

## Badania zmierzające do uwiarygodnienia wyników dodatnich w serodiagnostyce schorzeń układu ruchu o podejrzwaną etiologię bakteryjną

*Evaluation of validity of positive results in serodiagnostics of the rheumatic diseases with suspected infectious etiology*

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. n. biol. Jakub Ząbek, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

**Słowa kluczowe:** krzyżowa reaktywność, antygeny bakteryjne, swoistość przeciwciał.

**Key words:** cross reactivity, bacterial antigens, specificity of the antibodies.

### Streszczenie

Celem pracy było określenie stopnia wiarygodności uzyskiwanych wyników dodatnich w diagnostycznych badaniach serologicznych na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz *Y. enterocolitica* O3. Drobnoustroje te najczęściej łączone są z chorobami reumatycznymi o etiologii infekcyjnej (oprócz *Ch. trachomatis*). Grupę 96 surowic poddano adsorpcji przeciwciał złożonymi antygenami ww. drobnoustrojów i zbadano odsetek zahamowania O.D. w metodzie ELISA.

W znacznym odsetku – 25% w przypadku przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3 oraz 19% w przypadku *Salmonella* – nie udało się potwierdzić swoistości przeciwciał wykrywanych w badaniach rutynowych.

Porównanie potwierdzonych wyników serologicznych badań wstępnych z rozpoznaniem klinicznymi świadczyło o nie zawsze pewnym udziale tych drobnoustrojów w indukcji zdiagnozowanych chorób narządu ruchu i innych, niezróżnicowanych i układowych, a jedynie skłaniało do podejrzenia nadkażenia, oportunistycznej infekcji i bezobjawowego nosicielstwa.

### Summary

The aim of the study was to establish degree of the validity for the positive results in serodiagnostics of the antibodies to *S. enteritidis* and/or *S. typhimurium* and *Yersinia enterocolitica* serotype O3. Generally these pathogens are associated with infectious pathomechanisms of the rheumatic diseases (with exception of *Ch. trachomatis*).

The group of 96 sera were preadsorbed (or neutralized) with sorbents complexed with composed above mentioned bacterial antigens and result of preadsorption was tested by using ELISA method.

In 25% of the adsorbed sera possessed antibodies to *Y. enterocolitica* serotype O3 and in 19% anti-*Salmonella* positive sera the confirmation of the specificity was unsuccessful.

Comparison the initial of confirmed results serological tests (vs.) with clinical manifestations give us no proof for the involvement of the these microorganisms in the induction of diagnosed connective tissue diseases and other undifferentiated or systemic diseases, but lead us only to conclusion that we have to do with suprainfection, opportunistic infection or unmanifested bearing.

### Wstęp

Serodiagnostyka bakteryjna [1, 6, 13, 14, 17–21, 24], nadal podstawowa w diagnozowaniu chorób układu ruchu o ewentualnej etiologii infekcyjnej, obarczona jest

licznymi ograniczeniami [1, 5–7, 9, 12, 14–18, 21–23], z których zwłaszcza reakcje krzyżowe stanowią duży kłopot w ocenie wiarygodności uzyskanych wyników dodatnich. Często ma to negatywne implikacje tera-

---

#### Adres do korespondencji:

dr biol. Jacek Noworyta, Zakład Mikrobiologii i Serologii, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. E. Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa

Praca wpłynęła: 16.11.2004 r.

peutyczne, wyrażone stosowaniem antybiotyków, powszechnie kwestionowanym i niezalecanym w leczeniu chorób reumatycznych [8, 10, 12, 18, 22, 25, 26].

Poprzednie prace tych samych autorów [4, 15–17] dobitnie podkreślały szeroką skalę występowania zjawiska krzyżowych reakcji serologicznych w odpowiedzi humoralnej zarówno na podstawowe w prawdopodobnej patogenie spondyloartropatii drobnoustroje, takie jak *Salmonella*, *Yersinia*, *Ch. trachomatis*, jak i na wybrane złożone antygeny bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich oraz ich subkomponenty.

Celem pracy było zbadanie stopnia wiarygodności dodatnich wyników na obecność w surowicy pacjenta przeciwciał przeciwko *Salmonella enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz *Yersinia enterocolitica* O3.

## Materiał i metody

Badaniom sprawdzającym swoistość (wiarygodność) uzyskanych wyników poddano 52 surowice dodatnie na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz 44 surowice ze stwierdzonymi przeciwciałami dla *Y. enterocolitica* O3. Surowice pochodziły od pacjentów hospitalizowanych w Instytucie Reumatologii w latach 2001–2002, głównie w klinikach: Reumatologii Wieku Rozwojowego, Reumatologii, Chorób Tkanki Łącznej i Chorób Reumatycznych.

Zastosowano absorpcję surowic odpowiednimi antygenami całych bakterii i/lub złożonymi fragmentami ich ściany komórkowej (np. LPS, OMP – *Outer Membrane Proteins*, ECA – *Enterobacteriaceae Common Antigen*) i badano odsetek zahamowania poziomu przeciwciał w metodzie ELISA, świadczący o wiarygodności uprzednio uzyskanych wyników.

W przypadku surowic salmonellowych, absorpcji przeciwciał dokonywano przy zastosowaniu antygenów całych bakterii (suchy proszek acetonowy), LPS i OMP odpowiedniego gatunku *Salmonella*. Co do surowic yersiniowych absorpcji przeciwciał dokonywano przy użyciu całych bakterii *Y. enterocolitica* O3, OMP oraz jako kontroli – ECA. Źródło pochodzenia lub procedura użycia antygenów zostały uprzednio opisane [15].

### Metoda wykonania absorpcji przeciwciał w surowicach [11]

Surowice inkubowano z odpowiednimi antygenami w stężeniu 200 µg/dołek płytki titracyjnej – przez 1 godz. w temp. 37°C i 1 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dokonywano pomiaru poziomu przeciwciał odpowiednio takich samych, jak w badaniach rutynowych [15]. Stopień absorpcji (zahamowanie w procentach) oceniano wg Aoki i wsp. [2], stosując iloraz  $100 - (100 \times \text{O.D. ELISA w obecności antygeny absorpcyjnego} / \text{O.D. bez obecności antygeny})$ .

Odsetki zahamowania metodą ELISA  $\geq 50\%$  w dużej mierze mogłyby wskazywać na swoistość odpowiedzi humoralnej i taka, chociaż subiektywna, ocena została uwzględniona jako kryterium wiarygodności uzyskanych wyników dodatnich w badaniach rutynowych.

Dwie grupy surowic pobranych od pacjentów ze znanymi rozpoznaniem postużyły w badaniach nad ewentualną korelacją między wiarygodnością (swoistością) uzyskanego dodatniego wyniku na obecność przeciwciał dla ww. gatunków *Salmonella* i *Yersinia* a jednostką chorobową często związaną (opisywaną) z infekcjami (np. reaktywne zapalenie stawów – ReZS, tłuszczowe zapalenie stawów – ŁZS, niezróżnicowane zapalenie stawów) i bez tego związku (np. choroba Scheuermana, choroba zwyrodnieniowa stawów).

Jedna grupa surowic (23 surowice) z dodatnimi wynikami na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* zawierała następujące najliczniejsze rozpoznania: młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) – 5, reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) – 4 i niesklasyfikowane zapalenie stawów – 3.

Druga grupa surowic (28 surowic) z dodatnimi wynikami przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3 to grupa pacjentów m.in. z MIZS – 9, ReZS – 5 i zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa (ZZSK) – 3.

## Wyniki

Pierwszy etap pracy dotyczył badań zmierzających do wykazania wiarygodności uzyskanych wyników na obecność w surowicach przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz *Y. enterocolitica* O3. Rutynowe badania metodą ELISA dały wyniki pozytywne z zastosowaniem antygenów LPS odpowiedniego gatunku drobnoustroju. W przypadku LPS *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* był to antygen firmowy (Sigma), natomiast LPS *Y. enterocolitica* O3 został uzyskany i oczyszczony wg procedury cytowanej poprzednio [15].

Wyniki przedstawione w tab. I wskazują na dość wysoki, wyrównany odsetek (ok. 60–90%) surowic, w których udało się – drogą absorpcji – uzyskać potwierdzenie dodatnich wyników na obecność przeciwciał (niezależnie od ich klasy) dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*. Zdecydowanie – *in minus* – odbiegały tutaj rezultaty z użyciem do absorpcji antygeny LPS *S. typhimurium*. Aż w 75% surowic nie potwierdzono zatem wyniku dodatniego, uzyskanego w badaniu diagnostycznym w przypadku tego drobnoustroju.

Szczegółowa analiza wyników poszczególnych surowic dotyczących obecności przeciwciał dla *Salmonella* (głównie *S. enteritidis*) pozwoliła z dużym prawdopodobieństwem (80,1%) potwierdzić rezultat dodatni uzyskany w badaniach rutynowych.

**Tabela I.** Odsetek surowic absorbowanych odpowiednimi antygenami bakteryjnymi z wykazaniem (w metodzie ELISA) zahamowaniem poziomu (O.D.) przeciwciał  $\geq 50\%$  dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*

antygen zastosowany do absorpcji surowic	LPS <i>S. ent.</i>	LPS <i>S. typhim.</i>	OMP <i>S. ent.</i>	OMP <i>S. typhim.</i>	c.b.* <i>S. ent.</i>	c.b.* <i>S. typhim.</i>
antygen zastosowany w metodzie ELISA przed i po absorpcji	LPS <i>S. ent.</i>	LPS <i>S. typhim.</i>	OMP <i>S. ent.</i>	OMP <i>S. typhim.</i>	LPS <i>S. ent.</i>	LPS <i>S. typhim.</i>
odsetek surowic absorbowanych z zahamowaniem O.D. w metodzie ELISA $\geq 50\%$	73,7	25	88,2	66,6	58,7	60

\*c.b. – antygeny całych bakterii odpowiedniego gatunku

Nieco inne wyniki (tab. II) stwierdzono w badaniach nad zahamowaniem reakcji w metodzie ELISA w przypadku przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3. Tutaj – spośród mniejszej liczby użytych antygenów złożonych – wyróżniał się antygen całych bakterii, który silnie i często absorbował przeciwciała surowicze dla LPS tego serotypu *Yersinia* (aż w 87,8% surowic). Z niską częstością czyniły to antygeny całych bakterii i OMP w stosunku do ewentualnych przeciwciał OMP (10–21% surowic). Widocznie przeciwciała dla tych złożonych białek zewnętrznej części ściany komórkowej *Y. enterocolitica* O3 występowały rzadko. Ogólnie – w przypadku tego drobnoustroju – w 75% surowic potwierdzono dodatni wynik na obecność swoistych przeciwciał.

Spośród wszystkich badanych surowic wyodrębniło 2 grupy ze znanymi rozpoznaniem klinicznym. Podobnie różniły się one obecnością przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* (24 surowice) oraz dla *Y. enterocolitica* O3 (28 surowic), stwierdzonymi w rutynowych badaniach diagnostycznych. Ich szczegółowa analiza pod kątem zahamowania metody ELISA poprzez absorpcję przeciwciał odpowiednimi antygenami pozwoliła na dokonanie następujących spostrzeżeń:

- wśród surowic ze znanymi rozpoznaniem i stwierdzoną w badaniach rutynowych obecnością przeciwciał dla *Salmonella* wykazano w 75% potwierdzenie swoistości przeciwciałowej, w tym 71,4% w grupie z cho-

- robami narządu ruchu (m.in. w 3 przypadkach na 5 – MIZS, w 4/4 – RZS, ale w 0/1 zdiagnozowanym ReZS),
- w grupie surowic ze znanymi rozpoznaniem klinicznym i obecnością przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3 stwierdzono nieco niższą (67,8%) swoistość przeciwciałową, w tym w grupie osób z chorobami narządu ruchu – 65% swoistość (m.in. w 4 przypadkach na 9 – MIZS, w 5 na 5 – ReZS i 1 na 3 – ZZSK),
- w grupie chorych z objawami pozastawowymi analogicznie wykazano swoistość przeciwciałową dla *Salmonella* w 80% przypadków i 75% dla *Y. enterocolitica* O3.

Kolejna analiza uzyskanych wyników badań dotyczyła potwierdzenia przeciwciał poszczególnych klas Ig i wykazała (tab. III):

- nieporównywalność rezultatów odnośnie do przeciwciał klasy IgA (z uwagi na rzadkość stwierdzanych przeciwciał tej klasy),
- zbliżony (ok. 60%) odsetek potwierdzonych przeciwciał klasy IgG dla LPS obu rodzajów drobnoustrojów,
- znaczne różnice w przypadku przeciwciał IgM dla *Salmonella* (36,6% potwierdzonych przypadków) i *Y. enterocolitica* O3 (80%).

## Dyskusja

Biorąc pod uwagę fakt, że oznaczanie przeciwciał antybakteryjnych – mimo swoich wad i ograniczeń –

**Tabela II.** Odsetek surowic absorbowanych odpowiednimi antygenami bakteryjnymi z wykazaniem (w metodzie ELISA) zahamowaniem poziomu O.D. przeciwciał  $\geq 50\%$  dla *Y. enterocolitica* O3

antygen zastosowany do absorpcji surowic	c.b.* <i>Y. ent.</i> O3	c.b.* <i>Y. ent.</i> O3	OMP <i>Y. ent.</i> O3	ECA
antygen zastosowany w metodzie ELISA przed i po absorpcji	LPS <i>Y. ent.</i> O3	OMP <i>Y. ent.</i> O3	OMP <i>Y. ent.</i> O3	LPS <i>Y. ent.</i> O3
odsetek surowic absorbowanych z zahamowaniem O.D. w metodzie ELISA $\geq 50\%$	87,8	20,8	10	21,7

\*c.b. – antygeny całych bakterii odpowiedniego gatunku

**Tabela III.** Potwierdzenie obecności swoistych przeciwciał odpowiedniej klasy Ig dla LPS badanych drobnoustrojów

<i>S. enteritidis</i> i/lub <i>S. typhimurium</i>			<i>Y. enterocolitica</i> O3		
IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
1*/1**	24*/39** (61,5%)	4*/11** (36,5%)	6*/9** (66,6%)	11*/20** (55%)	16*/20** (80%)

\* liczba wyników potwierdzonych

\*\* liczba wyników dodatnich uzyskanych w badaniach wstępnych

jest szeroko stosowane w diagnostyce chorób narządu ruchu o podejrzanym etiologii infekcyjnej (np. cała grupa spondyloartropatii), uzyskane wyniki dotyczące potwierdzenia wiarygodności obecności swoistych przeciwciał napawają niepokojem. Z uwagi na rozpowszechnione zjawisko występowania krzyżowych reakcji serologicznych, wykazane m.in. przez cytowanych autorów [4, 15–17] i aktualne dane świadczące o potwierdzeniu wyników dodatnich jedynie w 75% przypadków odnośnie do przeciwciał dla *Y. enterocolitica* O3 i w 80% w przypadku *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium*, nasuwają się wnioski wskazujące na to, jak istotna jest właściwa ocena kliniczna (objawy, retrospektywny wywiad, parametry zapalne itp.) każdego chorego ze stwierdzoną obecnością takich przeciwciał. Równie ważne jest badanie dynamiki i właściwa ocena poziomu i klasy wykrywanych przeciwciał. Wymagana jest także teoretyczna wiedza klinicysty na temat skomplikowanych zjawisk towarzyszących m.in. odpowiedzi humoralnej.

Niepoślednią rolę w prawidłowej ocenie uzyskanego wyniku odgrywa metoda serologiczna użyta w badaniach rutynowych z zastosowaniem odpowiedniego swoistego, wysoce oczyszczonego antygeny bakteryjnego w metodzie ELISA. O ile w przypadku diagnostyki serologicznej *Ch. trachomatis* i/lub *Ch. pneumoniae* takie sprecyzowane antygeny stosuje się coraz częściej na szeroką skalę [3], o tyle w przypadku aktualnie badanych drobnoustrojów (*Salmonella* i *Yersinia*) w dalszym ciągu metody immunoenzymatyczne oparte są na wykrywaniu przeciwciał dla antygenów złożonych (np. całe bakterie, SDS-ekstrakty, LPS, OMP). Predysponuje to do wystąpienia reakcji krzyżowych. Wynika to z faktu, że metody te z reguły opracowywane są przez poszczególne placówki (laboratoria), firmy światowe bowiem nie interesują się tego typu diagnostyką z uwagi na brak tzw. konsumentów. Taka diagnostyka jest ograniczana świadomie, w związku z występowaniem ogromnej liczby gatunków *Salmonella*, albo wynika z niedoceniaenia patogennej roli *Yersinia*. Siłą rzeczy metody tego typu mają znaczenie głównie skryningowe. Na niepewność uzyskanych dodatnich wyników serologicznych wpływa też wysoka czułość metod immunoenzymatycznych.

To wszystko sprawia, że zwłaszcza słabo dodatni (wątpliwy) wynik odważnie zinterpretowany przez klinicystę reumatologa może skłonić go nawet do niepewnego (a wręcz błędnego) zdiagnozowania jednostki chorobowej, czego implikacją jest długotrwała, nieskuteczna i droga terapia, która często może być nazywana leczeniem przeciwciał, i to nieswoistych.

Na podstawie badań w toku niniejszej pracy można było przypuszczać, że ok. 20–25% wyników dodatnich na obecność przeciwciał dla *S. enteritidis* i/lub *S. typhimurium* oraz *Y. enterocolitica* O3 mogło być obciążone tą niepewnością. Stosowany w naszych badaniach rutynowych antygen LPS był różnego pochodzenia (wysoce oczyszczony LPS *Salmonella* firmy Sigma oraz uzyskany i oczyszczony we własnym zakresie LPS *Y. enterocolitica* O3). Być może już ten fakt spowodował nieznaczne różnice w odsetku potwierdzonych dodatnich wyników na obecność swoistych przeciwciał na korzyść salmonellowych (80 vs. 75% dla *Y. enterocolitica* O3). Zwłaszcza duże różnice w swoistej absorpcji przeciwciał stwierdzono stosując LPS (firmowy) obu badanych gatunków drobnoustrojów, potwierdzając w 73,7% surowic obecność przeciwciał dla *S. enteritidis*, a zaledwie w 25% dla *S. typhimurium* (tab. I). Jest to logiczne (choć nie w takim stopniu); badania populacyjne wskazują bowiem na dominację *S. enteritidis*.

Szczegółowa analiza uzyskanych wyników wykazała też wysoki odsetek surowic z potwierdzoną obecnością przeciwciał dla OMP (zwłaszcza *S. enteritidis*) – 88%, który to składnik ściany komórkowej jest strukturalnie związany z LPS.

Stosując również absorpcję przeciwciał salmonellowych przy użyciu wieloepitopowego antygeny całych bakterii obu gatunków, wykazano ok. 60% obecność przeciwciał dla LPS, wyrażającą się silnym zahamowaniem metody ELISA.

U jeszcze większego odsetka surowic (ok. 88%) wykazano (tab. II) absorpcję przeciwciał dla LPS *Y. enterocolitica* O3 przez preparat antygenowy całych bakterii, a w metodzie ELISA, stosując LPS tego drobnoustroju. Być może wynika to z faktu, że epitopy LPS, znajdujące się na zewnątrz ściany komórkowej, w odróżnieniu od

OMP, zdecydowanie łatwiej absorbują znajdujące się w surowicach swoiste przeciwciała dla tego składnika (wysoce immunogennego). Świadczyłyby o tym wyniki, wskazujące na zdecydowanie mniejszy odsetek (10–21%) surowic z obecnością swoistych przeciwciał dla OMP *Y. enterocolitica* O3, co wykazano, stosując jako absorbent całe bakterie tego drobnoustroju oraz preparat jego OMP.

Ogólnie wyniki wskazują, że w dość znacznym odsetku (20–25%) serologiczne badania rutynowe mogą być obciążone brakiem wiarygodności co do swoistości wykrywanych przeciwciał dla obu rodzajów i/lub gatunków drobnoustrojów. Dodatkowo dowodzą tego niepotwierdzone wysokie odsetki przeciwciał różnych klas (IgG, IgM), jak również brak różnic w stopniu potwierdzenia swoistości przeciwciał między grupą chorób narządu ruchu o podejrzaną etiologię infekcyjną (np. spondyloartropatie) a pozostałymi, w tym typowo układowymi.

Uzyskane wyniki nie stanowią silnego argumentu dla podkreślenia roli wykrywanych przeciwciał w etiopatogenezie niektórych chorób układu ruchu, a na pewno nie w każdym przypadku ich wykrycia, zwłaszcza bez potwierdzenia swoistości. Sugeruje to również konieczność wnikliwej analizy klinicznej i korelacji z dynamiką indukowanych przeciwciał, które mogą wskazywać na istotność uzyskanych dodatnich wyników serologicznych, jak również być skutkiem bezobjawowego nosicielstwa (zwłaszcza *Salmonella*), oportunistycznej infekcji czy wreszcie nadkażenia.

*Praca sfinansowana z grantu KBN nr 3PO5B 015 23.*

#### Piśmiennictwo

- Ahmedi K, Wilson C, Tiwana H, et al. Antibodies to Klebsiella pneumoniae lipopolysaccharide in patients with ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 1330-3.
- Aoki S, Yoshikawa K, Yokoyama T, et al. Role of enteric bacteria in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: evidence for antibodies to enterobacterial common antigens in rheumatoid sera and synovial fluids. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 363-9.
- Bas S, Vischer TL. Chlamydia trachomatis antibody detection and diagnosis of reactive arthritis. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 1054-9.
- Brasse-Rumin M, Noworyta J, Ząbek J. *Reumatologia* 2004; 42: 31.
- Braun J, Kingsley G, van der Heijde D, et al. On the difficulties of establishing a consensus on the definition and diagnostic investigations for reactive arthritis. Results and discussion of a questionnaire prepared for the 4<sup>th</sup> International Workshop on Reactive Arthritis, Berlin, Germany, July 3-6, 1999. *J Rheumatol* 2000; 27: 2185-92.
- Fendler C, Laitko S, Sorensen H, 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: 337-43.
- Granfors K, Toivanen A. ELISA and RIA for serologic diagnosis of yersiniosis. *Rev Infect Dis* 1984; 6: 421-4.
- Hannu T, Mattila L, Siitonen A, et al. Reactive arthritis following an outbreak of Salmonella typhimurium phage type 193 infection. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 264-6.
- Hill HR, Matsen JM. Enzyme-linked immunosorbent assay and radioimmunoassay in the serologic diagnosis of infectious diseases. *J Infect Dis* 1983; 147: 258-63.
- Hoogkamp-Korstanje JA, Moesker H, Bruyn GA. Ciprofloxacin v placebo for treatment of Yersinia enterocolitica triggered reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 914-7.
- Isomaki O, Vuento R, Granfors K. Serological diagnosis of salmonella infections by enzyme immunoassay. *Lancet* 1989; 1: 1411-4.
- Kingsley G, Sieper J. Third International Workshop on Reactive Arthritis. 23-26 September 1995, Berlin, Germany. Report and abstracts. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 564-84.
- Maki-Ikola O. Salmonella-triggered reactive arthritis, Department of Medical Microbiology, Turku University, Finland Academic Dissertation Turku 1991.
- Maki-Ikola O, Lehtinen K, Nissila M, et al. IgM, IgA and IgG class serum antibodies against Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli lipopolysaccharides in patients with ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 1025-9.
- Noworyta J, Ząbek J, Brasse-Rumin M i wsp. *Reumatologia* 2003; 41: 259.
- Noworyta J, Ząbek J, Brasse-Rumin M. i wsp. *Reumatologia* 1999; 37: 343.
- Noworyta J, Ząbek J, Brasse-Rumin M i wsp. *Reumatologia* 2001; 39: 29.
- Sieper J, Braun J, Kingsley GH. Report on the Fourth International Workshop on Reactive Arthritis. *Arthr Rheum* 2000; 43: 720-34.
- Sobieszczkańska BA i wsp. *Reumatologia* 1997; 35: 62.
- Sobieszczkańska BA i wsp. *Reumatologia* 1997; 35: 138.
- Świerkot J i wsp.: *Pol Arch Med Wewn* 2003; 110, 1: 711.
- Świerkot J, Marczyńska-Gruszecka K, Szechiński J. *Post Hig Med Dośw* 2003; 57: 171.
- Wollenhaupt J, Schnarr S, Kuipers JG. Bacterial antigens in reactive arthritis and spondylarthritis. Rational use of laboratory testing in diagnosis and follow-up. *Baillieres Clin Rheumatol* 1998; 12: 627-47.
- Ząbek J, Brzezicki J, Noworyta J i wsp. *Reumatologia* 2000; 38: 416.
- Yli-Kerttula T, Luukkainen R, Yli-Kerttula U. Effect of a three month course of ciprofloxacin on the outcome of reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 565-70.
- Yli-Kerttula T, Luukkainen R, Yli-Kerttula U, et al. Effect of a three month course of ciprofloxacin on the late prognosis of reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 880-4.