

11262
12
Tes.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D. SSA

DETECCION DE ADN BACTERIANO MEDIANTE
REACCION DE CADENA DE LA POLIMERASA EN
LEUCOCITOS DE LIQUIDO SINOVIAL DE
PACIENTES CON ESPONDILOARTROPATIAS.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

P R E S E N T A :

DR. CESAR FRANCISCO PACHECO TENA

TUTOR: DR. RUBEN BURGOS VARGAS
COTUTORES: DR. LUIS LLORENTE PETERS
DRA. JANITZIA VAZQUEZ-MELLADO C.
DRA. YOLANDA LOPEZ VIDAL



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1998

275531



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Antecedentes	1
Reacción en cadena de la polimerasa y detección de	
ADN/ARN bacteriano en SpA	5
SpA en el mestizo mexicano	6
Justificación	7
Hipótesis	8
Objetivos	9
Pacientes y Métodos	10
Pacientes	10
Procedimientos	10
Detección de ADN bacteriano	11
Anticuerpos antibacterianos	13
Análisis Estadístico	14
Resultados	15
Características generales	15
Estudios de ADN bacteriano	15
Anticuerpos antibacterianos	16
Discusión	18
Referencias Bibliográficas	25
Cuadros	37
Cuadro 1. Genes bacterianos seleccionados para la RCP e hibridación, secuencia de las sondas y longitud de los segmentos amplificados	37
Cuadro 2. Descripción de los grupos de estudio de acuerdo al diagnóstico	38
Cuadro 3. Resultados de la detección de DNA de acuerdo al diagnóstico.	39

Cuadro 4	Características demográficas y clínicas de los pacientes con detección bacteriana positiva por RCP.	40
Cuadro 5.	Proporción de pacientes positivos a RCP de acuerdo a diagnóstico y bacteria	41
Cuadro 6.	Comparación de variables demográficas y clínicas de los pacientes con SpA clasificados por los resultados por RCP.	42
Cuadro 7.	Proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de acuerdo al diagnóstico, isotipo y especificidad bacteriana.	43
Cuadro 8.	Comparación de la proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de pacientes con SpA positivos y negativos a la detección por PCR.	44
Cuadro 9.	Comparación de la proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de pacientes con SpA positivos (SpA +) y negativos (SpA -) a la detección por PCR y los pacientes con AR.	45
Figuras		46
Figura 1.	Gel representativo de RCP de <i>Campylobacter sp.</i>	46
Figura 1.	Gel representativo de RCP de <i>Yersinia sp.</i>	47
Figura 1.	Gel representativo de RCP de <i>Salmonella sp.</i>	48
Figura 1.	Gel representativo de RCP de <i>Shigella sp.</i>	49

Antecedentes:

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 que comprometen las articulaciones vertebrales, sacroiliacas y periféricas¹.

Las entidades que constituyen este grupo son la espondilitis anquilosante (EA), las SpA indiferenciadas, las artritis reactivas (ARe), incluyendo el Síndrome de Reiter y las artropatías enteropáticas, especialmente las asociadas a enfermedad de Crohn y a la colitis ulcerativa crónica inespecífica. La inclusión de la artritis psoriásica en este grupo es controversial, ya que algunos de sus subtipos, no se asocian al HLA-B27, ni afectan a las articulaciones sacroiliacas o vertebrales. Las principales descripciones de éstas entidades, se basan en series de pacientes adultos.

La descripción del subgrupo de SpA indiferenciadas, o no clasificables, ha facilitado el reconocimiento de las SpA de presentación infantil o juvenil.² Éstas, se caracterizan por el inicio de la sintomatología antes de los 16 años de edad (independientemente de su edad de detección), y, aunque ha sido reconocida desde hace algunas décadas, con frecuencia se les clasificaba como una variante de la artritis reumatoide/crónica juvenil, específicamente en el subgrupo oligoarticular de inicio tardío, o tipo II. Sin embargo, conforme su conocimiento se profundiza^{3,4}, es claro que constituyen un grupo independiente de entidades, con manifestaciones clínicas que permiten su detección desde etapas tempranas, evolución particular y patrones de respuesta terapéutica no compartidos por las otras variedades de artritis reumatoide/crónica juvenil .

La patogenia de las espondiloartropatías se encuentra ligada en forma muy importante al HLA-B27 y también a procesos infecciosos. Esta relación con infecciones se había reportado desde la antigüedad en forma aislada y fue establecida por Reiter y otros a principios de este siglo⁵. La relación existente entre procesos infecciosos y la artritis, fue mas evidente al detectarse la aparición de cuadros de inflamación que aparecían como complicación de infecciones gastrointestinales en epidemias de diarrea o intoxicación alimenticia. Dentro de descripciones, la realizada por Paronen⁶ en Finlandia (1948) es de particular importancia por el gran número de casos de artritis descritos (344) en una epidemia Nacional de Shigelosis que afectó a 150,000 pacientes. La importancia de las epidemias, radica al observar la coexistencia de la infección y la artritis en un lapso breve, presente en forma simultánea en un grupo de pacientes; esto 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.

En estudios mas recientes se definiría también que la mayor parte de los pacientes que desarrollan artritis como complicación de un episodio infeccioso, son HLA-B27 positivos⁷ (B27+) y también que sólo las infecciones provocadas por algunas bacterias son capaces de generar estos cuadros post-infecciosos. A éstas bacterias se les denomina genéricamente como bacterias artritogénicas e incluyen a varias especies de los géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter* y *Chlamydia*.

Existe evidencia de que la respuesta inmune en individuos B27+ ante las infecciones por bacterias artritogénicas difiere de los individuos B27-; estas diferencias son aún más acentuadas en el subgrupo de individuos B27+ que desarrollan artritis reactiva. Aun

cuando no se considera que los individuos B27+ sean más susceptibles a éstas u otras infecciones.

Aunque con variabilidad en los reportes, la serología de los pacientes con artritis reactiva es un ejemplo de esta particular respuesta; en comparación con grupos testigos constituidos por individuos sanos o con otras enfermedades reumáticas, los pacientes con artritis reactivas, desarrollan posterior al cuadro infeccioso, títulos mayores de anticuerpos^{8,9} y además estos anticuerpos permanecen elevados en el suero y en el líquido sinovial por periodos significativamente mas prolongados (meses), además el isotipo IgA es el predominante en la respuesta tardía y su duración correlaciona con la persistencia demostrada de la bacteria (habitualmente en el sitio de colonización), lo cual ha demostrado un estímulo inmune crónico a nivel de mucosas el cual es anormalmente prolongado.

El predominio de linfocitos activados en los infiltrados sinoviales de pacientes con SpA, evidencia la importancia que tienen en este proceso. 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)¹⁰. 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 mas enérgica y específica (oligoclonalidad), con una proliferación máxima, en tanto que las CMN de sangre periférica, presentan respuestas variables, que van desde una proliferación submáxima, leve y ocasionalmente nula^{11,12}.

Por lo anterior es aceptado que en pacientes con ARE (y entidades relacionadas) la respuesta inmune intra-articular 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. Estos hallazgos han llevado a varios investigadores a considerar que este estímulo deriva de la presencia intra-articular de componentes bacterianos, e incluso recientemente, se ha sugerido la presencia de bacterias intra-articulares íntegras y viables. Esta búsqueda ha sido una constante en las pasadas décadas la cual ha sido dirigida por los recursos técnicos disponibles.

En 1966, fueron identificados por microscopía de luz, elementos similares a los cuerpos elementales de *Chlamydia trachomatis* en monocitos de membrana sinovial de pacientes con síndrome de Reiter. En 1986¹³, este hallazgo se corroboró con microscopía electrónica e inmunofluorescencia contra antígenos conocidos de *Chlamydia trachomatis* y se detectó reactividad contra una proteína mayor de la pared externa (MOMP). Esta búsqueda se extendió en los últimos 10 años, a la detección de antígenos de enterobacterias por esta misma técnica. Algunos de las bacterias detectadas hasta la fecha son: lipopolisacáridos de *Shigella flexneri*¹⁴, *Salmonella typhimurium*¹⁵, *Salmonella enteritidis*¹⁶, *Yersinia pseudotuberculosis*¹⁷ y *Yersinia enterocolitica*¹⁸. Sin embargo, la presencia de material intra-articular inmunorreactivo no resuelve la pregunta fundamental ¿Se trata de elementos bacterianos o de algún componente endógeno que presenta reacción cruzada (autoantígeno)?

Reacción en Cadena de Polimerasa (RCP) y detección de ADN/ARN bacteriano en SpA

La aparición de técnicas de biología molecular ha dado un nuevo elemento para una mejor comprensión de la compleja relación huésped-bacteria en este grupo de entidades. En particular 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. Hasta el momento, ha permitido detectar ADN de *Chlamydia trachomatis* en células sinoviales de pacientes con artritis reactiva de transmisión sexual^{19,20} así como ADN de *Borrelia burgdorferi*²¹, *Campylobacter*²², *Shigella*²², *Salmonella*^{23,24}, *Yersinia*²⁵ y *Mycobacterium*²⁶ en pacientes con artritis reactiva u oligoartritis indiferenciada de corta evolución. Además, estudios más recientes han podido identificar transcritos de ARN de *C. Trachomatis*²⁷ y de *Borrelia burgdorferi*²¹ en pacientes con las mismas características. Aunque estos hallazgos resultan alentadores, la búsqueda de material genético de origen bacteriano en pacientes con SpA de inicio juvenil²² resultó infructuoso. Dado que dichos estudios fueron realizados en pacientes de poblaciones donde la exposición a las bacterias artritogénicas es inferior a la reportada en los países en vías de desarrollo, una explicación a esos hallazgos sería que los pacientes incluidos pertenecen a poblaciones con bajo riesgo para infecciones, debido a las características higiénico-dietéticas prevalentes. Por lo tanto, el estudio de poblaciones como la nuestra, donde las infecciones por este tipo de bacterias son tan frecuentes que representan un problema de salud nacional, representa una oportunidad única.

SpA en el mestizo mexicano

En la población mexicana la prevalencia de HLA-B27 se encuentra entre 3 y 5.5%²⁸⁻³², por lo que el número de pacientes con EA en el país se estima en aproximadamente 80,000 de acuerdo al censo de 1990. La presentación de las SpA en mexicanos tiene algunas peculiaridades^{3,33,34}, a diferencia de las poblaciones caucásicas blancas, las SpA en el mestizo mexicano se caracterizan por una edad menor al inicio de los síntomas, alta frecuencia de artritis y entesitis periféricas y una mayor gravedad de sus consecuencias^{3,4,33,34}. Entre los pacientes con SpA, la proporción de casos con formas no diferenciadas, especialmente el síndrome de artropatía y entesopatía seronegativo se reconoce con mayor frecuencia. En forma simultánea se han descrito algunas variantes tales como la EA genuina de la infancia y la tarsitis anquilosante^{3,34}. La causa de estas diferencias podría resultar del papel adicional de ciertos alelos, por ejemplo LMP-2A, HLA-DRB1*08 y HLA-B49 y FC31 en individuos HLA-B27^{35,36,37} positivos (y quizá HLA-B27 negativos) durante la respuesta inflamatoria e inmunitaria a infecciones gastrointestinales y genitourinarias por bacterias artrítogénicas. Estos hechos podrían explicar el predominio de las formas infantiles y juveniles entre los pacientes con SpA en México y apoyan la hipótesis de que dichas formas corresponden a artritis reactivas recurrentes, crónicas y severas. Es por ello que el objetivo principal de este estudio fue la detección de ADN bacteriano intraarticular en pacientes con SpA juveniles diferenciadas (EA juvenil) y no diferenciadas (síndrome de artropatía y entesopatía seronegativo) con diferentes tiempos de evolución.

Justificación.

Las SpA en general y las juveniles en particular, son patologías frecuentes, de curso crónico, que comprometen la capacidad funcional (y en consecuencia laboral) de individuos de corta edad teniendo predilección por el sexo masculino.

El hallazgo de DNA bacteriano en el líquido sinovial o en sangre periférica y su correlación con serología positiva, será un avance innegable, que daría un impulso definitivo al concepto de participación bacteriana en la génesis de las SpA.

Nuestro país, a diferencia de la mayoría de países desarrollados, cuenta con una gran población de pacientes con SpA de inicio juvenil, por lo que constituye un terreno no explorado previamente que está a nuestro alcance y que podrá brindar conceptos nuevos en cuanto a la patogénesis de este grupo de entidades.

Hipótesis.

Existe DNA de bacterias implicadas en la patogenia de las SpA en leucocitos de líquido sinovial de pacientes con SpA juvenil y éste es detectable por PCR.

Objetivos.

Principal

Detectar DNA de bacterias artríticas (*Yersinia enterocolitica*, *Salmonella sp*, *Campylobacter sp*, *Shigella sp* o *Chlamydia trachomatis*) en leucocitos de líquido sinovial de pacientes con SpA mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

Secundarios

a) Determinar, en caso de estar presente, si el DNA bacteriano identificado corresponde a *Salmonella sp*, *Yersinia sp*, *Campylobacter sp*, *Shigella sp* o *Chlamydia sp*.

b) Determinar si existen anticuerpos contra las bacterias mencionadas, en el suero y el líquido sinovial de los mismos pacientes.

c) Determinar si existe asociación entre la presencia del DNA de bacterias y/o anticuerpos con el índice de actividad de la enfermedad.

Pacientes y Métodos

Pacientes. El grupo de estudio central estuvo constituido por pacientes cuyos primeros síntomas hubieran ocurrido antes de los 16 años con los diagnósticos del síndrome de artropatía y entesopatía seronegativo³⁸ o EA³⁹; adicionalmente, incluimos pacientes con EA, SpA no diferenciadas⁴⁰ y artritis psoriásica del adulto y como testigos pacientes con artritis reumatoide⁴¹ (AR), todos los pacientes fueron diagnosticados de acuerdo a los criterios correspondientes³⁸⁻⁴¹. Para ser incluidos en el estudio, ambos grupos debían tener un aumento en la cantidad de líquido sinovial lo suficientemente importante para ser sometidos a un procedimiento de punción y evacuación, aceptar el procedimiento como una alternativa terapéutica y de estudio. No se incluyeron pacientes tratados con corticosteroides por vía sistémica o intra-articular en los 3 meses previos a la selección, pacientes con la posibilidad de infección intra-articular, pacientes con procesos infecciosos activos en otros sitios. Se excluyeron los pacientes en quienes la artrocentesis representó problemas técnicos.

Se calculó el tamaño de la muestra de acuerdo a la fórmula para comparación de proporciones, con una proporción para el grupo de Artritis reactiva (SpA) de 0.625¹⁹ vs. 0.0 en el grupo testigo (artritis reumatoide), con un valor de α de 0.05 y de β de 0.8. En base a esto, se obtuvo un tamaño de muestra por grupo 9 pacientes (8.6).

Métodos

Procedimientos. Se investigó la posibilidad de cuadros infecciosos dentro de las 4 semanas previas al estudio y el estado de actividad inflamatoria de la enfermedad. Se contaron el número de articulaciones y entesis adoloridas e inflamadas en las extremidades pélvicas. Se determinó el grado de sensibilidad al presionar y al movilizar

y el índice de movilidad de las articulaciones axiales en los pacientes con SpA y la duración de la rigidez articular periférica por la mañana en los testigos. Utilizando las técnicas de asepsia y antisepsia convencionales se extrajeron 10 cc de sangre periférica y por lo menos 20 cc de líquido sinovial de la rodilla con mayor derrame según la exploración clínica.

Después de centrifugar la sangre periférica a 5,000 rpm x 10 min y el líquido sinovial a las mismas rpm por 10 min se separaron el suero y el líquido de los paquetes celulares. El suero y el líquido sinovial fueron congelados a -20°C ; las células del líquido sinovial a -70°C .

Detección de ADN bacteriano. La extracción del ADN se llevó a cabo con el Kit comercial "*Wizard™ Genomic ADN Purification Kit*" (Promega Inc, Madison WI), de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. La RCP se realizó en un volumen total de 100 μl conteniendo 50 μl de ADN de cada muestra y la mezcla de amplificación, la cual estaba constituida por 2 U de Taq ADN Polimerasa, 0.5 μmoles de cada desoxitriucleótido (dNTP), 30 picomoles de cada iniciador, 0.01 % de gelatina (peso/volumen), 50 nmoles/litro de KCl, 10 milimoles/litro de buffer (regulador) tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mmoles de MgCl_2 en el regulador de ADN. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador, de acuerdo a las recomendaciones de los autores. Los iniciadores y las sondas interiores para hibridación fueron adquiridos de Bio-syntesis, Inc (Lewisville, TX). Para la visualización de los productos amplificados de RCP, éstos fueron sometidos a electroforesis en un gel de agarosa al 1% y teñidos con bromuro de etidio. Las sondas para hibridación se marcaron con digoxigenina usando el kit comercial "*Digoxigenin Labeling System*" (Genius System; Boehringer Mannheim

Biochemicals, Indianapolis, Ind.) y la hibridación se realizó con Dot blot de acuerdo a las condiciones recomendadas por los autores de los artículos de referencia^{20,42,43,44,45,46}.

Para evitar la contaminación de las muestras, cada uno de los pasos fue llevado a cabo bajo condiciones estériles, las muestras y los reactivos se manejaron bajo campanas de flujo laminar. La solución de la RCP se preparó como stock y se repartió posteriormente en cada una de las muestras con micropipetas diferentes. Después de agregar el ADN a cada una de los tubos, éstos se cubrieron con dos gotas de aceite mineral y cada tubo se tapó antes de proceder al llenado del siguiente.

Para *C trachomatis* se seleccionaron los iniciadores KL1 ' y KL2 ' los cuales se dirigen a un fragmento del un plásmido que se extiende a partir del sitio de corte de la enzima Bam HI²⁰. La hibridación de los productos amplificados se realizó con la sonda interior KL2 ''²⁰.

Para *Yersinia sp* los iniciadores seleccionados fueron AMV4 y AMV5 la secuencia a amplificar a seleccionada fue el gen *lcrE* que codifica a genes de virulencia específicos de *Yersinia*, la hibridación de los productos amplificados se realizó con la sonda interna AMV10⁴².

Para *Shigella sp* los iniciadores seleccionados amplificaron la secuencia de un plásmido que codifica un gen asociado a invasividad que se extiende a 2.5 kilobases a partir de un sitio de corte de la enzima HindIII. Esta secuencia está presente tanto en *Shigella sp* como en *Escherichia coli* enteroinvasiva. La hibridación se realizó con la sonda interior ial⁴³.

Para *Campylobacter sp* los iniciadores CampC5 y P3MOD201C amplificaron una secuencia que codifica a un 16s-rARN de 600 bp, la hibridación de productos amplificados se realizó con la sonda interior IVWCF2⁴⁴.

Para *Salmonella sp* se seleccionó una secuencia cromosómica que abarca a los genes *invA* y *invE*. La hibridación de productos amplificados se realizó con una sonda interior incluida en la secuencia de gen de *invA*⁴⁵.

Para *M tuberculosis* se amplificó la secuencia IS6110⁴⁶, la cual presenta múltiples copias a lo largo del genoma. La hibridación se llevó a cabo con una secuencia interna derivada de la secuencia del producto amplificado.

Las secuencias los iniciadores y de las sondas de hibridación, la longitud esperada de los productos amplificados, así como las especificaciones de cada reacción de amplificación por RCP se encuentran descritas en el **cuadro 1**.

En cada reacción se incluyó un testigo negativo, el cual estaba compuesto por la mezcla de amplificación sin ADN problema y un testigo positivo, que incluía la amplificación de un gen estructural (ciclofilina) para descartar la presencia de inhibidores de amplificación en la reacción. Además el funcionamiento de los iniciadores fue confirmado al realizar la reacción de amplificación con ADN bacteriano de la misma especificidad de los iniciadores, el cual se obtuvo de cultivos bacterianos estandarizados. Solo se consideraron positivas las muestras que dieron resultado positivo tanto a la RCP como a la hibridación.

Anticuerpos antibacterianos. La detección de los niveles de anticuerpos de los isotipos IgG, IgM e IgA en el suero y en el líquido sinovial contra *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Klebsiella* y *Yersinia enterocolitica* fue realizada por ELISA.

Colonias de *Salmonella sp.*, *S flexneri*, *C jejuni*, *K pneumoniae* y *Y enterocolitica* fueron formalinizadas y posteriormente ajustadas a una concentración de 10⁹ UFC/ml. Estas bacterias fueron empleadas para recubrir los pozos de las placas y los pozos fueron

bloqueados con albúmina sérica bovina al 1%. Posterior a dilución seriada, se demostró la presencia de anticuerpos unidos por reacción con anticuerpos Anti IgG, IgM o IgA humanos los cuales fueron conjugados con peroxidasa de rábano, sustrato para la enzima (H_2O_2) en una dilución de 1:2000 y el cromógeno (O-fenilenediamina).

Los títulos de anticuerpos fueron determinados como el recíproco de la dilución.

La dilución analizada fue 1:125 y el punto de corte para las determinaciones séricas fue 0.2 y para líquido sinovial 0.3 densidades ópticas (D.O.), la selección de la dilución y del punto de corte fue seleccionada en forma arbitraria.

Análisis Estadístico. Los resultados de las RCP son descriptivos. Las comparaciones intra e inter grupales fueron hechas con la prueba de t y el análisis de la serología se realizó por comparación de proporciones empleando chi cuadrada o prueba exacta de Fisher.

Resultados

Características generales. Se obtuvieron muestras de líquido sinovial de 27 pacientes con SpA (11 SpA-J, 11 EAJ, 2 SpA, 1 EA y 2 artritis psoriásica (PsA)) y 9 de pacientes con AR (ver Cuadro 2). En los pacientes de inicio juvenil, la edad y el tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes con EAJ era mayor que la de los pacientes con formas indiferenciadas, aun cuando el rango observado fue muy amplio (Cuadro 2). Las características del grupo testigo (AR) son acordes con las características de la enfermedad, mostrando pacientes de mayor edad y predominio del sexo femenino.

Estudios de ADN bacterianos: Las muestras de 13 pacientes con SpA y 1 con AR fueron positivas en la RCP para detección de ADN bacteriano (Cuadro 3 y figuras 1-5). La comparación de estas proporciones por prueba de Chi-cuadrada no alcanzó valores de significancia estadística ($p=0.114$); sin embargo la razón de momios demuestra que la probabilidad de tener una reacción de RCP positiva es claramente mayor en el grupo de pacientes con SpA al compararlos con el de AR ($rm=6.5$).

Entre los pacientes con SpA, 4 muestras en el grupo de SpA de inicio juvenil fueron positivas a la detección de un solo ADN bacteriano; 4 del grupo de inicio juvenil y 2 de inicio en edad adulta tuvieron en forma simultánea ADN de 2 bacterias diferentes; un paciente en cada grupo tuvo ADN de 3 bacterias diferentes y 1 sola muestra (de un paciente de inicio juvenil) tenía ADN de 4 bacterias diferentes. En total, en el grupo de SpA, se detectó ADN de *Salmonella sp.* en 7 pacientes, *Yersinia sp.* en 5, *Shigella sp.* en 4, *M tuberculosis* en 4, *Campylobacter sp.* en 4 y *C trachomatis* en 2 (Cuadro 4).

En pacientes con SpA de inicio juvenil, los pacientes con formas indiferenciadas mostraron una mayor proporción de positivos a *Shigella sp.*, mientras en los pacientes

con EAJ, se encontraron con mayor frecuencia *Y enterocolitica* y *Campylobacter sp* (Cuadro 5) La comparación de estas proporciones por chi-cuadrada no demostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0.104$). En tres pacientes con SpA de inicio en la edad adulta se detectó ADN de *Salmonella sp* y en uno *Yersinia sp*. En un paciente con PsA se detectó ADN de *Salmonella sp*.

Se detectó ADN de *M tuberculosis* en 2 pacientes de inicio juvenil (los dos con formas indiferenciadas) y en 2 pacientes de inicio en edad adulta (uno con SpA indiferenciada y el otro con PsA). De los pacientes con AR, uno dio resultado positivo para la detección de ADN de *Campylobacter sp*. Las muestras dobles y triples positivas presentaron varias combinaciones (Cuadro 4).

Con un intervalo de por lo menos 4 meses, 2 pacientes fueron muestreados en dos ocasiones. Uno de estos pacientes tuvo ADN de *Salmonella sp* y *Shigella sp* en la primera muestra, en tanto que la segunda muestra resultó negativa. En el segundo paciente, ambas muestras resultaron negativas.

La detección de ADN bacteriano no mostró correlación con la duración de la enfermedad ni con la edad de los pacientes o con características de la enfermedad (diagnóstico clínico, gravedad, o duración de síntomas) (Cuadro 6).

Anticuerpos antibacterianos.

Los anticuerpos del isotipo IgG específicos para *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Yersinia* se encontraron positivos en mas del 90% de pacientes con SpA (independientemente del resultado de la RCP) y en pacientes con AR, estas determinaciones fueron positivas tanto en el líquido sinovial como en el suero, lo cual refleja el alto grado de exposición de nuestra población a dichas enterobacterias.

Suero: Al comparar los isotipos IgA e IgM en el suero, se observó un comportamiento muy similar entre pacientes con SpA y AR, solo alcanzando significancia estadística la determinación de IgM contra *Campylobacter* y la IgA contra *Shigella*, en ambos casos interesantemente, a expensas de una mayor proporción de individuos positivos en el grupo con AR (Cuadro 7); cuando la comparación se limita a los pacientes con SpA que resultaron positivos a la RCP (SpA+) contra los que resultaron negativos la IgA sérica contra *Campylobacter* existió una diferencia estadísticamente significativa (Cuadro 8). Cuando esta comparación (IgA sérica contra *Campylobacter*) se realizó entre pacientes SpA+ y pacientes con AR, no existió significancia estadística.

Líquido sinovial: El análisis de los anticuerpos en el líquido sinovial mostró una tendencia paralela en los diferentes grupos (pacientes con SpA, pacientes con SpA + y pacientes con AR) sin encontrar diferencias estadísticamente significativas (Cuadros 7,8 y 9).

La proporción de pacientes respondedores en suero y líquido sinovial para *Yersinia*, fue muy alta (>95% en el total de los pacientes) y al comparar la los isotipos IgM e IgA, fue evidente que la proporción de respondedores a *Yersinia* fue mayor que la de positivos a las demás bacterias (*Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*), esta diferencia a favor de *Yersinia* no fue estadísticamente significativa . Sin embargo, este resultado no se tenía contemplado dado que la *Yersinia* no es considerada como un patógeno frecuente en nuestro medio.

Discusión

Los resultados de este estudio demuestran la existencia de ADN bacteriano en células del líquido sinovial de pacientes con SpA juveniles. Prácticamente la mitad de los pacientes de nuestro grupo de estudio tuvo una reacción de RCP positiva para el hallazgo de ADN de bacterias artritogénicas tales como: *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter sp* y *Chlamydia trachomatis*, además se detectó ADN de *M tuberculosis*. Así mismo, encontramos ADN bacteriano en varias muestras de líquido sinovial de pacientes con varias formas de SpA del adulto, incluyendo artritis psoriásica. La relevancia de este estudio radica en el hallazgo sin precedente de ADN bacteriano en pacientes con el diagnóstico de SpA no diferenciada y EA juveniles y artritis psoriásica de larga evolución y por otro lado la identificación por primera vez de ADN de *Yersinia enterocolitica*. Los datos aquí reportados resultan, indudablemente, de la inclusión de pacientes con características que contrastan con las poblaciones hasta ahora estudiadas. A diferencia de algunos reportes originados en países desarrollados, este estudio no mostró diferencias en las titulaciones de anticuerpos entre el líquido sinovial o entre pacientes con SpA y pacientes testigos (en nuestro caso pacientes con AR). De igual manera no se demostró una concentración mayor de anticuerpos en el líquido sinovial que sugieran producción intra-articular de anticuerpos este hallazgo es congruente con un reporte reciente⁴⁷.

En México y otros países en desarrollo, las infecciones gastrointestinales y respiratorias se encuentran a la cabeza de la lista de causas de morbilidad y mortalidad en la población infantil. Los reportes del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica presentan hasta 10 millones de episodios de diarrea por año según cifras obtenidas a partir de Médicos e Instituciones a nivel nacional⁴⁸. Aun cuando esta cifra es

importante, es fácil proponer que en realidad corresponde a un subregistro, dado que no todos los casos de diarrea en nuestro país son atendidos por médicos y, de éstos, no todos son reportados. Otro factor que limita la utilidad de estas cifras, es que una proporción importante de los casos la etiología se establece por sospecha clínica y solo un porcentaje se complementa con estudio microbiológico. Aún así se reportan que aproximadamente 100,000 casos de diarrea al año son atribuibles a *Salmonella* o *Shigella* y no existen reportes sobre *Campylobacter* o *Yersinia*. Sin duda la combinación de deficientes hábitos higiénico dietéticos y insuficientes condiciones de infraestructura en las ciudades y particularmente en localidades rurales favorecen en gran medida la endemia de estas entidades. Se han aislado *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Campylobacter sp* de alimentos comerciales⁴⁹⁻⁵⁷, de alimentos domésticos⁵⁷ y de agua considerada potable y que es distribuida a los hogares por red pública⁵⁵.

Estudios locales han demostrado que las enterobacterias artritogénicas colonizan el tracto gastrointestinal de nuestros niños desde los primeros meses de vida⁵⁷⁻⁶⁶. Específicamente, se ha demostrado que hasta el 33% de los niños muestran excreción de enterobacterias artritogénicas (*Salmonella sp*)⁵⁸. Esta condición se mantiene constante hasta los 2 años y no es reflejada por la incidencia de diarrea^{60,65}. Algunos estudios epidemiológicos han demostrado la participación de *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Campylobacter sp* en los coprocultivos de pacientes pediátricos con diarrea. De hecho un estudio llevado a cabo en una población rural demostró que hasta el 98% de los niños estuvieron al menos un episodio de diarrea en el primer año de vida y un 93% durante el segundo⁶⁵. Algunos estudio han demostrado que las características del cuadro clínico o de las evacuaciones no correlacionan con los gérmenes aislados y en consecuencia no son predictores fiables de la etiología del cuadro^{60,63,65}. Por ejemplo, solo un 25% de

pacientes en los quienes se aisló *Salmonella sp* en un coprocultivo desarrollaron un cuadro diarreico en la semana subsecuente⁶⁷.

La *Salmonella sp* ha sido implicada en 5 a 20% de los casos de diarrea en población pediátrica^{59,60-63,66} y es la segunda causa de intoxicación alimenticia⁶⁸. Según un estudio nacional publicado por el Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica las especies aisladas con mayor frecuencia son *S. tiphymurium*, *S enteritidis*, *S tiphy* y *S agona*⁶⁹. De acuerdo a algunos reportes la shigellosis es responsable de entre un 10 a 35% de casos de diarrea^{59,60,62,63,65,66}. En estos casos las especies aisladas con mayor frecuencia son *S flexneri* (61.3 %), *S sonnei* (26 %) y *S dysenteriae* (6.4%)⁷⁰. En contraste a lo referido en poblaciones de países desarrollados, un porcentaje importante de los casos de shigellosis observados en nuestra población son asintomáticos. En población pediátrica se reporta hasta un 55% de casos de Shigellosis asintomática^{59,61,66}. Las frecuencias de shigellosis asintomática y de infecciones por mas de un agente parecen incrementarse con la edad^{59,61,65,67}.

Las infecciones por *Campylobacter sp* han sido detectadas en un 5 a 15% de pacientes con diarrea^{59,60,62,63-67,71}, la especie mas abundante es *C. jejuni* que representa hasta el 90% de los aislados⁷². De un 25 a 66% de los niños en comunidades rurales de nuestro país desarrollan infecciones asintomáticas por esta bacteria durante los dos primeros años de vida, las cuales son de corta duración, no generan una respuesta protectora^{64,66,71}. Un estudio que compara población adulta demostró que este tipo de infecciones persiste en la población adulta mexicana y que no se observa en una población sueca comparable⁷². Con respecto a las Yersiniosis, no existen datos en nuestro país que nos permitan conocer la incidencia de las infecciones causadas por esta

bacteria; nuestros resultados de serología sugieren sin embargo que el contacto con esta bacteria es frecuente.

En cuanto a *C trachomatis*, la prevalencia de esta infección en mujeres sexualmente activas sin síntomas sugestivos que fueron muestreadas en exámenes ginecológicos de rutina se ha encontrado entre un 3 a 12%⁷³⁻⁷⁷, los valores en población de alto riesgo tales como prostitutas son mayores⁷⁸. La prevalencia de infecciones por *M tuberculosis* en el país se estima en 51.7 por 100,000 habitantes⁷⁹, pero es posible que exista un subregistro⁸⁰, o que la distribución a nivel nacional sea heterogénea en las distintas regiones. De acuerdo a los estimados por pruebas de reacción intradérmica a tuberculina, el contacto primario con *M tuberculosis* es aproximadamente del 50% tanto en población abierta como de alto riesgo de exposición^{81,82}.

Tomando estos datos en conjunto, la prevalencia de las infecciones por enterobacterias artritogénicas en niños y en particular la proporción de éstas que son asintomáticas en nuestra población resultan sorprendentes. En el contexto de las SpA, las implicaciones de esta información son de gran interés y repercusión. En primer lugar, la prevalencia de las SpA en nuestra población probablemente constituya un problema de salud subestimado. En segundo lugar, nuestro medio, permite una ingesta frecuente y abundante de enterobacterias que favorece el desarrollo de SpA, en particular en la población que presenta el antígeno HLA-B27 (5%)³. En tercer lugar, el predominio de las presentaciones de SpA de inicio juvenil en comparación con otras formas de Artritis juvenil^{2,3,33} pudiera estar en relación a la exposición frecuente de los niños a bacterias artritogénicas. En cuarto lugar, ciertas características de las SpA de inicio juvenil o adulto, particularmente EAJ en cuanto a la frecuencia y/o severidad de la afección de articulaciones y entesis periféricas y la duración de la enfermedad hasta que se establece

el compromiso axial puede estar relacionado con infecciones recurrentes o crónicas de una o varias bacterias artritogénicas. El hecho de que los leucocitos del LS de pacientes con SpA-J o EA-J contengan ADN bacteriano de una o mas bacterias artritogénicas durante un episodio de sinovitis independientemente de la cronicidad de la enfermedad sugiere alguna participación de la bacteria en la génesis del proceso inflamatorio en las SpA. Este concepto parece ser aplicable también a las formas de presentación en la edad adulta, incluyendo al EA y la APs.

En términos generales, la mayor parte de los estudios que han demostrado la presencia de ADN bacteriano en el líquido sinovial o en la membrana sinovial de pacientes con SpA se refieren a pacientes con Are de corta evolución, síndrome de Reiter u oligoartritis indiferenciada. La mayor parte de estos estudios han demostrado ADN o ARN de *C trachomatis*^{19-21,83}, y en forma mas reciente algunos reportes publicados como resumen de congreso refieren haber detectado ADN de *Salmonella sp* y *Yersinia sp*. El hallazgo de estos se dio en pacientes con Are (algunos de ellos latinoamericanos). En cuanto a las artropatías juveniles, Braun y cols²² detectó ADN de *B burgdorferi* en 3 de 13 pacientes con oligoartritis indiferenciada de inicio juvenil, pero no logró detectar ADN de enterobacterias. En nuestro estudio, logramos detectar ADN bacteriano en el líquido sinovial de pacientes con SpA de presentación juvenil, tanto en formas indiferenciadas como formas definidas; estos hallazgos se extendieron hasta pacientes con presentación en la edad adulta. Dado que la mayor parte de nuestros pacientes tienen una enfermedad crónica de curso bien establecido, nuestros hallazgos parecen involucrar a la presencia del ADN bacteriano y quizás de otros componentes en la patogénesis de las recaídas en enfermedades de larga evolución.

La mayor parte de las muestras de nuestros pacientes fueron positivas a la detección de más de un tipo de ADN bacteriano y en algunos de los casos se detectó ADN de *M tuberculosis*. La prevalencia de infecciones sintomáticas o asintomáticas por estas bacterias en nuestra población parece consistente con nuestros hallazgos. En forma reciente un estudio publicado por Wilbrink y cols.⁸⁴ encontró ADN de 2 a 4 bacterias en una sola muestra de LS de pacientes con oligoartritis indiferenciada amplificando el gen que codifica el ARN ribosomal de 16s y posteriormente secuenciando los productos amplificados. A diferencia de nuestros resultados, las bacterias identificadas por Wilbrink, no corresponden a bacterias consideradas artritogénicas, sino a bacterias consideradas como flora normal.

Otra contribución de nuestro estudio es el haber demostrado la posibilidad de que pacientes en quienes se detecta ADN de alguna enterobacteria y son muestreados en una segunda ocasión, el resultado de dicha pueda variar, sugiriendo que la presencia de componentes bacterianos en la articulación es un proceso dinámico. Tales experimentos solo se habían reportado para *C trachomatis*⁸⁵ y *B burgdorferi*²¹ demostrando la capacidad de ambas de persistir en el interior de las articulaciones por periodos de varias semanas.

Si la presencia del ADN bacteriano de la especie considerada como desencadenante del cuadro el interior de la articulación de estos pacientes es un fenómeno de difícil comprensión, entonces la presencia de ADN bacteriano de múltiples especies en forma concurrente, complica en forma importante la comprensión. Si es que el ADN bacteriano desempeña un rol en la patogenia de la inflamación sinovial en las SpA o es solo un epifenómeno es algo que deberá definirse posteriormente⁸⁶. Actualmente, estos datos apoyan la hipótesis de que las infecciones bacterianas pueden generar cuadros de artritis

reactivas y eventualmente formas mas graves y crónicas de SpA en niños, especialmente en aquellos HLA-B27 positivos. Además explicarían la prevalencia de las formas de inicio juvenil en la población mexicana y la prevalencia de artritis periférica en estas presentaciones así como en las formas adultas.

Referencias Bibliográficas

1. Arnett F. Seronegative Spondyloarthropathies. *Bull Rheum Dis* 1987; 37:1-12
2. Burgos-Vargas R. Spondyloarthropathies and psoriatic arthritis in children. *Curr Op Rheumatol* 1993;5:634-43.
3. Burgos-Vargas R, Granados-Arriola J: Ankylosing spondylitis and related diseases in the Mexican Mestizo. *In Khan MA: Ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies. Spine: State of the Art Reviews. Vol 4. Philadelphia, Hanley & Belfus, 1990*
4. Burgos Vargas R, Vázquez-Mellado J, Cassis N, Cazarín Barrientos J, Duarte-Salazar C, Lino Pérez L: Genuine ankylosing spondylitis in children: A case testigo study of patients with definite disease according to current adult-onset criteria shortly after onset. *J Rheumatol* 1996;23:2140-7.
5. Reiter H: Ueber eine bisher unerkannte spirochetainfektion (Spirochaetosis arthritica). *Dtsch. Med. Wschr.* 1916;42:1535-40.
6. Paronen I: Reiter's disease: A study of 344 cases observed in Finland. *Acta Med Scand* 1948 ;131: (Suppl 212) 1-114.
7. Aho K, Ahvonen P, Lassus A, Sievers K, Tilikainen A: HL-A antigen 27 and reactive arthritis. *Lancet* 1973;157:7821.
8. 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
9. Thompson GT, Alfa M, Orr K, Thomson BR, Olson N: Secretory immune response and clinical sequelae of salmonella infection in a point source cohort. *J Rheumatol* 1994;21:132-7

10. 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
11. Sigal LH, Steere AC, Freeman DH: Proliferative responses of mononuclear cells in Lyme disease. Reactivity to *Borrelia burgdorferi* is greater in joint than in blood. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 761-9
12. 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
13. 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
14. 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
15. Granfors K, Jalkanen S, Lindberg AA. *Salmonella* lipopolysaccharide in synovial cells from patients with reactive arthritis. *Lancet* 1990;335:685-8
16. Hughes R, Hyder E, Salih A. Bacterial antigens in synovial fluid in seronegative arthritis. *Arthritis Rheum* 1991(Suppl) ;34: S197
17. Granfors K, Jalkanen S, von Essen R, Lahesmaa-Rantala R, Isomaki O, Pekkola-Heino K, Merilahti-Palo R, Saario R, Isomaki H, Toivanen A. *Yersinia* antigen in synovial fluid cells from patients with reactive arthritis. *N Eng J Med* 1989;320:216-

18. 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
19. 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.
20. 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.
21. 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 Eng J Med* 1994; 330: 229-34.
22. Braun J, Tuszewski M, Eggens U, Mertz A, Schauer-Petrowskaja 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. I. Screening of synovial fluid samples of patients with spondyloarthropathies and other arthritides. *J Rheumatol* 1997; 24: 1092-100.
23. 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.
24. García CO, Paira 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.

25. 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.
26. 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.
27. Hammer M, Nettelbreker E, Hopf S, Schmitz 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.
28. Arellano J, Vallejo M, Jiménez , Mintz G, Kretschmer RR: HLA-B27 and ankylosing spondylitis in the mexican mestizo population. *Tissue antigens* 1984;23:112-6
29. Fraga A, Gorodezky C, Lavalle C: HLA-B27 in mexican patients with ankylosing spondylitis *Arthritis Rheum* 1979;22:302-6
30. Lisker R, Pérez-Briseño R, Granados J: Gene frecuencies and admixture estimates in a Mexico City population. *Am J Phys Anthropol.* 1986;71:203-7
31. Lisker R, Pérez-Briseño R, Granados J, Babinsky B. Gene frecuencies and admixture estimates in the State of Puebla, Mexico. *Am J Phys Anthropol.* 1988;76:331-5
32. Orozco-Medina JH, Vazquez-Escobosas C: Antígenos HLA en espondilitis anquilosante. *Rev Invest Clin* 1981;33:369-72

33. Burgos-Vargas R, Vázquez-Mellado J: The early clinical recognition of juvenile-onset ankylosing spondylitis and its differentiation from juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 835-44.
34. Burgos-Vargas R, Pacheco-Tena C, Vázquez-Mellado J. Juvenile Spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1997;3:569-98
35. Maksymowych WP, Jhangri GS, Gorodezky C, Luong M, Wong C, *Burgos-Vargas R*, Morenot M, Sanchez-Corona J, Ramos-Remus C, Russell AS: The LMP2 polymorphism is associated with susceptibility to acute anterior uveitis in HLA-B27 positive juvenile and adult Mexican subjects with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1997;56:488-92
36. López-Larrea C, Gonzalez-Roces S, Peña M, Dominguez O, Coto E, Alvarez V, Moreno M, Hernandez O, *Burgos-Vargas R*, Gorodezky C : Characterization of B27 haplotypes by oligotyping and genomic sequencing in the Mexican Mestizo population with ankylosing spondylitis: juvenile and adult onset. *Hum Immunol* 1995;43:174-80
37. Maksymowych WP, Gorodezky C, Olivo A, Alaez C, Wong C, *Burgos-Vargas R*, Sanchez-Corona J, Ramos-Remus C, Russell AS: HLA-DRB1*08 influences the development of disease in Mexican Mestizo with spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 1997;24:904-7
38. Rosenberg AM, Petty RE: A syndrome of seronegative enthesopathy and arthropathy in children. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1041-7.

39. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A: Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 361-8.
40. Dougados M, Van der Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A, Cats A, Dijkmans B, Olivieri I, Pasero G, Veys E, Zeidler H: The European spondyloarthropathy study group preliminary criteria for the classification of spondyloarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1218-27.
41. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, Medsger TA Jr, Mitchel DM, Neustadt DH, Pinals RS, Schaller JG, Sharp JT, Wilder RL, Hunder GG: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
42. Viitanen AM, Petteri Arstila T, Lahesmaa R, Granfors K, Skurnik M, Toivanen P: Application of polymerase chain reaction and immunofluorescence techniques to the detection of bacteria in *Yersinia* reactive arthritis. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 89-96.
43. Frankel G, Riley L, Giron J, Valmassoi J, Friedmann, Strockbine N, Falkow S, Schoolnik GK: Detection of *Shigella* in feces using DNA amplification. *J Infect Dis* 1990; 161: 1252-6.
44. Stone G, Oberst R, Hays M, McVey S, Chengappa MM: Combined RCP-oligonucleotide ligation assay for rapid detection of *Salmonella* serovars. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2888-93.
45. Blom K, Patton M, Nicholson M, Swaminathan B: Identification of *Campylobacter* fetus by RCP-DNA probe method. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1360-2.

46. Eisenbach KD, Cave MD, Bates JH: Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1990; 161: 977-81
47. Maki-Ikola O, Lahesmma R, Merilahti-Palo R, Heesemann J, Saario R, Toivanen P, Granfors K: *Yersinia* specific antibodies in serum and synovial fluid in patients with *Yersinia*-triggered reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 535-9.
48. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud. *Epidemiología, Sistema Unico de Información* 1997; 14: 4-19.
49. Fernandez-Escartin E, Torres-Vitela MR: Contamination of fish ceviche by *Salmonella* in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996; 120: 198-230.
50. Sarti-Gutierrez EJ, Parrilla-Cerrillo MC, Saldate-Castañeda O, Rodríguez Peralta MC: Sanitary quality of ham eaten in Mexico City. *Salud Publica Mex* 1989; 31: 326-3.
51. Bello-Perez LA: Serotypes of *Salmonella* identified in chorizos for sale in Acapulco, Guerrero, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol* 1993; 35: 377-81.
52. Bello-Perez LA, Abarca-Mateos C: The incidence of *Salmonella* in the chorizos that are retailed in Acapulco, Guerrero. *Salud Publica Mex*. 1991; 33: 178-83.
53. Castillo-Ayala-A, Salas-Ubiarco-MG, Marquez-Padilla-ML, Osorio-Hernandez-MD: Incidence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in raw and roasted chicken in Guadalajara, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol* 1993; 35: 371-5.
54. Bello-Pérez LA, Ortiz-Dillanes DM, Perez-Memije E, Castro-Domínguez V: *Salmonella* in raw meat: a study in towns of the State of Guerrero. *Salud Pública Mex* 1990; 32: 74-9.

55. Sarti-Gutierrez EJ, Parrilla-Cerrillo C, Vazquez-Barojas S, Kawashima-Hashimoto L, Farias-Rodriguez A, Garcia-Juarez C: Sanitary testigo of food in Mexico City. *Salud Publica Mex.* 1989; 31: 82-90.
56. Dominguez R, Esparza M, Pacheco R, Gonzalez-Mendez N: Quality characterization of several bolognas in Mexico. I. Chemical and microbiologic evaluation. *Arch Latinoam Nutr* 1988; 38: 345-56.
57. Wood LV, Ferguson LE, Hogan P, Thurman D, Morgan DR, DuPont HL, Ericsson CD: Incidence of bacterial enteropathogens in foods from Mexico. *Appl Environ Microbiol* 1983; 46: 328-32.
58. Suarez-Hoil GJ, Flores-Abuxapqui JJ, Puc-Franco MA, Heredia-Navarrete MR: Excretion of *Salmonella* in feces during the 1st 3 months of life. *Rev Latinoam Microbiol* 1991; 33: 245-7.
59. Flores-Abuxapqui JJ, Suarez-Hoil GJ, Puc-Franco MA, Heredia-Navarrete MR, Franco-Monsreal J: Prevalence of enteropathogens in children with liquid diarrhea. *Rev Latinoam Microbiol* 1993; 35: 351-6.
60. Torres J, Gonzalez-Arroyo S, Perez R, Muñoz O: Inappropriate treatment in children with bloody diarrhea: clinical and microbiological studies. *Arch Med Res* 1995; 26: 23-9.
61. Guerrero L, Calva JJ, Morrow AL, Velazquez FR, Tuz-Dzib F, Lopez-Vidal Y, Ortega H, Arroyo H, Cleary TG, Ickering LK: Asymptomatic *Shigella* infections in a cohort of Mexican children younger than two years of age. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 597-602.
62. Suarez-Hoil GJ, Flores-Abuxapqui JJ, Heredia-Navarrete MR, Puc-Franco MA, Franco-Monsreal J: Prevalence of enteropathogenic bacteria in children with acute

- bloody diarrhea. Bol Med Hosp Infant Mex 1993; 50: 151-6.
63. Villafan H, Ordonez R, Tello A, Hernandez JM, Villicana R, Cravioto A: *Campylobacter jejuni* infection in children of a rural community. Bol Med Hosp Infant Mex. 1991; 48: 458-62.
64. Olarte J, Perez GI: *Campylobacter jejuni* in children with diarrhea in Mexico City. Pediatr Infect Dis 1983; 2: 18-20.
65. Cravioto A, Reyes RE, Ortega R, Fernandez G, Hernandez R, Lopez D: Prospective study of diarrhoeal disease in a cohort of rural Mexican children: incidence and isolated pathogens during the first two years of life. Epidemiol Infect 1988; 101: 123-34.
66. Benitez O, Uribe F, Navarro A, Hernandez D, Ruiz J, Cravioto A: Etiology of bloody diarrhea in children from a rural community. Bol Med Hosp Infant Mex 1991; 48: 65-70.
67. Cravioto A, Reyes RE, Trujillo F, Uribe F, Navarro A, De-La-Roca JM, Hernandez JM, Perez G, Vazquez V: Risk of diarrhea during the first year of life associated with initial and subsequent colonization by specific enteropathogens. Am J Epidemiol 1990; 131: 886-904.
68. Parrilla-Cerrillo MC, Vazquez-Castellanos JL, Saldate-Castaneda EO, Nava-Fernandez LM: Outbreaks of food poisonings of microbial and parasitic origins. Salud Publica Mex 1993; 35: 456-63.
69. Gutierrez-Cogco L, Gonzalez-Bonilla C, Giono-Cerezo S, Beltran LG: Principal serotypes of *Salmonella* identified in 10,703 strains in Mexico from 1982 to 1993. Rev Latinoam Microbiol 1994; 36: 221-6.
70. Gutierrez-Cogco L, Gonzalez-Bonilla C, Figueroa-Arredondo P: Analysis of 1185

- strains of *Shigella* isolated in Mexico from 1982 to 1993. *Rev Latinoam Microbiol* 1994; 36: 227-30.
71. Calva JJ, Ruiz-Palacios GM, Lopez-Vidal AB, Ramos A, Bojalil R: Cohort study of intestinal infection with *Campylobacter* in Mexican children. *Lancet*. 1988; 1: 503-6.
72. Sjogren E, Ruiz-Palacios G, Kaijser B: *Campylobacter jejuni* isolations from Mexican and Swedish patients, with repeated symptomatic and/or asymptomatic diarrhea episodes. *Epidemiol Infect* 1989; 102: 47-57.
73. Diaz Barreiro G, Diaz Lopez E, Servin Ramirez JF: Frequency of *Chlamydia trachomatis* in the cervix of pregnant women during prenatal examinations. *Ginecol Obstet Mex* 1997; 65: 48-51.
74. Acosta Cazares B; Ruiz Maya L; Escobedo de la Peña J: Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in low-income rural and suburban populations of Mexico. *Sex Transm Dis* 1996; 23: 283-8.
75. Gunn-RA, Hillis-SD, Shirey-P, Waterman-SH, Greenspan-JR: *Chlamydia trachomatis* infection among Hispanic women in the California-Mexico border area, 1993: establishing screening criteria in a primary care setting. *Sex Trans Dis* 1995; 22: 329-34.
76. Rosas-Arceo-J, Toca-Porraz-L, Diaz-Esponda-C, Nava-Flores-J: *Chlamydia trachomatis* infection in the cervix uteri. *Ginecol Obstet Mex*. 1993; 61: 326-8.
77. Echaniz-Aviles-G, Calderon-Jaimes-E, Carnalla-Barajas-N, Soto-Nogueron-A, Cruz-Valdez-A, Gatica-Marquina-R : Prevalence of cervicovaginal infections caused by *Chlamydia trachomatis* among female population of the city of Cuernavaca, Morelos. *Salud Publica Mex*. 1992; 34: 301-7.
78. Uribe Salas-F, Hernandez-Avila-M, Conde-Gonzalez-CJ, Juarez-Figueroa-L, Allen-B,

- Anaya-Ocampo-R, Del-Rio-Chiriboga-C, Uribe-Zuniga-P, de-Zalduondo-B :Low prevalences of HIV infection and sexually transmitted disease among female commercial sex workers in Mexico City. *Am J Public Health*. 1997; 87: 1012-5.
79. Garcia-Garcia ML, Valdespino-Gómez JL, Palacios-Martinez M, Mayar-Maya ME, García-Sancho C, Sepúlveda-Amor J: Tuberculosis and AIDS in México. *Salud Publica Mex* 1995; 37: 539-48.
80. Mercado Martínez FJ, Gloyd S, Durning J, Lopez-Lopez JL, Barrera Sánchez FJ: Risk of tuberculosis infection in the health jurisdictions of Jalisco Mexico. *Salud Pública Mex* 1992; 34: 499-505.
81. Molina Gamboa J, Fivera Morales I, Ponce de León S: Prevalence of tuberculin reactivity among healthcare workers from a Mexican hospital. *Infect Testigo Hosp Epidemiol* 1994; 15: 319-20.
82. Gloyd S, López JL, Mercado FJ, Durning J: Risk of mycobacterium *M tuberculosis* infection in Jalisco, Mexico. *Bol Oficina Sanit Panam* 1991; 111: 393-401.
83. Garcia CO, Paira S, Burgos R, Molina JF, Molina J, Calvo C, Vega L, Jara LJ, Garcia-Kutzbach A, Cuéllar ML, Espinoza LR: Detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in synovial fluid from Latin American patients with reactive arthritis by heminested polymerase chain reaction [abstract]. *Arthritis Rheum* 1996; 39 Suppl 9: S185.
84. Wilbrink B, Van der Heiden IM, Schouls LM, Van Embden JDA, Hazes JMW, Breedveld FC, Tak PP: Detection of bacterial DNA in joint samples from patients with undifferentiated arthritis and reactive arthritis, using polymerase chain reaction with universal 16s ribosomal RNA primers. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 535-543.
85. Beutler AM, Hudson AP, Whittum-Hudson JA, Salameh WA, Gerard HC, Branigan PJ, Schumacher Jr. HR: *Chlamydia trachomatis* can persist in joint tissue after

antibiotic treatment in chronic Reiter's syndrome/reactive arthritis. *J Clin Rheumatol* 1997; 3: 125-30.

86. Kingsley G: Microbial DNA in the synovium, a role in aetiology or a mere bystander?.
Lancet 1997; 349:1038-9

Cuadro 1. Genes bacterianos seleccionados para la RCP e hibridación, secuencia de las sondas y longitud de los segmentos amplificadas.

Bacteria (Referencia)	Gen	Secuencia	Amp (pb)	No. De ciclos (descripción)
<i>Chlamydia trachomatis</i> (19)	Sitio de restricción de Bam HI	CCT CTT CGT TGA CCG ATG TA CCC AGA CAA TGC TCC AAG GA AAG TCT TAA GCT TGG AGA TT	190	25 ciclos (1 min a 94°C, 2 min a 57°C, and 2 min a 74°C)
<i>Yersinia enterocolitica</i> (41)	LcrE	CGG GGA GAA TCT GTG CAG CAC GGA GCG GCT GCA GTG G GAT GCC CTG AAA GGG CGC CCT G	450	25 ciclos (45s a 94°C, 1 min a 55°C and 2 min a 72°C)
<i>Shigella</i> sp. (42)	lal	CCA GGC CAA CAA TTA TTT CC CTG GTA GGT ATG GTG AGG	320	26 ciclos (1 min a 94°C, 2 min a 43°C, and 3 min a 72°C)
<i>Campylobacter</i> sp. (43)	600-bp 16s-rADN	GTG TCC ATA AGA TTA TCT ACC GGC TGA TCT ACG ATT ACT AGC GAT GCG CGC ATT AGA TAC CCT AGT AGT CC	600	30 ciclos (2 min a 96°C, 30s a 52°C and 1 min a 72°C)
<i>Salmonella</i> sp. (44)	Inv A/ Inv E	CTC AAC TTT CTA GCA AGC TAG CAC TCT CT TGC CTA CAA GCA TGA AAT GG AAA CTG GAC CAC GGT GAC AA CTG GTT GAT TTC CTG ATC GC	457	35 ciclos (15s a 94°C, 15s a 52°C and 15s a 72°C)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (45)	IS6110	CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG CGA ACC CTG CCC AGG TCG A	123	25 ciclos (2 min a 94°C, 2 min a 68° and 2 min a 72°C)

Estas secuencias fueron utilizadas como sonda interna para la hibridación.

Cuadro 2. Descripción de los grupos de estudio de acuerdo al diagnóstico

Diagnóstico	N	Edad (años)	Sexo (M/F)	Tiempo de evolución (años)
SpA-J	11	19.2±3.86	10/1	5.33±3.06
EAJ	11	24.9±5.11	10/1	11.92±5.57
EA	1	21	1/0	3.50
SpA	2	23.0±1.41	1/1	2.50±0.71
PsA	2	43.0±4.24	2/0	23.5±2.12
AR	9	48.27 ± 7.96	1/8	9.74 ± 4.6

Abreviaturas: SpA-J= Espondiloartropatía indiferenciada de inicio juvenil, EAJ= Espondilitis anquilosante de inicio juvenil, SpA= Espondiloartropatía indiferenciada del adulto, EA= Espondilitis anquilosante del adulto, PsA= Artritis psoriásica

Cuadro 3. Resultados de la detección de DNA de acuerdo al diagnóstico.

Diagnóstico	Positivos	Negativos
SpA-J	5	6
EA-J	5	6
EA	1	0
SpA	1	1
PsA	1	1
Total SpA	13	14
AR	1	8
Total	14	22

Abreviaturas: SpA-J= Espondiloartropatía indiferenciada de inicio juvenil, EAJ= Espondilitis anquilosante de inicio juvenil, SpA= Espondiloartropatía indiferenciada del adulto, EA= Espondilitis anquilosante del adulto, PsA= Artritis psoriásica.

Diagnóstico	Positivos	Negativos
SpA	13	14
AR	1	8

El análisis por Chi-cuadrada demuestra que esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0.114$)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Cuadro 4 Características demográficas y clínicas de los pacientes con detección bacteriana positiva por RCP.

Paciente (sexo)	Diagnóstico	Edad	Evolución (años)	ADN bacteriano encontrado
1 (M)	SpAJ	18	5	<i>Salmonella sp, Shigella sp, M tuberculosis</i>
2 (M)	SpAJ	16	1	<i>C trachomatis, Salmonella sp, Shigella sp, Y enterocolitica</i>
3 (F)	SpAJ	23	8	<i>Shigella sp</i>
4 (M)	SpAJ	15	8	<i>Salmonella sp, M tuberculosis</i>
5 (M)	SpAJ	16	15	<i>Campylobacter sp</i>
6 (M)	EAJ	22	9	<i>Salmonella sp, Campylobacter sp</i>
7 (M)	EAJ	29	16	<i>Y enterocolitica</i>
8 (M)	EAJ	23	15	<i>Y enterocolitica, Campylobacter sp</i>
9 (F)	EAJ	19	9	<i>C trachomatis, Y enterocolitica</i>
10 (M)	EAJ	35	19	<i>Campylobacter sp</i>
11 (F)	SpA	24	1	<i>Y enterocolitica, Salmonella sp, M tuberculosis</i>
12 (M)	EA	23	5	<i>Salmonella sp, Shigella sp</i>
13 (M)	PsA	40	18	<i>Salmonella, M tuberculosis</i>
14 (F)	AR	33	13	<i>Campylobacter sp</i>

Abreviaturas: SpAJ= Espondiloartropatía indiferenciada de inicio juvenil, SpA= Espondiloartropatía indiferenciada del adulto, EA= Espondilitis anquilosante de inicio juvenil, PsA= Artritis psoriásica, AR= Artritis reumatoide, Sal= *Salmonella*, Cam= *Campylobacter*, Shi= *Shigella*, Yer= *Yersinia* y CT= *Chlamydia trachomatis*

Cuadro 5. Proporción de pacientes positivos a RCP de acuerdo a diagnóstico y bacteria

Diagnóstico (n)	<i>C.</i> <i>trachomatis</i>	<i>Yersinia sp</i>	<i>Campylobacter</i> <i>sp</i>	<i>Salmonella</i> <i>sp</i>	<i>Shigella sp</i>	<i>M</i> <i>tuberculosis</i>
SpA-J (11)	1/11 (9)*	1/11 (9)*	1/11 (9)*	3/11 (27)*	3/11 (27)*	2/11 (18)
EAJ (11)	1/11 (9)*	3/11 (27)*	2/11 (18)*	1/11 (9)*	0	0
EA (1)	0/1	0/1	0/1	1/1 (100)*	1/1 (100)*	0/1 (0)
SpA (2)	0/2	1/2 (50)*	0/2	1/2 (50)*	0	1/2 (50)
PsA (2)	0/2	0/2	0/2	1/2 (50)*	0	1/2 (50)

* Los valores en el interior de los paréntesis representan el porcentaje de individuos con el diagnóstico señalado que resultaron positivos a la bacteria especificada.

Abreviaturas: SpAJ= Espondiloartropatía indiferenciada de inicio juvenil, EAJ= Espondilitis anquilosante de inicio juvenil, SpA= Espondiloartropatía indiferenciada del adulto, EA= Espondilitis anquilosante del adulto, PsA= Artritis psoriásica.

La comparación de los valores de las formas de inicio juvenil (SpA-J / EAJ) por prueba de Chi-cuadrada no demostró que las diferencias sean estadísticamente significativas (p=0.104)

Cuadro 6. Comparación de variables demográficas y clínicas de los pacientes con SpA clasificados por los resultados por RCP.

Variable	Positivos (n=13)	Negativos (n=14)	P
Edad al momento del estudio	23.2±8.3	24.1 ±7.1	0.75
Edad al inicio de la enfermedad	13.8±3.2	14.5±3.4	0.60
Tiempo de evolución	9.36±6.59	9.63±7.0	0.60
Índice articulaciones inflamadas	2.82±1.17	2.81±2.6	0.99
Índice de entesis	4.36±2.11	3.94±2.76	0.67
Antecedente de infección*	3	0	0.16
Uveitis anterior aguda*	0	3	0.37
Queratodermia blenorragica*	2	0	0.37

* Se refiere a presencia de cuadro infeccioso en las cuatro semanas previas a la toma de la muestra.

x Estos datos fueron recabados por historia, no fueron coincidentes con el periodo de reactivación en el cual el paciente fue muestreado

Cuadro 7. Proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de acuerdo al diagnóstico, isotipo y especificidad bacteriana.

		Líquido sinovial		Suero	
		SpA n(%)	AR n(%)	SpA n(%)	AR n(%)
<i>Yersinia</i>					
	IgG	27 (100)	9 (100)	27 (100)	9 (100)
	IgA	27 (100)	8 (88.9)	27 (100)	9 (100)
	IgM	25 (92.6)	8 (88.9)	27 (100)	8 (88.9)
<i>Salmonella</i>					
	IgG	25 (92.6)	8 (88.9)	27 (100)	9 (100)
	IgA	1 (3.7)	2 (22.2)	4 (14.8)	2 (22.2)
	IgM	2 (7.4)	1 (11.1)	2 (7.4)	3 (33.3)
<i>Shigella</i>					
	IgG	25 (92.6)	9 (100)	27 (100)	9 (100)
	IgA	2 (7.4)	1 (11.1)	0	4 (44.4) *
	IgM	2 (7.4)	1 (11.1)	0	1 (11.1)
<i>Campylobacter</i>					
	IgG	14 (51.9)	7 (77.8)	19 (70.4)	9 (100)
	IgA	0	0	2 (7.4)	2 (22.2)
	IgM	4 (14.8)	3 (33.3)	6 (22.2)	9 (100) *
<i>Klebsiella</i>					
	IgG	27 (100)	9 (100)	27 (100)	9 (100)
	IgA	4 (14.8)	1 (11.1)	0	2 (22.2)
	IgM	11 (44.4)	5 (55.6)	17 (63.0)	9 (100)

En el caso del líquido sinovial el punto de corte seleccionado fue 0.2 y para suero de 0.3; en ambos casos la dilución analizada fue 1:125.

* Estas diferencias son estadísticamente significativas

Cuadro 8. Comparación de la proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de pacientes con SpA positivos y negativos a la detección por PCR.

	Líquido sinovial		Suero	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
<i>Yersinia</i>	n=5	n=22	n=5	n=22
IgG	5 (100)	22 (100)	5 (100)	22 (100)
IgA	5 (100)	22 (100)	5 (100)	22 (100)
IgM	5 (100)	20 (90)	5 (100)	22 (100)
<i>Salmonella</i>	n=7	n=20	n=7	n=20
IgG	7 (100)	18 (90)	7 (100)	20 (100)
IgA	0	1 (5)	1 (15)	3 (16)
IgM	0	2 (10)	1 (15)	1 (5)
<i>Shigella</i>	n=4	n=23	n=4	n=23
IgG	4 (100)	21 (91)	4 (100)	23 (100)
IgA	0	2 (8)	0	0
IgM	0	2 (8)	0	0
<i>Campylobacter</i>	n=4	n=23	n=4	n=23
IgG	2 (50)	12 (52.1)	4 (100)	15 (65)
IgA	0	0	2 (50)	0 *
IgM	0	4 (17)	2 (50)	4 (17)

En el caso del líquido sinovial el punto de corte seleccionado fue 0.2 y para suero de 0.3; en ambos casos la dilución analizada fue 1:125.

* Esta diferencia es estadísticamente significativa. (p=0.013)

Cuadro 9. Comparación de la proporción de pacientes con titulaciones consideradas como positivas de anticuerpos de pacientes con SpA positivos (SpA +) y negativos (SpA -) a la detección por PCR y los pacientes con AR.

	Líquido sinovial				Suero			
	SpA +	SpA -	AR	SpA +	SpA -	AR	SpA +	SpA -
<i>Yersinia</i>								
	n=5	n=22	n=9	n=5	n=22	n=9	n=22	n=9
IgG	5 (100)	22 (100)	9 (100)	5 (100)	22 (100)	9 (100)	22 (100)	9 (100)
IgA	5 (100)	22 (100)	8 (88.9)	5 (100)	22 (100)	9 (100)	22 (100)	9 (100)
IgM	5 (100)	20 (90)	8 (88.9)	5 (100)	22 (100)	8 (88.9)	22 (100)	8 (88.9)
<i>Salmonella</i>								
	n=7	n=20	n=9	n=7	n=20	n=9	n=20	n=9
IgG	7 (100)	18 (90)	8 (88.9)	7 (100)	20 (100)	9 (100)	20 (100)	9 (100)
IgA	0	1 (5)	2 (22.2)	1 (15)	3 (16)	2 (22.2)	3 (16)	2 (22.2)
IgM	0	2 (10)	1 (11.1)	1 (15)	1 (5)	3 (33.3)	1 (5)	3 (33.3)
<i>Shigella</i>								
	n=4	n=23	n=9	n=4	n=23	n=9	n=23	n=9
IgG	4 (100)	21 (91)	9 (100)	4 (100)	23 (100)	9 (100)	23 (100)	9 (100)
IgA	0	2 (8)	1 (11.1)	0	0	4 (44.4)	0	4 (44.4)
IgM	0	2 (8)	1 (11.1)	0	0	1 (11.1)	0	1 (11.1)
<i>Campylobacter</i>								
	n=4	n=23	n=9	n=4	n=23	n=9	n=23	n=9
IgG	2 (50)	12 (52.1)	7 (77.8)	4 (100)	15 (65)	9 (100)	15 (65)	9 (100)
IgA	0	0	0	2 (50)	0	2 (22.2)	0	2 (22.2)
IgM	0	4 (17)	3 (33.3)	2 (50)	4 (17)	9 (100)	4 (17)	9 (100)

En todos los casos los valores se encuentran expresados como n(%)
 En el caso del líquido sinovial el punto de corte seleccionado fue 0.2 y para suero de 0.3; en ambos casos la dilución analizada fue 1:125.

No existen diferencias estadísticamente significativas

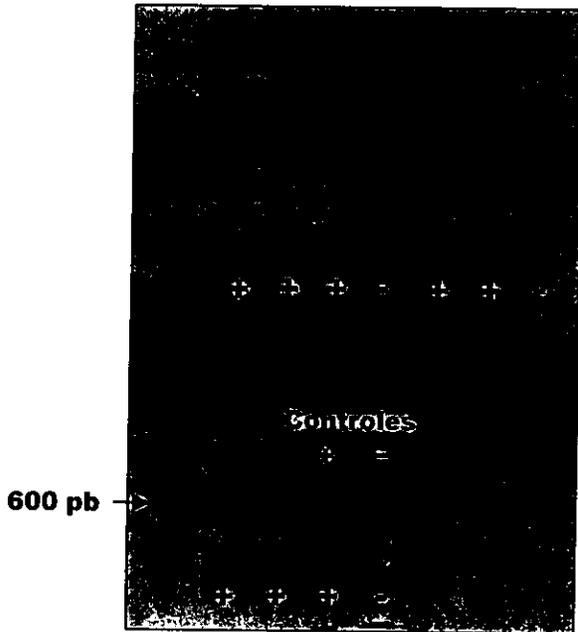


Figura 1. Fotografía de un gel de RCP de *Campylobacter sp.* representativo

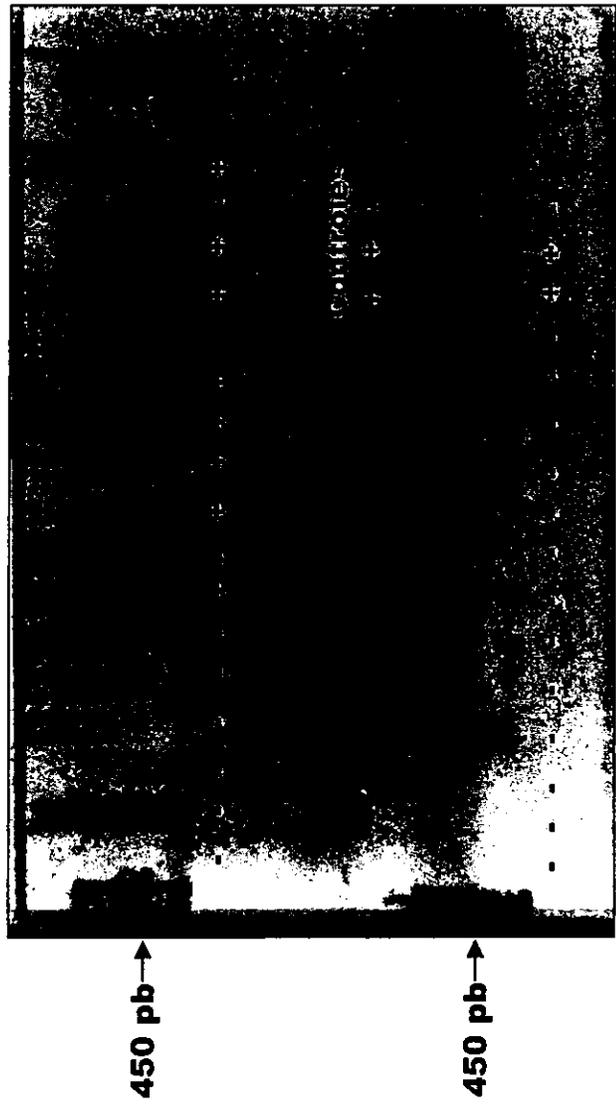
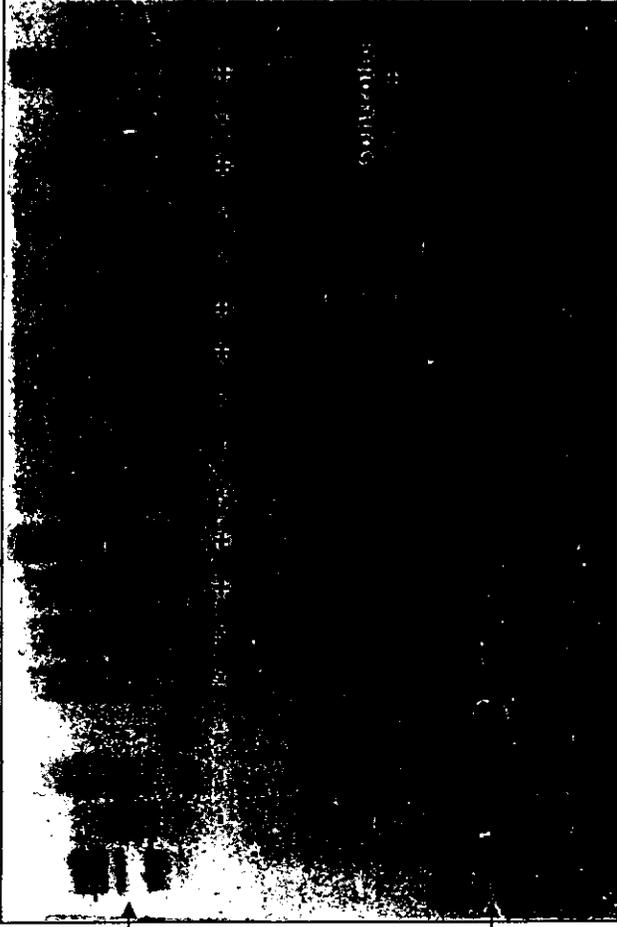


Figura 2. Fotografía de un gel representativo de RCP de *Yersinia* sp.



457 pb

457 pb

Figura 3. Fotografía de un gel representativo de RCP de *Salmonella* sp.

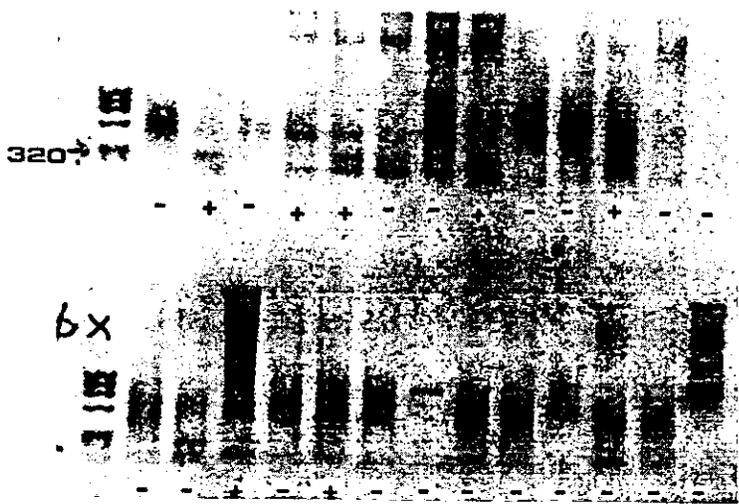


Fig. 4. Fotografía de un gel de RCP de *Shigella* sp representativo