

**SERONEGATİF ARTROPATİLİ HASTALARDA ANTİ-YERSİNİA  
ENTEROCOLİTİCA O:3 ANTİKORLARININ ( IgA, IgM ve IgG)  
ELISA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Investigation of anti-yersinia enterocolitica O:3 antibodies (IgA, IgM and IgG) in patients  
with seronegative arthropathies using elisa procedure**

Şinasi Taner Yıldırım<sup>1</sup>, Hüseyin Gür<sup>2</sup>, Tuncer Haznedaroğlu<sup>3</sup>,  
Mehmet Baysallar<sup>3</sup>, Ahmet C Başustaoğlu<sup>3</sup>

**Özet:** Bu araştırmada, genel olarak seronegatif artropatili adı altında 32'si (%41.6) ankilozan spondilitli, 26'sı (%33.8) henüz kesin bir tanı almamış seronegatif oligo/poliartritli, 15'i (%19.5) sakroileitli, 2'si (%2.6) psöriyatik artritli ve diğer 2'si (%2.6) de Reiter Sendrom'lu olmak üzere 77 hasta ile 90 sağlıklı kan donör serumu (kontrol grubu) çalışmaya alındı. Laboratuvarlarımızda hazırlayıp uyguladığımız ELISA yöntemiyle Yersinia enterocolitica serotip O:3-spesifik IgA, IgM ve IgG antikörleri araştırılan bu hastalarda, genel olarak IgA pozitifliği (%12,9) kontrol grubuna göre (%5.5) anlamlı bulundu. Henüz kesin bir tanı konulmamış ve seronegatif oligo/poliartrit olarak nitelendirilen hasta grubunda, herhangi bir Ig sınıfından antikor pozitifliği bulunan hastaların toplam yüzdesi (%30.7) ile sadece IgA pozitifliği bulunan hastaların yüzdesi (%19.2), kontrol grubundakilerine göre anlamlı bulundu. Seronegatif artropati grubu içinde incelenmesi uygun olan fakat henüz bir tanı konulamayan hastalarda, etyoloji araştırılırken, Y.enterocolitica'nın olası rolünün de araştırılmasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.

**Summary:** In general, 77 patients with seronegative arthropathies were studied and 32 out of these patients (41.6%) were diagnosed as ankylosing spondylitis, 26 (33.8%) as psoriatic arthritis and 2 (2.6%) as Reiter Syndrome. The remaining were patients with seronegative arthropathies but have not have any definite diagnosis yet and 26 out of these were patients (33.8%) with seronegative oligo/polyarthritis and 15 (19.5%) were sacroiliitis. The sera of 90 healthy blood donors were used as controls. ELISA procedure which we prepared in our laboratories was used to detect Yersinia enterocolitica serotype O:3 antibodies including IgA, IgM and IgG in sera of these patients. In general, the positivity of IgA antibodies in sera of the all patients (12.9%) was statistically significant when compared to the positivity (5.5%) in controls. In patients, who have not have any definite diagnosis yet and named as having seronegative oligo/polyarthritis, both the total of the positivity of any Ig class antibody (30.7%) and only the positivity of IgA antibodies (19.2%) were statistically significant when compared to those in controls. In conclusion, while the etiology is searched in patients with seronegative arthropathies but have not have any definite diagnosis yet, we think that it would be a proper management to investigate the probable role of Y.enterocolitica examining the sera of the patients for the presence of specific antibodies.

**Anahtar Kelimeler:** Seronegatif artropati, Yersinia enterocolitica O:3, Antikor, ELISA

**Key Words:** Seronegative arthropathy, Yersinia enterocolitica O:3, Antibody, ELISA

Yersinia enterocolitica insanlarda oluşturduğu çeşitli klinik tablolarla son zamanlarda büyük önem kazanmış bir bakteridir (3,6). Enterobacteriaceae

ailesinin bir üyesi olan Y.enterocolitica enterik bir patojendir ve sindirim sisteminde esas olarak gastroenterit ya da enterokolite neden olmaktadır (3,6,7). Sindirim sistemi dışında da primer infeksiyonlara neden olabilen bu patojenin oluşturduğu akut bir infeksiyondan sonra, henüz günümüze tam olarak açıklanamamış bazı mekanizmaların yardımıyla eklemlerde bir komplikasyon

GATA ANKARA

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji. Uzm.Dr.<sup>1</sup>, Doç.Dr.<sup>2</sup>, Y.Doç.Dr.<sup>3</sup>

Geliş tarihi : 27 Aralık 1993

olarak reaktif artropatilerin geliştiği bilinmektedir (3,5,6,7,9,22). Reaktif artrit gelişimi ile HLA-B27 antijeni arasındaki güçlü ilişki uzun süreden beri bilinmektedir, fakat bazı teorilerin öne sürülmesine rağmen, hangi mekanizmalar bu antijenin eklem komplikasyonlarının ortaya çıkmasında belirleyici rol oynamaktadır, bu henüz açık bir şekilde belli değildir (9).

Oluşan reaktif artropatilerin genelde geçici tabiatta olduğu ve bir sekel bırakmadığı bilinmekteyse de, konakçıya ait bazı predispozan faktörlerin ve patojenin tam elimine edilemeden inatçı kalabilmesinin etkisiyle, başlangıçta masum görünen bir reaktif artropati kronik bir tabiat kazanabilmekte ve nadir de olsa bazı vakalarda ankilozan spondilit veya Reiter Sendromu oluşumuna kadar gidebilmektedir (5, 6, 7, 11, 14, 18, 21, 22,23,25). Bilindiği gibi reaktif artritler seronegatif artropatilerin bir üyesidir (1).

Eklem şikayetleri nedeniyle hastanelere başvuran birçok hastanın arasında şikayetleri, klinik görünümü ve laboratuvar bulguları nedeniyle genelde seronegatif artropatiler içinde incelenmesi uygun olan, fakat henüz bir tanıya doğru kanalize edilemeyen hastalarda etyolojik neden araştırılırken, bunlarda *Y.enterocolitica*'nın da uygun yöntemler kullanılarak araştırılmasının yerinde olacağı inancındayız.

*Y.enterocolitica* infeksiyonlarının akut döneminde kültür ve aglütinasyon deneylerinin tanıda standart yöntemler olmasına rağmen, kronik dönemde ELISA yöntemi değerli bulunmaktadır (10, 13, 17, 24).

Bu çalışmada, genel olarak seronegatif artropatili olarak nitelendirdiğimiz hasta grubumuzda yer alan 77 hastada, *Y.enterocolitica* serotip O:3'ün olası rolünü araştırmak amacıyla, laboratuvarlarımızda hazırladığımız ELISA yöntemini kullanarak yersinia-spesifik IgA, IgM ve IgG antikor pozitifliğini saptamaya çalıştık.

## METODLAR

Gülhane Askeri Tıp Akademisi iç Hastalıkları Anabilim Dalı, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon

Anabilim Dalı klinikleriyle Ankara Numune Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniğinde, Şubat 1993-Temmuz 1993 dönemleri arasında, Seronegatif Artropati hastalık grubuna dahil veya bu grupta değerlendirilebilen, uzun süreden beri eklem şikayetleri olan, romatoid faktörü (RF) negatif (seronegatif), akut faz reaktanı olarak C-Reaktif Protein (CRP) düzeyi ve sedimentasyon hızı yüksek 77 hastanın serumları toplandı ve çalışma yapıncaya kadar -75°C'de saklandı. Aynı hastalardan daha sonraki dönemde tekrar serum örneği almak mümkün olmadı.

Ankara Kızılay Kan Merkezi'nden sağlanan 90 sağlıklı kan donör serumu çalışmamızda iki amaçla kullanıldı. Birincisi, bunlardan oluşturulan karışık serum (pooled sera) ELISA çalışmasında cut-off değerinin hesaplanmasında kullanıldı, bir diğeri de, çalışmada kontrol grubu amacıyla kullanılan sağlıklı bireylere ait serumlar, yine bu kan donörlerinden sağlandı ve bu amaçla kullanılan 90 donöre ait serumlar çalışma yapıncaya kadar -75°C'de saklandı.

ELISA plate'lerine kaplanacak antijen süspansiyonunun hazırlanmasında kullanılan *Yersinia enterocolitica* serotip O:3, biyotip 4 suşu ile ELISA çalışmasında pozitif kontrol olarak kullanılan insan kaynaklı ve anti-*Yersinia enterocolitica* O:3 antikorlarından zengin serum, Pasteur Enstitüsü'nde *Yersinia* Laboratuvarları direktörü olan Dr. Elisabeth Carniel'den sağlandı. Bu serum, Pasteur Enstitüsü'nde yapılan aglütinasyon testi ile yüksek titrede (1/640) pozitifliği.

**A. Antijenin hazırlanması :** Stok antijen süspansiyonunun hazırlanması Granfors ve arkadaşlarıncı tanımlandığı şekilde yapıldı (8). Bu süspansiyona son konsantrasyonu (%0.5) olacak şekilde formalin katılarak +4°C'de saklandı. Bu antijen süspansiyonu daha sonra sodyum dodesil sülfat'la (SDS) işlemden geçirilerek SDS-treated antijen'ler elde edildi. Pleyt'leri kaplamak için protein konsantrasyonu 1symbol 109 √ "Symbol"/g/ml olacak şekilde PBS içinde dilüe edildi.

**B. Plakların kaplanması:** Polystyrene mikrotitrasyon plate'lerin (Nunc Maxisorp, 96F) kuyucuklarına, 1symbol 109 √ "Symbol"/g/ml

protein içeren SDS ile işlem görmüş antijen süspansiyonundan 100 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 konulduktan sonra bir gece 37oC'de bırakıldı. Daha sonra PBS + %0.05 Tween ile 2 kez yıkandı. Ardından her kuyucuğa 100 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 PBS + %1 BSA konuldu ve 37oC'de 2 saat inkübe edilerek bloklama yapıldı. Tekrar PBS + %0.05 Tween ile 2 kez yıkandı. Bu aşamadan sonra plate'ler kullanım için hazır hale getirildi ve hemen kullanılmayanlar +4oC'de saklandılar.

**C. ELISA çalışması :** Hasta serumları 1:250 oranında PBS + %1 BSA içinde dilüe edildikten sonra her kuyucuğa 75 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 konuldu ve 37oC'de 2 saat inkübe edildi. PBS + %0.05 Tween ile 3 kez yıkandı. Daha sonra alkalenfosfataz ile konjuge edilmiş anti-human-IgM (Sigma) 1:4000, anti-human-IgA (Sigma) 1:600 ve anti-human-IgG (Sigma) 1:8000 oranında dilüe edilerek kuyucuklara 75 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 konuldu ve oda ısısında bir gece inkübe edildi. Tekrar PBS + Tween ile 3 kez yıkandı. Daha sonra diethanolamine-MgCl<sub>2</sub> (Ph 10.0) tampon eriyiği içinde, p - nitrophenylphosphate (Sigma) konsantrasyonu 1mg/ml olacak şekilde, taze substrat hazırlandı ve kuyucuklara 75 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 konularak 37oC'de 30 dakika inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra her kuyucuğa 1N NaOH'ten 125 symbol 109  $\mu$ l "Symbol"1 konularak durduruldu. Absorbans ölçümü 405 nm.'de (Bio-tek Instruments) yapıldı. Alınan optik dansite (OD) değerleri aşağıdaki formül kullanılarak Enzym Immunoassay Unite'e (EIU) çevrildi:

$$EIU = \frac{OD_x - OD_b}{OD_r - OD_b} \times 100$$

Formülde OD<sub>x</sub> : test serumunun, OD<sub>b</sub> : serum dilüsyon sıvısının (buffer) ve OD<sub>r</sub> : pozitif referans serumunun optik dansitesidir.

Burada 1 EIU, pozitif referans serumundaki söz konusu antikor konsantrasyonunun 1/100'üne karşılık gelen relatif bir değerdir.

Optimal serum ve konjugat dilüsyonları chekerbord titrasyon ile saptandı.

**D. Testin Standardizasyonu :** Standardizasyon için

her plate'e üç kontrol konuldu. Bunlar; söz konusu Yersinia antikorunu yüksek konsantrasyonda içeren insan kaynaklı pozitif bir serum, buffer kontrol ve 90 sağlıklı kan donörü serumlarının oluşturduğu havuzdan alınan bir serumdu. Bu serumların OD'leri ile EIU hesaplanırken standardizasyon sağlandı.

**E. Cut-off değerinin hesaplanması :** Hasta serumları çalışılmadan önce 90 sağlıklı kan donörü çalışılarak bunların OD değerleri EIU'ya çevrildi. Her bir antikor sınıfı için yapılan bu çalışmadan sonra donörlerdeki EIU değerlerinin ortalaması ve standart sapması (SD) bulundu. Bu 90 donörün serumları bir araya toplanarak bir havuz oluşturuldu. Hasta serumları çalışıldıktan sonra bunların OD değerleri yine EIU'ya çevrildi. Hasta serumlarının çalışıldığı plate'lerde yer alan donör havuzuna ait serumun EIU değerine, önceki çalışmadan elde edilen 2 standart sapma (2SD) değeri eklendiğinde, elde edilen EIU değerinden (Cut-off) büyük olan hasta EIU değerleri pozitif olarak kabul edildi (10).

**F. İstatistiksel analiz :** Hasta ve kontrol gruplarında bulunan yüzde değerlerinin istatistiksel olarak incelenmesinde "iki yüzde arasındaki farkın anlamlılık testi" uygulandı. Gruplar arasında karşılaştırma yapılırken symbol 97  $\mu$ l "Symbol" değeri 0.05 ve 0.1 olarak alındı (26).

## BULGULAR

Seronegatif artropatiler adı altında toplanan ve birbirleriyle iç içe geçmeli klinik tablolara sahip 77 hasta hem bir bütün olarak hem de dört ayrı gruba ayrılarak değerlendirildi (Tablo-1). Bu gruplardaki hastalarda anti-Yersinia antikorları, hem herhangi bir Ig sınıfından (IgA, IgM veya IgG) hem de her bir Ig sınıfından antikor pozitifliği yönünden incelendi (Tablo-2).

### A. Genel olarak seronegatif artropatili hastalar ve anti-yersinia antikorları

Seronegatif artropatili hastalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde hastaların %20.7'sinde (16/77) herhangi bir Ig sınıfından anti-Yersinia antikorunu pozitif olarak bulundu. Kontrol grubunda bu oran %14.4 (13/90) olarak gerçekleşti. İki grup arasında hastalar lehine yüksek görünen bu oranın,

istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı olmadığı saptandı ( $t=1.26$ ,  $p>0.05$ )

1. *IgA* : Genel olarak seronegatif artropatili hastalarda *IgA* sınıfı anti-Yersinia antikorları %12.9 (10/77) oranında pozitif iken kontrol grubunda bu oran %5.5 (5/90) olarak bulundu. Hasta grubu lehine olan bu farklılık istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı bulundu ( $t=1.72$ ,  $p<0.1$ ) (Şekil-1).

2. *IgM* ve *IgG* : Genel olarak yine tüm hastalarda *IgM* ve *IgG* sınıfı anti-Yersinia antikorları sırasıyla %1.2 (1/77) ve %6.4 (5/77) oranlarında pozitif olarak bulundu. Kontrol grubunda ise bu oran her iki antikor sınıfı için de %4.4 (4/90) olarak gerçekleşti. Hasta grubunda *IgM* antikorlarının düşüklüğü istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı bulunmadı ( $t=1.33$ ,  $p>0.05$ ) (Şekil-1).

#### **B. Ankilozan spondilitli hastalar ve anti-yersinia antikorları**

Bu gruptaki hastaların %9.3'ünde (3/32) herhangi bir sınıftan anti-Yersinia antikorları pozitif olarak bulundu. Kontrol grubundaki orana (%14.4) kıyasla düşük oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $t=0.75$ ,  $p>0.05$ ).

1. *IgA*: Ankilozan spondilitli grupta *IgA* sınıfı anti-Yersinia antikorları %9.3 (3/32) oranında pozitif bulundu. Bu oranın kontrol grubundakine (%5.5) kıyasla yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $t=0.79$ ,  $p>0.05$ ).

2. *IgM* ve *IgG*: Ankilozan spondilitli grupta *IgM* ve *IgG* sınıfı anti-Yersinia antikorları hiç bir hastada pozitif olarak bulunmadı.

#### **C. Seronegatif oligo/poliartritli hastalar ve anti-yersinia antikorları**

Bu gruptaki hastaların %30.7'inde (8/26) herhangi bir *Ig* sınıfından anti-Yersinia antikorları pozitif olarak bulundu ve kontrol grubundaki oranla (%14.4) kıyaslandığında, hasta grubundaki bu yüksek oranın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $t=2.1$ ,  $p<0.05$ ).

1. *IgA*: Bu grupta *IgA* sınıfı anti-Yersinia antikorları hastaların %16'sında (4/25) pozitif bulundu. Kontrol grubundakine (%5.5) kıyasla yüksek olan bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $t=2.2$ ,  $p<0.05$ ).

2. *IgM* ve *IgG* : Bu gruptaki hiç bir hastada *IgM* sınıfı anti-yersinia antikor pozitifliği saptanmazken, *IgG* antikor pozitifliği hastaların %11.5'inde (3/26) saptandı. Kontrol grubundaki orana (%4.4) kıyasla yüksek olan bu pozitiflik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $t=1.3$ ,  $p>0.05$ ).

#### **D. Sakroileitli hastalar ve anti-yersinia antikorları**

Bu gruptaki hastalarda herhangi bir sınıftan anti-Yersinia antikor pozitifliği %20 (3/15) olarak saptandı. Bu oran kontrol grubundaki %14,4'lük oranla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $t=0.5$ ,  $p>0.05$ ).

1. *IgA* : Bu gruptaki hastalarda *IgA* sınıfı anti-Yersinia antikor pozitifliği %13.3 (2/15) oranında saptandı ve kontrol grubuna (%5.5) göre bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $t=1.1$ ,  $p>0.05$ ).

*IgA* antikorları pozitif olan bu iki hastadan birisinde HLA B27 doku antijeni pozitifliği. 48 yaşındaki bu kadın hastanın sekiz yıldan beri varolan bilateral sakroileiti dışında sol omuz, sol dirsek ve ayak bileğinde de artrit bulguları vardı. Çalışma sırasında hastanın ASO, CRP ve RF değerleri normal sınırlardaydı (sırasıyla 200 IU/ml, 5mg/L, 15 IU/ml) ve sedimentasyon hızı 25 mm/saat (Westergren) idi.

2. *IgM* ve *IgG*: Bu hastaların hiç birisinde *IgM* sınıfı anti-Yersinia antikor pozitifliği saptanmazken, *IgG* antikor pozitifliği %6.6 (1/15) oranında bulundu.

Ankilozan spondilitli, seronegatif oligo/poliartropatili ve sakroileitli hasta gruplarıyla kontrol grubundaki anti-Yersinia antikor pozitiflikleri Şekil-2'de gösterilmiştir.

Seronegatif artropatili hastalarda anti-yersinia enterocolitica : 3 antikorlarının (IgA, IgM ve IgG)ELISA yöntemi ile araştırılması

### E. Psöriyatik artritli hastalar ve anti-yersinia antikorları

Tüm hasta grubumuz içinde yer alan 2 psöriyatik artritli hastada Yersinia-spesifik IgA ve IgM antikor pozitifliği bulunmazken, bir hastada IgG antikoru pozitif bulundu. Hasta sayısının çok düşük olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

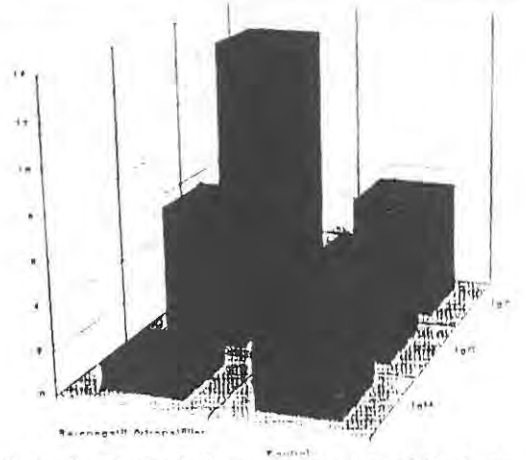
### F. Reiter sendrom'lu hastalar ve anti-yersinia antikorları

Yine tüm hasta grubumuz içinde yer alan 2 Reiter Sendrom'lu hastada Yersinia-spesifik IgA ve IgG antikor pozitifliği bulunmazken, bir hastada IgM antikoru pozitif bulundu. Aynı şekilde hasta sayısının düşük olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

IgM antikorusunun pozitif bulunduğu 19 yaşındaki kadın hastanın HLA-B27 doku antijeni pozitifti. Klinik olarak hastada üriner sistem infeksiyonu, sol ayak bileği, sol dirsek ve her iki ayak aşil tendonu bölgesinde dört aydan beri devam eden şikayetleri yanında göz bulguları vardı. Hastanın ASO, CRP ve RF değerleri sırasıyla 200 IU/ml, 6 mg/L (+) ve 15 IU/ml, sedimentasyon hızı da 80 mm/saat idi.

Tablo 1. Seronegatif artropatili hastaların dağılımı

Klinik tanı/tablo	n=77	Yaş ortalaması	Hastalık süresi (yıl)ortalama
Ankilozan Spondilit	32	27.2	7.2
Seronegatif Oligo/Poliartrit	25	22.4	4.7
Sakroileit	15	24.4	4.0
Psöriyatik Artrit	2	32.5	8.5
Reiter Sendromu	2	17.5	0.3



Şekil 1. Genel olarak Seronegatif Artropatilerde ve Kontrol grubunda Yersinia-spesifik antikor pozitiflikleri (%)

Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarında yersinia-spesifik antikor pozitiflikleri

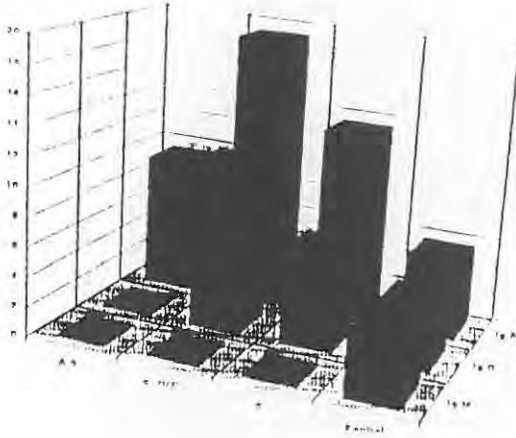
Hasta Grupları	n*	Elisa ile pozitiflik						Toplam**	
		Ig A		Ig M		Ig G		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Seronegatif Artropati (Genel).	77	10	12.9	1	1.2	5	6.4	16	20.7
- Ankilozan Spondilit	32	3	9.3	0	0.0	0	0.0	3	9.3
- Seronegatif Oligo/Poliartrit	26	5	19.2	0	0.0	3	11.5	8	30.7
- Sakroileit	15	2	13.3	0	0.0	1	6.6	3	20.0
Kontrol (Sağlıklı kan donörleri)	90	5	5.5	4	4.4	4	4.4	13	14.6

\* Çalışma grubu içinde yer alan 2 psöriyatik artrit ve 2 Reiter sendromlu olgu, sayı azlığı nedeniyle gruplamanın dışında tutulmuş, ancak seronegatif artropatiler grubu içinde toplam olgu sayısına dahil edilmiştir.

\*\* Herhangi bir antikor sınıfından pozitiflik bulunan hastaların yüzdesi

\*\*\* Kontrol grubuna göre anlamlı (P<0.05)

\*\*\*\* Kontrol grubuna göre anlamlı (P<0.1)



Şekil 2. İç ayrı Hasta ve Kontrol grubunda Yersinia-spesifik antikor pozitiflikleri (%). (A.S.:ankilozan spondilit, S. O/P.:seronegatif oligo/poliartrit, S.:sakroileit)

## TARTIŞMA

Akut bir Y. enterocolitica infeksiyonundan sonra bir komplikasyon olarak ortaya çıkan nonsüpüratif poliartropati, klinik olarak geçici tabiiatta olmasına rağmen bazı predispozan faktörlerin etkisi altında ya tekrarlayıcı bir niteliğe bürünebilmekte ya da kronisite kazanabilmektedir (6,11,21,22,23,26). Akut infeksiyon dönemini herhangi bir ciddi semptom bulunmaksızın atlatılabilen hasta ileriki komplikasyon döneminde eklem bulguları ile doktor karşısına gelmektedir (15). Bu dönemde sebep sonuç ilişkisinin gereği olarak mikroorganizmayı izole etme çabaları başarısız kalmakta ve artık serolojik çalışmalar ön plana çıkmaktadır (3,12,18). Bu aşamadan sonra tanı, hasta serumunda yersinia-spesifik antikorların saptanmasıyla birlikte, retrospektif olarak konulabilmektedir (10).

Bu çalışmada, seronegatif artropati grubu içinde herhangi bir klinik tanının konulduğu veya bu grup içinde henüz bir tanı konulamamış hastalarda ELISA yöntemiyle yersinia-spesifik antikor pozitifliğine bakarak Y. enterocolitica'nın olası rolünü araştırdık. «alışmamızda kesin tanı konulamayan

fakat seronegatif oligo/poliartritli ve sakroileitli olarak değerlendirilen hastaların klinik durumları, "farklılaşmamış" spondiloartropati şeklinde nitelendirilen hastalık grubuna ait özellikler taşıdığından, seronegatif artropatiler içerisinde incelendiler (27).

Laboratuvarlarımızda hazırladığımız Yersinia-spesifik antikor arayıcı ELISA yöntemi, Granfors ve arkadaşları tarafından tanımlandığı şekilde uygulandı (8). ELISA plate'lerini kaplamada kullanılan antijenlerin SDS ile elde edilmiş solübl proteinlerden oluşması, bakterinin kendisinin (whole bacteria) kullanılmasına göre bir üstünlük taşımakta ve daha iyi çalışmaktadır. Herhangi bir zamanda geçirilmiş Y. enterocolitica infeksiyonunun saptanmasında tüp aglütinasyon deneyi ve ELISA yöntemi hemen hemen aynı hassasiyette kullanılabilirken kronik dönemde ELISA'nın üstünlüğü ön plana çıkmaktadır (24). Ancak bu şekilde, IgM ve IgG yanında aglütinasyon deneyleriyle saptanamayan IgA da ayrı ayrı saptanabilmektedir.

Hasta grubunda genel olarak, herhangi bir Ig sınıfından anti-Yersinia antikor pozitifliğinin, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmayışını irdelersek, hasta grubundaki bu yüksek antikor pozitifliğinin IgA'dan kaynaklandığını görürüz. IgM antikorlarının akut Yersinia infeksiyonundan sonra genellikle 4-6 ay içerisinde negatifleştiği ve özellikle reaktif artrit gelişenlerde IgM pozitifliğinin artrit gelişenlere oranla daha düşük kalma eğilimi gösterdiği gözönüne alındığında, artık kronik dönemdeki bu hastalarda IgM pozitifliği beklenmemelidir (9,13). IgM titrelerinin persiste kalması karakteristik olarak uzun süreli enterik yersiniyozu bulunan hastalarda gözlenmektedir (4). Genel olarak, bizim hasta grubunda IgM pozitifliği (%1.2) kontrol grubuna (%4.4) göre oldukça düşük bulunmuştur.

Reaktif artrit gelişen hastalar, orijinal infeksiyondan sonra uzun zaman periyodu süresince gerçekten serumda yüksek seviyede ve kalıcı IgA ve IgG sınıfı antikor yanıtı sergilemektedirler (9). Genel olarak hasta grubumuzda, IgG sınıfı anti-Yersinia antikor pozitifliği yüksek olmasına rağmen, anlamlı bulunmamıştır. Ancak IgA sınıfı anti-yersinia antikor pozitifliğinin kontrol grubuna gö-

re yüksek ve anlamlı oluşu dikkat çekicidir. Granfors ve arkadaşları, Y. enterocolitica enfeksiyonundan sonra artrit gelişen ve gelişmeyen gruplarda IgA sınıfı anti-Yersinia antikorlarını araştırdıkları bir çalışmada, IgA persistansını 6 ay ve 12-16 aylık izleme periyotlarında artrit gelişmeyenlere göre oldukça anlamlı bulmuşlardır ( $p < 0.001$ ) (12). Lehtinen ve arkadaşlarının yaptıkları ve Y. enterocolitica'ya bağlı reaktif artrit gelişen hastaların 8 yıldan fazla izlendiği bir çalışmada, klinik tablonun IgA antikorlarının pozitif olduğu hastalarda daha ciddi olduğunu göstermişlerdir (20). Larsen ve arkadaşları, Y. enterocolitica'ya karşı spesifik IgA antikorlarını, bunların enterik enfeksiyonlarda ve komplikasyonlarındaki rolünü araştırdıkları bir çalışmada, IgA titrelerinin yükseldiği ve yüksek kaldığı hastaların tümünün uzun süren ya da kronik inflamatuvar romatizmal hastalığı bulunanlardan oluştuğunu göstermişlerdir (19). Hastalarımızda IgA pozitifliğini değerlendirirken, bu tür hastalarda güçlü ve persiste IgA yanıtının, kronisiteye ve kötü prognoza işaret etmesine dair bilgilerin gözönünde bulundurulması gerekmektedir (12,13,18,19,20). Çünkü, yarılanma ömrü birkaç gün gibi kısa olan IgA'nın, kronik vakalarda yüksek olması kronik bir stimülasyonun sonucu olmalıdır (9,13).

Ankilozan spondilitli hasta grubunda her hangi bir Ig sınıfından pozitiflik bulunan hastaların yüzdesi kontrol grubuna göre düşük bulunurken, hastaların hiçbirisinde IgM ve IgG sınıfından anti-Yersinia antikor pozitifliği bulunmamıştır. Bu hastalarda IgA pozitifliğinin kontrol grubuna göre yüksek olmasına fakat anlamlı bulunmamasına rağmen, yine de dikkatle değerlendirilmesinin gerektiğine inanmaktayız. Çünkü, basit bir Y. enterocolitica enfeksiyonunun ankilozan spondilite kadar uzanabileceğine dair bilgiler literatürde yer almaktadır (5,7,14,15).

Seronegatif oligo/poliartritli hasta grubunda, hem herhangi bir Ig sınıfından hem de IgA sınıfından anti-Yersinia antikor pozitifliği bulunan hastaların yüzdesi kontrol grubuna göre yüksek ve anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz en anlamlı bulgular bunlardır. Bu sonuçlar da, yukarıda sözünü ettiğimiz Granfors, Lehtinen ve Larsen'in çalışmalarında elde ettikleri IgA'nın kronik dönem-

deki diyagnostik ve prognostik değerine ait bulgularla uyum sağlamaktadır. Bu hastalarda IgG antikor pozitifliğinin kontrol grubuna göre yüksek fakat anlamlı bulunmamasına rağmen, yine de dikkat çekicidir. Hastaların hiç birisinde IgM sınıfı anti-Yersinia antikor pozitifliğinin bulunmaması, yukarıda IgM ile ilgili olarak söylediğimiz nedenlerden dolayı bizi pek şaşırtmadı. Bu hasta grubunun, gerçekte tam tanı konulamamış ve "farklılaşmamış" seronegatif artropati şeklinde incelemeye alınmış hastalardan oluştuğu gözönünde bulundurulursa, bu tür vakalarda özellikle IgA sınıfı anti-Yersinia antikorlarına bakılıp en azından retrospektif bir tanı koymaya çalışılarak, hastaların bu yönden takiplerinin yerinde olacağını düşünmekteyiz.

Sakroileitli hasta grubunda her hangi bir Ig sınıfından antikor pozitifliğinin yüksekliği anlamlı bulunmazken, bu grupta yine IgA sınıfı anti-Yersinia antikor pozitifliği, kontrol grubuna göre dikkati çeker şekilde yüksek olmasına rağmen anlamlı bulunmadı. IgA'nın yüksek olduğu iki hastadan birisinde HLA-B27 doku antijeni pozitif ve bu hastalarda gözlenen doku antijeninin pozitifliğine bağlı genetik predispozisyonun yüksekliğiyle uyum sağlamaktaydı.

Çalışma grubumuzdaki, sayıları oldukça düşük olan psöriyatik artrit (n=2) ve Reiter Sendrom'u (n=2) tanıli hastaların her ikisinden birinde anti-Yersinia antikor pozitifliğinin bulunmasına rağmen (sırasıyla IgG ve IgM), istatistiksel bir değerlendirme yapılmadı. Reiter Sendrom'u tanıli kadın hastada HLA-B27 doku antijeninin pozitif, şikayetlerinin 4 aylık ve spesifik IgM antikorunun pozitif olmasının birbirleriyle uyumu anlamlı olarak değerlendirildi. Bengtsson ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, hastaların çoğunluğunda (16 hasta) Chlamydia trachomatis'e bağlı Reiter Sendrom'u geliştiği, diğer 4 hastanın da Y. enterocolitica'nın neden olduğu enterik enfeksiyonla ilişkili olduğu kanısına varılmıştır (2).

İnflamatuvar eklem hastalıklarında Y. enterocolitica antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada, hastalığın başlangıcında tüm hastaların %9'unda herhangi bir Ig sınıfından Yersinia antikorları pozitif bulunmuştur. Ankilozan spondilitli, Reiter Sendrom'lu ve di-

ğer reaktif artritli hastalar *Yersinia* antikorları açısından en yüksek prevalansı (%19.4) göstermişlerdir (14). Bizim çalışmamızda, ankilozan spondilitli gruptaki herhangi bir Ig sınıfından anti-*Yersinia* antikor pozitifliği kontrol grubundan da düşük bulundu.

Ankilozan spondilitli ve Reiter Sendrom'lu hastalarda *Y. enterocolitica* antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada, hastalardaki pozitiflik istatistiksel değerlendirmede kontrole göre sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.005$  seviyesinde anlamlı olmuştur (16).

Başka bir çalışmada *Yersinia* ile ilgili spondiloartropatisi bulunan 39 hastanın negatif gruba göre yaş, cinsiyet, CRP düzeyi, sedimantasyon hızı ve hastalık süresi açısından farklılık bulunmamıştır. Bu 39 hastanın %30'unda bir yıldan az, %25'inde 1-3 yıllık ve %45'inde 3 yıldan fazla süren artrit şikayetleri vardı ve %25'inde monoartiküler, %50'sinde poliartiküler

tarzdaydı (17). Bizim ankilozan spondilitli hasta grubunda IgA pozitifliği bulunan 3 hastanın ortalama hastalık süresi yaklaşık 1 yıldır. IgA pozitifliği bulunan seronegatif oligo/poliartritli gruptaki 5 hastanın ortalama hastalık süresi yaklaşık 7 yıl iken, sakroileitli gruptaki IgA pozitif 2 hastanın ortalama hastalık süresi 6 yıldır.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulguların ışığı altında, periferik ve/veya aksiyal eklem şikayetleri bulunan, seronegatif artropatiler içinde değerlendirilmekle birlikte, henüz bir tanıya doğru kanalize edilemeyen hastalarda etyoloji araştırılırken *Y. enterocolitica*'nın da göz önünde tutulmasının ve bu dönemde kültürden ziyade serolojik yöntemlerle IgA, IgM ve IgG sınıfı spesifik antikor pozitifliğinin araştırılmasının yararlı olacağı inancındayız. Bu hastalar, sessiz seyreden bir akut *Y. enterocolitica* enfeksiyonundan sonra hastalığın komplikasyon dönemini inatçı bir artrit olarak yaşayan ya da nadir de olsa spondilitin tam anlamıyla geliştiği hastalar olarak karşımıza gelebilirler.

#### KAYNAKLAR

1. Arpacioğlu O: *Seronegatif spondartritler*. Desen ofset, Ankara, 1991.
2. Bengtsson A, Ahlstrand C, Lindström FD, et al: *Bacteriological findings in 25 patients with Reiter's Syndrome (reactive arthritis)*. *Scand. J. Rheumatol.*, 2: 157-160, 1983.
3. Bilgehan H: *Klinik Mikrobiyoloji: Özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları*. Doğru-luk matbaası, İzmir, 1990.
4. Bitzan M, Hack HJ, Mauff G: *Yersinia enterocolitica serodiagnosis: A dual role of specific IgA. Evaluation of microagglutination and ELISA*. *Zbl. Bakt. Hyg. A*, 267: 194-205, 1987.
5. Collado A, Sanmarti R, Serra C, et al: *Serum levels of secretory IgA in ankylosing spondylitis*. *Scand J Rheumatol* 20: 153-158, 1991.
6. Cover TL, Aber RC: *Yersinia enterocolitica*. *N Eng J Med* 321: 16-24, 1989.
7. Gorbach SL, Bartlett YG, Blacklow NR: *Infectious Diseases*, W.B. Saunders Company, 1992, 601-605, 1476-1477.
8. Granfors K: *Kişisel yazışma notları*, 1992.
9. Granfors K: *Do bacterial antigens cause reactive arthritis ?* *Rheum. Dis Clin N Am* 18: 37-48, 1992.
10. Granfors K, Lahesmaa-Rantala R, Stahlberg TH et al: *Comparison of bacteria with and without plasmid-encoded proteins as antigens for measurement of immunoglobulin M, G, and A antibodies to Yersinia enterocolitica by enzyme-linked immunosorbent assay*. *J Clin Microbiol* 27: 583-585, 1989.
11. Granfors K, Ogasawara M, Hill JL et al: *Analysis of IgA antibodies to lipopolisaccharide in Yersinia-triggered reactive arthritis*. *J Infec Dis* 159: 1142-1147, 1989.
12. Granfors K, Lahesmaa-Rantala R, Toivanen A: *IgM, IgG, and IgA antibodies in Yersinia*



- infection (Correspondence). *J Infec Dis* 157: 601-602, 1988.
13. Granfors K, Vuento R, Toivanen A: Host-microbe interaction in reactive arthritis. *Reactive arthritis*, CRC Press, Boca Raton, FC, 1988, 15-50.
  14. Granfors K, Isomaki H, Von Essen R, et al: Yersinia antibodies in inflammatory joint diseases. *Clin Exp Rheumatol* 1: 215-218, 1983.
  15. Hammer M, Zeidler H, Klimsa S, et al: Yersinia enterocolitica in the synovial membrane of patients with Yersinia-induced arthritis. *Arth Rheum* 33: 1795-1800, 1990.
  16. Kobayashi S, Ogasawara M, Maeda K, et al: Antibodies against Yersinia enterocolitica in patients with Reiter's Syndrome. *J Lab Clin Med* 105: 380-389, 1985.
  17. Koning J, Heesemann J, Hoogkamp-Korstanje JAA, et al: Yersinia in intestinal biopsy specimens from patients with seronegative spondyloarthropathy: Correlation with specific serum IgA antibodies. *J Infec Dis* 159: 109-112, 1989.
  18. Larsen JH: Significance of specific IgA antibodies in infections due to Yersinia enterocolitica and their complications. *Contr Microbiol Immunol* 9: 136-140, 1987.
  19. Larsen JH, Hartzen SH, Parm M, et al: The determination of specific IgA antibodies to Yersinia enterocolitica and their role in enteric infections and their complications. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sec.B*, 93: 331-339, 1985.
  20. Lehtinen K, Granfors K, Isomaki H: Class specific Yersinia enterocolitica antibodies and the outcome of reactive arthritis. *Scand J Rheumatol (Suppl)* 59: 70, 1986.
  21. Leirisalo-Repo M, Suoranta H: Ten-year follow up study of patients with Yersinia arthritis. *Arth Rheum* 31: 533-537, 1988.
  22. Leirisalo-Repo M: Yersinia arthritis. *Contr Microbiol Immunol* 9: 145-154, 1987.
  23. Luzar MJ, Caldwell JH, Mekhjian H, et al: Yersinia enterocolitica infections presenting as chronic enteropathic arthritis. *Arth Rheum* 26: 1163-1165, 1983.
  24. Paerregaard A, Shand GH, Gaarslev K, et al: Comparison of crossed immunoelectrophoresis, enzyme-linked immunosorbent assays, and tube agglutination for serodiagnosis of Yersinia enterocolitica serotype O:3 infection. *J Clin Microbiol* 29:302-309, 1991.
  25. Saebo A, Schruppf E, Maartman-Moe H: Chronic complaints and complement aberrations after acute Yersinia enterocolitica infection. *Contr Microbiol Immunol* 9:155-160, 1987.
  26. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 1989.
  27. Zeidler H, Mau W, Khan MA: Undifferentiated Spondyloarthropathies. *Rheum. Dis Clin N Am* 18: 187-202, 1992.