

Participación bacteriana en las espondiloartropatías

CÉSAR PACHECO-TENA*

Las espondiloartropatías (SpA), constituyen un grupo de enfermedades y síndromes asociados al antígeno de histocompatibilidad clase I HLA-B27 que se caracterizan por la presencia de artritis y entesitis en las articulaciones vertebrales, sacroiliacas y periféricas, fundamentalmente las de los miembros inferiores.¹

Las entidades que constituyen este grupo son la espondilitis anquilosante (EA), las SpA indiferenciadas, las artritis reactivas (ARE), incluyendo al síndrome de Reiter y las artropatías enteropáticas.¹

La patogenia de las SpA se encuentra ligada al HLA-B27 ya que entre un 50 a 90% de los pacientes son positivos a dicho marcador; este intervalo existe debido a que la prevalencia de pacientes HLA-B27 positivos difiere en las distintas entidades, siendo la más elevada en EA (90%).² También, la aparición de SpA se asocia a procesos infecciosos; esta asociación es más clara para la ARE; en dicha entidad la aparición del cuadro de artritis es precedida por 1 a 4 semanas por una infección bacteriana, generalmente gastrointestinal o genitourinaria.³ La participación de las infecciones en la génesis del resto de SpA, se ha sospechado en forma indirecta y deriva de la existencia de reactividad incrementada a antígenos bacterianos de los pacientes con SpA en comparación con sujetos sanos.^{4,5} Por lo anterior, se considera a la EA como el modelo de estudio para la relación de estas entidades con el HLA-B27 (y genes adicionales), mientras que la ARE lo constituye para el estudio de la relación con las bacterias.

PARTICIPACIÓN BACTERIANA EN LAS SPA

La asociación existente entre los procesos infecciosos y la artritis, fue reconocida desde la antigüedad. Probable-

mente la primera descripción sea la de Hipócrates quien señaló que “el hombre joven no adquiere la gota hasta después de iniciar vida sexual”, dicha observación asocia a las infecciones venéreas con la presencia de artritis. La participación de infecciones entéricas fue resaltada por varios autores incluyendo a Reiter⁶ a fines del siglo XIX e inicios del siglo pasado y se consolidó subsecuentemente con descripciones de la aparición de artritis que aparecían como complicación de infecciones gastrointestinales en epidemias de diarrea o intoxicación alimenticia. Dentro de descripciones, la realizada por Paronen⁷ en Finlandia (1948) es de particular importancia por el gran número de casos de artritis descritos (344) en una epidemia nacional de *Shigellosis* que afectó a 150,000 pacientes. En forma más reciente se ha definido diversas entero-bacterias capaces de generar este tipo de cuadros. Algunas de estas descripciones han involucrado a diversas especies de los géneros *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* en la génesis de estos cuadros.⁸ La proporción de pacientes que desarrollan artritis en el grupo de pacientes infectados es variable, oscila entre 5% y 25% y no parecen existir diferencias explicadas por la bacteria causal; en algunos casos se ha señalado que la severidad de los cuadros entéricos afectan la frecuencia de aparición de artritis o influyen en su curso,^{9,10} sin embargo algunos reportes señalan lo contrario.^{11,12} El lapso transcurrido entre la infección y la aparición de los síntomas es también variable y abarca entre 3 días y 6 semanas, siendo el más frecuente un periodo entre 2 y 3 semanas.¹³

La importancia de las epidemias es el hecho de que consolida la asociación (al menos en tiempo) entre la infección y la artritis, ya que al presentar un curso equiparable en un grupo de pacientes se da un mayor peso a los hallazgos que son comunes (tiempo de evolución, presentación clínica, etc.) y resalta la importancia del proceso infeccioso como factor desencadenante. Los estudios de epidemias han permitido por otra parte, la formación de cohortes a partir de las

* Servicio de Reumatología. Hospital General de México.

Recibido: 30 enero 2001. Aceptado: 30 mayo 2001.

cuales la evolución de la enfermedad se describe con mayor solidez.

Además de las infecciones por enterobacterias, la alta frecuencia de cuadros de SpA en clínicas de enfermedades de transmisión sexual ha involucrado a *Chlamydia trachomatis* claramente y a *Ureaplasmas* y *Neisserias* en forma más controversial.^{14,15} En la actualidad las bacterias consideradas como artitogénicas incluyen a: *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia sp.*, *Campylobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, aunque se ha sugerido que dicha lista es más amplia.¹⁶

INFLUENCIA DEL HLA-B27 EN LA INTERACCIÓN HUÉSPED-BACTERIA

Existe evidencia de que la respuesta inmune en individuos HLA-B27+ ante las infecciones por bacterias artritogénicas difiere de los individuos HLA-B27-; estas diferencias son aún más acentuadas en el subgrupo de individuos HLA-B27+ que desarrollan artritis reactiva.^{17,18} Aun cuando no se ha demostrado que los individuos HLA-B27+ sean más susceptibles a éstas u otras infecciones, es probable que la presencia del HLA-B27 determine algún patrón particular de respuesta inmune en especial contra las bacterias artritogénicas. Un estudio sugiere la existencia de un defecto en la inmunidad natural conferido por HLA-B27; en dicho estudio se demuestra una menor reactividad contra *Y. enterocolitica* de linfocitos en sangre periférica en individuos HLA-B27+ en comparación con HLA-B27- y aun en comparación con linfocitos extraídos del cordón umbilical de neonatos HLA-B27-.¹⁹

Un ejemplo de la importancia del HLA-B27 como parte relevante en la patogenia de la enfermedad y no como un epifenómeno es el modelo del Dr. Taurog,²⁰ en éste la transfección con HLA-B27 a ratas, genera una enfermedad que reproduce a las alteraciones de las SpA, incluso a nivel histológico, dichas alteraciones incluyen: artritis, espondilitis con fusión vertebral, inflamación intestinal, cambios psoriasiformes en la piel de las patas y uveítis anterior aguda. En esta rata el desarrollo de dichos cambios requiere por una parte de una densidad alta de expresión del HLA-B27 en la superficie celular (transfección exitosa)²¹ y de exposición a bacterias, ya que las ratas transgénicas mantenidas en medio estéril, no desarrollan la enfermedad.²²

Aun cuando el mecanismo preciso por el cual HLA-B27 confiere susceptibilidad no es preciso, algunas hipótesis existentes incluyen: a) un incremento en la penetración bacteriana a las células, dicha alteración es atribuida al menos en parte al epítope ME-1 (el cual corresponde al residuo Cys 67), dicha relación se fundamenta en el hecho de que dicho epítope se encuentra casi en forma exclusiva en la molécula del HLA-B27 y la mutación puntual de dicho epítope (desapareciéndolo) revierte el incremento en la invasividad bacteriana;²³ b) presentación antigénica defectuosa por parte de HLA-B27, lo que generaría una respuesta inmune ineficaz;²⁴ c) HLA-B27 es capaz de presentar una selección de péptidos bacterianos que tienen analogía a autoantígenos y generan una respuesta autoinmune, tolerancia o bien una mezcla de ambas;²⁴ d) las bacterias artritogénicas pueden alterar la cantidad (síntesis) o la estructura (splicing alternativo)²⁵ de las moléculas de HLA-B27, o bien generar enlaces de homocisteína modificando la conformación espacial de la molécula,²⁶ probablemente afectando su función; e) HLA-B27 se une y presenta péptidos derivados de su propia secuencia, dando origen a una respuesta autoinmune;²⁴ f) péptidos derivados de HLA-B27 son presentados por moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad (p.e. HLA-DR).²⁴

RESPUESTA DE LINFOCITOS T

La gran cantidad de linfocitos activados en los infiltrados de la membrana sinovial de pacientes con SpA, es una evidencia de la importancia que éstos tienen en el proceso inflamatorio.²⁷ Los resultados muestran que existe una reactividad mayor de los linfocitos de pacientes con SpA en comparación a testigos (pacientes infectados sin artropatía) o pacientes con alguna otra artropatía (no SpA). Otra observación relevante, es que al comparar las respuestas de las células mononucleares (CMN) de sangre periférica contra la obtenida de las CMN del líquido sinovial, las CMN del sinovio, responden de manera más energética y específica (oligoclonalidad), con una proliferación máxima, en tanto que las CMN de sangre periférica, presentan respuestas variables, que van desde una proliferación incrementada,²⁸ a leve y ocasionalmente nula.^{29,30}

El estudio de la proliferación linfocitaria fue utilizado como prueba diagnóstica para determinar al agente

de la infección desencadenante; sin embargo, esto se emplea cada vez con menor frecuencia debido a que se ha demostrado reactividad cruzada. El estudio secuencial de esta proliferación ha mostrado que en las primeras semanas el patrón se modifica y que existe un lapso óptimo para el estudio de la misma, además de que los valores para considerarla positiva son más estrictos de los previamente recomendados.

Un elemento que confiere variabilidad a los ensayos es la selección de los antígenos para la estimulación; en general, los estudios iniciales utilizaron estructuras capsulares, principalmente lipopolisacáridos.²⁸ En la actualidad, el estudio de la respuesta celular en estos pacientes ha demostrado una mayor reactividad hacia la proteína de choque térmico de 60-65 Kd^{31,32} (también conocida como Gro-El o chaperonina 60 Kd) independientemente de la bacteria causal. Recientemente en pacientes con ARe se ha demostrado la presencia de clonas reactivas tanto a la hsp60 de Y enteroatólita como a la hsp60 humana, dando una evidencia objetiva del mimetismo molecular como génesis de autoinmunidad en las SpA.³²

Es aceptado que en pacientes con ARe (y entidades relacionadas) la respuesta inmune intraarticular se encuentra dirigida en gran medida a componentes bacterianos, difiriendo de la respuesta sistémica. Esto sugiere que la posibilidad de que en el interior de la articulación existe un estímulo antigénico local.

RESPUESTA DE LINFOCITOS B

Aunque con variabilidad en los reportes, la serología de los pacientes con artritis reactiva demuestra títulos elevados de anticuerpos contra estructuras bacterianas, especialmente en las fases agudas de la enfermedad. En comparación con grupos controles constituidos por individuos sanos o con otras enfermedades reumáticas infectados por la misma bacteria artitogénica, los pacientes con artritis reactiva, desarrollan posterior al cuadro infeccioso, títulos mayores de anticuerpos^{34,35} y además éstos permanecen elevados en el suero y en el líquido sinovial por períodos significativamente más prolongados (meses); el isótipo IgA es el predominante en la respuesta secundaria^{36,37} y su duración correlaciona con la persistencia demostrada de la bacteria (habitualmente en el sitio de colo-

nización), lo cual ha demostrado un estímulo inmune crónico a nivel de mucosas el cual es anormalmente prolongado. Un estudio de seguimiento de pacientes con ARe secundaria a *Yersinia* demostró que pacientes con títulos persistentemente elevados de anticuerpos contra *Yersinia* tenían en la biopsia intestinal (placa de Peyer) persistencia de *Yersinia*s viables, y que el tratamiento antibiótico modificaba ambos.³⁸

La producción intraarticular de anticuerpos es un evento demostrado, en la membrana sinovial se encuentran linfocitos B activados y se han demostrado mutaciones de maduración de afinidad en dichos infiltrados, lo cual sugiere un estímulo antigénico local. El perfil de los anticuerpos en pacientes con SpA presenta algunas peculiaridades ya que la respuesta se encuentra dirigida a epítopes diferentes a los observados en las respuestas inmunes de pacientes con infecciones por bacterias artitogénicas no complicadas^{39,40} (*yersiniosis*, etc). Un epítope dominante en la respuesta humoral en ARe, lo es la hsp-60, al igual que en la respuesta celular. De interés resulta que este predominio en la reactividad se presenta independientemente de la bacteria causal y frecuentemente presenta reacciones cruzadas a hsp-60 de otras bacterias.³¹

PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO DE 60 KD (HSP60)

Las proteínas de choque térmico (hsp) constituyen un grupo de proteínas que se producen en mayores cantidades bajo condiciones de estrés celular; desempeñan diversas funciones, en su mayoría fundamentales para el funcionamiento celular. Estas proteínas se han conservado a lo largo de la evolución con mínima variación por lo que se consideran como una fuente potencial de mimetismo molecular y por lo tanto como generadoras de respuestas autoinmunes. La proteína de choque térmico 60 (denominada GroEl en las bacterias) es una chaperonina, por lo tanto participa en el procesamiento de diversas proteínas posterior a la síntesis, así como en la reparación de éstas cuando sufren cambios estructurales. La hsp60 en los protozoarios es codificada por el genoma mitocondrial; en los eucariotas en cambio, se localiza casi exclusivamente en la mitocondria^{41,42} y es aquí donde desempeña la mayor parte de sus funciones; su codificación se lleva a

cabo en el genoma humano (cromosomal), se produce en la maquinaria sintética de la célula, pero una vez sintetizada es transportada al interior de la mitocondria y en condiciones fisiológicas sólo se ubica en este compartimento,^{43,44} bajo ciertas condiciones de estrés, incluidas las infecciones, su expresión se extiende hasta la membrana celular,⁴⁵ lo anterior seguramente favorece el contacto con células de la respuesta inmune. De interés resulta que la mitocondria es considerada como una bacteria “domesticada” por una célula eucarionte y que estructuralmente es similar a algunas bacterias (especialmente del género ricketssia).⁴⁶ El que la hsp-60 sea básicamente una proteína mitocondrial, explica en alguna medida su homología con la hsp-60 bacteriana, explica también su potencial antigénico y su capacidad para inducir reacciones cruzadas, siendo una fuente potencial de respuestas autoinmunes.

DETECCIÓN DE ESTRUCTURAS BACTERIANAS EN ESTRUCTURAS SINOVIALES DE PACIENTES CON SPA

La sospecha de la presencia intraarticular de material bacteriano como estímulo antigénico, se vio fundamentada por las características de la respuesta inmune observada en pacientes con SpA. Desde un principio, la idea de que bacterias intactas o bien diversos fragmentos de éstas, se establecieran en la articulación y perpetuaran un cuadro inflamatorio generó el interés de investigadores en este campo. La búsqueda intraarticular de estructuras bacterianas es pues una estrategia clásica en el estudio de las SpA, que ha sido limitada solamente por la tecnología disponible.

En 1966, se identificaron por microscopía de luz, elementos similares a los cuerpos elementales de *Chlamydia trachomatis* en monocitos de la membrana sinovial de pacientes con síndrome de Reiter. En 1986,⁴⁷ este hallazgo se corroboró con microscopía electrónica e inmunofluorescencia utilizando anticuerpos dirigidos a la proteína mayor de la pared externa (MOMP) de *Chlamydia trachomatis*.

En los últimos años, mediante la inmunofluorescencia se ha logrado la detección de estructuras de enterobacterias. Algunas de las bacterias detectadas hasta la fecha son: *Shigella flexneri*,⁴⁸ *Salmonella typhimurium*,⁴⁹ *Salmonella enteritidis*,⁵⁰ *Yersinia pseudotuberculosis*⁵¹

y *Yersinia enterocolítica*.⁵² Sin embargo, la presencia de material intraarticular inmunorreactivo no resuelve la pregunta fundamental. ¿Se trata de elementos bacterianos o de algún componente endógeno que presenta reacción cruzada (autoantígeno)?

El uso de la reacción en cadena de polimerasa (RCP), ha sido de gran utilidad para la búsqueda de material genético bacteriano en los tejidos de este grupo de pacientes, gracias a su alta sensibilidad y muy aceptable especificidad, la identificación de material genómico bacteriano, es una prueba contundente de la presencia de material ajeno al organismo y no se puede generar por una reacción cruzada, como ocurre con los métodos de inmunodetección. Hasta el momento, la RCP ha permitido detectar ADN de *Chlamydia trachomatis* en células sinoviales de pacientes con artritis reactiva de transmisión sexual^{53,54} así como ADN de *Borrelia burgdorferi*,⁵⁵ *Campylobacter*,⁵⁶ *Shigella*,⁵⁶ *Salmonella*,^{57,58} *Yersinia*⁵⁹ y *Mycobacterium*⁶⁰ en pacientes con artritis reactiva u oligoartritis indiferenciada de corta evolución. Además, estudios más recientes han podido identificar transcritos de ARN de *C. trachomatis*⁶¹ y de *Borrelia burgdorferi*⁵⁵ en pacientes con las mismas características. La búsqueda de DNA en pacientes mexicanos con SpA ha demostrado la presencia de DNA de *Campylobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Chlamydia* y *Mycobacterium* en un grupo de pacientes que incluyó pacientes de muy larga evolución, algunos con enfermedad definida y cambios estructurales.⁶²

La presencia de DNA bacteriano así como de transcritos en el interior de las articulaciones, parece vincular a las bacterias viables o a estructuras bacterianas intraarticulares como origen de la inflamación, sin embargo el hallazgo de DNA bacteriano e incluso de bacterias viables en individuos sanos o al menos asintomáticos,⁶³ así como en pacientes con otras artropatías.^{59,60,62} Estos hallazgos han cuestionado la relevancia del hallazgo del DNA bacteriano como elemento claro de la patogenia de las SpA, ya que abren la posibilidad (no contemplada previamente) de que en condiciones fisiológicas, componentes bacterianos e incluso bacterias viables (en el caso de *C. trachomatis*) sean depositados en las articulaciones posterior a su diseminación desde el sitio infeccioso. No está definido aún si la frecuencia, la cantidad o el tipo de bacte-

rias (o de componentes específicos) difiera en los pacientes con SpA o aún más en individuos HLA-B27+, lo cual es plausible basado en la evidencia derivada de modelos experimentales.

REFERENCIAS

1. Arnett F. Seronegative spondyloarthropathies. *Bull Rheum Dis* 1987; 37:1-12.
2. Lopez de Castro JA. Structure, function, and disease association of HLA-B27. *Curr Opin Rheumatol* 1994;6:371-7.
3. Keat A. Reiter's syndrome and reactive arthritis in perspective. *N Engl J Med* 1983; 309:1606-15.
4. Ahmadi K, Wilson C, Tiwana H, Binder A, Ebringer A. Antibodies to *Klebsiella pneumoniae* lipopolysaccharide in patients with ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol* 1998;37:1330-3.
5. Rantakokko K, Rimpilainen M, Uksila J, Jansen C, Luukkainen R, Toivanen P. Antibodies to streptococcal cell wall in psoriatic arthritis and cutaneous psoriasis. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15:399-404.
6. Reiter H. Ueber eine bisher unerkannte spirochetainfektion (Spirochaetosis arthritica). *Dtsch Med Wschr* 1916;42:1535-40.
7. Paronen I. Reiter's disease: A study of 344 cases observed in Finland. *Acta Med Scand* 1948;131(Suppl 212):1-114.
8. Aho K, Leirisalo-Repo M, Repo H. Reactive arthritis. *Clin Rheum Dis* 1985;11:25-40.
9. Thomson GT, DeRubeis DA, Hodge MA, Rajanayagam C, Inman RD. Post-*Salmonella* reactive arthritis: late clinical sequelae in a point source cohort. *Am J Med* 1995;98:13-21.
10. Kihlstrom E, Foberg U, Bengtsson A, Fryden A, Svennungsson B, Schvarcz R, Lindblom B, Castor B. Intestinal symptoms and serological response in patients with complicated and uncomplicated *Yersinia enterocolitica* infections. *Scand J Infect Dis* 1992;24:57-63.
11. Mattila L, Leirisalo-Repo M, Koskimies S, Granfors K, Siiton A. Reactive arthritis following an outbreak of *Salmonella* infection in Finland. *Br J Rheumatol* 1994;33:1136-41.
12. Glennas A, Kvien TK, Melby K, Overbo A, Andrup O, Kars-tensen B, Thoen JE. Reactive arthritis: a favorable 2 year course and outcome, independent of triggering agent and HLA-B27. *J Rheumatol* 1994;21(12):2274-80.
13. Toivanen A. Reactive arthritis. In: Klipper JH, Ed. *Rheumatology*. London: Mosby 1994;4(9.1-9.8).
14. Taylor-Robinson D, Thomas BJ, Furr PM, Keat AC. The association of mycoplasma hominis with arthritis. *Sex Transm Dis* 1983;10: 341-4.
15. Rich E, Hook EW 3rd, Alarcon GS, Moreland LW. Reactive arthritis in patients attending an urban sexually transmitted diseases clinic. *Arthritis Rheum* 1996;39:1172-7.
16. Toivanen P, Toivanen A. Two forms of reactive arthritis? *Ann Rheum Dis* 1999;58:737-41.
17. Inman R, Johnston E, Hodge M, Falk J, Helewa A. Post dysenteric reactive arthritis. A clinical and immunogenetic study following an outbreak of salmonellosis. *Arthritis Rheum* 1988;31:1377-83.
18. Leino R, Vuento R, Koskimies S, Viander M, Toivanen A. Depressed lymphocyte transformation by *Yersinia* and *Escherichia coli* in *Yersinia* arthritis. *Ann Rheum Dis* 1983;42: 176-81.
19. Chieco-Bianchi F, Hedley K, Weissensteiner T, Panayi GS, Kingsley GH. Reactive arthritis-associated bacteria can stimulate lymphocyte proliferation in non-exposed individuals and newborns. *Clin Exp Immunol* 1995;102:551-9.
20. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell* 1990;30(63):1099-112.
21. Taurog JD, Maika SD, Simmons WA, Breban M, Hammer RE. Susceptibility to inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rat lines correlates with the level of B27 expression. *J Immunol* 1993;150:4168-78.
22. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernández-Sueiro JL, Balish E, Hammer RE. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994;1(180):2359-64.
23. Kapasi K, Inman RD. ME1 epitope of HLA-B27 confers class I-mediated modulation of gram-negative bacterial invasion. *J Immunol* 1994;15(153):833-40.
24. Sieper J, Braun J. Pathogenesis of spondylarthropathies. Persistent bacterial antigen, autoimmunity, or both? *Arthritis Rheum* 1995;38:1547-54.
25. Huang F, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Ikawa T, Tamura N, Virtala MM, Granfors K, Yasaee P, Yu DT. Induction of alternative splicing of HLA-B27 by bacterial invasion. *Arthritis Rheum* 1997;40:694-703.
26. Gao XM, Wordsworth P, McMichael AJ, Kyaw MM, Seifert M, Rees D, Dougan G. Homocysteine modification of HLA antigens and its immunological consequences. *Eur J Immunol* 1996;26:1443-50.
27. Hermann E. T cells in reactive arthritis. *APMIS* 1993;101:177-86.
28. Ford DK, da Roza DM, Schultzer M. Lymphocytes from the site of disease but no blood lymphocytes indicate the cause of arthritis. *Ann Rheum Dis* 1985;44:701-10.
29. Braun J, Grolms M, Distler A, Sieper J. The specific antibacterial proliferation of reactive arthritis synovial T cells is not due to their higher proportion of CD45RO+ cells compared to peripheral blood. *J Rheumatol* 1994;21:1702-7.
30. Leino R, Vuento R, Koskimies S, Viander M, Toivanen A. Depressed lymphocyte transformation by *Yersinia* and *Escherichia coli* in *Yersinia* arthritis. *Ann Rheum Dis* 1983;42:176-81.
31. Fendler C, Wu P, Eggens U, Laitko S, Sorensen H, Distler A, Braun J, Sieper J. Longitudinal investigation of bacterium-specific synovial lymphocyte proliferation in reactive arthritis and lyme arthritis. *Br J Rheumatol* 1998;37:784-8.
32. Sieper J, Braun J, Kingsley GH. Report on the Fourth International Workshop on Reactive Arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:720-34.
33. Mertz AK, Ugrinovic S, Lauster R, Wu P, Grolms M, Bottcher U, Appel H, Yin Z, Schiltz E, Batsford S, Schauer-Petrowski C, Braun J, Distler A, Sieper J. Characterization of the synovial T cell response to various recombinant *Yersinia* antigens in *Yersinia enterocolitica*-triggered reactive arthritis. Heat-shock protein 60 drives a major immune response. *Arthritis Rheum* 1998;41:315-26.
34. Sieper J, Braun J, Reichardt M, Eggens U. The value of specific antibody detection and culture in the diagnosis of reactive arthritis. *Clin Rheumatol* 1993;12:245-52.
35. Lapadula G, Covelli M, Numo R. Antibacterial antibody pattern in seronegative spondyloarthropathies. *Clin Exp Rheumatol* 1988;6:385-90.
36. Bitzan M, Hack HJ, Mauff G. *Yersinia enterocolitica* serodiagnosis: a dual role of specific IgA. Evaluation of microagglutination and ELISA. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 1987;267:194-205.

37. Trull AK, Eastmond CJ, Panayi GS, Reid TM. *Salmonella* reactive arthritis: serum and secretory antibodies in eight patients identified after a large outbreak. *Br J Rheumatol* 1986;25:13-9.
38. Hoogkamp-Korstanje JA, de Koning J, Hesseman J. Persistence of *Yersinia enterocolitica* in man. *Infection* 1988;16:81-5.
39. Lahesmaa-Rantala R, Hesseman J, Lehtonen OP, Granfors K, Toivanen A. Avidity of antibodies against released proteins of *Yersinia spp*: comparison of patients with or without reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 1989;47:1003-6.
40. Mattila PS, Valtonen V, Touri MR, Makela O. Antibody responses in arthritic and uncomplicated *Yersinia enterocolitica* infections. *J Clin Immunol* 1985;5:404-11.
41. Soltys BJ, Gupta RS. Immunoelectron microscopic localization of the 60-kDa heat shock chaperonin protein (Hsp60) in mammalian cells. *Exp Cell Res* 1996;10(222): 16-27.
42. Itoh H, Kobayashi R, Wakui H, Komatsuda A, Ohtani H, Miura AB, Otaka M, Masamune O, Andoh H, Koyama K et al. Mammalian 60-kDa stress protein (chaperonin homolog). Identification, biochemical properties, and localization. *J Biol Chem* 1995;270(13429):13429-35.
43. Cheng MY, Hartl FU, Horwich AL. The mitochondrial chaperonin hsp60 is required for its own assembly. *Nature* 1990;348:455-8.
44. Singh B, Patel HV, Ridley RG, Freeman KB, Gupta RS. Mitochondrial import of the human chaperonin (HSP60) protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;169(2):391-6.
45. Belles C, Kuhl A, Nosheny R, Carding SR. Plasma membrane expression of heat shock protein 60 *in vivo* in response to infection. *Infect Immun* 1999;67:4191-200.
46. Andersson SG, Zomorodipour A, Andersson JO, Sicheritz-Ponten T, Alsmark UC, Podowski RM, Naslund AK, Eriksson AS, Winkler HH, Kurland CG. The genome sequence of *richtettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature* 1998;396(133-40):133-40.
47. Ishikawa H, Ohno O, Yamasaki K, Ikuta S, Hirohata K. Arthritis presumably caused by *Chlamydia* in Reiter Syndrome. Case report with electronic microscope studies. *J Bone Joint Surg* 1986;68:777-9.
48. Granfors K, Jalkanen S, Toivanen P, Koski J, Lindberg AA. Bacterial lipopolysaccharide in synovial cells in *Shigella* triggered reactive arthritis. *J Rheumatol* 1992;19:500-2.
49. Granfors K, Jalkanen S, Lindberg AA. *Salmonella* lipopolysaccharide in synovial cells from patients with reactive arthritis. *Lancet* 1990;335:685-8.
50. Hughes R, Hyder E, Salih A. Bacterial antigens in synovial fluid in seronegative arthritis. *Arthritis Rheum* 1991;(Suppl)34: S197.
51. Granfors K, Jalkanen S, von Essen R, Lahesmaa-Rantala R, Isomaki O, Pekkola-Heino K, Merilahti-Palo R, Saario R, Iso-maki H, Toivanen A. *Yersinia* antigen in synovial fluid cells from patients with reactive arthritis. *N Eng J Med* 1989;320:216-21.
52. Hammer M, Zeidler H, Klimsa S, Hesemann J. *Yersinia enterocolitica* in the synovial membrane of patients with *Yersinia*-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1795-1800.
53. Taylor-Robinson D, Gilroy CB, Thomas BJ, Keat ACS. Detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in joints of reactive arthritis patients by polymerase chain reaction. *Lancet* 1992;340: 81-2.
54. Bas S, Griffais R, Kvein TK, Glennas A, Melby K, Vischer TL. Amplification of plasmid and chromosome *Chlamydia* DNA in synovial fluid of patients with reactive arthritis and undifferentiated seronegative oligoarthropathies. *Arthritis Rheum* 1995; 38:1005-13.
55. Nocton JJ, Dressler F, Rutledge BJ, Rys PN, Persing DH, Steere AC. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with lyme arthritis. *N Engl J Med* 1994;330:229-34.
56. Braun J, Tuszelewski M, Eggens U, Mertz A, Schauer-Petroskaia C, Döring E, Laitko S, Distler A, Sieper J, Ehlers S. Nested polymerase chain reaction strategy simultaneously targeting DNA sequences of multiple bacterial species in inflammatory joint diseases. 1. Screening of synovial fluid samples of patients with spondyloarthropathies and other arthritides. *J Rheumatol* 1997;24:1092-100.
57. Nikkari S, Möttönen T, Saario R, Yli-Kerttula, Leirisalo-Repo M, Laitio P, Toivanen P. Demonstration of *Salmonella* DNA in the synovial fluid in reactive arthritis [abstract]. *Arthritis Rheum* 1996; 39 Suppl 9: S185.
58. García CO, Paire S, Burgos R, Molina J, Molina JF, Calvo C, Vega L, Jara LJ, García-Kutzbach A, Cuellar ML, Espinoza LR. Detection of *Salmonella* DNA in synovial membrane and synovial fluid from Latin American patients using the polymerase chain reaction [abstract]. *Arthritis Rheum* 1996; 39 Suppl 9: S185.
59. Wilkinson NZ, Ward ME, Kingsley G. Detection of bacteria in rheumatoid (RA) and reactive (ReA) arthritis synovial fluid (SF) using a kingdom-specific polymerase chain reaction (RCP): evidence in support of a role for bacteria in the pathogenesis of inflammatory arthritis [abstract]. *Arthritis Rheum* 1997;40 Suppl 9:S270.
60. Van der Heiden I, Wilbrick B, Schouls LM, Breedveld FC, Tak PP. Detection of mycobacterial species in joint samples from patients with arthritis by RCP [abstract]. *Arthritis Rheum* 1997;40 Suppl 9:S271.
61. Hammer M, Nettelnbreker E, Hopf S, Schrnitz E, Pörschke K, Zeidler H. *Chlamydia* rRNA in the joints of patients with *Chlamydia*-induced arthritis and undifferentiated arthritis. *Clin Exp Rheum* 1992;10:63-6.
62. Pacheco-Tena C, Alvarado de la Barrera C, López-Vidal Y, Vázquez-Mellado J, Richaud-Patin Y, Amieva R, Llorente L, Martínez A, Zúñiga J, Cifuentes-Alvarado M, Burgos-Vargas R. Bacterial DNA in synovial fluid cells of patients with juvenile onset spondyloarthropathies. *Rheumatology* 2000 (en revisión).
63. Schumacher HR Jr, Arayssi T, Crane M, Lee J, Gerard H, Hudson AP, Klippel J. *Chlamydia trachomatis* nucleic acids can be found in the synovium of some asymptomatic subjects. *Arthritis Rheum* 1999;42:1281-4.
64. Kingsley G. Microbial DNA in the synovium, a role in aetiology or a mere bystander? *Lancet* 1997;349:1038-9.