

ARTICOL DE CERCETARE

RESEARCH ARTICLE

## Impactul trigger al *Chlamydia trachomatis* în diverse tipuri de spondiloartrite seronegative

## Trigger impact of *Chlamydia trachomatis* on various types of seronegative spondyloarthritis

Lia Chişlari<sup>1\*</sup>, Liliana Groppa<sup>1,2</sup>, Eugeniu Russu<sup>1</sup>, Victor Cazac<sup>1,2</sup>, Larisa Rotaru<sup>1,2</sup>

Lia Chişlari<sup>1\*</sup>, Liliana Groppa<sup>1,2</sup>, Eugeniu Russu<sup>1</sup>, Victor Cazac<sup>1,2</sup>, Larisa Rotaru<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamentul de Medicină Internă Disciplina de reumatologie și nefrologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>1</sup>Discipline of Internal Medicine, Department of rheumatology and nephrology, „Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova.

<sup>2</sup>Laboratorul de reumatologie, Spitalul Clinic Republican „Timofei Moşneaga”

<sup>2</sup>Rheumatology laboratory, „Timofei Moşneaga” Republican Clinical Hospital

Data primirii manuscrisului: 04.03.2022

Manuscript received on: 04.03.2022

Data acceptării spre publicare: 14.03.2022

Accepted for publication: 14.03.2022

### Autor corespondent

Chişlari Lia, dr. şt. med., conf. univ.

Departamentul de Medicină Internă Disciplina de reumatologie și nefrologie,

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova.

str. N. Testemițanu 29, MD-2025, Chişinău, Republica Moldova

e-mail: lia.chislari@usmf.md

### Corresponding author:

Chişlari Lia, PhD, associate professor

Discipline of Internal Medicine, Department of rheumatology and nephrology,

„Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova.

29 N. Testemițanu, MD-2025, Chisinau, Republic of Moldova

e-mail: lia.chislari@usmf.md

**Titlu scurt:** Impactul trigger al *Chlamydia trachomatis* în diverse tipuri de spondiloartrite seronegative

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Până în prezent, nu au fost elucidate pe deplin manifestările clinice, modificările parametrilor de laborator și rezultatele examinărilor instrumentale ale articulațiilor și coloanei vertebrale în spondiloartritele seronegative axiale (aSpA) cu rol trigger de *Chlamydia trachomatis*. Problemele terapiei antibacteriene și terapiei antiinflamatorii ale maladiilor articulațiilor și coloanei vertebrale asociate sau induse de infecția cu *Chlamydia trachomatis* rămân neexplorate până la capăt.

### Ipoteza de cercetare

Constă în identificarea particularităților manifestărilor clinice, diagnosticului și evoluției spondiloartritelor seronegative asociate infecției cu *Chlamydia trachomatis*.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* are manifestări clinice, de laborator și instrumentale mai exprimate atât în debutul, cât și în stadiul avansat al bolii.

**Short title:** Trigger impact of *Chlamydia trachomatis* on various types of spondyloarthritis

### What is not known yet, about the topic

Until now is not known clinical manifestations, changes in laboratory data and the results of instrumental examinations of joints and spine in axial seronegative spondyloarthritis (aSpA) with a trigger role of *Chlamydia trachomatis* have not been fully elucidated. The issues regarding antibacterial therapy and anti-inflammatory drugs in diseases of the joints and spine associated or induced by *Chlamydia trachomatis* are not still fully explored.

### Research hypothesis

To evaluate complex of clinical manifestations features, diagnosis and evolution of seronegative spondyloarthritis associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

### Article's added novelty on this scientific topic

SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection has more expressed clinical, laboratory and instrumental manifestations both at the onset and in the advanced stage of the disease.

## Rezumat

**Introducere.** Până în prezent, nu au fost elucidate pe deplin manifestările clinice, modificările parametrilor de laborator și rezultatele examinărilor instrumentale ale articulațiilor și coloanei vertebrale în spondiloartritele seronegative axiale (aSpA) cu rol trigger de *Chlamydia trachomatis*.

**Scopul studiului:** identificarea particularităților manifestărilor clinice, diagnosticului și evoluției spondiloartritelor seronegative asociate infecției cu *Chlamydia trachomatis*.

**Obiective studiului:** Compararea manifestărilor clinice, modificărilor parametrilor de laborator, rezultatelor examinărilor instrumentale ale articulațiilor și coloanei vertebrale în spondiloartrita seronegativă forma axială, periferică și mixtă. De a aprecia semnificația *Chlamydiei trachomatis* în dezvoltarea SpA prin detectarea prezenței ADN-ului agentului patogen utilizând reacția în lanț a polimerazei 2 (PCR) în timp real și prin metoda de amplificare izotermă a acizilor nucleici NASBA-PCR (Nucleic Acid) amplificare bazată pe secvență.

**Material și metode.** În perioada anilor 2015-2021, au fost examinați 138 de pacienți cu SpA în cadrul IMSP Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”. *Chlamydia trachomatis* sub formă de monoinfecție a fost detectată la 87 (6,3%) pacienți, dintre care 52 (59,8%) femei și 35 (40,2%) bărbați.

**Rezultate.** Rezultatele diagnosticului infecției cu *Chlamydia trachomatis* la pacienții cu artrită: Infecția cu *Chlamydia trachomatis* a fost detectată la 78 (89,7%) din 87 de pacienți examinați prin PCR și în 9 (10,3%) cazuri prin ELISA. Forma periferică debutează în principal cu inflamarea articulațiilor extremităților inferioare (81,8%), dintre care articulațiile genunchiului sunt implicate în principal în procesul patologic (63,6%). SpA forma axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* apare în principal la bărbați tineri (85,7%). La mai mult de jumătate dintre pacienți, articulațiile mari sunt implicate în procesul patologic (58,8%), îndeosebi extremitățile inferioare. Varianta axială a SpA poate începe cu o leziune în orice sector a coloanei vertebrale.

**Discuții.** SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* are manifestări clinice, de laborator și instrumentale mai exprimate atât în debutul, cât și în stadiul avansat al bolii.

**Cuvinte cheie:** *Chlamydia trachomatis*, spondiloartrită seronegativă, spondiloartrită axială.

## Introducere

La sfârșitul secolului XX - începutul secolului XXI, rezultatele mai multor studii științifice efectuate în Europa și America de Nord au demonstrat că *Chlamydia trachomatis* este un agent trigger al artritei reactive (ReA), spondiloartritelor seronegative (SpA) cu posibil rol important în oligoartrita seronegativă nediferențiată, sindromului de monoartrită nediferențiată și a artritei reumatoide (RA) [2, 4, 9]. Până în prezent, nu au fost elucidate pe deplin manifestările clinice, modificările parametrilor de laborator și rezultatele examinărilor instrumentale ale articulațiilor și

## Abstract

**Introduction.** To date, clinical manifestations, laboratory changes and the results of instrumental examinations of the joints and spine in axial seronegative spondyloarthritis (aSpA) caused by *Chlamydia trachomatis* have not been fully elucidated.

**Purpose of the study:** evaluation of clinical manifestations features, diagnosis, and evolution of seronegative spondyloarthritis associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

**Objectives of the study:** To compare clinical manifestations, changes in laboratory parameters, results of instrumental examinations of the joints and spine in seronegative spondyloarthritis, the axial, peripheral, and mixed form. To appreciate the significance of *Chlamydia trachomatis* in the development of SpA by detecting the presence of DNA using the polymerase chain reaction (PCR) in real time and by isothermal amplification of NASBA-PCR (Nucleic acid sequence-based amplification).

**Material and methods.** During 2015-2021 were examined 138 patients with SpA hospitalized in the Republican Clinical Hospital „Timofei Moșneaga”. *Chlamydia trachomatis* in the form of mono-infection was detected in 87 (6.3%) patients, of which 52 (59.8%) were women and 35 (40.2%) men.

**Results.** The results of the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in patients with arthritis: *Chlamydia trachomatis* infection was detected in 78 (89.7%) out of 87 patients examined by PCR, and in 9 (10.3%) cases by ELISA. The peripheral form begins mainly with inflammation of the joints of the lower extremities (81.8%), of which the knee joints are mainly involved in the pathological process (63.6%). SpA axial form associated with *Chlamydia trachomatis* infection occurs mainly in young men (85.7%). In more than half of the patients, large joints participate in the pathological process (58.8%), especially the lower extremities. The axial variant of the SpA can begin with an injury in any part of the spine.

**Discussions.** SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection has more expressed clinical, laboratory and instrumental manifestations both in the onset and in the advanced stage of the disease.

**Key words:** *Chlamydia trachomatis*, seronegative spondyloarthritis, axial spondyloarthritis.

## Introduction

At the end of the 20th century - the beginning of the 21st century, the results of several scientific studies conducted in Europe and North America proved that *Chlamydia trachomatis* is a trigger agent of reactive arthritis (ReA), seronegative spondyloarthritis (SpA) with a possible important role in undifferentiated seronegative oligoarthritis, undifferentiated monoarthritis syndrome and rheumatoid arthritis (RA) [2, 4, 9]. To date, clinical manifestations, changes in laboratory data and the results of instrumental examinations of joints and spine in axial seronegative spondyloar-

coloanei vertebrale în spondiloartritele seronegative axiale (aSpA) cu rol trigger de *Chlamydia trachomatis*. Problemele terapiei antibacteriene și terapiei antiinflamatorii ale maladiilor articulațiilor și coloanei vertebrale asociate sau induse de infecția cu *Chlamydia trachomatis* rămân neexplorate până la capăt [1, 6, 7].

**Scopul studiului:** identificarea particularităților manifestărilor clinice, diagnosticului și evoluției spondiloartritelor seronegative asociate infecției cu *Chlamydia trachomatis*.

#### Obiective studiului:

1. Compararea manifestărilor clinice, modificărilor parametrilor de laborator, rezultatelor examinărilor instrumentale ale articulațiilor și coloanei vertebrale în spondiloartrita seronegativă forma axială, periferică și mixtă.

2. De a aprecia semnificația *Chlamydiei trachomatis* în dezvoltarea SpA prin detectarea prezenței ADN-ului agentului patogen utilizând reacția în lanț a polimerazei 2 (PCR) în timp real și prin metoda de amplificare izotermă a acizilor nucleici NASBA-PCR (Nucleic Acid) amplificare bazată pe secvență.

#### Material și metode

În perioada anilor 2015-2021, au fost examinați 138 de pacienți cu SpA în cadrul IMSP Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”. *Chlamydia trachomatis* sub formă de monoinfecție a fost detectată la 87 (63%) pacienți, dintre care 52 (59,8%) femei și 35 (40,2%) bărbați. 21 de pacienții cu SpA au fost fără infecții concomitente și 30 de pacienți au fost depistați cu 2 și mai multe infecții concomitente.

Durata medie a sindromului articular la toți cei 108 de pacienți înainte de înrolarea în studiu a fost de 2,0 (0,5-4,0) ani. În funcție de diagnosticul stabilit, pacienții lotului de studiu au fost împărțiți în 4 subgrupe. Pentru a identifica particularitățile manifestărilor clinice, modificărilor parametrilor de laborator și rezultatelor examenelor instrumentale ale articulațiilor și coloanei vertebrale la pacienții cu SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* s-au format 4 grupuri de comparație. Primul grup a inclus 34 de pacienți cu SpA forma periferică asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, al doilea grup - 21 de pacienți cu SpA forma axială asociat cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, al treilea grup - 21 de pacienți cu SpA fără infecții concomitente și al 4-lea grup - 32 de pacienți cu SpA forma mixtă asociată cu infecție cu *Chlamydia trachomatis*.

Grupurile de studiu erau identice în ceea ce privește sexul, vârsta și durata bolii. Examinarea clinică a pacienților a inclus colectarea acuzelor, anamnezei, măsurarea temperaturii corporale cu un termometru electronic, examinarea organelor și sistemelor, determinarea severității sindromului dureros și a activității bolii folosind o scală vizuală analogă (VAS) în mm, numărul de articulații dureroase (NAD) și numărul de articulații tumefiate (NAT) conform metodei 66/68, identificarea deformărilor articulare, precum și modificările țesuturilor periarticulare (entezopatii, bursite, tendinite și tenosinovite).

Stabilirea diagnosticului a fost efectuată utilizând criteriile New York și ASSAS [11, 13, 14]. Metodele de cercetare

thritis (aSpA) with a trigger role of *Chlamydia trachomatis* have not been fully elucidated. The issues regarding antibacterial therapy and anti-inflammatory drugs in diseases of the joints and spine associated or induced by *Chlamydia trachomatis* are not still fully explored [1, 6, 7].

**Purpose of the study:** evaluation of clinical manifestations features, diagnosis, and evolution of seronegative spondyloarthritis associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

#### Objectives of the study:

1. To compare clinical manifestations, changes in laboratory parameters, results of instrumental examinations of the joints and spine in seronegative spondyloarthritis, the axial, peripheral, and mixed form.

2. To appreciate the significance of *Chlamydia trachomatis* in the development of SpA by detecting the presence of DNA using the polymerase chain reaction (PCR) in real time and by isothermal amplification of NASBA-PCR (Nucleic acid sequence-based amplification).

#### Material and methods

During the years 2015-2021, there were examined 138 patients with SpA at the „Timofei Moșneaga” Republican Clinical Hospital. *Chlamydia trachomatis* in the form of monoinfection was detected in 87 (63%) patients, of which 52 (59.8%) were women and 35 (40.2%) men. In 21 patients with SpA no concomitant infections were detected, while 30 patients had 2 and more concomitant infections.

The average duration of articular syndrome in all 108 patients before enrollment in the study was 2,0 (0,5-4,0) years. Depending on the diagnosis, the patients of the study group were divided into 4 subgroups. In order to identify the features of clinical manifestations, changes in laboratory parameters and the results of instrumental examinations of the joints and spine in patients with SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, 4 comparison groups were created. The first group included 34 patients with peripheral SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, the second group - 21 patients with axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, the third group - 21 patients with SpA without concomitant infections and the 4th group - 32 patients with mixed form SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

The study groups were identical in terms of gender, age and duration of the disease. Clinical examination of patients included the collection of complaints, history, measurement of body temperature with an electronic thermometer, examination of organs and systems, evaluation of the severity of pain and disease activity using an analog visual scale (VAS) in mm, number of painful joints (NAD) and number of swollen joints (NAT) according to method 66/68, identification of joint deformities, as well as changes in periarticular tissues (enthesopathies, bursitis, tendinitis and tenosynovitis).

The diagnosis was carried out using the New York and ASAS criteria [11, 13, 14]. Laboratory research methods included a complete blood count, biochemical tests with the determination of total proteins, glucose, total cholesterol,

de laborator au inclus o hemoleucogramă completă, teste biochimice cu determinarea proteinelor totale, glucozei, colesterolului total, alanin aminotransferazei, aspartat aminotransferazei, acidului uric, ureei, creatininei, proteinei C reactive (CRP), antistreptolizină-O și factorului reumatoid (RF), analiza generală a urinei, urocultura, determinarea antigenului HLA-B27. După examinarea pacienților și obținerea rezultatelor datelor de laborator, s-a calculat indicele de activitate a bolii: Indicele BASDAI [12].

Diagnosticul infecției cu *Chlamydia trachomatis* a fost efectuat prin următoarele metode: (1) a fost efectuată detectarea ADN-ului agentului patogen prin răzuirea epiteliului din uretră sau canalul cervical. (2) Determinarea anticorpilor specifici IgM, IgA, IgG în serul sanguin prin metoda imunoanaliza enzimatică (ELISA). Detectarea titrelor de diagnostic IgM și IgG, precum și IgA au confirmat prezența infecției cu *Chlamydia trachomatis*. În plus, în biomaterialul pacienților cu boli inflamatorii ale articulațiilor și coloanei vertebrale, a fost utilizată PCR în timp real pentru a identifica fragmente de ARN ribozomal 16S (ARNr) al agentului patogen, indicând persistența acestuia [3, 5, 8].

ADN-ul la *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* a fost determinat prin PCR în timp real.

Agenții patogeni artritogeni ai infecțiilor intestinale (*Yersinia*, *Shigella*, *Salmonella*) au fost excluși prin testarea serului sanguin al pacienților pentru prezența anticorpilor la aceste microorganisme [10]. Confirmarea diagnosticului, clarificarea stadiului bolii și determinarea implicării organelor interne în procesul patologic a fost efectuată folosind metode instrumentale: radiografia articulațiilor și coloanei vertebrale afectate, tomografie computerizată, rezonanță magnetică, examinare cu ultrasunete a articulațiilor și a organelor interne, electrocardiografie.

Pentru procesarea datelor obținute, s-a utilizat programul STATISTICA 10.0. Normalitatea distribuției trăsăturilor cantitative a fost evaluată prin metoda Kolmogorov – Smirnov. Rezultatele caracteristicilor distribuite normal au fost prezentate ca valori medii (M) și eroare standard a mediei aritmetice (m). Compararea valorilor medii ale unor astfel de parametri în două grupuri independente a fost efectuată folosind testul t Student nepereche și în două grupuri dependente – testul t-Student pereche. Semnele care nu au respectat legea distribuției normale au fost prezentate ca interval median și intercuartil (Me, Q25-Q75).

Pentru a compara parametrii care nu respectă legea distribuției normale, a fost utilizat testul neparametric Mann – Whitney (testul U) în două grupuri independente. Compararea caracteristicilor celor două grupuri dependente a fost efectuată folosind testul Wilcoxon pentru comparații perechi (testul W pereche). Caracteristicile calitative au fost descrise prin frecvențe absolute (n) și/sau relative în procente. Comparațiile calitative ale grupurilor independente au fost efectuate folosind testul Pearson  $\chi^2$  și testul exact Fisher.

Analiza relației caracteristicilor calitative a fost efectuată prin calcularea coeficientului de asociere Yule (Q). Diferen-

alanine aminotransferaze, aspartate aminotransferaze, uric acid, urea, creatinine, C-reactive protein (CRP), antistreptolysin-O and rheumatoid factor (RF), urinalysis, urine culture, HLA-B27 antigen. After examining the patients and obtaining the results of laboratory data, the disease activity index was calculated using the BASDAI index [12].

Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection was carried out by the following methods: (1) DNA detection of the pathogen was carried out by scraping the epithelium from the urethra or cervical canal. (2) Determination of antibodies specific to IgM, IgA, IgG in the serum by enzymatic immunoassay (ELISA). Detection of diagnostic titers IgM and IgG, as well as IgA confirmed the presence of *Chlamydia trachomatis* infection. In addition patients with inflammatory diseases of the joints and spine, synovial fluid was tested with real-time PCR to identify fragments of 16S ribosomal RNA of the pathogen, indicating its persistence [3, 5, 8].

DNA from *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* was determined by PCR in real time.

Arthritogenic pathogens of intestinal infections (*Yersinia*, *Shigella*, *Salmonella*) were excluded by testing the patients' serum for the presence of antibodies to these microorganisms [10]. Confirmation of the diagnosis, clarification of the stage of the disease and determination of the involvement of internal organs in the pathological process was carried out using instrumental methods: radiography of the affected joints and spine, computed tomography, magnetic resonance, ultrasound examination of the joints and internal organs, electrocardiography. For the processing of the obtained data, the STATISTICA 10.0 program was used. The normality of the distribution of quantitative traits was evaluated by the Kolmogorov-Smirnov method. The results of the normally distributed characteristics were presented as mean values (M) and standard error of the arithmetic mean (m). The comparison of the average values of such parameters in two independent groups was carried out using the unpaired Student t-test and in two dependent groups – the t-student pair test. Signs that did not comply with the law of normal distribution were shown as the middle and intertwines interval (Me, Q25-Q75).

In order to compare the parameters that did not comply with the law of normal distribution, the Mann-Whitney nonparametric test (U-test) was used in two independent groups. The comparison of the characteristics of the two dependent groups was carried out using the Wilcoxon test for pair comparisons (the W pair test). The qualitative characteristics have been described by absolute (n) and/or relative frequencies in percentages. Qualitative comparisons of independent groups were made using the Pearson  $\chi^2$  test and the fisher exact test.

The analysis of the relationship of qualitative characteristics was carried out by calculating the association coefficient Yule (Q). The differences obtained at all stages of the study were considered statistically significant at values of the materiality level reached  $p < 0,05$ .

tele obținute în toate etapele studiului au fost considerate semnificative statistic la valori ale nivelului de semnificație atins  $p < 0,05$ .

## Rezultate

Rezultatele diagnosticului infecției cu *Chlamydia trachomatis* la pacienții cu artrită: Infecția cu *Chlamydia trachomatis* a fost detectată la 78 (89,7%) din 87 de pacienți examinați prin PCR și în 9 (10,3%) cazuri prin ELISA. În ciuda faptului că *Chlamydia trachomatis* este un agent patogen intracelular, ADN-ul microorganismului a fost găsit în uretra/canalul cervical la 7 pacienți, iar la 5 dintre aceștia agentul patogen a fost identificat atât în răzuirea urogenitală, cât și din lichidul sinovial.

Caracteristicile clinice, de laborator și instrumentale ale pacienților cu forma periferică a SA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* apare în majoritatea cazurilor la femeile tinere (76,5%) și de vârstă mijlocie (91,1%).

Boala debutează în principal cu inflamarea articulațiilor extremităților inferioare (81,8%), dintre care articulațiile genunchilor sunt implicate în principal în procesul patologic (63,6%). La mai puțin de jumătate dintre pacienți (33,3%), artrita se manifestă cu subfebrilitate sau febră. În stadiul avansat al bolii (Me = 1,0 an), tabloul clinic este dominat de oligo-poliartrita (82,3%) cu o leziune predominantă a articulațiilor mari (94,1%), dintre care proporția de afectare a articulațiilor genunchiului în procesul patologic a fost cea mai mare (73,5%). La pacienții cu forma periferică a SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* se poate observa de asemenea inflamația țesuturilor periarticulare (41,2%) cu apariția talagiilor, dezvoltarea ahilobursitei, pintenilor calcaneeni și tenosinovitei.

Un semn indirect a asocierii artritei cu o infecție este hiperemia cutanată la nivelul articulațiilor mici ale mâinilor și plantelor (23,5%). Manifestările extraarticulare ale bolii pot apărea de asemenea și sub formă de mialgii (8,8%). Forma periferică a SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* nu se caracterizează prin modificări inflamatorii pronunțate în testele de laborator [Me = VSH 13,0 (7,0-28,0) mm/h, Me = CRP 3,3 (1,2-19,9) mg/L]. Semnele radiologice precoce ale artritei au fost detectate doar la 23,1% dintre pacienții examinați. Forma periferică a SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* diferă de forma periferică a SpA asociată cu *Mycoplasma hominis*: prin o proporție semnificativ mai mare de pacienți cu poliartrită la debutul bolii, implicarea în procesul patologic în principal a articulațiilor mici ale extremităților superioare, și anume articulațiile metacarpofalangiene și articulațiile interfalangiene proximale ale mâinilor. În stadiul avansat al bolii, diferențele de tablou clinic între ambele variante dispar. Datele de laborator și instrumentale ale bolii sunt similare. Doar în SpA forma periferică asociată cu *C. trachomatis*, într-o proporție mai mare de pacienți, este posibil să se dezvăluie modificări inflamatorii sub forma unei creșteri a Proteinei C reactive (U = 394,0;  $p = 0,036$ ).

SpA forma axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* apare în principal la bărbații tineri (85,7%). La

## Results

*Chlamydia trachomatis* infection was detected in 78 (89.7%) of 87 patients examined by PCR, and in 9 (10.3%) cases by ELISA. Even though *Chlamydia trachomatis* is an intracellular pathogen, the DNA of the microorganism was found in the urethra/cervical canal in 7 patients, and in 5 of them the pathogen was identified in both urogenital scraping and synovia fluid.

Clinical, laboratory and instrumental characteristics of patients with the peripheral form of SA associated with *Chlamydia trachomatis* infection occur in most cases in young women (76.5%) and middle-aged women (91.1%).

The disease begins mainly with inflammation of the joints of the lower extremities (81.8%), of which the knee joints are mainly involved in the pathological process (63.6%). In less than half of patients (33.3%), arthritis occurs with subfebrility or fever. In the advanced stage of the disease (Me = 1,0 years), the clinical picture is dominated by oligo-polyarthritis (82,3%) with a predominant lesion of large joints (94,1%), of which the proportion of damage to the knee joints in the pathological process was the highest (73,5%). In patients with the peripheral form of SpA associated with chlamydial trachomatis infection, inflammation of the periarticular tissues (41.2%) with the appearance of talalgia, the development of Achilles' bursitis, calcaneal spurs and tenosynovitis can also be observed.

An indirect sign of the association of arthritis with an infection is cutaneous hyperemia in the small joints of the hands and plants (23.5%). Extraarticular manifestations of the disease can also occur in the form of myalgia (8.8%). The peripheral form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection is not characterized by pronounced inflammatory changes in laboratory tests [Me = ESR 13,0 (7,0-28,0) mm/h, Me = CRP 3,3 (1,2-19,9) mg/L]. Early radiological signs of arthritis were detected only in 23.1% of the patients examined. The peripheral form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection differs from the peripheral form of SpA associated with *Mycoplasma hominis*, the latter having a significantly higher proportion of patients with polyarthritis at the onset of the disease, involvement in the pathological process mainly small joints of the upper extremities, namely, metacarpophalangeal joints and proximal interphalangeal joints of the hands. In the advanced stage of the disease, the differences in the clinical picture between both variants disappear. Laboratory and instrumental data of the disease are similar. Only in peripheral form of SpA associated with *C. trachomatis* there is a greater proportion of patients with an increase in C-reactive protein (U = 394,0;  $p = 0,036$ ).

The axial form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection occurs mainly in young men (85.7%). In more than half of the patients, large joints are predominantly involved in the pathological process (58.8%), preferentially involving the lower extremities. The axial variant of the SpA can begin with an injury in any sector of the spine.

mai mult de jumătate dintre pacienți, articulațiile mari sunt implicate predominant în procesul patologic (58,8%), preferențial implicându-se extremitățile inferioare. Varianta axială a SpA poate începe cu o leziune în orice sector al coloanei vertebrale.

În SpA forma axială asociată cu *Chlamydia trachomatis*, proporția de implicare în procesul patologic a articulațiilor sacroiliace a fost maximă -100%, articulațiilor periferice mari -71,4% și articulațiilor genunchiului - 61,9 % fiind cea mai mare. În SpA forma axială, reacția organismului la infecție sub formă de febră este posibilă, dar la mai mult de jumătate dintre pacienți este absentă (57,1%). Schimbarea culorii pielii pe aria articulară sub formă de hiperemie sau cianoză (9,52%), precum și leziuni ale membranelor oculare sub formă de conjunctivită, uveită sau iridociclită (6,3%) sunt observate într-un număr mic de pacienți.

În SpA axială este prezentă implicarea țesuturilor periarticulare în procesul patologic sub formă de entezite, pericondrite, achilite și pîteni calcaneeni (38,1%). Testele de laborator pentru SpA axială asociate cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* se caracterizează printr-o creștere a nivelului parametrilor de fază acută a PCR  $37,2 \pm 7,02$  mg/l și VSH  $36,3 \pm 7,57$  mm/h, spre deosebire de numărul de leucocite, care în majoritatea cazurilor nu depășește limita superioară a normei (57,1%). Pentru SpA axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, o activitate marcată a procesului inflamator este tipică conform rezultatelor indicelui BASDAI ( $5,9 \pm 0,38$ ).

Conform metodelor instrumentale de cercetare, pacienții cu SpA axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* prezintă leziuni atât unilaterale, cât și bilaterale ale articulațiilor sacroiliace. În alte sectoare ale coloanei vertebrale și scheletului periferic, pot fi găsite manifestări radiografice nespecifice ale unui proces inflamator cronic sub formă de osteoporoză, uzură, chisturi intraosoase, precum și spondilită, spondilodiscită, pericondrite și sindesmofitoză. La debutul bolii, SpA axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* nu diferă prin manifestările sale clinice de SpA asociate cu alte infecții.

Totuși, spre deosebire de SpA fără infecții concomitente în SpA axială asociată cu *Chlamydia trachomatis*, la un număr mai mare de pacienți, sunt implicate în procesul inflamator articulațiile mici ale mâinilor și plantelor ( $F = 0,15$ ;  $p = 0,022$ ). În stadiul avansat al bolii, SpA axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, spre deosebire de SpA fără infecții concomitente, se caracterizează prin inflamarea primei articulații metatarsofalangiene ( $F = 0,13$ ;  $p = 0,023$ ), leziune predominant unilaterală a articulațiilor sacroiliace ( $F = 0,15$ ;  $p = 0,021$ ), sindrom febril recurent ( $F = 0,1$ ;  $p = 0,042$ ) și activitate de laborator mai mare a bolii în ceea ce privește VSH ( $p = 0,043$ ) și PCR ( $p = 0,031$ ).

## Discuții

Folosind metode moderne de diagnosticare genetică moleculară (PCR în timp real pentru a identifica ADN-ul agentului patogen), s-a stabilit că *Chlamydia trachomatis* poate fi un declanșator infecțios al SpA. Acesta din urmă ghidează

In the axial form of SpA form associated with *Chlamydia trachomatis*, the proportion of involvement in the pathological process of sacroiliac joints was 100%, large peripheral joints -71.4% and knee joints - 61.9 % being the highest. In axial form of SpA, fever can be detected, but in more than half of the patients it is absent (57.1%). Change in skin color on the joint area in the form of hyperemia or cyanosis (9.52%), as well as lesions of the eye membranes in the form of conjunctivitis, uveitis or iridocyclitis (6.3%) are observed in a small number of patients.

In axial form of SpA, the involvement of periarticular tissues in the pathological process in the form of enthesitis, perichondritis, Achilles and calcaneal spurs (38.1%) is present. Laboratory tests for axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection are characterized by an increase in the level of acute phase reactants of C-reactive protein  $37,2 \pm 7,02$  mg/l and ESR  $36,3 \pm 7,57$  mm/h, while white blood count in most cases does not exceed the upper limit (57,1%). For axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, a marked activity of the inflammatory process is typical according to the results of the BASDAI index ( $5.9 \pm 0.38$ ).

According to instrumental methods of research, patients with axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection show both unilateral and bilateral lesions of the sacroiliac joints. In other sectors of the spine and peripheral skeleton, nonspecific radiographic manifestations of a chronic inflammatory process in the form of osteoporosis, wear, intraosseous cysts, as well as spondylitis, spondylodiscitis, perichondritis and syndesmophytosis can be found. At the onset of the disease, axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection does not differ in its clinical manifestations with SpA associated with other infections.

However, unlike SpA without concomitant infections in axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis*, in a larger number of patients, small joints of hands and plants ( $F = 0.15$ ;  $p = 0.022$ ) are involved in the inflammatory process. In the advanced stage of the disease, axial SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, in contrast to SpA without concomitant infections, is characterized by inflammation of the first metatarsophalangeal joint ( $F = 0.13$ ;  $p = 0.023$ ), predominantly unilateral lesion of the sacroiliac joints ( $F = 0.15$ ;  $p = 0.021$ ), recurrent febrile syndrome ( $F = 0.1$ ;  $p = 0.042$ ) and higher laboratory activity of the disease in terms of ESR ( $p = 0.043$ ) and C-reactive protein ( $p = 0.031$ ).

## Discussions

Using modern methods of molecular genetic diagnostics (real-time PCR to identify the DNA of the pathogen), it has been established that *Chlamydia trachomatis* can be an infectious trigger of SpA. The latter guides the clinical manifestations and the course of this disease. This research describes the previously unidentified clinical, laboratory and instrumental features of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

manifestările clinice și evoluția acestei boli. Cercetarea dată descrie particularitățile clinice, de laborator și instrumentale neidentificate anterior ale SpA asociate cu infecția cu *Chlamydiei trachomatis*.

La pacienții cu SpA, infecția cu *Chlamydia trachomatis* se găsește de regulă numai în tractul urogenital. Prezența infecției cu *Chlamydia trachomatis* la pacienții cu spondiloartrită anchilozantă influențează manifestările clinice ale bolii. Forma periferică a SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* se caracterizează prin apariția bolii după o infecție urogenitală anterioară. Afectarea articulațiilor cotului, metacarpofalangiene și articulațiile metatarsofalangiene nu este una tipică. Spondiloartrita axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, spre deosebire de spondiloartrita fără infecții trigger, se caracterizează prin implicarea îndeosebi a articulațiilor mici ale mâinilor și plantelor în procesul inflamator la debutul bolii. Afectarea primelor articulații metatarsofalangiene de asemenea este frecvent întâlnită, iar de bază este apariția inflamației unilaterale a articulațiilor sacroiliace, recurența sindromului febril și o activitate mai înaltă a bolii exprimată prin datele de laborator. Rezultatele cercetării date conțin informații noi și relevante pentru a îmbunătăți calitatea diagnosticului pacienților cu SpA asociate cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*.

### Concluzii

1. Infecția cu *Chlamydia trachomatis* s-a depistat prin reacția în lanț a polimerazei în timp real, iar anticorpul către ea în titrul diagnostic - prin test imuno-enzimatic pentru pacienții cu SpA, la pacienții cu și fără infecții concomitente artritogene. Cu ajutorul reacției PCR acest agent patogen s-a determinat în tractul urogenital (89,7%) și prin ELISA (10,3 %). În lichidul sinovial al pacienților cu SpA forma periferică, nu numai ADN-ul agentului patogen, ci și ARN-ul ribozomal al *Chlamydiei trachomatis* a fost detectat prin amplificarea izotermă a acizilor nucleici, ceea ce indică viabilitatea și activitatea metabolică scăzută a agentului patogen în cavitatea articulară afectată.

2. SpA asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* are manifestări clinice, de laborator și instrumentale mai exprimate atât în debutul, cât și în stadiul avansat al bolii.

3. SpA forma periferică asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis* se caracterizează prin apariția sindromului poliarticular de la debutul bolii, cu afectare în principal a articulațiilor mici ale extremităților, dintre care articulațiile metacarpofalangiene și articulațiile interfalangiene proximale ale mâinilor sunt cel mai frecvent implicate în procesul patologic. Pentru SpA forma periferică asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, prezența modificărilor inflamatorii pronunțate în ser nu este tipică [nivelul PCR 3.3 (1.2-19.9) mg/l].

4. SpA forma axială asociată cu infecția cu *Chlamydia trachomatis*, spre deosebire de spondiloartrita fără infecții concomitente, se caracterizează prin implicarea articulațiilor mici ale mâinilor și plantelor în procesul patologic la debutul bolii. Odată cu dezvoltarea spondiloartritei asociate infecției cu *Chlamydia trachomatis*, în comparație cu spon-

In patients with SpA, *Chlamydia trachomatis* infection is usually found only in the urogenital tract. The presence of *Chlamydia trachomatis* infection in patients with ankylosing spondyloarthritis influences the clinical manifestations of the disease. The peripheral form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection is characterized by the onset of the disease after a previous urogenital infection. Damage to the elbow joints, metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints is not typical. Axial spondyloarthritis associated with *Chlamydia trachomatis* infection, in contrast to spondyloarthritis due to infections, is characterized by the involvement of especially small joints of hands and plants in the inflammatory process at the onset of the disease. Damage to the first metatarsophalangeal joints is also common, and fundamentally is the unilateral inflammation of the sacroiliac joints, recurrence of febrile syndrome, and a higher activity of the disease expressed by laboratory data. The results of the research data contain new and relevant information to improve the quality of diagnosis of patients with SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection.

### Conclusions

1. *Chlamydia trachomatis* infection was detected by real-time polymerase chain reaction, and antibodies to it in the diagnostic titer - by immuno-enzymatic test for patients with SpA, in patients with and without concomitant arthritogenic infections. With the help of PCR reaction, this pathogen was determined in the urogenital tract (89,7%) and by ELISA (10,3%). In the synovial fluid of patients with SpA peripheral form, not only the DNA of the pathogen, but also the ribosomal RNA of *Chlamydia trachomatis* was detected by isothermal amplification of nucleic acids, which indicates the viability and low metabolic activity of the pathogen in the affected joint cavity.

2. SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection has more expressed clinical, laboratory and instrumental manifestations both at the onset and in the advanced stage of the disease.

3. Peripheral form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection is characterized by the appearance of polyarticular syndrome from the onset of the disease, with mainly damage to the small joints of the extremities, among which metacarpophalangeal joints and proximal interphalangeal joints of the hands are most often involved in the pathological process. For peripheral form of SpA associated with *Chlamydia trachomatis* infection, the presence of pronounced inflammatory changes in serum is not typical [the protein C-reactive level 3.3 (1.2-19.9) mg/l].

4. SpA axial form associated with *Chlamydia trachomatis* infection, in contrast to spondyloarthritis without concomitant infections, is characterized by the involvement of small joints of the hands and plants in the pathological process at the onset of the disease. With the development of spondyloarthritis associated with *Chlamydia trachomatis* infection, in comparison with spondyloarthritis without concomitant infections, a significantly higher number of patients had involved in the pathological process the first metatarso-

diloartrita fără infecții concomitente, un număr semnificativ mai mare de pacienți au avut implicate în procesul patologic prima articulație metatarsofalangiană, leziuni unilaterale ale articulațiilor sacroiliace, reapariția sindromului febril, activitate de laborator mai mare a bolii: nivelul VSH și nivelul CRP fiind crescute.

5. SpA forma mixtă asociată cu *Chlamydia trachomatis* predominant se caracterizează prin debutul bolii după o infecție urogenitală anterioară. În stadiul avansat al bolii, afectarea articulațiilor cotului, a articulațiilor metacarpofalangiene și metatarsofalangiene nu este tipică.

### Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat

### Contribuția autorilor

Concepția și design: LC, LG. Acumularea datelor primare: LC, LG, ER, VC. Analiza și interpretarea datelor: LC, ER. Elaborarea manuscrisului: LC. Revizuirea manuscrisului: LC, LG. Toți autorii au citi și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

phalangeal joint, unilateral lesions of the sacroiliac joints, recurrence of febrile syndrome, greater laboratory activity of the disease: the level of ESR and the level of CRP being increased.

5. SpA mixed form associated with *Chlamydia trachomatis* predominantly is characterized by the onset of the disease after a previous urogenital infection. In the advanced stage of the disease, damage to the elbow joints, metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints is not typical.

### Declaration of conflict of interests

Nothing to declare

### Authors contribution

Conception and design: LC, LG. Accumulation of raw data: LC, LG, ER, VC. Analysis and interpretation of data: LC, ER. Manuscript development: LC. Manuscript review: LC, LG. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

### Referințe / references

- Batut J, Andersson SG, O'Calaghan D. The evolution of chronic infection strategies in the alpha-proteobacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(12):933-45.
- Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *Lancet.* 2007; 369:1379-1390. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60635-7.
- Gérard H.C., Whittum-Hudson J.A., Carter J.D., Hudson A.P. The pathogenic role of *Chlamydia* in spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22(4):363-7.
- Carter J.D., Hudson A.P. Spondyloarthritis - reactive arthritis. *Encyclopedia of medical immunology—autoimmune diseases.* Mackay I.R., Rose N.R. (eds); Springer Science and Business Media, New York. 2014; pp. 1115-22.
- Borel N., Pospischil A., Hudson A.P., Rupp J., Schoborg R.V. The role of viable but non-infectious developmental forms in chlamydial biology. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014;4:97.
- Zeidler H., Hudson A.P. New insights into *Chlamydia* and arthritis: promise of a cure? *Ann Rheum Dis.* 2014;73(4):637-44.
- Gaston, J.S.H. „Recent advances in understanding spondyloarthritis.” *F1000Research* 6 (2017).
- Kumar P., Bhakuni D.S., Rastogi S. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in patients with reactive arthritis and undifferentiated spondyloarthropathy. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8(5):648-54.
- Zacharia, B. Roy, A. Ankylosing Spondylitis and Other Seronegative Arthritis. In: Takeda, A. editor. *Connective Tissue Disease - Current State of the Art* [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 2022 Feb 27]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/65424> doi: 10.5772/intechopen.82332.
- Maxime B., Beaufrère M., Glatigny S. „The microbiome in spondyloarthritis.” *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 33.6 (2019): 101495.
- Harkins P., Burke F., Swales C., Silman A. „All disease begins in the gut” - the role of the intestinal microbiome in ankylosing spondylitis, *Rheumatology Advances in Practice*, Volume 5, Issue 3, 2021, rkab063, <https://doi.org/10.1093/rap/rkab063>.
- Baraliakos X., Sewerin P., de Miguel E. *et al.* Achilles tendon enthesitis evaluated by MRI assessments in patients with axial spondyloarthritis and psoriatic arthritis: a report of the methodology of the ACHILLES trial. *BMC Musculoskelet Disord* 2020;21:767.
- Zhang X., Sun Z., Zhou A., *et al.* Association Between Infections and Risk of Ankylosing Spondylitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol.* 2021;12:768741. Published 2021 Oct 22. doi:10.3389/fimmu.2021.768741.
- Molto A., Sieper J. „Peripheral spondyloarthritis: Concept, diagnosis and treatment.” *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 32.3 (2018): 357-368.

### ORCID ID autorului / Authors' ORCID ID:

Lia Chișlari, <https://orcid.org/0000-0002-7088-568X>  
 Liliana Groppa, <https://orcid.org/0000-0002-3097-6181>  
 Eugeniu Russu, <https://orcid.org/0000-0001-8957-8471>  
 Victor Cazac, <https://orcid.org/0000-0001-9293-4481>  
 Larisa Rotaru, <https://orcid.org/0000-0002-3260-3426>