>S. enteritidis</i>			Rok badania			
			% surowic z odpowiednią klasą przeciwciał			
IgA	IgG	IgM	2004	2005	2006	2004–2006
–	+	–	75,7	63,4	40,7	52,3
–	–	+	6,1	5	38,5	23
+	–	–	6,1	18,4	5,6	10,3
+	+	–	6,1	8,3	1,7	4,5
–	+	+	6,1	3,3	7,3	5,7
+	–	+	0	0,8	1,1	0,9
+	+	+	0	0,8	5,1	3,3

Obecność przeciwciał dla <i>S. typhimurium</i>			Rok badania			
			% surowic z odpowiednią klasą przeciwciał			
IgA	IgG	IgM	2004	2005	2006	2004–2006
–	+	–	11,1	3,4	0	1,6
–	–	+	55,5	25,8	63,9	51,6
+	–	–	33,3	63,8	24,4	37,1
+	–	+	0	6,9	10	8,6
+	+	–	0	0	0,8	0,5
–	+	+	0	0	0,8	0,5

*S. typhimurium* (w tej samej klasie) stwierdzono również wobec *B. burgdorferi* (4,7%) i *Ch. trachomatis* (2,5%). W 7 (1,6%) surowicach wykazano reaktywność krzyżową przeciwciał dla 3 drobnoustrojów, a w 1 – nawet dla czterech. W sumie surowice, które wykazywały jednoczesne występowanie przeciwciał tych samych klas dla 2–5 badanych drobnoustrojów, stanowiły aż 31%. W takim zatem odsetku surowic nie można było precyzyjnie zdefiniować diagnozy serologicznej.

Biorąc pod uwagę współwystępowanie przeciwciał w różnych klasach dla 2–5 badanych drobnoustrojów (tab. II), stwierdzono również dosyć wysoki odsetek takich surowic (12,4%). Najczęściej wykrywano w nich przeciwciała dla *S. enteritidis* i *B. burgdorferi*.

Analiza szczegółowa danych zawartych w tabeli I wykazała bardzo wysoki odsetek (43,4%) surowic z podwyższonymi poziomami przeciwciał jednocześnie dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz dla pozostałych *Y. enterocolitica* O3 i/lub *Ch. trachomatis*, *B. burgdorferi*. Zbiorcze dane dotyczące współwystępowania przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*, niezależnie od klasy immunoglobulin, w surowicach wraz z przeciwciałami dla pozostałych badanych drobnoustrojów przedstawiono w tabeli III. Zdecydowanie najczęściej obecne były jednocześnie przeciwciała dla obu gatunków *Salmonella* (18,1%), a następnie niemal w jednakowym odsetku przeciwciała dla *S. enteritidis* + *Y. enterocolitica* O3 (7%) oraz *S. enteritidis* i *B. burgdorferi* (6,5%). Wartość serodiagnostyczna zastosowanej metody w znacznym procencie mogła być więc zakwestionowana i wymagała wnikliwej analizy klinicznej, ewentualnie potwierdzenia, co w dużej mierze czyni się aktualnie (*Y. enterocolitica* O3, *B. burgdorferi*).

## Omówienie wyników

Zwraca uwagę fakt, że ok. 50% wszystkich zleconych badań w kierunku obecności przeciwciał dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium* pochodziło, podobnie jak to dotyczyło *Y. enterocolitica* O3 [11], z KRWR, a więc od dzieci i młodzieży. Autorzy niniejszej pracy nie są lekarzami i mogą przypuszczać, że tak zdecydowana przewaga materiału pochodzącego od tej grupy chorych miała swoje kliniczne uzasadnienie, oparte na rzetelnym wywiadzie klinicystów. Pamiętać należy, że wartość diagnostyki serologicznej polega na wykryciu przeciwciał *Salmonella* na wysokim poziomie w klasie IgG oraz dodatkowo w klasie IgA i/lub IgM [6]. Wyłączna odpowiedź w klasie IgG może sugerować czasami odległy kontakt z drobnoustrojem, gdy objawy infekcji już zanikły, a powikłania ze strony układu narządu ruchu nie dają podstawy do leczenia antybiotykami z uwagi na ich działanie głównie na obecną lub niedawną infekcję bakteryjną.

Ogólna ocena uzyskanych dodatnich wyników na obecność przeciwciał dla LPS *S. enteritidis* i *S. typhimurium* odzwierciedla sytuację epidemiologiczną w populacji krajowej dotyczącą zdecydowanej dominacji hodowania gatunku *S. enteritidis*. Odsetki wykrywanych przeciwciał surowicznych dla tego gatunku 2–3-krotnie przewyższały (oprócz 2006 r.) odsetki przeciwciał dla *S. typhimurium* (ryc. 2.). Nie jest zaskakujące, że odsetki wykrywanych przeciwciał dla *S. enteritidis* w grupach chorych w poszczególnych klinikach (oddziałach) i placówkach medycznych w analizowanym okresie przewyższały (oprócz Polikliniki Dorosłych i Polikliniki Dzieci) odsetki znajdowane w grupie dawców (9,1%) [9], a już odnośnie do *S. typhimurium* były one niższe, wynosząc średnio 7,5% (grupa dawców = 12,5%). Pomijając szczegóły, wykazano najczęstsze wykrywanie przeciwciał dla *S. enteritidis* (19,3%) w byłej KChR, a następnie KChTŁ (14,4%), a były to kliniki głównie o profilu internistycznym. Czyżby wśród przebywających tam pacjentów najwyższa wykrywalność przeciwciał dla *S. enteritidis* kazała podejrzewać najczęstsze infekcje salmonellowe i/lub nosicielstwo drobnoustroju tego gatunku? Jest to sugestia autorów – nie do wyjaśnienia bez udziału klinicystów. Na takie rezultaty mogły wpłynąć czynniki subiektywne, w tym zbieg okoliczności skłaniający lekarza do celowości przeprowadzenia badań serologicznych w kierunku obecności przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*. Pewne jest również, że zdecydowana przewaga liczby zleceń z KRWR nie korespondowała wprost z wykrywalnością tych przeciwciał. Zaskakujący jest fakt, że w surowicach dostarczonych od wszystkich analizowanych grup pacjentów (ryc. 2.) średnio w całym okresie (lata 2004–2006) odsetki wykrywanych przeciwciał dla *S. typhimurium* były niższe niż w grupie zdrowych dawców (12,5%). Obniża to ogólną wartość diagnostyczną stwierdzania obecności przeciwciał dla tego gatunku w podejrzewaniu etiologii chorób narządu ruchu i ich powikłań pozastawowych i może być argumentem za nadkażeniem lub nosicielstwem, a nie czynnikiem sprawczym tych schorzeń. Sama obecność przeciwciał dla najczęściej występujących w populacji krajowej ww. gatunków *Salmonella* również nie decyduje o ustaleniu rozpoznania ewentualnego reaktywnego zapalenia stawów. Według Fendlera i wsp. [6] oprócz obecności asymetrycznego zapalenia stawów i/lub dodatniego posiewu kału wymagane są pewne serologiczne kryteria, takie jak:

- poziom przeciwciał antybakteryjnych w klasie IgG  $\geq 3$  SD + obecność przeciwciał IgA lub IgM,
- poziom przeciwciał IgG  $\geq 2$  SD + obecność przeciwciał IgA lub IgM + objawy zapalenia jelit (*enterocolitis*).

W analizowanym materiale poziom przeciwciał różnił się ilościowo również w zależności od gatunku *Salmonella* (ryc. 3.). Zgodnie z oczekiwaniami w całym okresie (la-

**Tabela II.** Obecność współwystępujących przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz krzyżowe reaktywności z *Y. enterocolitica* O3, *Ch. trachomatis* i *B. burgdorferi* (n=426 – liczba surowic z obecnością przeciwciał współwystępujących w tych samych klasach immunoglobulin dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*)  
**Table II.** The presence of co-appearing antibodies against *S. enteritidis* or *S. typhimurium* and cross-reactivities with *Y. enterocolitica* O3, *Ch. trachomatis* and *B. burgdorferi* (for n=426 – amount of sera with presence of antibodies in the same class of immunoglobulin against *S. enteritidis* or *S. typhimurium*)

Liczba (odsetek) surowic z obecnością przeciwciał współwystępujących w tych samych klasach immunoglobulin		
	liczba	odsetek
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> M	35	8,2
<i>S. enteritidis</i> A – <i>S. typhimurium</i> A	21	4,9
<i>S. enteritidis</i> G – <i>S. typhimurium</i> G	6	1,4
<i>S. enteritidis</i> AM – <i>S. typhimurium</i> AM	2	0,5
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>S. typhimurium</i> AG	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> GM – <i>S. typhimurium</i> GM	1	0,23
<b>razem</b>	<b>66</b>	<b>15,5</b>
<i>S. enteritidis</i> G – <i>Y. enterocolitica</i> G	19	4,5
<i>S. enteritidis</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> M	3	0,7
<i>S. enteritidis</i> A – <i>Y. enterocolitica</i> A	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>Y. enterocolitica</i> AG	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> GM – <i>Y. enterocolitica</i> GM	1	0,23
<b>razem</b>	<b>25</b>	<b>5,9</b>
<i>S. enteritidis</i> G – <i>Ch. trachomatis</i> G	8	1,9
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>Ch. trachomatis</i> AG	1	0,23
<b>razem</b>	<b>9</b>	<b>2,1</b>
<i>S. enteritidis</i> M – <i>B. burgdorferi</i> M	9	2,1
<i>S. enteritidis</i> G – <i>B. burgdorferi</i> G	6	1,4
<b>razem</b>	<b>15</b>	<b>3,5</b>
<i>S. typhimurium</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> M	4	0,9
<i>S. typhimurium</i> A – <i>Ch. trachomatis</i> A	1	0,23
<i>S. typhimurium</i> M – <i>B. burgdorferi</i> M	5	1,2
<i>S. enteritidis</i> G – <i>Y. enterocolitica</i> G – <i>Ch. trachomatis</i> G	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> M	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> M – <i>B. burgdorferi</i> M	3	0,7
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> M – <i>B. burgdorferi</i> M	2	0,5
<b>razem</b>	<b>7</b>	<b>1,6</b>
<b>łącznie</b>	<b>132</b>	<b>31</b>



**Tabela III.** Obecność współwystępujących przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz krzyżowe reaktywności z *Y. enterocolitica* O3, *Ch. trachomatis* i *B. burgdorferi* (n=426 – liczba surowic z obecnością przeciwciał współwystępujących w różnych klasach immunoglobulin dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*)  
**Table III.** The presence of co-appearing antibodies against *S. enteritidis* or *S. typhimurium* and cross-reactivities with *Y. enterocolitica* O3, *Ch. trachomatis* and *B. burgdorferi* (for n=426 – amount of sera with presence of antibodies indifferent class of immunoglobulin against *S. enteritidis* or *S. typhimurium*)

Liczba (odsetek) surowic (n=426) z obecnością przeciwciał współwystępujących w różnych klasach immunoglobulin		
	liczba	odsetek
<i>S. enteritidis</i> G – <i>S. typhimurium</i> A	8	1,9
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> A	3	0,7
<b>razem</b>	<b>11</b>	<b>2,6</b>
<i>S. enteritidis</i> G – <i>Y. enterocolitica</i> M	2	0,5
<i>S. enteritidis</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> G	2	0,5
<i>S. enteritidis</i> G – <i>Y. enterocolitica</i> A	1	0,23
<b>razem</b>	<b>5</b>	<b>1,2</b>
<i>S. enteritidis</i> M – <i>Ch. trachomatis</i> G	3	0,7
<i>S. enteritidis</i> M – <i>Ch. trachomatis</i> AG	1	0,23
<b>razem</b>	<b>4</b>	<b>0,9</b>
<i>S. enteritidis</i> G – <i>B. burgdorferi</i> M	11	2,6
<i>S. enteritidis</i> GM – <i>B. burgdorferi</i> M	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>B. burgdorferi</i> M	1	0,23
<b>razem</b>	<b>13</b>	<b>3</b>
<i>S. typhimurium</i> A – <i>Y. enterocolitica</i> GM	2	0,5
<i>S. typhimurium</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> A	1	0,23
<b>razem</b>	<b>3</b>	<b>0,7</b>
<i>S. typhimurium</i> M – <i>Ch. trachomatis</i> G	5	1,2
<i>S. typhimurium</i> A – <i>Ch. trachomatis</i> G	1	0,23
<i>S. typhimurium</i> M – <i>Ch. trachomatis</i> A	1	0,23
<b>razem</b>	<b>7</b>	<b>1,6</b>
<i>S. typhimurium</i> A – <i>B. burgdorferi</i> G	1	0,23
<i>S. typhimurium</i> M – <i>B. burgdorferi</i> G	1	0,23
<b>razem</b>	<b>2</b>	<b>0,5</b>
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>S. typhimurium</i> A – <i>Y. enterocolitica</i> G	2	0,5
<i>S. enteritidis</i> M – <i>S. typhimurium</i> A – <i>B. burgdorferi</i> G	2	0,5
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>S. typhimurium</i> A – <i>B. burgdorferi</i> G	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> AG – <i>S. typhimurium</i> A – <i>Ch. trachomatis</i> G	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> G – <i>S. typhimurium</i> M – <i>Y. enterocolitica</i> GM	1	0,23
<i>S. enteritidis</i> A – <i>S. typhimurium</i> A – <i>Y. enterocolitica</i> G – <i>Ch. trachomatis</i> G	1	0,23
<b>razem</b>	<b>8</b>	<b>1,9</b>
<b>łącznie</b>	<b>53</b>	<b>12,4</b>

ta 2004–2006) obecność przeciwciał, niezależnie od klasy immunoglobulin, była najczęściej na najniższym poziomie, tj.  $x + 2 SD$ , z tym że w klasie IgG przeciwciała dla *S. typhimurium* występowały aż w 90% na tak stosunkowo niskim poziomie. W przypadku innych klas i obu gatunków *Salmonella* przeciwciała o najniższym poziomie stanowiły 60–70% ogółu stwierdzonych.

Na podstawie ryciny 3. można wysnuć jeszcze jeden istotny, choć równie przypuszczany wniosek, że o ile w przypadku *S. enteritidis* przeciwciała najczęściej stwierdzano w klasie IgG (55%), o tyle w przypadku *S. typhimurium* wykrywano je głównie w klasie IgM (54%) i IgA (41%), a zaledwie w ok. 5% w klasie IgG. Czy zatem w przypadku *S. enteritidis* można było przeważnie podejrzewać odległy kontakt pacjenta z tym gatunkiem, a w przypadku *S. typhimurium* – zakażenie świeże lub przewlekłe? Trzeba mieć na uwadze, że cechą przeciwciał IgM i IgA jest kilkumiesięczne wykrywanie przeciwciał klasy IgM i krótki, kilkudniowy okres półtrwania przeciwciał klasy IgA [5]. W badaniach serologicznych na interpretację wyników, a tym samym wartość prognostyczną i diagnostyczną, może wpływać serokonwersja przeciwciał klasy IgM do klasy IgG. Biorąc pod uwagę prawdopodobieństwo ciągłej indukcji przeciwciał klasy IgA przez aktualnie przebywający drobnoustroj i/lub antygen, wykrywanie jednoczesne przeciwciał klasy IgA lub IgM i dodatkowo na wysokim poziomie przeciwciał klasy IgG każe podejrzewać aktualną lub niedawną infekcję, natomiast wykrycie jedynie przeciwciał klasy IgG może świadczyć o odległej infekcji, a nawet kontakcie bezobjawowym (nosicielstwo) z pałeczkami *Salmonella*. Największą zatem wartość diagnostyczną w stwierdzaniu np. reaktywnego zapalenia stawów po zakażeniu salmonellowym lub niezróżnicowanego zapalenia stawów za pomocą metod serologicznych ma – jak wspomniano – jednoczesne wykrywanie przeciwciał klas IgG + IgA i/lub IgM. W prezentowanych analizach w przypadku *S. enteritidis* (tab. I) takie wyniki uzyskano w całym okresie 2004–2006 w 10,2% surowic, natomiast odnośnie do *S. typhimurium* zaledwie w 1%. U tak niewielkiego odsetka chorych można było zatem podejrzewać w miarę niedawną infekcję *Salmonella* i wdrażać ewentualną terapię antybiotykową.

Komentarza wymagają zaskakująco odmienne wyniki (tab. I) odpowiedzi humoralnej odnośnie do obu gatunków *Salmonella* w poszczególnych klasach immunoglobulin, zwłaszcza występujących jako wyłączne. Klinicysta reumatolog powinien brać pod uwagę różne możliwości interpretacji uzyskanego wyniku. I tak, przeciwciała klasy IgM (w badanym materiale obecne w 23% surowic dla *S. enteritidis* i 37% dla *S. typhimurium*) pojawiają się wcześniej (zwykle w czasie pierwszych tygodni). Zanikają one w okresie 3–6 tyg. (serokonwersja

do klasy IgG). Spotyka się fałszywie dodatnie wyniki spowodowane obecnością RF. Często nie występują jako jedyne w przypadku niezróżnicowanego zapalenia stawów i reaktywnego zapalenia stawów (ReZS), a więc mają wątpliwe znaczenie przy podejrzeniu ReZS.

Przeciwciała klasy IgG (w obecnych badaniach jako jedyne u 52% pacjentów – dla *S. enteritidis* i zaledwie 1,6%(!) – dla *S. typhimurium*) pojawiają się po 2–4 tyg. w czasie pierwszej infekcji, dynamicznie wzrastając w bardzo krótkim czasie, ale utrzymują się nierzadko przez długi okres (kilka miesięcy, lat, a nawet do końca życia). W przypadku podejrzanego posalmonellowego zakażenia z odległymi powikłaniami stawowymi ich wyłączna obecność ma ograniczoną diagnostyczną wartość i prawdopodobnie świadczy o dawnym kontakcie z drobnoustrojem.

Przeciwciała klasy IgA (w obecnych badaniach jako wyłączne, częściej występujące dla *S. typhimurium* – 37%, niż *S. enteritidis* – 10,3%) głównie są obecne w infekcjach błon śluzowych. Wskazują na aktywny, niedawny i przewlekły proces infekcyjny z uwagi na krótki okres półtrwania przeciwciał tej klasy. Mogą świadczyć o stałej indukcji przez przebywający w organizmie drobnoustroj lub jego fragmenty antygenowe, które drogą translokacji z przewodu pokarmowego (przez układ krwionośny lub limfatyczny) docierają do stawów.

Reasumując, w miarę istotną wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu powikłań stawowych po podejrzananej infekcji *Salmonella* (a także *Y. enterocolitica* i/lub *Y. pseudotuberculosis*) mają głównie wysokie poziomy przeciwciał IgG i dodatkowo obecność przeciwciał klasy IgA i/lub IgM. Wyłączna pojedyncza odpowiedź w jakiegokolwiek klasie przeciwciał ma ograniczoną wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu schorzeń narządu ruchu o etiologii infekcyjnej, a zwłaszcza w celowości stosowania terapii antybiotykowej. Związane to jest w ogromnej mierze również ze zjawiskiem krzyżowej reaktywności przeciwciał na antygeny innych drobnoustrojów będących przedmiotem zainteresowania reumatologów.

W obecnie przedstawionych badaniach krzyżowa reaktywność najczęściej dotyczyła obu pałeczek *Salmonella*, zwłaszcza w tych samych klasach przeciwciał i przede wszystkim w klasie IgM i IgA (tab. II). Wytlumaczeniem tak wysokiego odsetka (15,5%) współwystępujących przeciwciał dla obu gatunków (*S. enteritidis* i *S. typhimurium*) jest ich budowa antygenowa struktur ściany komórkowej. Mimo że drobnoustroje te należą do odrębnych grup serologicznych (*S. enteritidis* do grupy DO, *S. typhimurium* BO), to w ich grupowych antygenach występuje wspólny antygen cząstkowy – 12 – oraz lipid A (składnik LPS). Według Mäki-Ikola i wsp. [12] u ponad 90% chorych na ReZS infekcje *Salmonella* powodowane są przez ww. gatunki. Część występujących

w odczynach serologicznych reakcji z LPS z pozostałych grup wynika z podobieństwa ich budowy LPS z grupy B i D. Trzeba mieć na uwadze, że nieswoiste reakcje mogą być dodatkowo spowodowane przez antygen ECA występujący we wszystkich pałeczkach z rodziny *Enterobacteriaceae* [13].

Być może – przynajmniej częściowo – za krzyżową reaktywność w przypadku *Y. enterocolitica* O3 odpowiada antygen ECA. Jednak, jak wspomniano w poprzedniej pracy [11], niektóre składniki *Y. enterocolitica* O3, takie jak antygen nr 71, białka OMP, mogły również doprowadzać do krzyżowych reakcji z ww. pałeczkami *Salmonella*, choć w stopniu znacznie mniejszym niż oba ww. gatunki między sobą. Jak wynika z tabel I i II, częstość serologicznej reaktywności krzyżowej między gatunkami *Salmonella* a *Y. enterocolitica* O3 sięgała 9% z przewagą przeciwciał klasy IgG (4,5%). Trzeba zaznaczyć, że zastosowany antygen w metodzie ELISA do oznaczania przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3 stanowiła pełna „mozaika” antygenowa całych bakterii. Czułość tej metody mogła zatem przewyższać swoistość.

Nie biorąc pod uwagę klas immunoglobulin wykrywanych jednocześnie przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz *B. burgdorferi*, wykryto w badanych surowicach ok. 8% (tab. I i II) reaktywność krzyżową, mimo tak odległych jednostek taksonomicznych, form klinicznych i wektorów transmisji. W obu grupach drobnoustrojów występują jednak w ścianie komórkowej białka OMP i LPS (LPS-like u *Borrelia*), które mogą być główną przyczyną reakcji krzyżowych objawiających się produkcją przeciwciał klasy IgM i/lub klasy IgG. W tym jednak przypadku trudno wytłumaczyć tę – stosunkowo częstą – krzyżową reaktywność, z uwagi na to, że w metodzie ELISA dla wykrywania przeciwciał *Salmonella* stosowano oczyszczony z białek firmowy LPS, a dla *B. burgdorferi* – rekombinowane białkowe antygeny, głównie pochodzenia OMP. Wydaje się, że to współwystępowanie przeciwciał może być rezultatem bliższego czy odległego kontaktu z ww. drobnoustrojami, nie zawsze świadczącego o infekcji z efektem chorobowym, a raczej o nosicielstwie bezobjawowym. Oba rodzaje drobnoustrojów występują często w populacji krajowej od wielu lat (*Salmonella* sp.), a liczba ukąszeń przez kleszcze przenoszące *Borrelia* wzrasta.

Najrzadziej w analizowanym materiale występowały jednocześnie przeciwciała dla *Salmonella* i *Ch. trachomatis* (tab. I i II), wykrywane zwłaszcza w klasie IgG, co również może świadczyć raczej o nadkażeniu lub odległej infekcji. Bez dokładnego wywiadu i obrazu klinicznego stwierdzenie obecności przeciwciał dla obu gatunków/grup drobnoustrojów ma ograniczoną wartość diagnostyczną.

Tym bardziej dyskusyjne i trudne do zinterpretowania dla ustalenia prawidłowego rozpoznania ewentualnego poinfekcyjnego zapalenia narządu ruchu jest stwierdzenie obecności przeciwciał dla więcej niż dwóch, zwłaszcza odległych taksonomicznie drobnoustrojów. Jeżeli występują one w tych samych klasach, to bardziej można podejrzewać krzyżową reaktywność. W obecnych analizach dotyczyło to 1,6% surowic (tab. I). Zbliżony (1,9%) odsetek surowic dotyczył współwystępowania przeciwciał różnych klas dla więcej niż dwóch drobnoustrojów. W takich przypadkach o trafnej diagnozie mógł decydować głównie niezwykle wnikliwy wywiad lekarski i ocena stanu klinicznego. Obiektywizacja wyniku badania serologicznego przy użyciu metody ELISA mogłaby być znacznie zwiększona poprzez zastosowanie swoistych testów potwierdzenia. Poza ewidentną korzyścią diagnostyczną ma to poważne konsekwencje finansowe, zwłaszcza przy dużej liczbie zleceń badań i wysokim odsetku wyników dodatnich. W Instytucie Reumatologii liczba takich zleceń z roku na rok zdecydowanie się zwiększa, zwłaszcza dla dzieci i młodzieży (poza przeciwciałami dla *Ch. trachomatis*). W przypadku większości drobnoustrojów – będących punktem zainteresowania reumatologów, tj. *Y. enterocolitica*, *B. burgdorferi* i *Ch. trachomatis* – istnieją możliwości potwierdzania wyników skryningowych uzyskanych metodą ELISA. Są to firmowe testy oparte na metodzie Western-Blot. Stopniowo, w uzasadnionych przypadkach, a obligatoryjnie w diagnostyce *Borrelia*, wprowadza się je, natomiast odnośnie do przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* zamierza się potwierdzać wynik przynajmniej przy użyciu metody zahamowania ELISA.

Określenie swoistości przeciwciał bakteryjnych jest niezwykle istotne diagnostycznie, prognostycznie i w terapii stanów zapalnych narządu ruchu, ale wymaga znacznie większych nakładów finansowych i równocześnie rozważliwego zleceniu badań serologicznych, ponieważ jedynie w przypadku badań w kierunku obecności przeciwciał dla dwóch gatunków *Salmonella* analiza wykazała współwystępowanie aż 18-procentowej reaktywności krzyżowej, a wliczając dodatkowo *Y. enterocolitica* O3, *B. burgdorferi* i *Ch. trachomatis* współwystępowanie przeciwciał surowicznych objęło aż ok. 43% surowic.

Tym bardziej plany rozszerzenia potwierdzania swoistości przeciwciał w aspekcie diagnostycznym i leczniczym wydają się bezdyskusyjne i oby tylko „moc przeciworkowa” i koszty ich nie pokrzyżowały.

## Podsumowanie i wnioski

Podobnie jak w przypadku *Y. enterocolitica* O3, serodiagnostyka w kierunku *S. enteritidis* i *S. typhimurium*

w podejrzewanych o etiologię infekcyjną procesów zapalnych w chorobach narządu ruchu u pacjentów hospitalizowanych lub konsultowanych w Instytucie Reumatologii w Warszawie dotyczyła w ok. 50% przypadków młodzieży i dzieci.

Odsetki uzyskanych dodatnich wyników na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i *S. typhimurium*, niezależnie od klas immunoglobulin, nie różniły się znacznie od wykrywanych w surowicach zdrowej populacji, co obniżało ocenę istotnego udziału tych drobnoustrojów w wywoływaniu stanu zapalnego. Mogły one być brane pod uwagę jedynie w poszczególnych diagnozowanych przypadkach na podstawie wnikliwej analizy klinicznej i rzetelnego wywiadu lekarskiego.

Retrospektywna analiza poziomów i klas przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* wykazała wyraźne różnice między dwoma gatunkami *Salmonella*. Można było podejrzewać, że w przypadku *S. enteritidis* był to odległy kontakt pacjenta z tym drobnoustrojem (przewaga przeciwciał klasy IgG), a odnośnie do *S. typhimurium* raczej infekcja niedawna lub przewlekła (przewaga przeciwciał klasy IgM i IgA). Takie sugestie w każdym przypadku wymagają weryfikacji udziału czynnika RF-M w powstawaniu fałszywie dodatnich wyników.

Istotną wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu powikłań stawowych po podejrzewanej infekcji *Salmonella* mają wysokie poziomy przeciwciał IgG i dodatkowo obecność przeciwciał klasy IgA i/lub IgM. Wyłączna pojedyncza odpowiedź w jakiegokolwiek klasie przeciwciał ma ograniczoną rolę w rozpoznawaniu schorzeń narządu ruchu o etiologii infekcyjnej, a zwłaszcza w celowości stosowania terapii antybiotykowej.

Bardzo wysoka procentowo (ok. 43%) krzyżowa reaktywność przeciwciał – zarówno dla obu badanych gatunków *Salmonella*, jak i *Y. enterocolitica* O3 oraz odległych taksonomicznie *Borrelia* i *Ch. trachomatis* – tylko częściowo może być tłumaczona podobieństwem antygenowym struktur ściany komórkowej. Domyślać się można współistniejących w czasie nadkażeń i infekcji bezobjawowych, których następstwem mogły być powikłania stawowe i pozastawowe (układowe).

Istnieje (i częściowo jest realizowana) konieczność potwierdzenia swoistymi metodami (np. Western-Blot), często nieswoistych wyników dodatnich, uzyskanych bardzo czułą metodą ELISA.

Charakterystyczny dla zakażenia obraz kliniczny jest decydującym kryterium i wskazówką do ewentualnej antybiotykowej terapii, a hasło „nie leczyć przeciw-

ciał” powinno stanowić podstawę poczynań wnikliwego klinicysty reumatologa.

Serodiagnostyka *Salmonella* w chorobach narządu ruchu i ich ewentualnych powikłaniach układowych ma istotne znaczenie diagnostyczne i prognostyczne po wyeliminowaniu reakcji nieswoistych, ale wciąż ustępuje bezpośredniemu wyhodowaniu drobnoustroju bądź wykryciu jego struktury antygenowej (np. DNA, RNA metodą PCR).

#### Piśmiennictwo

1. Gaston JSH, Lillcrap MS. Arthritis associated with enteric infection. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2003; 17: 219-239.
2. Leirisalo-Repo M. Reactive arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 251-259.
3. Sibilia I, Limbach FX. Reactive arthritis or chronic arthritis infections. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 580-587.
4. Flores D, Marquez J, Garza M, Espinoza LR. Reactive arthritis: newer developments. *Rheum Dis Clin N Am* 2003; 29: 37-59.
5. Rial M, Klos A, Köhler L, Kuipers IG. Reactive arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20: 1119-1137.
6. Fendler C, Laitko S, Sörensen, et al. Frequency of triggering bacteria in patients with reactive arthritis and undifferentiated oligoarthritis and the relative importance of the tests used for diagnosis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 337-343.
7. Gaston ISH, Lillcrap MS. Zapalenia stawów związane z zakażeniami jelitowymi. *Best Pract Res Clin Rheumatol (Clin Rheumatol – wydanie polskie)* 2004; 1: 4-14.
8. Rastawicki W, Jagielski M, Gierczyński R i wsp. Udział pałeczek z rodzaju *Salmonella* i *Yersinia* w patogenizie zapalenia stawów ze szczególnym uwzględnieniem spondyloartropatii i reumatoidalnego zapalenia stawów. II. Występowanie przeciwciał dla pałeczek *Salmonella* i *Yersinia* w surowicy i płynie stawowym osób z zapaleniem stawów. *Med Dośw Mikrobiol* 2005; 57: 143-151.
9. Noworyta J, Ząbek J, Brasse-Rumin M, Gago J. Odpowiedź humoralna na wybrane złożone antygeny bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich oraz ich subkomponenty badana w surowicy i płynie stawowym pacjentów z chorobami narządu ruchu. *Reumatologia* 2003; 41: 259-268.
10. Ekman P, Kirveskari J, Granfors K. Modification of disease outcome in *Salmonella*-infected patients by HLA-B27. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1527-1534.
11. Noworyta J, Brasse-Rumin M, Ząbek J. Ocena wartości serodiagnostyki bakteriologicznej u chorych na niesklasyfikowane zapalenie stawów. *Reumatologia* 2008; 46: 115-124.
12. Mäki-Ikola O, Granfors K. *Salmonella* – triggered reactive arthritis. *Lancet* 1992; 339: 1096-1098.
13. Kałużewski S, Czech Z. Występowanie i zawartość antygeny Kunitina (CAE) w pałeczkach *Enterobacteriaceae* oraz innych bakterii Gram-ujemnych. *Med Dośw Mikrobiol* 1976; 28: 109-119.