

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI
Danışman: Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK

ERKEN VE LATENT DÖNEM SİFİLİZ'İN
SEROLOJİK TANISINDA WESTERN-BLOT
YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yüksek Lisans Tezi
Tıbbi Biyolog Sonay TEMURHAN

İSTANBUL-2004



“ He who knows syphilis ,knows medicine”

Sir William Osler

ÖNSÖZ

Eğitim ve öğrenimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygı değer hocamız Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Kemal ALTAŞ 'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında her zaman yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm, yetişmemde emeği geçen tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK' e teşekkürlerimi sunarım.

Yine yetişmemde emekleri geçen değerli hocalarımız Sayın Prof. Dr. Yaşar BAĞDATLI, Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN , Prof. Dr. Mustafa SAMASTI, Prof. Dr. Gülden YILMAZ, Prof. Dr. Salih TÜRKOĞLU, Doç. Dr. Ayşen GARGILI ' ya teşekkür ederim.

Eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında bilgileri, deneyimleri ve hoşgörülerıyla daima yanımda olan Sayın Uz. Mikrobiyolog Mustafa ASLAN, Dr. Suat SARIBAŞ , Uz Dr. Erdal POLAT' a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Dr. Sibel ALTUN, M.Sc. Reyhan ÇALIŞKAN, M.Sc. Hatice YAŞAR , Bio. Pelin KAHRAMAN , Tıbbi Bio. Esra Nur UÇKAN' a teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme her zaman yanımda oldukları için ve gösterdikleri sabır ve anlayıştan dolayı sonsuz minnet duygularımı sunarım.

Tıbbi Biyolog Sonay TEMURHAN



Bu tez T.C. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü
Sekreterliği tarafından desteklenmiştir.
Proje no:T-158 /06032003

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	49
BULGULAR.....	74
TARTIŞMA.....	92
ÖZET.....	98
SUMMARY.....	100
KAYNAKLAR.....	102

GİRİŞ

Sifiliz (frengi) *Treponema pallidum subspecies pallidum* adlı spiroketin etken olduğu belirtili ve belirtisiz dönemlerde seyretme özelliği olan deri, mukoza ve iç organları tutan, zamanında tedavi edilmediğinde kronikleşen , bildirim zorunlu bulaşıcı bir hastalıktır(3,4,62,67,69,73).

Hastalık cinsel temasla , kan nakliyle veya konjenital olarak bulaşır. Hastalık vücutta yaptığı patolojilerin yanında hasta kişinin toplumda fişlenmesi ve kendilerinden kaçılır duruma düşülmesiyle ayrıca sosyal bir önem taşımaktadır(21,62,67,73).

İlerlemiş toplumlarda güçlü tarama ve tedavi önlemleri ile hastalık bir taraftan eradike edilirken , ahlak anlayışının değişmesi ve göçlerin yoğunlaşması gibi nedenlerle zaman içinde yeni infeksiyon dalgaları da izlenmektedir(67).

Sifiliz , erken tanısı konulabilen , erken tedavide iyi sonuç alınabilen bir hastalıktır. Geç kalındığında komplikasyonlar nedeniyle sekeller bırakabilir. Kendiliğinden iyileşmez. Klinik belirtilerinin zenginliği ile tanınan bu hastalık çok çeşitli deri ve mukoza belirtileri ile birçok deri hastalığı ile karıştırılabilmektedir. Sifiliz'in tanısında klinik bulgu ve belirtilerin yanında laboratuvar tanısında önemli bir faktördür(1,37).

Sifiliz etkeninin kültürünü gerçekleştirmek için yapılan tüm çalışmalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu nedenle Sifiliz'in invitro tanısında etkenin lezyonlardan direkt mikroskopi ile görülmesinin yanında özellikle serolojik testler büyük bir önem kazanmıştır. Sifiliz'le

ilgili gerek tarama gerekse tanı amaçlı çok yaygın kullanım olan mevcut serolojik testlerin duyarlılık , özgüllük gibi parametrelerinde her testin kendine özgü sorunlarından dolayı bazen yeterli ve istenilen düzeyde sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenle yıllardır sifilizin laboratuvar tanısında daha duyarlı ve özgül , kullanımı pratik , uygun zamanda sonuç veren yeni test arayışları devam etmektedir. Bu arayışlar sonucunda son yıllarda sifilizin laboratuvar tanısına yönelik, kullanıma Western-blot testi de girmiştir. Western–blot testiyle ilgili çalışma da günümüzde rutin kullanımdan daha fazla araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır(37).

Bu çalışmada , değişik sağlık merkezlerinden sağlanan ve klinik bulgu ve belirtiler ile birlikte treponemal ve nontreponemal test sonuçlarına göre erken ve latent dönem sifiliz tanısı konulan olgularla , muhtemelen değişik patolojilere bağlı nontreponemal testleri biyolojik yalancı pozitiflik(BYP) gösteren olgular, diğer spiroket infeksiyon(DSIO) varlığı bilinen olgular ve sağlıklı kan vericileri içeren nonsifilitik üç ayrı kontrol grubuna ait olguların serumlarında Western-blot çalışması yapılarak; gerek sifiliz, gerek nonsifiliz tablolarla *T. pallidum*'a spesifik antijenler arasındaki ilişkinin saptanması ve ayrıca Western–blot testinin sifiliz tanısındaki performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE

Sifiliz adı ilk kez H.Fracastorius'un 1530 yılında yayınladığı şiirde kullanılmıştır. Hipokrat zamanından beri bilinen hastalık 16. Yüzyılda Avrupa'da epidemilere neden olmuş, 20. Yüzyılın başında tüm dünyada yaygın olarak görülmüştür. Lues venereum, morbus gallicus gibi adları olan hastalık , Frenklerden yayılması manasında ülkemizde 'Frenği' olarak isimlendirilmiştir (62).

Hastalıkla ilgili önemli bilgiler 16. Yüzyılın başında Avrupa'da yaptığı epidemi ile başlar. Avrupa'da yaptığı bu epidemiyle Great Pox adı ile tanınan sifiliz endemik bir infeksiyon olarak tanınır. Sifiliz'in başlangıcı ve yayılımı ile ilgili çeşitli görüşler vardır(51,61,67).

Birinci görüş;Sifiliz'in çok eski zamanlardan beri Afrika'da var olduğu , buradan Avrupa'ya yayıldığı şeklindedir. Mısır'daki mumyalarla yapılan incelemelerde kemik ve dişlerde sifilize ait kesin bulgu elde edilememiş, fakat pasifikte ki çalışmalarda kranial periostite ait bulgular tespit edilmiştir.

İkinci görüş;Colomb'un gemicileri hastalığı Amerika'dan almışlar ve Avrupa'ya getirmişlerdir. Bu görüş daha fazla taraftar toplamıştır. Bu görüşe göre Cristophe Colomb'un gemicileri Haiti adasını ziyaret etmişlerdir. Orada sifilizin yaygın olduğu, daha sonra gemicilerde de benzer bulguların olduğu, seferden dönen gemicilerden ispanyol kadınlara, daha sonrada o bölgedeki insanlara yayılmıştır. Hastalık buradan Fransa ve İtalya'ya geçmiş, daha sonra (1498-1505 yılları) Portekizli gemicilerle Çin, Hindistan ve Japonya'ya yayılmıştır.

Üçüncü görüş; Sifiliz etkeni ile diğer nonvenereal treponemaların çevresel faktörlerin(özellikle sıcaklığın) etkisiyle farklı bölgelerde farklı klinik tablolara neden olduğu şeklindedir.

1940'lardan önce önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan Sifiliz'in yayılımı 1943 yılından sonra penisilin kullanılması ve alınan önlemlerle sınırlandırılmıştır. Ancak AIDS'in ortaya çıkmasından sonra Sifiliz'in görülme sıklığında bir artış gözlenmiştir(21,73).

ETİYOLOJİ

Treponema cinsi bakteriler Spirochaetaceae ailesindedirler. En az dört patojen , altı nonpatojen cinsi vardır. *T. pallidum subsp pallidum* Sifiliz'in , *T.pallidum subsp. pertenue* Yaws'ın , *T. pallidum carateum* Pinta'nın , *T.pallidum subsp. endemicum* Bejel'in etkenidir (61).

Bu dört ajan morfolojik olarak ayırt edilemez. Son yapılan çalışmalarda *T.Pallidum*'un 5' bölgesinin bitişiğinde 15 kDa lipoprotein gen (tpp 15) tanımlanmış, *T. pallidum'u T. pallidum pertenue ve endemicum'* dan ayırımında kullanılmıştır(61,62).

Spiroketler farklı bölgelerde bulunabilir. Periodental hastalığı ve jinjiviti olanlarda subjinjival plakta patojenite ile ilişkili olan spiroketler (*T.socranskii*, *T. denticola* ve *T. pectinovorum*) bulunmuştur. Kolon ve rektumda *T. perfringes*, *T. denticola* genital sistemde *T. phagedesis*, *T. refringes*, *T.minutum* tesbit edilmiştir(50).

T.pallidum subsp.pallidum ,*Borrelia* ve *Leptospira* gibi Spirochaetales takımının patojen üyelerindedir(28).

Sınıflandırma:

Treponemalar, Spirochaetales takımı içerisinde yer alan Spirochaetaceae familyasındaki 4 cinsten biridir. Familyadaki diğer üyeler Spirochaeta , Cristispira ,Borrelia cinslerinde bulunmaktadır. Bundan dolayı Spirochaetacea familyasında bulunan tüm bakteriler hakkında genel özellik ve karakterlerle ilgili bilgi vermek yerinde olacaktır(28,70).

Spirochaetales takımındaki bakterilerin genel özellikleri:

Doğada yaygın olarak bulunan Spirochaetales takımındaki bakteriler genelde sarmal şekilli ve çok hareketlidirler. Bakteri duvarlarını bir kılıf gibi saran çok katmanlı bir zarfa sahiptirler. Diğer bakterilerdeki gibi DNA'dan oluşan bir çekirdek, sitoplazma, stoplazmik zar , hücre çeperi ve protoplazmik silindir içerirler(28,70).

Spiroketler , protoplazmik silindir ile dıştaki kılıf arasında seyreden aksial filament (aksiyal fibril) denen 2 ile 100 adet arasında periplazmik flagellalar ile hareket ederler. Bunlar bir uçları ile bakterinin bir kutbundaki noktaya tutunduktan sonra kılıf ile protoplazmik silindir arasında seyrederek ilerler, diğer uçları bakterinin ortası ile diğer ucu arasında bağlantısız ve serbest olarak sonlanır. Flagellaların bir kısmı da bağlandıkları kutuplardan hücre dışına da kirpikler halinde uzanırlar. Spiroketler bu özgül yapı nedeniyle birisi yer değiştirici olarak boyunun bir misli ileri geri yönlerinde , diğeri kendi eksenleri boyunca burğu şeklinde ve ayrıca eğilip bükülmek suretiyle yılanı olmak üzere üç çeşit harekete sahiptirler. Spirochaetales takımı içerisinde bazı morfolojik ve yapı farklılıkları gösteren çeşitli karakterlerde cinsler yer alır(69).

Spirochaetales takımındaki spirochataceae ailesi içindeki cinsler(28,70):

1.Spirochaeta cinsi:Su , çamur, su havuzları, göl ve akarsularda bulunur. 0,2-0,75 μm eninde ve 5-25 μm boyunda aerob ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Enerji kaynağı olarak karbonhidratlardan yararlanırlar. G+C (Guanin+ sitozin) 'in DNA'daki oranı %51-65 mol.dur.

2.Cristispira cinsi:Denizlerde ve tatlı sulardaki yumuşakçalarda bulunur. 0.5-3.0 μm çap 30-180 μm boyundadırlar. İsmi hücre çeperlerinin dışında bir krista gibi kabarıklık yapan demet şeklindeki flagellalardan alırlar.

3.Treponema cinsi:İnsan ve hayvanların çeşitli floralarında (ağız, sindirim ve genital florasında)bulunurlar. Ancak bazı türleri hastalandırıcı özelliğindedir. 0.1-0.4 μm eninde ve 5-20 μm boyundadırlar. G+C 'in DNA' daki oranı %25-53 mol. dur.

4.Borrelia cinsi:Ardropotlarla taşınarak dönek ateşi yapan etkenlerinde bulunduğu cins . Anaerob ve mikroaerofil üreyebilen , kıvrımları düzensiz 0.2-0.4 μm eninde ve , 10-30 μm boyunda spiroketlerdir.

Spirochaetales takımındaki leptospiraceae ailesi içindeki cinsler(31):

Leptospira:6-20 μm uzunluğunda 0.1-0.2 μm genişliğinde ince , sık spiralli , bir yada iki ucundan kıvrık çok hareketli aerob mikroorganizmalardır.

Leptonemalar:Morfolojik olarak Leptospira'ya benzer ancak G+C'in DNA' daki oranı Leptospira' dan daha yüksektir.

Tablo1. Treponema'ların yaptığı hastalıklar ve özellikleri;(62)

Etken	<i>T.pallidum subsp. pallidum</i>	<i>T.pallidum subsp.pertenue</i>	<i>T.pallidum careteum</i>	<i>T.pallidum subsp. Endemicum</i>
Yaptığı Hastalık	Sifiliz	Yaws	Pinta	Bejel, Endemik Sifiliz
Görüldüğü Bölge	Tüm dünya	Tropikal bölgeler	Güney Amerika	Afrika, Yugoslavya
Yaş	Her yaş	Çocuk	Çocuk ve erişkin	Çocuk ve erişkin
Geçiş Yolu	Cinsel temas	Cilt	Cilt, temas	Mukoz membran
Konjenital enfeksiyon	Evet	Hayır	Hayır	Nadiren

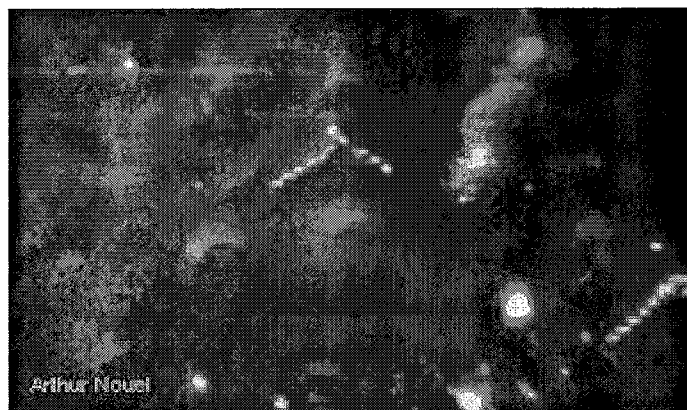
T.pallidum'un DNA yapısı ,cinsel ilişki ile bulaşmayan Yaws adı ile anılan hastalığın etkeni *Treponema pertenu* ve yine cinsel ilişki dışında bulaşım gösteren ve bir bakıma sifilizin endemik şekli sayılan Bejel hastalığının etkenleri ile tamamen uygunluk gösterdiği saptanmıştır. Bu üç tür mikroorganizma yaptıkları enfeksiyon biçimi ,bulaşma şekli ve deney hayvanlarında gösterdikleri farklılıklar nedeni ile *T. pallidum*'un alt türleri olarak kabul edilmiş ve bunlara sırası ile *T.pallidum subsp. Pallidum*, *T.pallidum subsp pertenu* ve *T. pallidum subsp. Endemicum* adları verilerek yeniden sınıflandırılmıştır(4,37).

***T. pallidum*'un Morfolojisi:** 6-20 µm boyunda, 0.10-0.18 µm eninde, kıvrımlı, patojen türleri ile enfeksiyonlara neden olan spiral (6-14) bir bakteridir. Kıvrımlar düzenli, sık ve dik olup uçlara doğru yükseklikleri azalır. Kıvrımların derinliği 0.5-1 µm , aralarındaki uzaklık 1 µm'dir(61,67).

Boyasız preparatlarla adi mikroskoplarla görülmez ancak çok hareketli bu organizmalar karanlık alan mikroskobu ile görülebilirler(Şekil 1). Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanmayan bakteri boyayı güç alır. Uzun süre uygulanırsa boyanabilirler. Giemsa boyasıyla , gümüşleme yöntemiyle (Levaditi usulü) soluk pembe renkte boyandığından pallidum adını almıştır. Direk incelemede uzun eksenini etrafında burğu şeklinde dönmesi, boyunun birkaç misli yer değiştirmesi ve bir uçtan diğer uca dalgalanma hareketi göstermesi karakteristik özelliğidir(38,41,73).

Elektron mikroskopik incelenmede protoplazmik silindir, aksiyel filament, dış membran olmak üzere üç ana yapıdan oluştuğu görülmektedir. Dış zar üç katmanlıdır. Bakterinin periplazmik flagellaları (6 adet) adı verilen kirpikleri mikroorganizmanın kutuplarına yapıştıktan sonra hücre çeperi ile zarf arasında , zaman zaman çeperin içine girip çıkarak bakterinin 2/3 uzunluğu boyunca uzanırlar . Bu filamentlerden her iki uçtan üçer tanesi yapıştıkları kutuplardan dışarı doğru kirpikler şeklinde uzanırlar. Her iki kutupta aynı yapı olduğundan bunlara bağlı mekanizma ile bakteriler her yöne doğru hareket edebilirler . DNA 'daki G+C oranı %52-53.7'dir. Sporsuz ve kapsülsüzdürler(69,70).

Şekil-1 Karanlık saha mikroskobisi ile *Treponema pallidum*(77)



***T.pallidum*'un üreme ve Kültür özellikleri:**

Treponema pallidum sifilizin hem primer hemde sekonder devrelerinde hastaların BOS, kan, idrar, süt, meni gibi vücut sıvılarında bol miktarda bulunur(62,70).

T. pallidum yapay besiyerlerinde, embriyonlu yumurtada ve doku kültüründe üretilmemiştir. Anaerob koşullarda ve içlerinde aminoasitler, vitaminler ve tavşan serumu gibi maddeler konularak hazırlanan besiyerlerinde (Nelson, Eagle vb.) *T. pallidum*'lar 5-6 gün süre ile canlı kalabilirler. Bugün elimizde birçok *T. pallidum* kökenleri vardır. Bunlardan virulan Nichols, gond, ami moscow gibi suşların ancak deney hayvanlarında canlılıkları devamlı olarak sürdürülebilmektedir. Özellikle fındık farelerinde canlı olarak saklanabilmektedir. Son zamanlarda virulan Nichols kökeninin beyaz tavşanların epiteliumunda hazırlanan doku kültürlerinde %1.5 CO₂ ortamında tek pasajda 49 kat çoğalarak üretilebildiği bildirilmiştir(70).

***T. pallidum*'un direnç durumu:**

İnfekte kanda 3 gün canlı kalabilir. Vücut dışında oldukça dayanıksızdır. Kuruluğa da dayanıksızdır. Tuzlu su buyyon gibi ortamlarda çabuk ölür. Kapiller cam borulara alınan örneklerde 84 gün etüv veya oda ısısında infekte dokularda 7-10 gün canlı ve hareketli olarak kalabilir. Asit fenik, süblime, su, sabun gibi maddelere , liyofilizasyona , üç değerli arsenik derivelere , civa, bizmut, oksijen, saponin, gliserin gibi maddelere dayanıksızdır(28,70).

Süspansiyonları 35 °C'de 5 saatte, 42°C'de daha kısa sürede ölür. Frengili hastaların bazılarında eskiden uygulanan ateşle tedavi yönteminin bu temele dayandığı bilinmektedir. Kan bankasında 0-4 °C'de 3-5 gün içerisinde ölür. 25 °C'de 4-7 gün ve 37°C'de 2 gün hareketli kalabilmektedir. Tavşan testis dilimlerinde veya %15 gliserin

içinde -65°C 'de yıllarca canlı kalır ve laboratuvarlarda bu şekilde saklanır(1,2,3).Penisiline duyarlıdır ancak bu öldürme yavaştır. Penisilinün üremeyi durduran en ufak yoğunluğu 0,0044/ml dir(69).

***T. pallidum*'un antijenik yapısı:**

Reiter proteini, saprofit treponemalarla ortak olan antijendir. Reagin denen maddeler , infeksiyon esnasında harap olan hücre lipidleri ve kısmen Treponema vücut maddelerine karşı hasta serumlarında oluşan bu maddeler IgM ve IgA yapısındadırlar, atopide oluşan IgE ile ilişkisi yoktur ve özgül değildirler. Kompleman bağlayan antikorlar, *T. pallidum* süspansiyonu antijen olarak kullanıldığında buna karşı oluşan özgül antikorlardır(70).

Invitro koşullarda üretilmediği için virulans faktörleri hakkında bilgiler sınırlıdır. Dış membran proteinlerinin , konak hücreye yapışmadan sorumlu olduğu bilinmektedir. Ayrıca virulan spiroketler, ürettikleri hiyalüronidaz enzimleri sayesinde perivasküler alanda daha kolay yayılır. Virulan suşlar, konak hücre fibronektini ile kaplanarak fagositozdan korunabilirler(68).

Mukopolisakkarit yüzey komponenti veya *T. pallidum*'un kapsülü, dış membran proteinlerine karşı antikorların etkisi silindiğinden hücreyi oksijen toksisitesinden koruduğuna inanılır(42,53).

***T. pallidum*'un metabolizma özellikleri:**

Canlı iken ışığı kırma indeksleri aşağı yukarı suyunkine eşit olduğundan adi mikroskopta görülmez ancak karanlık alanda görülürler. Treponema türleri kemoorganotrofturlar, metabolizmaları fermantatiftir. Zorunlu anaerob olduğu kabul edilir. Fakat frengi etkeninin O_2 aldığı ve mikroaerofil olabileceği bildirilmiştir. Üreaz ve Voges proeskauer deneyleri negatiftir. Nitratı redüklemeyebilirler(69).

EPİDEMİYOLOJİ

Hastalık cinsel aktivitenin yoğun olduğu 15-30 yaş grubunda , homoseksüel erkeklerde, sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha sık görülmektedir. Bulaşma hasta insandan sağlam insana primer , sekonder ve erken latent dönemde olmaktadır. Bulaşma cinsel temasla , anneden bebeğe geçiş yolu ile olur. Bulaşmada enfeksiyonlu insanların derideki taze lezyonlarının sızıntıları , ayrıca tükürük , meni, kan ve vajen sıvısı gibi vücut sıvıları önemlidir. Kan nakliyle , öpüşme ve kaza ile bulaş nadirdir. Eldiven takmadan hasta muayene eden hekimlere bulaş olabilir. Geçmişte erkeklerde görülme oranı kadınlara göre 3,5 kat fazla iken 1980'lerin sonu 1990'ların başından itibaren kadınlarda görülme oranı (kadın/erkek oranı 1:1) artmıştır(52,61).

Sifiliz yüzyıllar boyunca çok sayıda kişinin ölüm nedeni olmuş ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarına göre 2. Dünya savaşının sonuna kadar öteki veneryal hastalıklarla birlikte dünyada hızla artış göstermiştir. Penisilin'in 1943 yılında kullanıma girmesiyle eski önemini yitirmeye başlamış ve 8-10 yıl içinde önemli düşüşler görülmüş, 1957'de en düşük düzeyine ulaşmıştır. Daha sonraki yıllarda önceki artışlar oranında olmamakla birlikte , dünyanın çeşitli bölgelerinde toplumların gelişmişlik durumuna paralel olarak hafif artışlar ve epidemiler saptanmıştır. Dünya sağlık örgütünün son yayınlarına göre her yıl 50 milyon kişi yakalanmaktadır(52,67).

Yurdumuzda sifilize ilgili bilgiler 16. Yüzyıla aittir. İlk büyük salgın Kırım harbinden sonra (İstanbul, Bolu ve Kastamonu bölgelerinde) görülmüştür. Karadeniz bölgesinde sifilize yakalanan çok sayıda insan olduğu , hastalığın derin harabiyet yaptığı bildirilmiştir. Birinci dünya savaşından sonra hasta insan sayısında artış olmuş , 1935-1945 yılları arasında zirveye çıkmıştır(1,49).Rusya'ya giden fırıncılar ve liman işçileri vasıtasıyla hastalık karadeniz sahillerine yayılmıştır(2,76).

Türkiye'de dünya ile benzer şekilde sifiliz için morbidite oranı 1930'larda %000 86 civarında iken 1945'te %000 163 olarak en yüksek düzeye ulaşmıştır. Sağlık bakanlığı istatistiklerine göre yurdumuzda 1945'ten 1970'e kadar yeniden sifilize yakalananların gittikçe azaldığı ve morbidite oranı %0002 civarında gözlendiği görülmektedir. 1970'li yıllardan 1985'e kadar artış göstererek %0008 'lere çıkan bu oran , 1986'dan günümüze kadar %0005 civarında sabit bir seyir izlemektedir(62,70).

Ülkemizdeki sifiliz olguları incelendiğinde ; 1925 yılında 80.537 devreden sifiliz, 4125 yeni olgu varken, 1935 yılında 154.396 devreden olgu , 91 209 yeni olgu , 1945 yılında 127.701 devreden olgu , 30.655 yeni olgu olduğu bildirilmiştir. Penisilin'in bulunması ve tedavide kullanılması ile bu oran sonraki yıllarda düşmeye başlamıştır. Yeni olgu sayıları 1955 yılında 7585, 1965'te 689, 1975 yılında 1317 olarak bildirilmiştir. 1983'te 588 olan yeni olgu sayısı 1997 yılında 770 'e yükselmiştir(62,70).

Ülkemizde yeni olguların artış nedenleri ; köyden şehre göçler ve gittikleri yerlerde kendi toplumlarının kontrolünden çıkması , hayat şartlarındaki zorluklar, eğitimdeki yetersizlikler ve umursamazlıklar, ilaçlara karşı olan aşırı güvenle insanların eski korkularının kalmaması ,gebeliği önleyici ilaçların ve araçların geniş ölçüde kullanılması, diğer cinsel yolla bulaşan hastalıkların varlığı , iç ve dış turizmdeki artışlar olabilir(67,69).

Etkin tedavi yönteminin bulunmasına karşın olgu sayısının yinede azalmamasında ahlak kurallarının değişmesi ve cinsel ilişki serbestliğinin etkin olduğu düşünülebilir. Ayrıca sifilizde bulunan ülseratif genital lezyonlar , HIV enfeksiyonu etkenin giriş ve çıkışında predispozisyon yarattığından sifilizle birlikte HIV enfeksiyonlu kişilerin sayısında gün geçtikçe bir artışın olduğuda görülmektedir(73).

1990'lı yılların başında ABD'de özellikle kadınlarda artış görülmüştür. Bundan kokain karşılığında yapılan seks sorumlu tutulmaktadır. Penisilin tedavide girmesinden hemen önce ABD'de primer ve sekonder sifilizin insidansı 66.4/100 000 iken , 1957 yılında penisilin tedavide kullanılması ve eğitim ile bu oran 3.9/100 000 'e gerilemiştir. Zamanla bu oranlar tekrar artmıştır. ABD'de 1990 yılındaki primer ve sekonder sifiliz oranı 20.3/100 000 'e gerilemiştir. Zamanla bu oranlar tekrar artmıştır. ABD'de primer ve ve sekonder sifiliz oranı 20.3/100 000 iken, Rusya'da 1990-1992 yılları arasında 263/100 000 olduğu bildirilmiştir(61,69).

PATOLOJİ VE PATOGENEZ

Sağlam mukoza ve travmatize deriden , epitelde ki küçük bir sıyrıktan *T. pallidum* mukoza membranını penetre ederek yada kıl folükülü yoluyla kolayca vücuda girer, lenf ve kana karışıp , vücuda yayılır. Tavşanlarda yapılan deneysel çalışmalar bunu desteklemiştir, insanlarda da benzer yayılım olduğu sanılmaktadır. Tavşanlarda spiroket dermal penetrasyondan 30 dakika sonra lenfatik sisteme ulaştığı ve daha sonra hematogen yayılımın gerçekleştiği gösterilmiştir(2,3,4,28).

İnkübasyon süresi 3-90 gündür. Mikroorganizmalar her 3-33 saatte bir ikiye bölünerek çoğalır. Kuluçka süresinin uzunluğu ve primer lezyonun gelişimi konağın bağışık yanıtına bağlı olduğu kadar , inoküle olan *T. pallidum* sayısında bunda önemi vardır(3,28,67).

Etkenle temastan sonra doku reaksiyonu, damar endotelinde proliferasyon , perivasküler hücre infiltrasyonu görülür. İnfiltrasyon sonucu damar yapısı bozulur. Sifiliz treponeminin hastalandırıcı etkisini immunopatolojik olaylarla ve ufak arterlerin endotellerini bozarak yapmaktadır. Virulanslı treponemaların hücrelere yapıştığı bildirilmiştir. Spiroketler infiltrasyon bölgesine nötrofilleri çeker kemotaktik faktörlere sahiptirler. Bu nedenle opsonizasyon gereksinimi olmaksızın fagositoz gerçekleşir. Ancak mikroorganizmaların bazıları fagositozdan kurtulur. Dokuya ufak sıyrıklardan gelen treponemalar önce ufak damarların çevresindeki limfatikleri istila eder ve sonra kanla yayılırlar. Bu durum ise tedaviye rağmen reaktif serolojik testlerin varlığını açıklar. Hücre infiltrasyonu damarın yapısını bozar , bunu inokülasyon bölgesinin yüzeyinde erozyon gelişimi izler. Yaklaşık olarak inokülasyondan 21 gün sonra şankr oluşur. Sifiliz'de serolojik testler şankr oluşumundan yaklaşık bir hafta sonra reaktifleşir. Şankr tedavi edilmese bile 6 hafta içinde iyileşir(28,67,69).

T. pallidum salgıladığı hiyalüronidaz enzimi ile endotel hücreleri arasındaki bağlantının kaybolmasına neden olur. Treponema hiyalüronidazının kapiller dekstriksiyona neden olduğu ve sonuçta bölgedeki hasara reaksiyon olarak ortaya çıkan vazokonstriksiyon ile nekroz ve ülserasyonla tipik şankrın oluştuğu saptanmıştır(3,59).

Primer dönem lezyonlarının histolojik olarak incelenmesi ile endarterit, periarterit, polimorf nüveli lökosit ve makrofaj infiltrasyonu görülür(68).

Bununla birlikte treponemalar çoğalmaya devam eder ve 2-10 hafta sonra sekonder devre lezyonları gelişir. Bu dönemde yükselen antikor titreleri humoral korumanın oluşumundan çok, hastalığın aktivitesini ve enfeksiyona karşı doku yanıtını yansıtır. Bununla birlikte treponemal antijenlere karşı gecikmiş tip hipersensitivite hemen hemen yoktur(3,4,74).

Sekonder dönem lezyonlarında yerel vaskülit, limfosit, ve plazma hücreleri yığınlarıyla yapıca primer dönem lezyonlarına benzerler, bunlarda nekrozlaşma olmadan iyileşirler. Kanda bulunan bol treponema ve antikor birçok yerde antijen – antikor kompleksine bağlı olaylara yol açar(69).

Sekonder lezyonlar rezorbe olurken latent devre başlar. Bu devrede gelişen geç(tersiyer) sifiliz devresi granülomatöz histolojik yapı gösteren gommoz lezyonlarla seyreder. Geç sifilizde vasküler ve bağışık olmak üzere iki olay yer alır. Vasküler yanıt obliteratif endarterit şeklindedir ve sifilizdeki major komplikasyonlar olan kardiyovasküler ve sinirsel tutulumu gösterir(3,4,53).

Geç sifilizde görülen geniş alanlar halindeki parenkim hasarı, gom olarak adlandırılan yapının oluşumuna neden olur. Bu elastik bağ dokusu ile çevrelenmiş düzensiz sert bir doku kitlesidir(51).

Mikroskobik olarak gom , koagülasyon nekrozundan oluşan santral bir bölge içerir. Bu lenfositler, plazma hücreleri aktive olmuş makrofajlar (epiteloid hücreler) ve seyrek dev hücrelerden oluşan karışık bir yangısal infiltrasyon ve daha dışta yoğun bir fibröz doku bölgesiyle çevrelenmiştir(51).

Sifiliz'e karşı insanda doğal bağışıklık görülmez(28,42). Bununla birlikte *T. pallidum* ile enfeksiyondan sonra yeni bir treponema enfeksiyonuna karşı bağışıklık gelişir. Yaws, Pinta ve ya öteki treponemaların neden olduğu enfeksiyonlara tamamen veya kısmen

başıklık oluşur. İnsanlarda tedavinin uygulanma dönemine göre , oluşan başıklığın süresi değışiklik göstermektedir. Örneğin erken devrede tedavi edilen hastalarda başıklık kısa sürer ve hasta tekrar reinfekte olabilir. İki yıl veya daha fazla süren latent dönemden sonra yeterli tedaviye rağmen başıklık uzun süre sebat eder. Parankimal ve mukokutanöz lezyonlar ortaya çıkar , lenfadenopatiler oluşur(42,67).

Her üç dönem sifiliz lezyonları için tipik histolojik bulgu obliteratif endarterit ise polimorf nüveli lökosit , makrofaj ve plazma hücresi infiltrasyonudur. Obliteratif endarterit konsantrik endotelyal ve fibroblastik değışikliklerle karakterizedir(68).

Treponemalar, endotelyal hipertrofi ve proliferasyon ile bunların sonucunda gelişen intimal fibrozis ve damar lümeninde daralmaya sebep olurlar(51).

Vasküler değışiklerin oluşturduğu yerel iskemi , hiç kuşkusuz sifilizde görülen yerel hücre kaybı ve fibrozisin bir bölümünün sebebini açıklamaktadır. Ancak gecikmiş aşırı duyarlılığıda kapsayan diğer faktörlerinde parenkim zedelenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu organizmanın konak dokulara doğrudan toksik zedelenme oluşturduğunu gösteren bulgular yoktur(51).

BAĞIŞIKLIK

Sifiliz'de oluşan doku hasarı ve lezyonlardan esas olarak bağışık yanıt sorumlu tutulur(68).Sifiliz'e karşı insan ve tavşanlarda doğal bir bağışıklık yoktur. İnsanlarda infeksiyon esnasında bir tür direnç (premünisyon tarzında bir infeksiyon bağışıklığı) ortaya çıkmaktadır. Yani treponemaların organizmada bulunduğu sürece süren bir bağışıklık olduğu bilinmektedir. Bu rölatif bağışıklık sifilizli organ ekstrelerinden elde edilen Lutein, syphilin gibi antijenlerin deri içine verilmesiyle özellikle sifilizin geç döneminde şiddetli alerjik reaksiyonlar oluşturmaktadır(42,70).

Ölü treponemalarla yapılan bağışıklama deneyleri ve infekte hayvan ve insan serumlarıyla pasif bağışıklık kazandırma deneylerinden önemli bir sonuç alınmamıştır(42,68).

Bulaşan infeksiyon ortalama 90 gün sonra aynı kökene ve daha az olarak başka kökenlere bir başka bağışıklık başlatabilir. Bu bağışıklık erken yapılan tedaviyle gelişmeyebilir. İnsanda güçlü bağışıklık ikinci seneden sonra ortaya çıkar(48,69).

Sifiliz'li hastalarda ilk yaranın çıkmasından yani birinci dönemin başlamasından 1-2 hafta sonra IgM ve IgG antikoları belirmeye başlar. IgM ilk ortaya çıkanıdır. Bundan sonra antikolar bütün hayat boyunca kanda bulunabilir. Eğer hasta antikolar kanda belirmeden önce tedaviye alınırsa durum bu şekilde kalabilir. Daha sonra primer dönemde tedavi edilirse 6 ay içinde , sekonder dönemde tedavi edilirse 12-28 ayda önce IgM olmak üzere antikolar kaybolur(69).

Primer ve sekonder dönemin başlarında hastalardaki hücre aracılığıyla oluşan bağışıklık bir dereceye kadar azalmıştır ve bundan dolayı hastaların lenfositlerinin treponem antijenlere cevabı düşüktür(39,44,48).

Erken dönemde limf düğümlerinin parakortikal bölgede lenfositleri azalmıştır. Ayrıca bu dönemde bazı lenfositlerin bağışıklığı bastırıcı etkisinden söz edilir(42,69).

Sekonder dönemin sonlarında ve geç dönemde treponem antijenlerine karşı hücre aracılığı ile olan bağışıklık belirir. Sekonder dönemin sonuna doğru lezyonlar tüberküloid olur ve hastaların bulaştırıcılığı azalır ve sifiliz antijenine karşı geç bir aşırı duyarlılık göstermeye başlar. Böylece bakteri ve konak arasında bir denge gelişmesiyle sessiz dönem yerleşir. Sifiliz'de beliren gomlar ise aşırı duyarlılığın sonucudur. Bunların ince yapısı damar tıkanması ve doku ölümüyle birlikte tüberküloid tepkidir(48,69).

İnfeksiyon süresince konak infeksiyonunun her aşamasında farklı olmak üzere belirli bir bağışıklık geliştirilir. Bu bağışıklık treponemaları tümüyle elimine etmek için yeterli değildir. Her ne kadar antikorlar infeksiyondan haftalar sonra saptanabilirlerse de bağışık savunmada çok önemli rol oynamazlar(42,69).

T.pallidum ekstrasellüler matriks komponentleri , fibronektin, laminin ve kollajendir. Hücre duvarı ile ilişkili *T.pallidum* lipoprotein antijenlerinin bir çoğu identifiye edildi. Fakat bunlar dış membrandan çok plazma membranına l kalizedir(63).

Sifilizli hastaların lezyonları, CD8⁺ sitositik T lenfositleri ve dominant tip-1 CD4 T hücreleri ,sitokin cevabının bulguları gösterilir. Tip-1 sitokinlerle makrofajların aktivasyonu , lezyon rezolüsyonu ve treponemal klerans için önemli olduğu düşünülür(63).

Degrage treponemalar, özellikle opsonize antikorların varlığında invitroda ölen ve fagositize treponemaların , tavşan periton makrofajlarında lezyonlar yapar. Bununla birlikte opsonize ve nonopsonize treponemalar makrofajlarla fagositoz için oldukça rezistanstır(63).

KLİNİK

Sifiliz oluştuğu döneme göre, konjenital sifiliz ve edinsel sifiliz , hastalığın dönemine göre erken, latent ve geç sifiliz şeklinde sınıflandırılmıştır(7,70).

1.Edinsel Sifiliz

- a)Erken Sifiliz
- b)Latent Sifiliz
- c)Geç(tersiyer) Sifiliz

2.Konjenital Sifiliz

3.Deneysel Sifiliz

1.Edinsel Sifiliz: Sifiliz insanlara özgü kronik bir hastalık olup, genellikle cinsel ilişki ile geçer(70).

a)Erken Sifiliz:Primer sifiliz ve Sekonder sifiliz olmak üzere ikiye ayrılır. Erken Sifiliz total olarak iki yıla kadar uzayabilir(37,67).

1) Primer Sifiliz: *T.pallidum*'un ilk giriş yerinde ortalama 21 günlük (3-90 gün) inkübasyon dönemini takiben ortaya çıkan lezyon ilk bulgudur. Bu lezyon şankr olarak isimlendirilmektedir(7,70).

Mikroorganizmanın giriş yeri çoğunlukla genital bölgedir. Penis gövdesi, glans penis, sünnet derisi, vulva, serviks, anal kanal, rektumda ilk lezyon oluşur. Genital bölge dışında (%2 oranında) dil, dudak, meme gibi bölgelerde de görülebilir ki burada gelişen şankr ağrılıdır. Bunlar daha çok öpmekle , hasta kişinin kullandığı çatal, kaşık, pipo, araç gereçleri kullanmakla oluşurlar(7,21).

Önce kırmızı renkli makül daha sonra papül haline geçen lezyon ülser olur. Klasik şankr, görünümü değişken olmakla birlikte kenarları belirgin , tek, yuvarlak veya oval yapıda , 0.5 –3 cm çapında pembemsi renktedir. Tabanı temiz , seröz sulantılı,ağrısız ülserdir.

Sağlam deri ile sınırı keskin değildir. Şankr genellikle tektir. Nadiren (özellikle HIV 'le infekte kişilerde) multipl olabilir. Nadirde olsa görülmeyebilir. En sık görüldüğü yer eksternal genital organlardır. Şankr tedavi edilmese bile 3-6 hafta içinde kendiliğinden düzelir , skar bırakmadan , hipopigmente bir leke bırakarak iyileşir. Şankr , histolojik olarak çok miktarda lenfosit ve çok sayıda plazma hücrelerinin bulunmasıyla karakterlidir. Primer lezyon kendiliğinden iyileşir, bazen fark edilmeyecek kadar önemsizdir, gözden kaçabilir. Bu devre yaraları birçok treponema dışı etken ve patogenez ile meydana gelen çeşitli yara ve lezyonlarla karışabilir. Bundan dolayı hastalarda oluşan yaraların dikkatli bir şekilde ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Şankr döneminde bol treponema saptanır(6,7,21).

Giriş yerinde üreyen treponemaların bir kısmı komşu lenf bezlerine giderler ve lenf yollarıyla kan dolaşımına karışırlar. Bu yayılmanın daha ilk günlerden itibaren başladığı ve hızlı olduğu , birkaç saat veya gün içinde tamamlandığı hayvan deneylerinde saptanmıştır(3). Bu dönemde , şankrın başlangıcından bir hafta kadar sonra bölgesel lenfadenopati ortaya çıkar, olguların çoğunda (%80) genellikle ağrısız tek taraflı, deriye yapışık olmayan, hareketli, nünsüpüratif bölgesel lenfadenopati gelişir lenfadenopati şankrdan daha uzun süre kalır .Buna göre primer evre , şankr ve lokal lenfadenitle karakterizedir(7,21,62).

Primer sifilizde, ülserin histolojik incelenmesinde , yüzeyi örten epidermiste kayıp ve bunun çevresinde epidermal hiperplazi görülür. Alttaki dermis ise olağan lenfositik ve plazmasitik yangısal infiltrasyonu ve proliferatif vasküler değişiklikleri içermektedir(51).

Sifiliz şankrının ayırıcı tanısında ;

Ulkus molle:(Yumuşak ülser) Bu yarada adenopati meydana gelmesi şart değildir. Oluşan adenopati ağrılı, kızarıklık, yapışık ve büyük olur(7,70).

Genital herpes infeksiyonları: Veziküler periyod anamnezi ve subjektif şikayetler ayırımında yardımcı olur(7,70).

Genital aft, Behçet hastalığı, lenfogranüloma venereum, Granüloma inguinale, tüberküloz ülserasyonu, ilaca bağlı erozyon ve piyodermilere bağlı erozyon uyuz şankr, papül eroziv , karsinomalar ve derin mikotik infeksiyonlar gibi durumlarla da karışabileceği düşünölmelidir(7,21,70).

II) Sekonder sifiliz(Roseol dönemi): Sekonder(dissemine)sifiliz, şankrın görölməsinden 2-10 hafta sonra başlar. Fakat bu süre oldukça değişkendir. *T.pallidum*'un kan ve lenf yolu ile tüm vücuda yayıldığı dönemdir(21,27,28,67).

Şankr'dan ortalama 1-6 ay sonra çoğunlukla şankr kaybolmadan ortaya çıkmaktadır. Ateş , baş ağrısı, boğaz ağrısı , kas ve eklem ağrıları, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı , bulantı, kusma gibi semptomlar ortaya çıkar. Bulguların şiddeti kişiden kişiye değişebilir(21,28).

Ciltte değişik özellikte döküntüler vardır(maköler, makölopapöler, folliküller, püstöller, psöriatik)cilt ve mukozadaki döküntüler yaygın, bilateral ve simetrikdir(21,28,61).

Lezyonlar genellikle gövde ve ekstremitelerin proksimal kısımlarından bilateral olarak 3-10 mm'lik pembemsi-kırmızımsı maköller şeklinde başlar. Derinin her bölgesi tutulabilir(21,29,61).

Maköler lezyonlar birkaç günden sekiz haftaya kadar devam edip papöller şekle dönüşürler. Sifiliz papöloza büyüklüğüne göre miliaris, lenticularis ve nummularis isimleri ile anılır. Papöllerin sık olarak roseola ile birlikte olmasına sifiliz makölo-papöloza denir(70).

Bir kısım hastada püstöller lezyonlar gelişir. Aynı anda değişik lezyonlar aynı anda bulunabilir. Nadir de olsa bazı ikinci dönem sifilizlerde göğüs, sırt ve başta lokalize olan Sifiliz püstöloza (küçük

olanlara akne sifilitika, büyük olanlara variola sifilitika denir.) denen püstüller görülür. Avuç içi ayak tabanındaki lezyonlar kuvvetle sifilizi düşündürmelidir(7,67,70).

Hastalarda %5-22 oranında ağız, farinks, larinks ve genital bölgelerde mukoz plaklar (yüzeyel, eritematöz, gri-beyaz renkli, infektif lezyonlar) görülür. Lezyonlar müköz membranlarda ortaya çıkabilir. Mukozanın papüller belirtilerine Plak müköz denir, sert ve yumuşak damak , diş etleri yanak ve dudaklarının iç yüzlerinde görülür. Mukoza lezyonları periferi kırmızı , ortası gri renkli yüzeyel erezyonlar şeklindedir. Sekonder infeksiyon oluşmadıkça ağrısızdır. Bu dönemde lenf bezlerinin büyümesi (polilenfadenopati) sifiliz septisemisinin en önemli belirtilerindendir. (7,67).

Vücutun vulva , anüs, skrotum ve meme altı gibi nemli bölgelerinde papüller daha büyük , üzeri düz, sulantılı, ağrısız, geniş gri-beyaz plaklar halinde görülür ki bu **kondüloma lata** diye tanımlanır. Kondüloma lata bol miktarda *T. pallidum* içerir ve çok bulaştırıcıdır(21,62).

Postinflamatuar Lökomeleodermi adı verilen derideki pigmentasyon bozukları kadınlarda daha sık görülür ve eğer boynun her iki tarafında yerleşmişse bu lezyonlar kolye manzarasını andırdığından Venüs gerdanlığı adını alır(7,70).

%70-80 oranında orta büyüklükte ağrısız lenfadenopatiler (genellikle inguinal, servikal , submental ve aksiller bölgede) görülür. Büyümüş epitroklear lenf bezi kuvvetli sifilizi düşündüren bir bulgudur (61,67).

Kıl folikülleri tutulduğunda alopesi , kaş ve sakallarda dökülme görülür. Kaş ve saç dökülmesi(%7 oranında alopesi)görülür. Veziküler lezyonlar yoktur. Tırnaklarda Onychia syphilitica denen bozukluklar oluşur(1,2,37).

Nadiren de olsa birdenbire ortaya çıkan bir diğer ikinci devre klinik belirtisi sifiliz maligna denen ülserasyonlardır. Süperinfeksiyonlar eklenmedikçe , sekonder sifiliz lezyonlarıda ağrısızdır(21,68).

Hastaların yaklaşık %40'ında MSS tutulumu söz konusudur. Hastaların %1-2 sinde akut aseptikmenenjit tablosu vardır. Normal BOS değerleri gösteren hastalardan da spiroketler izole edilebilir. Hastaların bir kısmında nörolojik tutulum (menejit, transvers miyelit), artrit, osteit, sinovit, hepatit, üveit, iritis, konjuktivit, glomerulonefrit, proktit görülebilir. Tüm organlar tutulabilir. Hepatit, bağışık kompleks glomerulonefriti, sinovit ve osteit görülebilir(24,49,61,67).

Gastrointestinal infiltrasyon veya ülserasyonlar, lenfoma veya öteki kanserlerle karıştırılabilir. Sekonder sifilizin ayırıcı tanısında pitriasis rosea, ilaç döküntüleri, streptokok farenjiti, liken planus, çeşitli dermatozlar ve infeksiyöz mononükleaz ilk akla gelecek hastalıklardır. Lezyonlar kendiliğinden geçebilir ve bazen göze çarpmayabilirler(7,21,67,70).

Hastalığın bu ilk iki dönemini geçiren kimselerin ortalama %25 'inde belirtiler tedavisiz kaybolabilir ve spontan iyileşme görülür ve hastalığın varlığı ancak serolojik testlerle ortaya çıkarılabilir. Vakaların %50'sinde ise üçüncü dönem sifilizi başlamaktadır(7,21).

b)Latent Sifiliz:Sekonder sifiliz belirtilerinin kaybolmasından geç sifiliz belirtilerinin başlamasına kadar geçen süreyi kapsar. Latent sifiliz tanısı evlenme, askere alınma, bir işe girme nedenleriyle yapılan serolojik taramalarda saptanır (37,61,67,73).

Bu dönem, spesifik treponemal testlerin pozitif olup klinik bulguların pozitif olmadığı dönemi tanımlar. BOS bulguları ve göğüs rentgenogramı da normal bulunur. Ancak bu dönem hastalığın ilerlemediği anlamına gelmez. Latent dönem infekte kişilerin %60-70 inde yaşam boyu sürer , %30-40 'ında ise birkaç ay sonra geç dönem Sifiliz belirtileri ortaya çıkar. Geç latent dönemde reinfeksiyon veya relapslarla bağışıklık kazanılmış olmakla birlikte bu dönemde de intrauterin infeksiyon oluşabileceği , infeksiyonun kan nakliyle bulaşabileceği de bilinmelidir. Bu dönemdeki hastalar geç dönem sifilizdeki hastalar gibi tedavi edilmelidir(4,73).

Sekonder sifilizden sonraki ilk bir yıllık dönem erken latent dönem, daha sonraki dönem geç latent dönem veya asemptomatik evre diye tanımlanır. Tedavi edilmeyen olguların bir kısmında spontan mukokutanöz relaps gelişir. Hasta bu dönemde bulaştırıcıdır. İlk relaps %90 oranında birinci yılda görülür. Geç latent sifilizde bulaştırıcılık yoktur. Latent sifilizde hastalarda klinik bulgular yoktur. Serolojik testler pozitifdir(7,61,67,73).

III)Geç Sifiliz(Gom dönemi):Primer infeksiyondan 3-5 yıl sonra ortaya çıkan , tüm organlarda belirtiler verebilen yavaş yavaş ilerleyen inflamatuvar bir hastalıktır(61,67).

Gom adı verilen granülomatöz, tümoral oluşumların bu dönemde mukozalarda ,deride , kemiklerde, karaciğer ve diğer iç organlarda meydana gelir(7,21).

Hastalığın sonucunda oluşan hasarlar bu dönemde görülür. Hastalar bu dönemde bulaştırıcı değildir. *T.pallidum* ya hiç bulunmaz yada çok az sayıdadır. Bu nedenle geç dönem lezyonları bulaştırıcı değildir. Bu evre kardiyovasküler sifiliz, nörosifiliz, gummatöz sifilizi içermektedir(7,21,62).

I)Kardiyovasküler Sifiliz:Tedavi edilmeyen hastaların %10-15'inde görülür. Primer infeksiyondan 15-30 yıl sonra gelişir. Penisilinle tedavinin başlamasından sonra kardiyovasküler tutulum çok nadir olarak görülmektedir. Kardiyovasküler sistem sifilizde aort anevrizması, aort yetmezliği ve koroner ostial stenoz en sık karşılaşılan lezyonlardır(24,62).

Kardiyovasküler sistem sifilizde primer patoloji endarteritis obliterans olup, sıklıkla ascendan aorta daha az oranda transvers aorta tutulmaktadır. Bu nedenle sakküler , bazende fuziform anevrizmalar ortaya çıkar. Göğüs grafilerinde asendan aortada kalsifikasyon izlenen olgularda sifilizin aort tutulumu akla getirmelidir(1). Semptomatik sifilitik aortit , tedavi edilmeyen olgularda %10 gözlenirken otopside %83 olguda ortaya konmuştur. Tedavi edilmeyen sifilitik aortitli olgularda aort yetmezliği gelişir. Koroner ostial stenoz sonucu anjina, nadiren infarktüs görülebilir. Kardiak hipertrofi, miyokadit, distal aort tutulumu daha az görülür(24,62,73).

II)Nörosifiliz:Sifiliz'in her döneminde santral sinir sistemi tutulabilir. Sekonder sifilizdeki santralsinirsistemi tutulumundan ayırt edilmelidir. HIV infeksiyonlu olanlarda nörosifiliz daha hızlı gelişir(62,73).

Tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi görenlerde asemptomatik veya semptomatik nörosifiliz gelişir. Antibiyotik öncesi dönemde sifilizli bireylerin % 6.5'unde nörosifiliz geliştiği bildirilmektedir . Bunların ne kadarında semptomatik nörosifiliz gelişeceği bilinmemektedir. Kişilik bozuklukları , fekal inkontinans, empotans, pozisyon vibrasyon duyusu kaybı sık görülen belirtilerdir. Romberg belirtisi tabes dorsaliste mutad olarak pozitifdir. Nörosifilizin özel iki şekli sifilitik otit ve sifilitik göz kaybı (optik atrofi, progresif vizyon kaybı, pitozis)'dir. Göz ve kulak hastalığının herhangi bir döneminde tutulabilir. Erken dönemde tutulursa bulgular reversibildir(61,67,73).

Nörosifiliz'in ayırıcı tanısında dejeneratif hastalıklar, kronik inflamatuvar hastalıklar(tüberküloz, fungal veya sarkoid menenjit) tümörler , subdural hematoma, Alzheimer hastalığı , multipl skleroz, kronik alkolizm ve SSS damar yapılarını etkileyen çeşitli hastalıklar düşünülmelidir(7,28,73).

Nörosifiliz klasik olarak asemptomatik nörosifiliz, meningeal nörosifiliz, meningovasküler nörosifiliz, parankimatöz nörosifiliz olarak dört grupta incelenir(7,61,73).

1)Asemptomatik nörosifiliz:Tedavi edilmeyen hastaların %8-40 'ında görülür. Bunların ne kadarında semptomatik nörosifiliz gelişeceği bilinmemektedir. Hastalarda nörolojik belirti ve bulgu yoktur. Erken dönemde aseptik menenjit tablosu tespit edilir. BOS incelemesinde mm^3 'te 100'den az lökosit , lenfositik pleostozis vardır. Protein normal veya hafif yükselmiştir. BOS'ta VDRL pozitif'tir(7,73).

2)Meningeal nörosifiliz: Tedavi edilmeyen sekonder sifilizli hastaların %25-40'ında serebrospinal sıvı anormallikleri bildirilmiştir. Klinikte bulantı, kusma, şuur durumunda bozukluk,ateş yoktur. BOS bulguları, protein ve hücre sayısı artmıştır. VII. ve VIII. kafa çiftleri sıklıkla tutulur(62,73).

3)Meningovasküler Sifiliz: Primer sifilizin seyri sırasında görülebilirler. Genellikle beynin tabanı tutulur, tek veya iki taraflı kranial sinir felçleri seyreder. Primer infeksiyondan 4-7 yıl sonra görülür. BOS incelemesinde basınç artmıştır.10-500 / mm^3 'te lenfosit bulunur, protein artmış(45-200 mg/dl), glukoz düşmüştür. VDRL pozitif'tir(7,62,73).

Meninks,beyin ve spinal kordun küçük damarları etkilenir ve buralarda küçük çok sayıda infarkt oluşur. İnflamatuvar bir olaydır(63,68).

4)Parankimatöz nörosifliz: Genel parezi ve tabes dorsalis içerir. Geniş parankimal hasarla birlikte. Başta serebral korteks olmak üzere sinir hücrelerinde destrüksiyon vardır. Dejeneratif bir olaydır(7,62,73).

Psikiyatrik belirtiler ve nörolojik bulguların bir kombinasyonu şeklindedir. Paranoya, kişilik bozuklukları,reflekslerde hiperaktivite, paraliziler görülür(7,21).

a)Tabes dorsalis:Primer infeksiyondan 20-30 yıl sonra gelişir. Ve daha sık erkeklerde görülür. Spinalkord hasarlanması;dorsal köklerin ve dorsal kök ganglionlarında demiyalizasyonu söz konusudur. Ekstremitelerde ağrılar, Argyll Robertson pupili belirtisi, düşük ayak, hemiparezi, parapleji, impotans, idrar inkontinansı, fekal inkontinans, pozisyon hissinin kaybına bağlı olarak ataksi gelişir, vibrasyon duyusu kaybı veya azalması, ısı hissi kaybı Romberg belirtisi (gözler kapalı iken ayakta bekleyememe) gibi belirti ve bulgular görülür(8,21,62,73).

b)Genel parezi:Primer infeksiyondan 15-20 yıl sonra genel parezi görülür. İrritabilite, kişilik değişiklikleri ve unutkanlık gibi belirtilerle başlar, zaman içinde demans, depresyon, konuşma bozuklukları, optik atrofi, pupiller düzensizlik gelişir. Paralizi ve afazi gelişebilir(7,73).

III)Gommatöz(benign) Sifiliz:Mukozalarda ,deride, kemiklerde karaciğerde ve diğer iç organlarda gom adı verilen granüloamatöz tümoral oluşumlar ortaya çıkar. Gomlar lokal hasar oluşturmaları nedeniyle önemlidirler. Kemiklerde yerleşen gomlar kırıklara , eklem deformitelerine , üst solunum yoluna yerleşenlerde burun ve damakta perforasyona , burun kökünde çökmeye neden olabilirler. İlerleyerek siroz gelişebilir(68).

Gommatöz hepatik siroza kadar ilerleyebilir. Ayırıcı tanıda diğer granüloamatöz lezyonlar(tüberküloz, sarkoidoz derin mantar infeksiyonları, neoplazmalar) düşünülmelidir(7,21,73).

3)Konjenital Sifiliz:Tedavi edilmemiş primer ve sekonder sifilizli hamilelerde erken doğum, ölü doğum ve spontan abortus görülebilir. Erken doğum ile düşük ağırlıklı doğum olguların %10-40'ında rapor edilmiştir. Enfeksiyonun geçişi klinik evreye göre değişir. Primer sifilizde %100, erken latent sifilizde %40, geç latent sifilizde %10 oranındadır(7,12,61,67).

Eğer annede sifiliz 5 yıldan uzun bir süredir varsa konjenital sifiliz nadir olarak gelişir. Özellikle gebeliğin başlangıcına yakın bir zamanda enfekte olan annelerde daha belirgin olmak üzere gebelik , enfekte annede sifiliz belirti ve bulgularının hafiflemesine neden olabilir. Annedeki hastalığın belirti ve bulgularının hafiflemesine neden olabilir. Annedeki hastalığın belirtileri hafiflemiş olabileceği için bütün gebeliklerde sifilize özgü rutin serolojik testlerin yapılması gereklidir(12,51,71).

Gebeliğin 4. Ayından önce intrauterin enfeksiyon çok nadirdir. Bu nedenle sifilize bağlı erken düşük görülmez 4. Aydan sonra enfeksiyonun şiddetine göre abortus, ölü doğum , neonatal hastalık veya latent enfeksiyon görülebilir. Klinik bulgular oldukça değişkendir.(7,21,67)

Gebeliğin 16. Haftasından önce fetüste spiroket bulunmaması koryonun langhans tabakasının iyi gelişmiş olmasına ve 16. Haftadan sonra körelmeye başlamasına bağlanmıştır (69).

Konjenital sifilizin en erken belirtisi genellikle rinittir. Ve hemen arkasından diffüz makülopapüler lezyonlar gelişir. Bu lezyonlar avuç içi ,ayak tabanı, ağız ve anüste daha yoğundur(61,67,74).

Edinsel sifilizden farklı olarak veziküler ve büllöz lezyonlar oluşabilir. Bu lezyonlarda bol miktarda spiroket bulunur. Konjenital sifiliz olgularında plasenta büyümüş , soluk ve ödemlidir. Mikroskobide fetal

damarları etkileyen proliferatif endarterit, mononükleer yangısal infiltrasyon , villit ve villöz immatüre görülür(51,61,67,74).

Jeneralize osteokondrit ve perikondrit bulunabilir. Bu bulgular belirgin olarak burun ve alt ekstremitte kemiklerin metafizlerinde ortaya çıkıp deformitelere neden olur(7,67,74).

Karaciğer sıklıkla ağır bir şekilde infektidir. Neonatal ölüm genellikle karaciğer yetersizliği ,ağır pnömoni veya pulmoner hemorajiye bağlıdır. Splenomegali, anemi, trombositopeni ve sarılık konjenital sifilizde sıklıkla ortaya çıkan bulgulardır(7,21,74).

Renal tutulum bağışık kompleks glomerulonefriti şeklindedir ve genellikle doğumdan sonraki 4. Ayda ortaya çıkar. Neonatal konjenital sifilizin ayırıcı tanısı diğer jeneralize konjenital infeksiyonlarda (rubella, sitomegalovirus, toksoplazmoz) yapılmalıdır(21,74).

Tedavi edilmeyen çocuklar 6-12 ay yaşarlarsa latent döneme girerler. Bunlarda kardiyovasküler sifiliz gelişme insidansı çok nadirdir. Fakat, gözde körlüklerle sonuçlanan interstisyel keratit sık görülmektedir. Asemptomatik ve semptomatik nörosifilizde ortaya çıkar ve yetişkinlerdekine benzer bir klinik tablo oluşur(7,21,73).

Diğer karakteristik bulgular; Artropati , kesici dişlerin kenarlarının testere gibi görülmesiyle karakterize Hutchinson dişleri, burunda yerleşen lezyonların yapmış olduğu tahribata bağlı çökük(semer) burun, Özellikle tibialarda periyostitten ileri gelen kılıç kını görünümü, , interstisyel keratitle birlikte olan clutton oynakları denen İki dizde de ağrısız sıvı toplanması, Zeka ve büyüme gerilikleri,sinir sistemi bozuklukları şeklindedir(7,74).

Bebeklerde ileri dönemlerde sifilizin vaskülit, nekroz ve skarlaşma yapıcı etkilerine bağlı olarak geç sifiliz belirtileri ortaya çıkar(68).

Gebeliğin ilk yarısında anneye uygulanacak yeterli ve etkin bir tedavi ile konjenital sifilizden kurtarılması mümkündür. Sifilitik çocuk doğuran annelerin yaklaşık üçte birinde gebelikleri boyunca izlenmediğinden , ayrıca yarısında da ilk trimesterde serolojik testler negatif bulunduğundan özellikle riskli kişiler doğuma yakın günlerde sifiliz yönünden araştırılmalıdır(7,21,73).

Hayatın ilk iki yılı erken konjenital sifiliz olarak tanımlanmaktadır. Yeni doğanlar başlangıçta asemptomatiktir, ilk üç ay içinde klinik bulgu ve belirtiler ortaya çıkar. Geç konjenital sifiliz bulguları ikinci yaştan sonra görülür. Hutchinson triadı, Hutchinson dişleri, interstisyel keratit, sekizinci kafa çifti tutulumu (sağırılık) önemli bulgulardır. Mental gerilik hidrosefali, perioral fissür, iskelet sisteminde kısa maksilla, frontal çıkıntı, semer burun, kılıç kını tibia gibi belirti ve bulgularda görülür. Sert damakta yerleşen gomlar sonunda perforasyona neden olur(21,30).

3)DENEYSEL SİFİLİZ:

Andropoid maymunlarda yapılan deneysel infeksiyonlarda insanlardaki belirtiler izlenirken , küçük maymunlarda ancak kaş , göz kapağı, gibi sınırlı bölgelerde infeksiyon oluşturabilmektedir. Treponemalı örnek tavşan scrotumuna veya testisine verilirse hayvanlar 16-18 °C ' de (Daha yüksek ve daha düşük sıcaklık dereceleri infeksiyon ihtimalini azaltır.) bırakılır ve yaklaşık 3-4 hafta izlenirler. Sonra insandaki primer lezyona benzer yara ve yakın lenflerde şişmeler meydana gelir. Aylarca sürer ve içinde bol treponema bulunur(19,75).

Sifiliz şüpheli örnek yavru tavşanlara damardan enjekte edilirse genel, anogenital papüller, ayaklarda yaralar, kaşeksi ve ölüme kadar giden bir hastalık yapabilir. İnfekte tavşanlarda mikroorganizma , lenf bezlerinde , dalak ve kemik iliğinde hayat boyunca kalır(19,64,75).

Kobaylarda deneysel infeksiyon bir sonuç vermez ve bu yüzden hayvanlar frengi deneyinde kullanılamaz. Fındık farelerine çeşitli

yollardan yapılan enjeksiyonlarda önemli bir belirti görülmediği halde bunların iç organlarında treponemaların bulunduğu ve hayvanın yaşadığı sürece bunu taşıdığı deneylerde gösterilmiştir. Hayvan deneyleri için *Treponema pallidum subsp. pallidum*'un virulan Nichols kökeni kullanılır(2,19,70,75).

Tablo 2.Hastalığın evreleri ve klinik bulguları(62)

Evre	Zaman	Semptomlar
Erken Primer Dönem	1 hafta	Şankr,LAP
Erken Sekonder Dönem	2 hafta – 6 ay	Ateş,Multipl lezyonlar, Kondülomalata, Alopesi,LAP, Menenjit
Erken Latent Dönem	1 yıldan az	Aseptomatik
Geç Latent Dönem	1 yıldan çok	Aseptomatik
Geç Benign Dönem	Aylar, yıllar	Gummatöz lezyonlar
Kardiyovasküler Sifiliz	10-30 yıl	Aort anevrizması,Aort yetmezliği
Nörosifiliz	2-20 yıl	Parezi,TabesDorsalis, Optik atrofi,demans
Konjenital (erken) Sifiliz	0-2 yıl	Mukokutanöz lezyonlar,ostekondrit,nöro sifiliz
Konjenital (geç) Sifiliz	2 yıldan sonra	Anemi,LAP,Kerattit, Hutchinsondişleri, Kemiktutulumu, Hepatosplenomegali

TANI

Sifiliz' de tanı , klinik bulguların yanında mikroskopik ve histopatolojik inceleme ile *T. pallidum'un* gösterilmesi ve serolojik testlerle konur(70).

A-Direkt Mikrobiyolojik Yöntemler

1. Karanlık saha mikroskopisi: Lezyondan alınan numunelerde mikroskopik incelemelerle treponemayı görerek kesin tanı konulabilir. Pratikte en çok primer ve sekonder lezyonlardan alınan örnek kullanılır ve karanlık alan mikroskopisi yöntemiyle incelenir(3,4,21,30).

Örnek herhangi bir dezenfektan madde sürülmeden ve antibiyotik verilmeden önce alınmalıdır. Yara, roseol, masere papül seröz mayi ve şişmiş lenf bezlerine yapılacak ponksiyonla alınan sıvılar örnek olarak kullanılır(3,4,70).

2. Boyama yöntemleri: Örnek boyanarak da incelenebilir. Yapılan ince yayma preparatlar tespit edildikten sonra giemsa yada gümüşleme yöntemiyle boyanabilirler(70,73).

3.Burri yöntemi:Çini mürekkep veya kolargolle karıştırılmış bir damla salgının yayılmasıyla elde edilen negatif preparatların immersiyonla muamelesiyle inceleme yapılır(70).

4. İmmunfloresan boyama yöntemi: *Treponema pallidum'u* ortaya koyabilecek diğer ve daha özgül, değerli bir yöntemdir. Hastalık örneğinde hazırlanan preparatlar havada kurutulur, aseton ile tespit edildikten sonra anti subspecies pallidum antikoları ve bu antikolarla karşı hazırlanmış floresein izotiosyanat (FITC) ile işaretlenmiş ikinci antikolarla treponemalar boyanır ve bir ultraviyole mikroskopunda incelendiğinde, fluoresans veren treponemalar görülür(13,70).

Tanı klinik bulguların yanında mikroskopik ve histopatolojik inceleme ile *T.pallidum*'un gösterilmesi ve serolojik testlerle konur. *T.pallidum* spiralleri sık, düzenli, dik ve çok incedir. Adi mikroskopta boyasız örnekler görülemez. Giemsa boyası ile soluk pembe boyanır. Çini mürekkebi ve gümüşleme yöntemiyle de boyanabilir. *T.pallidum* karanlık saha mikroskopunda veya immun floresan boyama yöntemiyle boyanıp immun floresan mikroskopunda görülür(42,70).

Primer şankr, kondüloma lata ve mukoz lezyonlar bol miktarda mikroorganizma içerir. Gerekirse lenf bezi aspirasyonu yapılarak alınan örnekde incelenebilir. Yeterli oranda örnek alınmadığı lezyondan kanatılmadan kazıntı yapılmalı , sıkılmalı daha sonra ortaya çıkan seröz kısım incelenmelidir. Alınan örnekde bol miktarda eritrosidin bulunması *T.pallidum*'un görülmesini zorlaştırır(1,13).

B)İndirekt(Serolojik) mikrobiyolojik tanı yöntemleri

1.Treponemasız antijenlerle yapılan özgül olmayan deneyler:

Anti lipoidal oto antikoların (reaginlerin) araştırılması esasına dayanan , antijen olarak da içinde treponemaya ait antijenler bulunmayan normal organ ekstrelerinin kullanıldığı deneylerdir. Bu deneylerde kullanılan antijenler arasında insan yada siğir kalbinden elde edilen kardiolipin(difosfatidil gliserol) en uygun antijen maddesidir. Bu maddelerin mitokondrial membranlarla ait komponentler olduğu sanılmaktadır. Reaginler büyük moleküllü gamaglobinler olup fizikokimyasal yöntemlerle ayrılabilir(7,33,63).

a)Kompleman birleşmesi deneyleri: Wassermann ve Kolmer reaksiyonlarıdır. Her iki reaksiyonda da temel öge reagin içeren hasta serumlarının kardiolipin antijenler yanında komplemanı bağlamalarıdır(69,70).

b)Flokülasyon deneyleri:Sifiliz'in serolojik tanısında pratik ve hızlı olmalarından dolayı çok kullanılan ve presitasyon temeline dayanan çeşitli flokülasyon deneyleri vardır. Kalitatif ve kantitatif olarak yapılabilir ve doğrudan doğruya göz ve mikroskopla yada fotometrik olarak okunurlar(4,13,28,70).

VDRL(Venereal Disease Research Laboratory) :Kardiyolipin-kolesterol-lesitinden oluşmuş antijen ve inaktive edilmiş serum örneklerinin karışımının ortaya çıktığı flokülasyon durumunun izlenmesi esasına dayanır. Antijen- antikor kompleksi bu testte kısa bir süre sonra antijenin özelliğine bağlı olarak reaksiyon oluşturur. Sonuçlar VDRL testinde mutlaka titrasyon belirtilerek rapor edilmelidir(1,30,73).

RPR (Rapid Plasma Reagin):Bu test yüksek reaktiviteye sahiptir ve plazmanın istenilen hacimlerinde yapılan bir testtir. Özel laboratuvar elemanları gerektirmeden kolayca uygulanabilir. Bütün gerekli malzemeler kit içinde kullanılıp atılabilir(3,4,61).

PCT(Plazmakrit) testi:Parmakta alınan kanın mikrohematokrit santrifüjle plazması ayrılır ve teste RPR ' deki gibi devam edilir(70).

RST(Reagin Screen Test):Lipide çözülebilen Sudan siyah boyama B (antijeni boyamak için) ve ısıtılmış serumun kullanıldığı tanı değeri olan bir test(70).

USR:RST testine alternatif olarak sunulan bu testte yine inaktive edilmemiş serum kullanılır(45,61).

2.Treponemalı Antijenlerle Yapılan Özgül Deneyler

İnfeksiyonun ikinci haftasından itibaren treponemalara özgül ve gerçek Sifiliz antikörleri oluşur. İçinde treponemalar veya antijenleri kullanılarak yapılan bu deneylerden başlıcaları şunlardır:

TPI(Treponema Pallidum İmmobilizasyon veya Nelson Mayer Deneyi):Canlı treponemaların hareketini durduran ve sifilitik hasta serumlarında bulunan özgül antikörlerin aranması bu deneyin oluşturmaktır. İnaktive edilmiş serum sulandırmaları canlı, aktif ve hareketli treponemalar ve komplemanla karıştırılarak treponemaların hareketlerinin durup durmayacağı incelenir(7,33,63,67,70).

Canlı treponemalar Nichols kökeninin tavşan testislerinde ekimlerinin sürdürülmesi ile hazır antijen olarak kullanılır. Testiste orşit oluşunca hayvanlardan ayrılır ve parçalanarak özel Nelson sıvısı içinde belli sayıda treponema bulunacak şekilde süspansiyon hazırlanır. Anaerob koşullarda treponemalar bu sıvı içinde canlı kalırlar. Gerekli kontroller ile birlikte uygun koşullarda hasta serumu bu antijenle kompleman karşılaştırılır ve bir gece 35 °C' de bırakıldıktan sonra normal serum kontrolleri ile karşılaştırmalı olarak karanlık alan mikroskobu ile incelenir. Normal serumlarda treponemaların %70'i ve daha çoğu hareketli kaldıkları halde Sifilitik hasta serumlarında hareketsiz treponemalar daha fazladır. Normale göre hareketsiz treponemaların sayısı %50 ve daha aşağı düşmüş ise reaksiyon kuvvetli pozitif, %20-50 hareketsizse zayıf pozitif, %20' den az ise negatiftir. Spesifik, ancak duyarlılığı az ve çalışması güç olan bir testtir(29,30,67).

FTA ve FTA-200(Floresanlı Treponema Antikor deneyi): FTA ' da 1.5 sulandırılan hasta serumu ile treponema süspansiyonu arasında meydana gelen reaksiyonlardan yararlanılmaktadır. Konjugat olarak antihuman immunglobulin kullanılıp U.V ışığı altında mikroskopta değerlendirilmektedir(30).

Ancak FTA 'da normal serumların yaklaşık %25 'inde nonspesifik reaksiyonlara neden olmaktadır. Bu hatalı reaksiyonları ortadan kaldırmak için hasta serumları 1:200 oranında sulandırılarak FTA-200 geliştirilmiştir. Özgüllük artmış ancak duyarlılık azalmıştır. *Treponema pallidumun* çok fazla antijenik determinantının bulunması ve nonopatojen Treponemaların varlığı FTA testinin nonspesifik reaksiyon vermesine neden olur.(1,25,30)

FTA-ABS(Floresanlı Treponema absorbsiyon deneyi):En duyarlı testlerdendir. Burada ölü *T.pallidum* antijen olarak yer alır. Treponemalar lama fikse edilir, hasta serumu ile inkübe edilir. Serumda özgül anti treponema antikoru varsa bu antikor treponemalara yapışır. Daha sonra floresan boya ile birleşmiş anti-human globulin eklenir, buda treponemalara bağlanmış antikora yapışır. Bu olay floresan mikroskopta görülür(3,4,10,22,35,43,62).

***Treponema pallidum* Kompleman Birleşmesi Deneyi(TPCF):**Tavşan sifilomlarından elde edilen treponema süspansiyonlarının antijen olarak kullanılan ve Kolmer yöntemiyle yapılan KB reaksiyonudur. Bu reaksiyonda da TPI deneyindeki aynı antikolar aranmakta ve ölçülmektedir(70).

***Treponema pallidum* Hemaglütinasyon Deneyi(TPHA) :** Antijen olarak tannik asit ile muamele edilmiş formollu ve parçalanmış *Treponema pallidum* antijenleriyle kaplanmış koyun eritrositleri kullanılarak hasta serumları ile karıştırılıp hemaglütinasyon araştırılması esasına dayanır. Kolay uygulanıp çabuk sonuç alınır, ucuz ve spesifik bir testtir. Tedavi olmuş olgularda yaşam boyu pozitif kalması dezavantajdır(4,13,60).

Micro Hemagglutination Assay *Treponema pallidum* (MHA-TP): *T. pallidum* antijenli mikro hemaglütinasyon deneyidir. Pratikte özgül deneyler arasında en çok kullanılandır(4,28).

Hemagglutination *Treponema* Test for Syphilis(HATTS): Kuş eritrositlerinin kullanıldığı TPHA gibi çalışılan testtir(1).

ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay): Moleküler biyoloji alanında yapılan çalışmalar sonucu *Treponema pallidum* antijenleri rekombinant tekniklerle elde edilmekte ve bu antijenlere karşı Sifiliz'li hastaların serumlarında antikolar EIA ile araştırılmaktadır. Bu nedenle hazırlanan testler arasında *Treponema pallidum* membran protein A (TmpA) ELISA testinde elde edilen sonuçlar oldukça başarılıdır(23,53,58,61).

SPHA(Solid Faz Hemadsorpsiyon): Spesifik IgM antikolarının belirlenmesinde katı fazın anti human IgM ile kaplı olması , romatoid faktör ve spesifik IgG 'den kaynaklanan yalancı pozitif ve negatif sonuçların ortaya çıkmasına engel olmaktadır(1,30).

Yalancı pozitifliğin görüldüğü durumlar: Yalancı pozitiflik laboratuvar hatası ve teknik nedenlere bağlı olabileceği gibi (laboratuvarın ısısı , serumun hemolizi veya kontamine olması , rotasyon zamanı ve hızı ile uygun olmayan antijen Dağıtımı nedenlere bağlı olabilir) biyolojik nedenlere bağlı olabilir(9,13,14,15,61,67).

Yapılan testlerde sıtma, infektif endokardit, tüberküloz, lepra, pnömoksik pnömoni, mikoplazma pnömonisi, psittakozis, riketsiyal hastalıklar, lenfoganüloma venereum, şankroid, leptospirozis, bruselloz, relapsing fever, suçiçeği , enterovirüs infeksiyonları kızamık, kabakulak, infeksiyöz mononükleoz, tripanozomiyaz, viral hepatit gibi bakteriyel ve viral infeksiyonların seyrinde, hamilelerde, ileri yaşta olanlarda, multipil kan transfüzyonu yapılanlarda, oto immün hastalığı olanlarda, ilerlemiş maligniteli ve multipil miyelomalı olgularda düşük

titrede pozitiflikler görülür. Bu pozitiflikler çoğunlukla altı ay içinde negatifleşir(20,44,61).

Yaş önemli bir faktör olup 70 yaşın üzerindeki kişilerde %10 pozitif reaksiyon bulunabilir. Bu durumlardaki yanlış nontreponemal test pozitifliği sıklıkla öteki otoimmün hastalık göstergeleriyle (antinükleer, antitiroid, romatoid faktör, kryoglobulinler) birlikte bulunur. VDRL negatifken , FTA-ABS pozitifliği söz konusu olabilir(44,46,74).

Treponemal testler; duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir. Nontreponemal testleri tayin etmek amacıyla kullanılır ama daha pahalıdır. Treponemal testlerin yanlış pozitif sonuçları, Lyme hastalığı, lepra, sıtma, leptospirozis, relapsing, fever, infeksiyöz mononükleoz, ve sistemik lupus eritematozis'de görülebilir(18,30,65).

Yalancı negatifliğin görüldüğü durumlar:Nontreponemal ve treponemal test grubunda da seyrek rastlanır. Ancak bağışık sistemi bozuk kişilerde yeterli antikor sentezi gerçekleşmediğinden bu test negatif olabilir. Ayrıca serumun negatif olması ve buna benzer diğer bazı teknik hatalar negatif sonuç almanın başlıca nedenleri arasındadır. Pratikte VDRL, RPR gibi nontreponemal testleri yalancı negatif reaksiyonlara prozon olayından(aşırı antikorla antijenik bölgenin doyurulması ile aglütinasyonun engellenmesi) dolayı yol açabilir. Prozon olayına daha çok sekonder sifilizli hastaların %1-2 sinde rastlanır(72,73).

WESTERN-BLOT

Sifiliz serolojisinde kullanım alanına giren bir testtir. Bu yöntemle antikor varlığında, antijen bantları taşıyan nitrosellüloz şeritlerdeki profilde görülen değişim değerlendirilerek hastalığın dönemini tayin etmek mümkün olmaktadır(61,74,76).

T.pallidum proteinlerinin jel elektroforetik ayırımına dayandırılır. Proteinler ayrılır. Nitrosellüloz membran üzerine transfer edilir. Antijen antikor kompleksine antihuman globulin enzim ve substrat eklenmesi ile renk reaksiyonu gözlenir(17).

Western-blot testinde kullanılan antijenler *Treponema pallidum* 'un doğal hücre lizati yada rekombinant olmak üzere iki şekilde elde edilmektedir . Genelde patojen spesifik *Treponema pallidum* antijenleri TpN15,TpN17,TmpA,TpN47 (membran proteinleri) ve TpN37 (flagellin A proteini) ' dir. Bu antijenler doğal hücre lizati şeklinde *Treponema pallidum*'un Nichols suşundan elde edilmektedir. Flagellar ve nonspesifik proteinler çapraz reaksiyona yol açtığından dolayı Western-blot testinde özellikle membran proteinleri ile çalışılmaktadır(34,78).

PCR(Polymerase Chain Reaction)

Son yıllarda DNA problemlerinin infeksiyon hastalıklarının tanısında kullanıma girmesiyle birlikte , sifiliz tanısında da kullanılabilirliği araştırma konusu olmuştur. Ancak düşük duyarlılık gibi bazı problemlerin görülmesi tanıda yerini PCR gibi daha duyarlı yöntemlere başvurmayı gündeme getirmiştir. Özellikle PCR uygulamaları amniotik sıvı , neonatal serumlar ve neonatal BOS'ta *T.pallidum* DNA'sının saptanmasında ve aktif infeksiyonun gösterilmesinde önem taşımaktadır. Konjenital sifiliz ve nörosifiliz olgularında da klasik testlerin aktif infeksiyonun belirlenmesinde yetersiz kalması bugün PCR testini tanıda güncelleştirmiştir. Ancak muayane maddelerinde nonspesifik inhibitörlerin bulunması PCR'ın duyarlılığını düşürebilmektedir. Bu inhibitör maddeleri ortadan kaldırmak amacıyla bazı çalışmalar mevcut olup , elde edilen sonuçlar ümit vericidir(20,47,61,74).

Konjenital sifiliz tanısında ve infantların izlenmesinde de en iyi yol bir ay süre ile yinelenen nontreponemal testlerdir. Nörosifiliz tanısı için

yapılan son çalışmalar, BOS'ta lokal antitreponemalantikörünün belirlenmesi üzerinde yoğunlaştırılmıştır(73).

Prenatal dönemde tanı: Amniyotik sıvıda PCR ile *T.pallidum*'un gösterilmesi ve Fetal IgM'in pozitifliği ile tanı konur. Ultrasonografide hepatosplenomegali tespiti, fetusta anemi, trombositopeni, karaciger fonksiyonlarında yükselme tanıyı destekler(44,73).

Meningovasküler Sifiliz'de tanı: Beyin omurilik sıvısının incelemesi ile tanı konur. BOS'da basınç artmıştır. Glukoz düşük, protein yüksektir, lökosit 10-500/mm³ arasında olup lenfositoz görülür. BOS'ta VDRL,TPHA pozitifdir(57,67).

Tablo 3. Nonspesifik testlerin duyarlılık ve özgüllüğü(30)

Sifiliz dönemlerinde testlerin duyarlılığı(%)				Özgüllük(%)	
Test	Primer	Sekonder	Latent	Geç	nonsifiliz
VDRL	78	100	95	71	98
RPR	86	100	98	73	98
USR	80	100	95	0	99

Tablo 4. Sifiliz tanısında kullanılan spesifik testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü(30)

Sifiliz dönemlerinde testlerin duyarlılığı(%)				Özgüllük(%)	
Test	Primer	Sekonder	Latent	Geç	nonsifiliz
FTA-ABS	84	100	100	96	97
MHA-TP	76	100	97	94	99

TEDAVİ

Penisilin yıllardan beri hastalığın her evresinin tedavisinde başarıyla kullanılmıştır. Halen ilk seçenek antibakteriyel ilaçtır. İlaça karşı direnç bildirilmemiştir. Sifiliz'li hastalarının tedavi ve takibi Sağlık Bakanlığı'nın Frengi Savaş Yönetmenliğine göre yapılmaktadır(29,70).

Sifiliz'in erken evresi (primer, sekonder sifiliz) ile erken latent döneminin ilk seçenek ilaç penisilindir(1). Benzatin penisilini tek doz 2.4 milyon ünite İM uygulanması yeterlidir. Penisilin allerjisi varsa 28 gün süre ile doksisisiklin 2 – 100 mg /gün veya tetrasiklin 4 – 500 mg/gün uygulanmalıdır. Bu ilaçları tolere edemeyen olgularda seftriakson, azitromisin, yüksek dozda amoksisilin veya ampisilin verilebilir. Seftriaksonun dozu ve süresi hakkında farklı uygulamalar vardır. Tek doz seftriakson uygulaması yeterli değildir. Tedavinin altıncı ayında nontreponemal testler 4 kat azalmışsa, klinik bulgular gerilememişse olgular nörosifiliz açısından değerlendirilmelidir. Tedavinin başarısız olduğu durumlarda haftada bir kez olmak üzere üç hafta süre ile 2.4 milyon ünite (total 7.2 milyon ünite) benzatin penisilin İM yapılmalıdır(7,70).

Sifiliz'in her döneminde kullanılacak seçkin ilaç penisilinin kanda sürekli olarak 0.03 mg/ml, 7 gün süreyle bulunması erken döneminde *T.pallidum*'un kalkması için yeterlidir. Bu nedenle tedaviye kandaki düzeyi değişken olabilen penisilin G yerine prokain penisilin veya benzatin penisilin kullanılır. Her kalçaya 1.200.000 Ü verilmek üzere bir defada yapılan 2.400.000 ünite benzatin penisilin iki hafta boyunca yeterli bir kan düzeyi sağlar. Kandaki konsantrasyonu yeterli düzeyde tutturabilmek için 7-10 gün sonra ikinci defa 2.400.000 ünite benzatin penisilin uygulaması yerine 10 gün süre ile her gün i.m yoldan 600.000

ünite veya üçer gün arayla 1.200.000 ünite prokain penisilin de verilebilir(21).

Geç sifilizde bu enjeksiyonlara 21 gün devam edilir. Penisiline duyarlı hastalarda 15 gün boyunca 20-30 mg/kg günlük dozda eritromisin veya 30-40 mg/kg/gün olarak tetrasiklinler kullanılabilir(7,21).

Kongenital sifiliz tedavisinde 100.000 Ü/kg dozunda 10-14 günlük süreyle kristalize penisilin G 'nin i.v olarak verilmesi tercih edilir. Anaflaktik düzeyde olmayan penisilin allerjisi bulunan gebelere seftriakson verilebileceği gibi desentisizasyon yapılabilenlere penisilin verilmesi daha uygun olur(70).

Nörosifiliz'de daha yüksek dozlar gerektiğinden iyi BOS düzeyi sağlayan kristalize penisilin G'yi 24 milyon Ü/gün hesabı ve damara infüzyon yöntemiyle 3 hafta süre ile vermek gerekir. Tedavi kontrolleri ilk altı yılda , altı ayda bir ve ikinci yılın sonunda yapılan serolojik testlerle 2 yıl sürdürülür. Kantitatif testlerde titre yükselmesi görülürse tedavi tekrarlanır(7,21).

Bilindiği gibi penisilin , hücre duvarı esas maddesi olan glikoprotein senteziyle çatışmaktadır. Böylece osmoza dayanıksız hale gelen treponemalar üreyemez veya erirler. Bunların daha fazla miktarda erimesiyle birdenbire serbest kalan maddelerin etkisiyle oluşan Jarish-Herksheimer reaksiyonu sonucu ateş yüksek kalır ve hastalık belirtileri artabilir. Toksikite spiroketlerin çoğunun ilaca bağlı lizisten dolayı olduğuna inanılır. En dış kılıfın lipopolisakkaritlerinin toksik maddelerinin açığa çıkması ile mümkündür. Üremesi duran mikroplar , glikoprotein sentezi için gerekli transpeptidaz yapmaya devam ederler ve ortam penisilinsizleşince 20 dakika içinde glikoprotein yapabilirler. Treponemaların yeniden üremesini önlemek için 7-10 gün yeterli miktarda olarak vücutta bulunması ve etki yapmayan alçak seviyeli penisilinli dönemin 24-30 saati geçmemesi gerekir(53,69).

Penisilin treponemaları öldürmesine karşılık Eritromisin, tetrasiklin gibi ilaçlar üremeyi durdurucudur ve bunların daha az etkili olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca bu iki ilaç fetüs dolaşımına iyi geçemediğinden çocuk sifilizli doğabilmektedir(53,69).

HIV enfeksiyonu olan hastalarda relaps oranı daha fazladır. Olgular bu açıdan değerlendirilmeli, klinik bulgular ve nörolojik tutulum açısından uzun süre takip edilmelidir(67).

Geç latent ve geç dönem (gummatöz ve kardiovasküler) sifilizli hastalara, haftada bir kez olmak üzere üç hafta süre ile 2.4 milyon Ü (total 7.2 milyon Ü) benzatin penisilin İM olarak uygulanmalıdır. Penisilin allerjisi varsa dört hafta süre ile doksisiklin 2 – 100 mg/gün veya tetrasiklin 4 – 500 mg/gün verilmelidir(21,67).

Hamilelerde tedavi:Tedavide seçilecek ilk ve tek ilaç penisilindir. Doksisiklin ve tetrasiklin kontredikedir. Eritromisinin plasentadan geçişi ve etkisi güvenli değildir, bu nedenle önerilmemektedir(21,67).

Hastalarda Jarisch-Herksheimer reaksiyonu penisilin tedavisinden sonra (eritromisin ve tetrasiklin tedavisine göre daha fazla oranda) görülmektedir. Erken sifilizde %30-70, konjenital sifilizli olgularda %43-55, hamilelerde %45, nörosifilizli olguların tedavisinden sonra %2 oranında görüldüğü bildirilmektedir. Hamilelerde yapılan bir çalışmada Jarisch-Herksheimer reaksiyonu primer sifilizlilerin %100'ünde, sekonder Sifilizli'lerin %60'ında görülürken latent Sifilizli'lerin hiçbirinde görülmemiştir. Antibiyotik tedavisinden hemen sonra ateş, üşüme, titreme,baş ve kas ağrıları, hipotansiyon, taşikardi ve cilt lezyonları görülür. Hamilelerde bunlara uterusu kontraksiyon, fetal hareketlerde azalma gibi belirtiler de ilave olur. Bu olay fetal distrese, erken doğuma neden olabilir. Olay 24- 36 saat içinde sonlanır, antipiretikler önerilir(37,73).

Nörosifilizde tedavi:10-14 gün süre ile dört saate bir 2-4 milyon Ü (total doz 12-24 milyon Ü). Kristalize penisilin ilk seçenektir, ilave olarak haftada bir 2.4 milyon Ü Benzatin penisilin İM uygulanması da önerilmektedirler. Hamile olmayan ve penisilin alerjisi olanlarda, Doksisisiklin 400 mg/gün 10-14 gün veya 500-1000 mg/gün veya gün aşırı 5-10 gün Seftriakson önerenlerde vardır. Alternatif tedavi, 10-14 gün süre ile 2.4 milyon Ü prokain penisilin İM/gün+probenecid 4*500 mg/gün . Hastaların takibinde BOS'da hücre sayısı takibi yapılmalıdır. Altı ay içinde hücre sayısı azalmasa tedavi tekrarlanmalıdır(3,4,67).

KORUMA VE KONTROL

Gizli ve her türlü normal dışı cinsel ilişkileri önlemeye yönelik uğraş vermek çok önemlidir. Sifiliz'den korunma sağlanırken öteki cinsel hastalıklardan da korunma sağlanmış olacaktır. Toplumda hasta olanların tespiti ve tedavileri gerekli olmaktadır. Ayrıca seks hijyenine uyulması ve bu konuda toplumun eğitilmesi de önem arz etmektedir. İnfekte ve tedavi edilmemiş bir kimsenin 5 yıl süre ile hastalığı bulaştırıcı olarak kaldığı unutulmamalıdır. Şüpheli cinsel temas durumlarında koruyucu olarak bir defada 2.400.000 iü benzatin penisilini gerekli ve yeterlidir. Halen sifilize karşı korunmada etkin bir aşı bulunmamıştır. Hayvan deneyleri bu konuda umut vericidir(52,67).

Birkaç veneryal hastalık aynı anda bulaşabileceğinden bunlardan biri saptandığında diğerlerinin de araştırılması gereklidir. Örneğin gonore görülünce belli bir süre sonra(2-3 hafta) şankr olup olmadığı ve serolojik testlerin durumu incelenmelidir. Sifiliz ve seksüel geçiş gösteren diğer ülseratif hastalıkların HIV bulaşmasını kolaylaştırdıkları unutulmamalı ve yeni tanı konulmuş Sifiliz'li hastalarda HIV testleri mutlaka yapılmalıdır(52).

Sifiliz'li hasta ve ilişki kuran partnerlerin, konjenital sifiliz de anne ve babanın serolojik incelenmesi ve tedavisi yapılmalıdır.

1.Primer, sekonder ya da erken latent dönemindeki sifilizli bir hasta ile 90 günden daha önce cinsel ilişkide bulunan bireylere de (serolojik test sonuçları kısa sürede ulaşılmıyorsa veya takip olanağı yoksa) tedavi uygulanmalıdır.

2.Geç dönemdeki sifilizli hastaların uzun süredir birlikte oldukları partnerleri sifiliz açısından klinik ve serolojik olarak incelenmelidir.

3.Sifiliz dışındaki cinsel temasla bulaşan hastalıkların tespit edildiği bireyler sifiliz açısından da araştırılmalıdır.

Hayvan deneyleri umut verici olmasına rağmen halen sifilize karşı korunmada etkin bir aşı yoktur. Tedavisiz infekte bir kimse 5 yıl süre ile hastalığı bulaştırıcı olarak kalır(7,21).

Korunma konusunda söylenecek şey tanı konulan hastaların tedavisi, bulaştırmada potansiyel risk odaklarının, grup ve kurumların takibi, kontrolü ve tedavisi özellikle seks hijyeni konusunda risk gruplarının korunma eğitimidir(70).

Primer önlem etkeni bulaştıranlarla her türlü temasın önlenmesidir. Tanıda hekim , birinci dereceden ilgili kişileri de araştırmalıdır. Bu kişiler derhal incelemeye alınmalı ve gerekiyorsa , penisilin tedavisine başlanmalıdır. Tanı, korunma ve tedaviye ilişkin kriter ülkelerin cinsel temasla mücadeleye ilişkin yasalarıyla belirlenir(73).

DİĞER TREPONEMA İNFEKSİYONLARI

Endemik treponematozis veya nonveneryal treponematozis; *T.pallidum subsp. Pertenu* *T.pallidum subsp . caretem* ve *T. pallidum subps. Endemicum*'un neden olduğu daha çok tropikal ve subtropikal bölgelerde, hijyenik durumun bozuk olduğu kırsal kesimlerde direkt temasla bulaşan, kalıcı sekeller oluşturan bir infeksiyon hastalığıdır. Primer infeksiyon çoğunlukla çocukluk çağında alınmaktadır. 1950'den önce dünyada 160 milyon yaws'lı, bir milyon bejel'li, 700.000 kadar pinta'lı insan vardır. Dünya Sağlık Örgütü(WHO) ve UNICEF'in katkılarıyla düzenlenen ulusal kampanyalarla hastalıkların eradike edilmesi için çalışılmıştır. Hastalıklar tam eradike edilmese bile sınırlandırılmıştır(28).

YAWS

Afrıkada prehistorik dönemden beri varlığını sürdürmektedir. 16. Yüzyılda tanımlanan hastalığın pian, bouba, frambesia, parangi gibi isimleri de vardır. Hastalık tropikal ülkelerde ve kırsal kesimde daha sık (Güney Afrika, Güney Doğu Asya ve Okyanus bölgesi ile batı yarım kürede) görülmekte her iki cinsi de etkilemektedir. Hastalığın bulaşma yolu çoğunlukla travmatize deri yoluyladır. Kişiden kişiye direkt temasla bulaşma olur. İnkübasyon dönemi; iki hafta ile üç ay arasında değişmektedir(28,62).

Erken dönemde daha çok yüz ve bacakta görülen altı ay içinde solan papüler lezyonlar ,bazen de maküler ve skuamöz lezyonlar ile lenfadenopati görülür. Tedavi edilmeyen hastaların %10'unda üç veya daha uzun süren asemptomatik dönemden sonra geç dönem bulguları görülür. El ve ayakta hiper keratöz, gummatöz lezyonlar, yüz ve burunda destrüktif lezyonlar görülür. Uzun kemik ve eklem tutulumu vardır(ostetit, periostit, osteomyelit, bursit),polidaktili görülebilir. Konjenital geçiş bildirilmemiştir(40,66).

Yaptığı papülomatöz lezyonların ağaç çileğine benzemesi dolayısı ile(framboesia) denilen hastalığın etkenidir. Tanıda tropikal bölgede yaşayan cilt ve kemik tutulum bulguları olan hastalar dikkatlice incelenmelidir. Karanlık alan mikroskopisi, flouresan antikor boyama, serolojik testler ve spesifik DNA propları tanıda kullanılır(1,71).Tedavide tek doz penisilin (çocuklarda 600.000 Ü,erişkinde 1.200.000 Ü) yeterlidir(70).

PİNTA

Hastalık 1962 yılında tanımlandı, etken 1938'de identifiye edildi. Güney Meksika, Kolombiya, Amazon bölgesinde sıklıkla kırsal bölgelerde görülmektedir. Hastalık çocuk ve erişkinlerde görülür, kadın ve erkeklerde eşit oranda duyarlıdır. Hastalığın bulaşması temas, cilt yoluyla olur. Etken kan ve lenf yoluyla yayılır. Erken dönemde İnokülasyondan 1-8 hafta sonra elde, bacaklarda veya ayakların arka kısmında papül oluşur. 3- 12 ay sonra makülopapüler ve eritmatöz döküntüler görülür. Başlangıçta mavi olan nakül daha sonra menekşe rengine döner, zamanla kahverengi halini alır. Geç dönemde (aylar-yıllar sonra) ayak bileği, dirsek ve bilekte depigmente lezyonları görülür(8,62).

Tanıda karanlık alan mikroskopisi, floresan antikor boyama ve serolojik testler kullanılır. Tedavi erişkinlerde 1.200.000 Ü, çocuklarda 300.000-6000.000 Ü penisilin yeterlidir. Prokain penisilin uygulanmadığı durumlarda tetrasiklin veya kloramfenikol kullanılabilir(28,62).

BEJEL

Endemik nonveneral sifiliz, skerjevo gibi isimleri de vardır. Hastalık Afrika (Çad, Sudan, Etyopya, Gana) Asya ve Avustralya'da görülür. Bölgemizde de (Irak, Suriye, Ürdün, Suudi Arabistan, Afganistan,Bosna ve Yugoslavya) görülmektedir. Hastalık kadınları ve erkekleri etkiler, çocuk çağında ve erişkin dönemde görülür. Kırsal alan ve kötü hijyenik

yaşamda kişiden kişiye yiyecek ve içeceklerle,ağızdan ağza bulaşma olmaktadır(8,62,70).

Primer lezyon ağız bölgesindedir ve nadiren görülür. Geç lezyonlar gummatöz lezyon şeklindedir,cilt, nazofarinks, kemikler (tibia sıklıkla etkilenir, osteit, periostit) tutulur, diz eklemi tutulur, bilateral sinovit görülür. Kardivasküler ve nörolojik tutulum nadirdir. Tanıda karanlık alan mikroskopisi, floresan antikör boyama ve serolojik testler kullanılır. Tedavide 1.200.000 Ü penisilini yeterlidir. Penisilinin uygulanmadığı durumlarda Tetrasiklin veya Kloramfenikol kullanılabilir(8,70).



GEREÇ VE YÖNTEMLER

A)Hasta ve kontrol grupları:

Çalışma Aralık 2002 ile Mayıs 2004 tarihleri arasında I.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D ,T.C Deri ve Zührevi Hastalıkları(Cankurtaran) Hastanesi, Göztepe SSK Hastanesi, I.Ü İstanbul Tıp Fakültesi Dermatoloji A.B.D, Kızılay Kan Merkezi ve T.C Sağlık Bakanlığı Haseki Devlet Hastanesi'nde (Tablo 6 ve 7) yapıldı. Çalışma kesitsel cross-sectional olarak yürütüldü. İstanbul Üniversitesi Tıbbi Etik kurul Yönergesine göre hastalardan kan alırken bilgilendirme yapılarak onayları alındı. Hasta grubuna ait öykü, klinik bulgu ve belirtileri ile verileri formlara(Tablo 5) kaydedildi. Çalışmamız ikisi çalışma grubu üçü kontrol grubu olmak üzere beş farklı grup üzerinde yapıldı.

1-Erken Sifiliz (ES)grubu:

Tablo 6 da isimleri belirtilen değişik merkezlerin ilgili polikliniklerine sifiliz öyküsü ve klinik yakınmasıyla başvuran hastalardan erken sifilizin gerek primer gerek sekonder dönemlerine ait klinik bulgu ve belirtileri bulunan , nontreponemal tarama testleri ve treponemal testleri ve 6' sında karanlık saha mikroskopisi(KSM) pozitif bulunan 9 erkek , 11 kadın toplam 20 hasta çalışmaya alınmıştır.

Hastalara tanı konulmasında ;hasta öyküsü (cinsel ilişki öyküsü, şikayetlerin başlangıcı , hastaneye başvuru süresi, başvurudan önce antimikrobiyal tedavi alıp almadığı v.b) klinik bulgu ve belirtiler (hastanın fiziki muayene bulguları, genital bölgedeki şankr varlığı veya başka bölgelerde atipik lezyonların varlığı , vücut bölgelerinde maküler , papüler , papüloskuamöz vb. döküntülerin varlığı) ve laboratuvar (eğer şankr ve deri lezyonu varsa karanlık saha mikroskopisi , nontreponemal testler (rapid plasma reagin (RPR) , Venereal disease research

laboratory (VDRL) , treponemal testler ,Treponema pallidum hemaglütinasyon(TPHA), fluoressan treponemal antikor absorbsiyon (FTA-ABS) IgG ve IgM testleri)verileri temel alınmıştır.

Bu grupta toplanan 20 hastanın , en çoğunu T.C Deri ve Zührevi Hastalıkları(Cankurtaran) Hastanesine başvuran 12 olgu , onu ikinci sırada izleyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı' na başvuran 5 olgu ve diğer merkezlere başvuran değişik sayıdaki olgular oluşturmuştur(Tablo 6).

2-Latent Sifiliz (LS)grubu(7):

Bu gruptaki olgular sifilize ait herhangi bir klinik belirti göstermemesine rağmen sifilizin tanısında tarama amaçlı kullanılan nontreponemal (VDRL,RPR) ve tanı amaçlı treponemal (TPHA ve/veya FTA-ABS) testler pozitif sonuç vererek latent olarak kabul edilen 7' si erkek , 13 'ü kadın toplam 20 kişiden oluşmaktadır.

Bu grupta toplanan 20 hastanın , 15'i Deri ve Zührevi Hastalıkları Hastanesine ,3'ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı'na , 2'si I.Ü Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğine başvuran hastalardan kan örnekleri toplanarak çalışmaya alınmıştır(Tablo 6).

3- Biyolojik yalancı pozitiflik (BYP) gösteren grup(9):

RPR ,VDRL gibi nontreponemal test sonuçları farklı klinik patolojik nedenlerle pozitif olan ancak spesifik treponemal test sonuçları negatif olarak saptanan 13 kadın ,7 erkek toplam 20 kişiden oluşmuştur.

Bu grupta toplanan 20 kişinin 12'si Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı'na , 6 ' sı Kızılay Kan Merkezine 2' si T.C Sağlık Bakanlığı Haseki Devlet Hastanesi'ne

başvuran hastalardan kan örnekleri toplanarak çalışmaya alınmıştır(Tablo 7).

4-Diğer Spiroket infeksiyonu olgularının(DSİO) oluşturduğu grup:

Anabilimdalımıza Leptospira klinik ön tanısıyla başvurup, Leptospira ile ilgili laboratuvar incelemeleri istenilen ve sonuçta Leptospira klinik bulgu ve belirtileri ile laboratuvar testleri (direk mikroskopik inceleme , tüp aglütinasyon ,lateks ve kültür) sonucu ile Leptospiroz tanısı konulan 19 olgu ve Klinik bulgu ve belirtileri ile ELİSA testinde spesifik Borrelia IgM testi pozitif bulunan bir olgu olmak üzere , 13' ü erkek, 7'si kadın toplam 20 kişiden oluşmaktadır(Tablo 7).

5-Sağlıklı kişiler Grubu(SKG):

Kızılay Kan Merkezine kan vermek amacı ile başvuran ve son bir yıl içinde riskli cinsel ilişkide bulunmadığı bildirilen , serolojik testleri (anti HIV , HbsAg, antiHCV ve RPR) negatif bulunan 18- 55 yaşları arasındaki 20 kişiden oluşmaktadır(Tablo 7).

Hasta Bilgi Formu

Tarih:

Adı soyadı	
Adres/Tel no	
Başvurduğu yer/protokol numarası	
Hasta no su	
Mesleği	
Yaşı/cinsiyeti	
Evli/bekar	
Gebelik durumu	
Doğum/ölü doğum	
Şüpheli ilişki hikayesi/tarih	
Kan nakli/tarih	
Geçirdiği başka hastalıklar	
Herhangi bir tedavi görüyor mu?	
Kullandığı ilaçlar	

Şankr		Bölgesi	Süresi
Roseol		Bölgesi	Süresi

Lenfadenopati		Bölgesi	Süresi
Plak müköz			
Kondüloma lata			
Saçta yamalar halinde döküntüler			
Gom		Bölgesi	Süresi
Diğer rahatsızlıkları			

Yapılan testler		Sonuçları
Karanlık saha		
RPR		
VDRL		
TPHA		
FTA-ABS IgM		
FTA-ABS IgG		
Western –Blot IgM		
Western-Blot IgG		
Tanı		

Tablo 5. Hasta Bilgi Formu

Tablo 6.Erken(primer ve sekonder) ve Latent dönem Sifiliz olguların alındıkları merkezlere göre dağılımı

Olguların alındığı merkezler	Erken Sifiliz						Latent Sifiliz	
	Primer		Sekonder		Toplam			
	n	%	n	%	n	%	n	%
A	3	43	9	53	12	60	15	75
B	2	29	3	23	5	25	3	15
C	1	14	1	8	2	10	0	0
D	1	14	0	0	1	5	2	10

Tablo. 7 Nonsifiliz kontrol grubu olguların alındıkları merkezlere göre dağılımı

Olguların alındığı Merkezler	BYP		DSEO		SKG	
	n	%	n	%	n	%
B	12	60	20	100	0	0
E	6	30	0	0	20	100
F	2	10	0	0	0	0

A:T.C Deri ve Zührevi Hastalıkları (Cankurtaran) Hastanesi

B:İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D

C:Göztepe SSK Hastanesi

D:İstanbul Tıp Fakültesi Dermatoloji A.B.D

E: Kızılay Kan Merkezi

F: T.C Sağlık Bakanlığı Haseki Devlet Hastanesi

B)Kanların toplanması ve test yöntemleri:**1)Çalışmanın düzenlenmesi:**

Çalışmamızın gereç ve yönteminde belirtilen , çalışma ve kontrol grubunun optimum kriterlerine sahip ve büyük çoğunluğu anabilim dalımız dışındaki sağlık merkezlerinden sağlanan olguların hazır serumlarından en az 2 ml tarafımızdan nontreponemal ve treponemal testlerin tekrarı ve western-blot çalışması için – 20 °C' ye kaldırıldı. Anabilimdalımıza farklı klinik tanı nedeniyle test yapmak üzere başvuran ve araştırmamızın çalışma ve kontrol grubunun optimum kriterlerini taşıyan olgulardan ise 5 ml antikoagülsüz kan alınmış , 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen serum örneklerinden veya hazır serum örneklerinden en az 2 ml nontreponemal ve treponemal serolojik testlerin tekrarı ve western-blot testinin yapılması için – 20 °C' ye kaldırılmıştır.

II)Çalışmada Kullanılan Yöntemler

A)Karanlık saha mikroskobisi:

Bu test direk inceleme esasına dayanmaktadır. Sifilitik yara, önce serum fizyolojikle temizlenip, gazlı bezle tamponlanıp iki parmak arasında hafifçe sıkılarak , sızıntı halindeki serözite pastör pipeti ile alındı. Alınan örnek bir damla temiz lam üzerine konuldu. Lam bir lamelle kapatılarak karanlık alan mikroskobu (Olympus CH30, Japonya) İle 40 lık objektifte incelendi.

Değerlendirme:

İnceleme , başvuru yapılan sağlık merkezlerinin mikrobiyoloji laboratuvarlarında uzman bir kişi ve araştırmacı tarafından (bir olgu için) yapılmıştır. Mikroskobide ;siyah zeminde parlak renkte olan ve tipik hareketli, değişmeyen spiral görünümü *T.pallidum* yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir.

B-Nontreponemal testler

1.RPR (Rapid Plasma Reagin)

Testin prensibi:

Sifiliz'le infekte olan kişilerde oluşan reagin antikorlarını ortaya çıkartan flokülasyon esasına dayalı bir nontreponemal test olan RPR (Spinreact , S.A Ctra Santa Coloma ispanya) ile serum örneklerimiz çalışmaya alındı.

Ayıraçlar:

RPR Karbon süspansiyonu: Reaksiyonun değerlendirilmesinde kullanılan kömür partikülleri ile , kardiyolipin, lesitin ve kolesterol kristallerinin süspansiyonunu içermektedir.

Kontrol serumları:

Pozitif kontrol

Negatif kontrol

Ayıraçlar +2+8 °C' de saklandı.

Testin yapılışı:

Ayıraçlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Partiküllerin dağılması için ayıraçlar çalkalandı. Negatif , pozitif kontrol ve serum örneklerinin herbirinden sırasıyla lamda ayrılan bölmelere 50 ' şer µl konuldu. Kontrol ve serum örneklerinin üzerine 20 µl RPR karbon süspansiyonu eklendi. Plastik çubuklarla karıştırıldı. Lamlar rotator(Elektro-mag M2O2, Türkiye) ile 8 dakika 80-100 devirde çevrildi.

Değerlendirme:

Sonuçlar; kalitatif olarak, beyaz zemin üzerinde siyah kümelerin varlığı pozitif , homojen görünüm ve flokülasyon yokluğu negatif olarak değerlendirildi.

2.VDRL(Venereal Disease Research Laboratory)

Testin prensibi:

Treponema pallidum'la infekte olan hemen her hastada sentezlenen ve doku komponentlerine karşı saptanan antikorların bir grubunun , flokülasyon temeline dayalı , hızlı saptama için geliştirilen bir nontreponemal test olan VDRL (Spin react , S.A, Ctra Santa Coloma,İspanya)ile serumlarımız çalışıldı.

Ayıraçların hazırlanması:

VDRL antijen solüsyonu: Bir tüpe 0.4 ml VDRL tampon konuldu, çalkalarken üzerine damla damla 0.5 ml VDRL antijen eklendi. Karışım hazırlandıktan sonra 30 saniye çalkalandı. Hazırlanan karışımın üzerine 4.1 ml VDRL tampon eklendi 10 saniye çalkalandı ve hazırlanan VDRL antijen süspansiyonu 24 saat içinde kullanılmıştır.

Kontrol serumları:

Pozitif kontrol

Negatif kontrol

Ayıraçlar + 2+8 °C 'de saklandı.

Testin yapılışı:

Ayıraçlar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Lam üzerindeki sekiz bölmenin birinci ve ikincisine 50'şer µl serum örneği konuldu.2.3.4.5.6.7. ve 8. bölmelere 50'şer µl serum fizyolojik eklendi. Serumların sırasıyla seri sulandırmaları yapıldı. Üzerlerine 20 µl VDRL antijeninden eklendi. Böylece(1/2,1/4,1/8,1/16,1/32,1/64, 1/128) sulandırılması sağlanmıştır. Plastik çubuklarla karıştırılıp homojen dağılımı sağlandı. Rotator(Elektromag M202 Türkiye)da 4 dakika 150 devirde çevrildi. Kontrol serumları da serum örnekleri gibi çalışmaya alındı ve değerlendirildi.

Değerlendirme:

Değerlendirmeler kantitatif olarak yapıldı. Güçlü ışık altında makroskopik olarak aglütinasyon varlığı yada yokluğu okundu. 10 luk büyütmede mikroskopta sonuçlar doğrulandı.

C-Treponemal Testler**1.TPHA(*Treponema pallidum* Hemaglütinasyon)****Testin prensibi:**

Antijen olarak *T.Pallidum*'un Nichols suşu kullanılarak serumda treponemal antikörlerin aranmasında kullanılmaktadır. Bu test, tannik asit ile muamele edilmiş formollü ve parçalanmış *Treponema pallidum* antijenleriyle kaplanmış koyun eritrositleri(duyarlılaştırılmış eritrositler) kullanılarak hasta serumları ile karşılaştırılıp hemaglütinasyon araştırılması esasına dayalı bir indirekt hemaglütinasyon (Spinreact,S.A, Santa Coloma ,İspanya) deneyidir.

Ayırıcılar:

Test hücreleri:*Treponema pallidum* antijenleri ile duyarlılaştırılan eritrositleri içermektedir.

Kontrol hücreleri:Duyarlılaştırılmamış eritrosit süspansiyonudur.

Serum örnek sulandırıcı:Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) serum örneğinin sulandırılması için kullanıldı.

Kontrol serumları:

Pozitif kontrol

Negatif kontrol

Ayırıcılar +2+8 °C' de saklandı.

Testin yapılışı:

Bütün örnekler ve ayıraçlar oda sıcaklığına getirildi. 50 µl seruma 950 µl serum örnek sulandırıcı ilave edildi. Böylece serum 1 /20 sulandırıldı. U çukurlu mikropalak üzerindeki altı kuyucuktan ilk üçüne 25'er µl 1/20 oranındaki sulandırılmış serum örneğinden konuldu. 3.4.5. ve 6. kuyucuğa 25'er µl serum örnek sulandırıcıdan eklendi . Serumların sırasıyla seri sulandırmaları yapıldı. İlk kuyucuğa 75 µl kontrol hücresi, 2. 3. 4. 5. ve 6. kuyucuğa 75 'er µl test hücresi konuldu. Böylece serumlar 1/80, 1/160, 1/320, 1/640,1/1280 oranında sulandırıldı. Oda ısısında 45 dakika inkübe edildi. Kontrol serumları da serum örnekleri gibi çalışıldı ve değerlendirmeye alındı.

Değerlendirme:

Hücreler rozet şeklinde dağılık duruyorsa pozitif, düğme şeklinde U mikroplağın tabanına çökmüşlerse negatif olarak değerlendirildi. Sonuçlarımız kantitatif olarak belirlendi. 1/160 ve büyük titreler sifiliz yönünden pozitif olarak kabul edildi.

2.FTA-ABS IGM

Testin prensibi:

Çalışmamızda IFA(İndirek floresanlı Antikor) yöntemiyle (Euroimmun Labordiagnostica, Almanya)serum örneklerinde T. pallidum' a karşı oluşmuş spesifik IgM antikorları araştırıldı.

T. pallidum kaplanmış olan lamlar sulandırılmış serum örneği ile inkübe edilmektedir. Eğer örnek pozitif ise spesifik antikorlar (IgM) bakteriyel ajanlara bağlanırlar. İkinci basamakta bağlanan antikorlar ,

florescein işaretli antihuman antikorları ile boyanır ve floresan mikroskopunda görüntülenmektedirler.

Absorbsiyon:Serum sulandırmalarından önce spesifik olmayan çapraz reaksiyon veren antikorların uzaklaştırılması için *Treponema phagedaenis* ile karıştırıldı.

Ayıraçların hazırlanması:

PBS+Tween 20:Bir paket NaCl ve 2 ml Tween 20 bir litre distile su ile sulandırıldı.

FTA-ABS solüsyonu: 5 ml FTA Absorbent, 5 ml distile su ile sulandırıldı.

RF-ABS solüsyonu: 4.5 ml RF (Romatoid faktör) absorbent, 1.2 ml distile su ile sulandırıldı.

FTA-ABS IgM konjugat:0.3 ml florescein işaretli antihuman IgM 1.2 ml PBS+Tween 20 ile 1:5 oranında sulandırıldı.

Pozitif ve negatif kontrol sulandırılmadı.

Örneğin hazırlanması:

50 µl FTA Absorbent solüsyon 12,5 µl serum ile 1:5 oranında sulandırıldı. 1:5 sulandırdığımız serumun 25 µl ' sine 25 µl RF Absorbent eklenildi ve karıştırıldı. Böylece serum 1:10 sulandırıldı. 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Testin yapılışı:**Birinci Aşama:**

Pozitif , negatif kontroller ve sulandırılan serumlar 25' er µl lamlar üzerindeki bölümlerine konularak 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra PBS+tween 20 ile yıkandı, sonra 5 dakika küvette bekletildi.

İkinci Aşama:

Kurutulan lamların üzerine 20'şer µl IgM konjugat konuldu. Direkt güneş ışığından etkilenmeyecek şekilde oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda PBS+tween 20 ile yıkandı, sonra 5 dakika küvette bekletildi. Lamlar kurutuldu ve lamlara kit içinde bulunan 10µl gliserol damlatılarak üzeri lamellerle kapatıldı.

Testin değerlendirilmesi:

Bu şekilde hazırlanan tüm lamlar araştırmacı ve danışman tarafından floresan mikroskopunun (Zeiss-Axioskop 40. Almanya) 40' lık objektifinde incelendi.

Treponema pallidum' a karşı IgM antikorları serumda varsa Floresansla bakteriler ayırt edilebilmektedir. Eğer IgM antikorları serumda yoksa floresans vermediği için bakteriler görülmemektedir.

3.FTA-ABS IgG Deneyi:**Testin prensibi:**

Çalışmamızda IFA(İndirek floresanlı Antikor) yöntemiyle (Euroimmun Labordiagnostica, Almanya)serum örneklerinde *T. pallidum'* a karşı oluşmuş spesifik IgG antikorları araştırıldı.

T. pallidum kaplanmış olan lamalar sulandırılmış serum örneği ile inkübe edilmektedir. Eğer örnek pozitif ise spesifik antikorlar (IgG) bakteriyel ajanlara bağlanırlar. İkinci basamakta bağlanan antikorlar , florescein işaretli antihuman antikorları ile boyanır ve floresan mikroskopunda görüntülenmektedirler.

Absorbsiyon:Serum sulandırmalarından önce spesifik olmayan çapraz reaksiyon veren antikorların uzaklaştırılması için *Treponema phagedaenis* ile karıştırıldı.

Ayırçaların hazırlanması:

PBS+Tween 20:Bir paket NaCl ve 2 ml Tween 20 bir litre distile su ile sulandırıldı.

FTA-ABS solüsyonu: 5 ml FTA Absorbent, 5 ml distile su ile sulandırıldı.

FTA-ABS IgG konjugat:0.3 ml florescein işaretli antihuman IgG 1.2 ml PBS+Tween 20 ile 1:5 oranında sulandırıldı.

Pozitif ve negatif kontrol sulandırılmadı.

Örneğin hazırlanması:

12,5 µl serum 50 µl FTA Absorbent ile sulandırıldı. 1:5 sulandırılan serum 37 °C' de etüvde bekletildi. 25 µl PBS+Tween 20 , 25 µl 1:5 sulandırılmış serum 1:10 sulandırıldı.

Testin yapılışı:**Birinci Aşama:**

Sulandırılan serumlar, pozitif ve negatif kontrollerle birlikte 25' er μ l lamlar üzerindeki bölümlerine konularak oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra PBS+tween20 ile yıkandı, sonra 5 dakika küvette bekletildi.

İkinci Aşama:

Kurutulan lamlar üzerine 20'şer μ l IgG konjugat konuldu. Direkt güneş ışığından etkilenmeyecek şekilde oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda PBS+tween20 ile yıkandı, sonra 5 dakika küvette bekletildi. Lamlar kurutuldu ve lamlara kit içinde bulunan 10 μ l gliserol damlatılarak üzeri lamellerle kapatıldı.

Testin Değerlendirilmesi :

Bu şekilde hazırlanan tüm lamlar araştırmacı ve danışman tarafından floresan mikroskopunun (Zeiss-Axioskop 40. Almanya) 40' lık objektifinde incelendi.

Treponema pallidum' a karşı IgG antikorları serumda varsa Floresansla bakteriler ayırtedilebilmektedir. Eğer IgG antikorları serumda yoksa floresans vermediği için bakteriler görülmemektedir.

TREPONEMA PALLIDUM' A KARŞI OLUŞAN IgM ANTİKORLARININ WESTERN-BLOT (WB) İLE SAPTANMASI

Testin prensibi:

Western-blot test kiti , *Treponema pallidum'* a karşı oluşan IgM antikorları için tanımlayıcı invitro bir ayırım sağlamaktadır. Bu kit , *Treponema pallidum* antijenlerinin elektroforetik olarak ayrıldığı test şeritlerini içerir. Birinci olarak üzerinde özgül antijenleri içeren şeritle temas eden hasta serumunda eğer özgül IgM antikorları var ise , şerit üzerinde belirli antijen bölgelerinde bağlanma olacaktır. İkinci aşamada antijene bağlı antikorların saptanabilmesi için konjugatla (enzimle işaretli antihuman IgM) inkübasyon ve deney sonucunda şerit üzerinde pozitif , negatif veya zayıf pozitif-(+)- reaksiyonu gösteren koyu veya açık veya hafif renkli band bölgeleri oluşacaktır.

ANTİJENLER

Euroimmun antitreponema pallidum Western-blot kitini hazırlamak için antijen kaynağı olarak *Treponema pallidum* Nichols suşu kullanılmıştır(Euroimmun Labordiagnostica,Almanya).

Kültürü yapılan bakteri sodyumdodesilsülfat kullanılarak eritilmiş , elde edilen *Treponema* proteinleri (antijenleri)poliakrilamid jel elektroforezi üzerinde moleküler ağırlıklarına göre ayrılmıştır. Elektrotransferle nitrosellüloz şeritlere aktararak , havada kurutulmuşlar ve test şeritleri kullanım için hazır hale getirilmişlerdir.

Test Şeritleri üzerindeki antijenlerin spesifikliği:

Band	Antijen	Spesifiklik
15 kDa	TpN15(Treponema pallidum Nichols 15)	Spesifik
17 kDa	TpN17(Treponema pallidum Nichols 17)	Spesifik
22 kDa	P22	Nonspesifik
45 kDa	TmpA(Treponema membran protein A)	Spesifik
47 kDa	TpN47(Treponema pallidum Nichols 47)	Spesifik

Ayıracıların hazırlanması ve test şeritlerin kaplanması:

Universal buffer : 50 ml konsantre haldeki universal buffer 450 ml distile su ile 1:10 oranında sulandırıldı ve temiz bir pipetle karıştırıldı. Sulandırılmış universal buffer aynı çalışma günü içinde kullanıldı.

IgM Enzim konjugat:3 ml konsantre haldeki Alkalin işaretli antihuman IgM, 27 ml universal bufferla 1:10 oranında sulandırıldı ve temiz bir pipetle karıştırıldı. Sulandırılmış IgM enzim konjugat aynı çalışma gününde kullanıldı.

Substrat solüsyon: Bu solüsyon kullanım için hazırdır. Kullanımdan sonra kapalı şişe ışığa duyarlı içeriğinden dolayı hemen kapatıldı.

Test şeritlerin kaplanması: Test şeritleri, *Treponema pallidum* antijenlerinin elektroforetik olarak ayrılması ile elde edilmektedir. Test şeritleri üzerinde deney sürecinin doğru yapıldığını işaret eden kontrol bandı bulunmaktadır. Bu bandın içeriği anti human immunglobulindir , dolayısıyla herhangi bir insan serumu ile karşılaşp konjugat ve substratla da reaksiyona girince belirgin bir band oluşmaktadır.

Test şeritleri kullanım için hazırdır. Oda sıcaklığına geldiğinde test şeritleri açıldı ve inkübasyon tablasının üzerine belli bir sırayla yerleştirildi ve değerlendirme şablonunda her bir şerit hangi hasta ile çalışılacaksa o şeritin lot numarasının belirtildiği yerin karşısına

hasta numarası yazıldı. Çalışmamızda her grup çalışıldığında kontrol amaçlı olarak en az iki tane sağlıklı kontrol grubundan olan negatif serum kullanıldı.

Bir pozitif kontrol serumla inkübe edilmiş bir test şeriti ise her kitin içerisinde o kite özgü olarak bulunmaktadır.

Ayıracılar ve test şeritleri (+2+8)⁰C'de saklanılmıştır.

Örneklerin hazırlanması:

30 µl serum , 1.5 ml universal bufferla 1:51 oranında sulandırıldı. Bu sulandırma vortex(Nüve NM 110 Türkiye)le karıştırıldı.

Western-blot IgM testinin yapılışı:

Deneye başlamadan ayıracılar, şeritler ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.

Bloke etme:

Serum örneklerinin sayısına uygun kanalların herbirine 1.5 ml universal buffer eklendi.15 dakika oda sıcaklığında rocking shaker(Biosan M1 Letonya) la sallanıp inkübe edildi. Daha sonra bütün sıvı çekildi.

Birinci basamak (serum inkübasyonu):

Sulandırılmış her serum örneğinin 1.5 ml 'si kendi kanallarına pipetlenildi, rocking shakerda 30 dakika inkübe edildi. Her bir kanaldan bütün sıvı çekildi. 1.5 ml universal bufferla her biri 5 dakika olmak üzere 3 defa rocking shaker üzerinde yıkama yapıldı.

İkinci Basamak(konjugat inkübasyonu):

1.5 ml enzim konjugat.(Alkalin fosfataz konjugat antihuman IgM) her kanala pipetlenildi. Bir rocking shaker üzerinde 30 dakika inkübe edildi. Her bir kanaldan bütün sıvı çekildi. 1.5 ml universal bufferla her

biri 5 dakika olmak üzere 3 defa rocking shaker üzerinde yıkama yapıldı.

Üçüncü basamak(Substrat inkübasyonu):

1.5 ml substrat solüsyon her bir kanala pipetlendi. Bir rocking shakerda 10 dakika inkübe edildi. Her kanaldan bütün sıvı çekildi ve kanallar distile su ile 3 defa yıkandı. Şeritler daha önce kaydedildikleri değerlendirme kağıtlarının üzerine yerleştirildi.

Antitreponema pallidum IgM Western-Blot sonuçlarının yorumlanması ve değerlendirilmesi:

Test bittiğinde , test şeridi araştırmacı ve danışman tarafından gözle değerlendirildi.

Testin sonunda şeritler üzerindeki kontrol bantlarında güçlü boyama oluşunca test sürecinin doğru yapıldığına karar verildi. Ayrıca test şeritleri , kit içerisinde yer alan pozitif kontrol serumla inkübe edilmiş olan pozitif test şeridi ile karşılaştırıldı. Ve bunun sonucunda şerit üzerindeki renkli band bölgeleri pozisyonu ve boyanın şiddeti ile ilgili değerlendirme araştırmacı ve danışman tarafından yapıldı. Ayrıca tüm sonuçlar ilgili firmanın Avrupa 'daki merkezine gönderilerek , onaylanması sağlanmıştır.

Sonuçlar ; pozitif, negatif ve borderline olarak ayrıldı. Spesifik antijenlerin(TPN15 , TpN17 , tmpA , TpN47) hiçbirinde band olmaması halinde negatif, spesifik antijenlerin(TpN15 , TpN17 kDa, tmpA, TpN47) birinde zayıf bandın bulunması halinde borderline (sınırdadır), Spesifik antijenlerin(TpN15 , TpN17 , tmpA, TpN47) en az birinde belirgin band oluşması halinde pozitif olarak değerlendirildi. Bu çalışmada borderline sonuçlar istatistiksel hesaplamaları yaparken diğer klinik bulgu ve belirtiler doğrultusunda pozitif olarak değerlendirildi.

TREPONEMA PALLIDUM' A KARŞI OLUŞAN IgG ANTİKORLARININ WESTERN-BLOT İLE SAPTANMASI

Testin prensibi:

Western-blot test kiti , *Treponema pallidum'* a karşı oluşan IgG antikorları için tanımlayıcı invitro bir ayırım sağlamaktadır. Bu kit , *Treponema pallidum* antijenlerinin elektroforetik olarak ayrıldığı test şeritlerini içerir. Birinci olarak üzerinde özgül antijenleri içeren temas eden hasta serumunda eğer özgül IgG antikorları var ise , şerit üzerinde belirli antijen bölgelerinde bağlanma olacaktır. İkinci aşamada antijene bağlı antikorların saptanabilmesi için konjugatla (enzimle işaretli antihuman IgG) inkübasyon ve deney sonucunda şerit üzerinde pozitif , negatif veya borderline (sınırdaki değer) reaksiyonu gösteren koyu veya açık band bölgeleri oluşacaktır.

ANTİJENLER

Euroimmun antitreponema pallidum Western-blot kitini hazırlamak için antijen kaynağı olarak *Treponema pallidum* Nichols suşu kullanılmıştır.(Euroimmun Labordiagnostica,Almanya).

Kültürü yapılan bakteri sodyumdodesilsülfat kullanılarak eritilmiş , elde edilen *Treponema* proteinleri (antijenleri)poliakrilamid jel elektroforezi üzerinde moleküler ağırlıklarına göre ayrılmıştır. Elektrotransferle nitrosellüloz şeritlere aktararak , havada kurutulmuşlar ve test şeritleri kullanım için hazır hale getirilmişlerdir.

Test Şeritleri üzerindeki antijenlerin spesifikliği:

Band	Antijen	Spesifiklik
15 kDa	TpN15(Treponema pallidum Nichols15)	Spesifik
17 kDa	TpN17(Treponema pallidum Nichols17)	Spesifik
22 kDa	P22	Nonspesifik
45 kDa	TmpA(Treponema membran protein A)	Spesifik
47 kDa	TpN47(Treponema pallidum Nichols47)	Spesifik

Ayıracıların hazırlanması ve test şeritlerin kaplanması

Universal buffer : 50 ml konsantre haldeki universal buffer 450 ml distile su ile 1:10 oranında sulandırıldı ve temiz bir pipetle karıştırıldı. Sulandırılmış universal buffer aynı çalışma günü içinde kullanıldı.

IgG Enzim konjugat:3 ml konsantre haldeki Alkalin işaretli antihuman IgG, 27 ml universal bufferla 1:10 oranında sulandırıldı ve temiz bir pipetle karıştırıldı. Sulandırılmış IgG enzim konjugat aynı çalışma gününde kullanıldı.

Substrat solüsyon: Bu solüsyon kullanım için hazırdır. Kullanımdan sonra kapalı şişe ışığa duyarlı içeriğinden dolayı hemen kapatıldı.

Test şeritlerin kaplanması: Test şeritleri, *Treponema pallidum* antijenlerinin elektroforetik olarak ayrılması ile elde edilmektedir. Test şeritleri üzerinde deney sürecinin doğru yapıldığını işaret eden kontrol bandı bulunmaktadır. Bu bandın içeriği anti human immunglobulindir , dolayısıyla herhangi bir insan serumu ile karşılaşp konjugat ve substratla da reaksiyona girince belirgin bir band oluşmaktadır.

Test şeritleri kullanım için hazırdır. Oda sıcaklığına geldiğinde test şeritleri açıldı ve inkübasyon tablasının üzerine belli bir sırayla yerleştirildi ve değerlendirme şablonunda her bir şerit hangi hasta ile

çalışılacaksa o şeritin lot numarasının belirtildiği yerin karşısına hasta numarası yazıldı. Çalışmamızda her grup çalışıldığında kontrol amaçlı olarak en az iki tane sağlıklı kontrol grubundan olan negatif serum kullanıldı.

Bir pozitif kontrol serumla inkübe edilmiş bir test şeriti ise her kitin içerisinde o kite özgü olarak bulunmaktadır.

Ayrıraçlar ve test şeritleri (+2+8)⁰C'de saklanılmıştır.

Örneklerin hazırlanması:

30 µl serum , 1.5 ml universal bufferla 1:51 oranında sulandırıldı. Bu sulandırma vortex(Nüve NM 110 Türkiye)le karıştırıldı.

Western-blot IgG testinin yapılışı:

Deneye başlamadan ayrıraçlar, şeritler ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.

Bloke etme:

Serum örneklerinin sayısına uygun kanalların herbirine 1.5 ml universal buffer eklendi.15 dakika oda sıcaklığında rocking shaker(Biosan M1 Letonya) la sallanıp inkübe edildi. Daha sonra bütün sıvı çekildi.

Birinci basamak (serum inkübasyonu):

Sulandırılmış her serum örneğinin 1.5 ml 'si kendi kanallarına pipetlenildi, rocking shakerda 30 dakika inkübe edildi. Her bir kanaldan bütün sıvı çekildi. 1.5 ml universal bufferla her biri 5 dakika olmak üzere 3 defa rocking shaker üzerinde yıkama yapıldı.

İkinci Basamak(konjugat inkübasyonu):

1.5 ml enzim konjugat.(Alkalin fosfataz konjugat antihuman IgG) her kanala pipetlenildi. Bir rocking shaker üzerinde 30 dakika inkübe edildi. Her bir kanaldan bütün sıvı çekildi. 1.5 ml universal bufferla her biri 5 dakika olmak üzere 3 defa rocking shaker üzerinde yıkama yapıldı.

Üçüncü basamak(Substrat inkübasyonu):

1.5 ml substrat solüsyon her bir kanala pipetlendi. Bir rocking shakerda 10 dakika inkübe edildi. Her kanaldan bütün sıvı çekildi ve kanallar distile su ile 3 defa yıkandı. Şeritler daha önce kaydedildikleri değerlendirme kağıtlarının üzerine yerleştirildi.

Antitreponema pallidum IgG Western Blot sonuçlarının yorumlanması ve değerlendirilmesi:

Test bittiğinde , test şeridi araştırmacı ve danışman tarafından gözle değerlendirildi.

Testin sonunda şeritler üzerindeki kontrol bantlarında güçlü boyama oluşunca test sürecinin doğru yapıldığına karar verildi. Ayrıca test şeritleri , kit içerisinde yer alan pozitif kontrol serumla inkübe edilmiş olan pozitif test şeridi ile karşılaştırıldı. Ve bunun sonucunda şerit üzerindeki renkli band bölgeleri pozisyonu ve boyanın şiddeti ile ilgili değerlendirme araştırmacı ve danışman tarafından yapıldı. Ayrıca tüm sonuçlar ilgili firmanın Avrupa 'daki merkezine gönderilerek , onaylanması sağlanmıştır.

Sonuçlar; Pozitif, negatif ve borderline olarak ayrıldı. Spesifik antijenlerin(TpN15, TpN17,tmpA, TpN47) hiçbirinde band olmaması halinde negatif, spesifik antijenlerin (TpN15, TpN17,tmpA, TpN47) birinde belirgin band olması halinde borderline(sınırdadır), spesifik antijenlerin (TpN15, TpN17,tmpA, TpN47) en az ikisinde band olması halinde pozitif olarak değerlendirildi. Bu çalışmada borderline sonuçlar

İstatistiksel hesaplamaları yaparken diğerklinik bulgu ve belirtiler doğrultusunda pozitif olarak değerlendirildi.

III)Çalışmada kullanılan İstatistiksel yöntemler:

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 10.0 istatistik programında çalışıldı . Ki-kare (X^2) olasılık testinde $p<0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. Western-blot(WB) testinin sifilizin farklı iki aşamasıyla ilgili tanısal uyumunda kappa değerlendirilmesi yapıldı. Kappa (K) uyum katsayısı olarak bulunan değer mutlak sayı 0.7 ve büyük olması halinde uyumdan bahsedildi. Ayrıca WB testinin performans parametreleri olarak , Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif kestirim değerı, Negatif kestirim değerı ve doğruluk (Accuracy) değerleri % olarak hesaplanmıştır.

BULGULAR

Erken sifiliz(ES)'li 20 hastanın 11(% 55)'i kadın , 9(%45)'u erkek ve bu hastaların yaşları 18-39 yaş arasında değişmekte olup yaş ortalaması 29,8 idi. Hastaların kliniğe başvuru süreleri ise 23-56 gün arasında değişmekte olup ortalama başvuru süresi 40 gündü. Bu grupta yer alan hastaların yedisi erken sifilizin primer döneminde iken 13'ü sekonder döneminde yer almakta ve 15'i antimikrobiyal tedavi almış olup altısında şankr ve karanlık saha mikroskopisi (KSM) sonuçları pozitif bulunmuştur. Nontreponemal(VDRL,RPR) testleri 20 hastada da pozitif ,treponemal testlerden TPHA bir hasta dışında (16 nolu hasta)1/160-1/1280 arasında değişen titrelerde pozitif, FTA-ABS IgM testi bütün hastalarda pozitif iken FTA-ABS IgG testi bir hasta dışında (16 nolu hasta) pozitif olarak saptandı (Tablo 9) .

ES'li hastalar cinsiyete göre incelendiğinde; ES'li 11 kadın hastanın yaşları 18-35 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 28 idi. Kliniğe başvuru süreleri 26-47 gün arasında değişmekte olup başvuru süresi ortalaması 39 gün olan dördü primer, yedisi sekonder dönemdeki hastaların üçünde KSM pozitif bulundu. ES'li 9 erkek hastanın ise yaşları 23-37 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 32 idi. Kliniğe başvuru süreleri 23-58 gün arasında değişmekte olup başvuru süresi ortalaması 41 gün olan üçü primer , altısı sekonder dönemdeki hastaların üçünde KSM pozitif olarak saptandı(Tablo 10).

Tablo 9. Erken(primer ve sekonder) sifiliz olgularının demografik verileri , primer ve sekonder dönemleri;non treponemal, treponemal ve western-blot test sonuçları

No	Ad soyad	Cinsiyet	Yaş	B.S (gün)	Tedavi	Dönem	KSM/şankr	Nontreponemal testler		Treponemal testler			Western-blot	
								RPR	VDRL	TPHA	FTA-ABS IgM	FTA-ABS IgG	IgM	IgG
1	R.K	E	36	58	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/64	1/1280	4(+)	B(TpN17)	(+)	(TpN15*,17,47,tmpA)
2	R.A	E	34	28	(-)	P	(+)/(+)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN15,17,47,tmpA)
3	E.B	E	26	40	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN15,17,47,tmpA)
4	E.A	E	23	40	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17,47,tmpA*)
5	C.A	E	32	26	(-)	P	(+)/(+)	(+)	1/32	1/160	4(+)	(+)	(-)	(-)
6	Y.E	E	39	30	(+)	P	(+)/(+)	(+)	1/64	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17,47,tmpA*)
7	Y.T	K	23	49	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/128	1/1280	3(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
8	A.K	E	31	45	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/64	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
9	E.K	K	30	27	(-)	P	(+)/(+)	(+)	1/64	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
10	M.U	E	37	55	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17,47,tmpA)
11	T.T	K	35	53	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/32	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
12	D.Ç	K	27	30	(+)	P	(+)/(+)	(+)	1/64	1/640	2(+)	(+)	(+)	(TpN15,17)
13	S.K	K	29	46	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/16	1/640	4(+)	(+)	(+)	(TpN15,17)
14	G.Y	K	35	48	(+)	S	?/(-)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17,47, tmpA)
15	Z.E	K	25	53	(+)	S	?/(-)	(+)	1/64	1/160	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
16	N.K	K	32	32	(-)	P	?/(-)	(+)	1/16	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
17	E.D	K	18	24	(-)	P	(+)/(+)	(+)	1/32	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
18	Ö.A	K	28	41	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/128	1/1280	4(+)	(+)	(+)	(TpN17, tmpA)
19	Ü.G	E	31	47	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/64	1/640	3(+)	(+)	B(TpN17)	B(TpN17)
20	D.L	K	25	39	(+)	S	(-)/(-)	(+)	1/64	1/640	3(+)	(+)	(+)	(TpN17,47* , tmpA)

K:Kadın, E:Erkek , BS:Başvuru süresi ,P: Primer dönem, S: Sekonder dönem, KSM:Karanlık saha mikroskopisi,?:Test yapılmadı,

B: Borderline(sınırdaki değer) , * Zayıf band

Tablo 10. Erken sifilizli olgularda , cinsiyete göre yaş, kliniğe başvuru süreleri , erken sifiliz dönemleri ve karanlık saha mikroskopisi sonuçlarının dağılımı

Cinsiyet	Yaş	Başvuru süresi(gün)	Dönem				Karanlık saha	
			P		S		+	-
	Ort(min-mak)	Ort(min-mak)	n	%	n	%		
K(n;11)	28(18-35)	39(26-47)	4	36	7	64	3	8
E(n;9)	32(23-37)	41(23-58)	3	33	6	67	3	6

K:Kadın, E:Erkek, P: Primer dönem , S: Sekonder dönem, KSM: Karanlık saha mikroskopisi

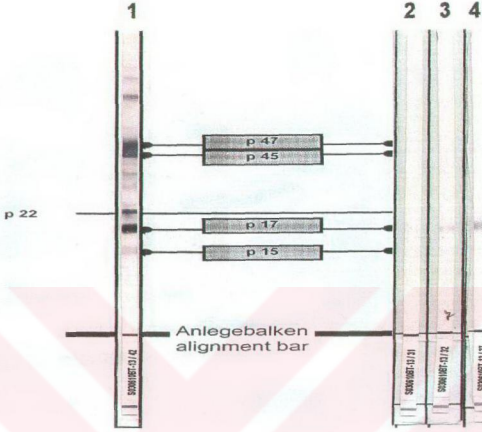
Latent sifiliz(LS)'li 20 olgunun 12(%60)' si kadın 8(%40)' i erkek ve bu hastaların yaşları 19-59 yaş arasında değişmekte olup yaş ortalaması 30.6 idi. Bu grupta yer alan hastaların nontreponemal (VDRL,RPR) testleri hastaların hepsinde pozitif, treponemal testlerinden TPHA ,1/160-1/1280 arasında değişen titrelerde tüm olgularda pozitif , FTA-ABS IgM bütün olgularda negatif iken FTA-ABS IgG' de bir olgu dışında (40 nolu olgu) pozitif olarak saptandı(Tablo 11).

Tablo 11. Latent sifilizli olguların demografik verileri ;nontreponemal, treponemal ve western-blot test sonuçları

No	Ad soyad	Cinsiyeti	Yaş	Nontreponemal testler		Treponemal testler			Western-blot	
				RPR	VDRL	TPHA	FTA-abs IgM	FTA-abs IgG	IgM	IgG
21	N.B	K	59	(+)	1/32	1/320	(-)	(+)	(-)	(+)(TpN15,17)
22	S.G	E	28	(+)	1/64	1/160	(-)	3(+)	(-)	(+)(TpN47,15*,tmpA)
23	S.Y	K	25	(+)	1/128	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
24	Ö.P	K	30	(+)	1/64	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17,47*, tmpA)
25	C.G	K	19	(+)	1/64	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17,47)
26	L.G	K	22	(+)	1/64	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
27	A.A	K	26	(+)	1/32	1/640	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
28	S.U	K	28	(+)	1/32	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
29	G.H	K	32	(+)	1/32	1/640	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
30	O.B	K	21	(+)	1/16	1/1280	(-)	4(+)	(-)	(+)(TpN47, tmpA)
31	N.K	K	33	(+)	1/32	1/1280	(-)	2(+)	(-)	(+)(TpN17,47*, tmpA)
32	E.Ç	E	29	(+)	1/16	1/640	(-)	3(+)	(-)	B(TpN17)
33	C.T	K	33	(+)	1/32	1/1280	(-)	2(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
34	B.G	E	46	(+)	1/16	1/1280	(-)	3(+)	(-)	B(TpN17)
35	C.D	E	36	(+)	1/32	1/1280	(-)	(+)	(-)	(+)(TpN15,17, tmpA)
36	İ.A	K	32	(+)	1/16	1/320	(-)	(+)	(-)	(+)(TpN15,17)
37	H.M	E	34	(+)	1/64	1/1280	(-)	2(+)	(-)	(+)(TpN17, tmpA)
38	Y.E	E	27	(+)	1/64	1/320	(-)	2(+)	(-)	B(TpN17)
39	A.B	E	29	(+)	1/32	1/1280	(-)	4(+)	(+)(TpN17)	(+)(TpN17,47, tmpA*)
40	K.A	E	23	(+)	1/16	1/1280	(-)	(-)	(-)	(+)(TpN15,17)

E:Erkek,K:Kadın, B:Borderline (eşik değeri), * Zayıf band

1 ve 2 nolu ES'li hastaların WB IgM deneyinde oluşan bandlar şekil 2 'de görülmektedir.

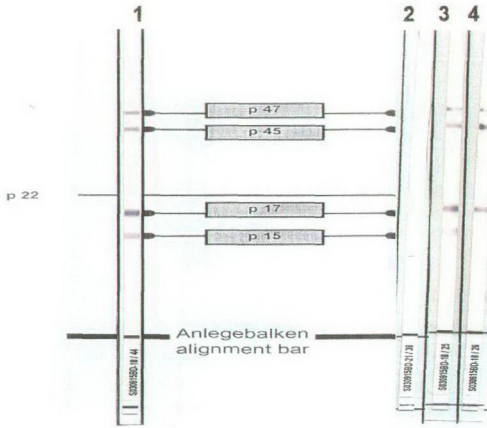


Şekil 2.WB IgM deneyinde oluşan bandlar

- 1 : Pozitif kontrol
- 2 :Negatif kontrol (SKG'dan 91 nolu olgu)
- 3,4:Pozitif hastalar(1 ve 2 nolu ES'li hastalar)

1 ve 2 nolu ES'li hastaların WB IgG deneyinde oluşan bandlar şekil 3 'te görülmektedir.

31 ve 39 nolu LS'li olguların WB IgG deneyinde oluşan bandlar şekil 4 'te görülmektedir.

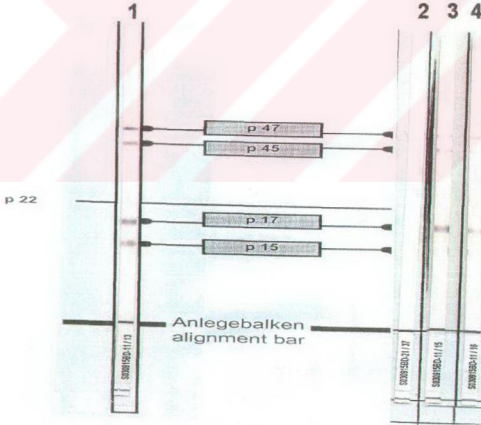


Şekil 3. WB IgG deneyinde oluşan bantlar

1 : Pozitif kontrol

2 :Negatif kontrol (SKG'dan 91 nolu olgu)

3,4:Pozitif hastalar(1 ve 2 nolu ES'li hastalar)



Şekil 4. WB IgG deneyinde oluşan bantlar

1 : Pozitif kontrol

2 :Negatif kontrol (SKG'dan 93 nolu olgu)

3,4:Pozitif hastalar(31 ve 39 nolu LS'li hastalar)

Biyolojik yalancı pozitiflik (BYP) gösteren toplam 20 olgunun 14'ü kadın 6' sı erkek ve bu olguların yaşları 12-89 yaş arasında değişmekte olup yaş ortalaması 41.6 idi. Bu grupta yer alan olguların hepsinin nontreponemal testleri (RPR,VDRL)pozitif iken treponemal testleri (TPHA,FTA-ABS IgM ve FTA-ABS IgG) ve Western-blot IgM ve Western-blot IgG testleri negatif olarak bulundu(Tablo 12).

Tablo 12. BYP(Biyolojik Yalancı Pozitif) gösteren kontrol grubunun demografik verileri; non treponemal, treponemal ve western-blot test sonuçları

No	Adı soyadı	Cinsiyet	Yaş	Nontreponemal Testler		Treponemal testler			Western-blot	
				RPR	VDRL	TPHA	FTA-Abs IgM	FTA-abs IgG	IgM	IgG
41	S.B	K	36	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
42	N.Y	K	27	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
43	H.K	K	36	(+)	¼	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
44	H.K	E	32	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
45	H.A	K	54	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
46	M.B	E	47	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
47	A.Ö	K	45	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
48	H.Y	K	79	(+)	1/16	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
49	S.P	K	85	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
50	M.R	K	26	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
51	N.K	K	22	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
52	M.G	K	12	(+)	1/8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
53	N.T	E	89	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
54	A.G	K	33	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
55	N.Y	K	27	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
56	S.K	E	40	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
57	K.Y	K	34	(+)	1/32	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
58	E.P	K	28	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
59	H.T	E	42	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
60	A.D	E	37	(+)	1/16	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

K:Kadın, E:Erkek

Diğer spiroket infeksiyonlu olguların(DSİO) oluşturduğu toplam 20 olgunun 5' i kadın 15'i erkek ve bu olguların yaş ortalaması 29.2 idi. Bu grupta yer alan olguların dördünde(65,68,74 ve 79 nolu olgularda) nontreponemal testleri (RPR,VDRL)pozitif saptanırken, treponemal testleri (TPHA,FTA-ABS IgM ve FTA-ABS IgG) ve Western-blot IgM ve Western-blot IgG testleri negatif olarak bulundu (Tablo 13).

Tablo 13. Diğer spiroket infeksiyonlu olguların(DSİO) bulunduğu kontrol grubunun demografik verileri ; nontreponemal ,treponemal ve western-blot test sonuçları

No	Adı soyadı	Cinsiyet	Yaş	Nontreponemal testler		Treponemal testler			Western-blot	
				RPR	VDRL	TPHA	FTA-abs IgM	FTA-Abs IgG	IgM	IgG
61	S.B	K	38	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
62	A.E	E	29	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
63	G.G	K	35	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
64	F.G	E	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
65	İ.Ö	E	50	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
66	O.C	E	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
67	A.Ç	K	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
68	C.A	E	23	(+)	½	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
69	M.P	E	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
70	E.Y	K	9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
71	M.B	K	33	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
72	F.K	E	37	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
73	H.K	E	3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
74	N.Ö	E	77	(+)	¼	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
75	S.T	E	61	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
76	İ.C	E	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
77	S.L	E	50	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
78	S.A	E	13	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
79	C.B	E	63	(+)	1/1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
80	C.K	E	16	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

K:Kadın, E:Erkek

Sağlıklı kontrol grubu (SKG) 'nun oluşturduğu toplam 20 olgunun 2'si kadın 18' i erkek ve bu grupta yer alanların yaşları 21-54 yaş arasında değişmekte olup yaş ortalaması 37.3 idi. Bu grupta yer alan kişilerin nontreponemal testleri(RPR,VDRL), treponemal testleri (TPHA,FTA-ABS IgM ve FTA-ABS IgG) ve Western-blot IgM ve Western-blot IgG testleri negatif bulundu(Tablo 14).

Tablo 14. Sağlıklı kontrol grubunun(SKG) demografik verileri; nontreponemal, treponemal ve western-blot test sonuçları

No	Adı soyadı	Cinsiyet	Yaş	Nontreponemal Testler		Treponemal testler			Western-blot	
				RPR	VDRL	TPHA	FTA-Abs IgM	FTA-Abs IgG	IgM	IgG
81	G.K	E	38	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
82	N.H	E	27	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
83	A.E	E	50	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
84	M.T	E	26	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
85	H.U	K	49	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
86	Y.A	E	48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
87	N.U	E	28	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
88	A.Ç	E	39	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
89	B.A	E	43	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
90	H.K	E	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
91	P.B	K	46	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
92	S.K	E	37	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
93	Y.C	E	54	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
94	H.G	E	46	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
95	M.A	E	23	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
96	A.T	E	29	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
97	O.K	E	21	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
98	F.Ç	E	21	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
99	D.T	E	50	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
100	Ö.Ç	E	47	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

K:Kadın, E:Erkek

Çalışma gruplarında(Erken sifiliz ve Latent sifiliz) WB IgM ve IgG testinde saptanan antijenlerin dağılımı incelendiğinde ;ES' li olguların WB IgM testinde en sık (18 olguda) TpN17 antijeni pozitif olarak saptanırken , LS'li olguların WB IgG testinde de en sık (18 olguda) TpN17 antijeni pozitif olarak saptanmıştır.(Tablo 15)

Tablo 15. Çalışma gruplarında Western-blot IgM ve IgG testinde saptanan antijenlerin sonuçları

Antijenler	Erken sifiliz						Latent sifiliz					
	WB IgM			WB IgG			WB IgM			WB IgG		
	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)
TpN15	0	0	20	4	1	15	0	0	20	4	1	15
TpN17	18	1	1	18	0	2	1	0	19	18	0	2
TmpA	2	2	16	13	2	5	0	0	20	12	1	7
TpN47	0	0	20	7	1	12	0	0	20	4	2	14

+:pozitif, (+):zayıf pozitif,(-):negatif

ES'li olgularda dönemlere göre(primer / sekonder) Western-blot IgM ve IgG testinde saptanan antijenlerin sonuçları Tablo 16' de yer almaktadır.

Tablo 16. Western-blot IgM ve IgG testinde saptanan antijenlerin erken sifiliz dönemlerine(primer /sekonder) göre sonuçları

Antijenler	Primer dönem						Sekonder dönem					
	WB IgM			WB IgG			WB IgM			WB IgG		
	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)	+	(+)	(-)
TpN15	0	0	7	2	0	5	0	0	13	2	1	11
TpN17	6	0	1	5	0	2	12	1	0	13	0	0
TmpA	1	1	6	3	1	3	1	1	10	10	1	2
TpN47	0	0	7	1	0	6	0	0	13	3	1	9

+:pozitif, (+):zayıf pozitif,(-):negatif

Çalışmamızda ES'li olgular ile SKG olguları WB IgM testinde saptanan antijenlerin pozitifliği yönünden karşılaştırıldığında ; TpN17 antijeni ES'li 19 olguda pozitif olarak saptanmış, SKG'nda hiç pozitif saptanmamış , istatistiki olarak aralarında ileri derecede anlamlı bir fark saptanmıştır($p < 0.001$). TmpA antijeni ise ES'li dört olguda pozitif olarak saptanmış , SKG'unda hiç pozitiflik saptanmamış , istatistiki olarak aralarında anlamlı bir fark saptanmıştır.($p < 0.05$) (Tablo 17). TpN15 ve TpN47 antijenleri gerek ES'li olgularda gerekse SKG'unda pozitif olarak saptanmamıştır.

Tablo 17. Erken sifilizli olgular ile Sağlıklı kontrol grubunun Western-blot IgM testinde TpN17 ve tmpA antijen pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Gruplar	Antijenler							
	TpN17 ^a				tmpA ^b			
	(+)		(-)		(+)		(-)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ES(n:20)	19	95	1	5	4	20	16	80
SKG(n:20)	0	0	20	100	0	0	20	100

a; $X^2:36$, $p < 0.001$

b; $X^2:4.44$, $p < 0.05$

Çalışmamızda LS'li olgular ile SKG'u olgular WB IgG testinde saptanan antijen pozitifliği yönünden karşılaştırıldığında ; TpN15 antijeni LS'li beş olguda pozitif olarak belirlenmiş, SKG'nda hiç pozitiflik saptanmamış istatistiki olarak aralarında anlamlı bir fark belirlenmiştir. ($p < 0.05$) TpN17 antijeni LS'li 18 olguda pozitif olarak belirlenmiş, SKG'nda hiç pozitiflik saptanmamış istatistiki olarak aralarında ileri derecede anlamlı bir fark saptanmıştır. ($p < 0.001$) TmpA antijeni LS'li 13 olguda pozitif olarak belirlenmiş, SKG'nda hiç pozitiflik saptanmamış istatistiki olarak aralarında ileri derecede anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0.001$). TpN47 antijeni LS'li altı olguda pozitif olarak belirlenmiş, SKG'nda hiç pozitiflik saptanmamış istatistiki olarak aralarında anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 18)

Tablo 18. Latent sifilizli olgularla sağlıklı kontrol grubu olgularının Western-blot IgG testinde TpN15, TpN17 , tmpA, TpN47 antijen pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Gruplar	Antijenler															
	TpN15 ^a		TpN17 ^b		TmpA ^c		TpN47 ^d									
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)								
	n	%	n	%	n	%	n	%								
LS(n:20)	5	25	15	75	18	90	2	10	13	65	7	35	6	30	14	70
SKG(n:20)	0	0	20	100	0	0	20	100	0	0	20	100	0	0	20	100

a: $X^2:5.71, p < 0.05$

b: $X^2:32.7, p < 0.001$

c: $X^2:19.26, p < 0.001$

d: $X^2:7.06, p < 0.05$

ES'li olguların tanısında WB IgM testinde saptanan antijenlerden TpN17' nin performans parametreleri ve tanisal uyumu incelendiğinde; Duyarlılık %95, Özgüllük %100 , PKD %100 , NKD % 95, Doğruluk %97.5 iken Kappa katsayısı ,K:0.95>0.70 , TmpA antijeninin performans parametreleri ve tanisal uyumu incelendiğinde Duyarlılık %20, Özgüllük %100, PKD %100, NKD %56, Doğruluk %60 iken Kappa katsayısı, K: 0.20 <0.70 olarak belirlenmiştir.(Tablo 19) Diğer antijenler TpN15 ve TpN47 ise WB IgM testinde saptanamamıştır.

Tablo 19.Erken sifiliz'in tanısında TpN17,tmpA antijen pozitifliği temelinde Western-blot IgM testinin performansının değerlendirilmesi

Antijen	ES		SKG	Du(%)	Öz(%)	PKD(%)	NKD(%)	Doğruluk(%)	K
	+	-							
TpN17	+	19	0	95	100	100	95	97.5	0.95
	-	20	100						
tmpA	+	4	0	20	100	100	56	60	0.20
	-	20	100						

ES:Erken sifiliz, SKG:Sağlıklı kontrol grubu ,Du: Duyarlılık, Öz:Özgüllük, PKD:Pozitif kestirim değeri, NKD:Negatif kestirim değeri, K:Kappa katsayısı

LS'li olguların tanısında WB IgG testinde saptanan antijenlerden TpN15 ' in performans parametreleri ve tanısal uyumu incelendiğinde ; Duyarlılık%15, Özgüllük %100, PKD %100, NKD % 57, Doğruluk %62.5 olarak Kappa katsayısı ,K:0.25<0.70 ,TpN17 ' nin performans parametreleri ve tanısal uyumu incelendiğinde; Duyarlılık %90, Özgüllük %100, PKD %100, NKD %91, Doğruluk %95 olarak Kappa katsayısı, K: 0.95>0.70 , tmpA ' nın performans parametreleri ve tanısal uyumu incelendiğinde; Duyarlılık %65, Özgüllük %100, PKD %100, NKD %74 , Doğruluk %82.5 iken Kappa katsayısı,K:0.90>0.70 , TpN47'nin performans parametreleri ve tanısal uyumu incelendiğinde; Duyarlılık %30 , Özgüllük %100, PKD %100, NKD %59, Doğruluk %65 iken Kappa katsayısı,K:0.30<0.70 olarak bulunmuştur.(Tablo 20).

Tablo 20. Latent sifilizin tanısında TpN15, TpN17, tmpA, TpN47 antijen pozitifliği temelinde Western-blot IgG testinin performansının değerlendirilmesi

Antijen		LS	SKG	Du(%)	Öz(%)	PKD(%)	NKD(%)	Doğruluk(%)	Kappa
TpN15	+	5	0	25	100	100	57	62.5	0.25
	-	15	20						
TpN17	+	18	0	90	100	100	91	95	0.90
	-	2	20						
tmpA	+	13	0	65	100	100	74	82.5	0.65
	-	7	20						
TpN47	+	6	0	30	100	100	59	65	0.30
	-	14	20						

LS:Latent sifiliz, SKG:Sağlıklı kontrol grubu ,Du: Duyarlılık, Öz:Özgüllük, PKD:Pozitif kestirim değeri, NKD:Negatif kestirim değeri

Çalışma ve kontrol gruplarının Western-blot IgM ve IgG pozitifliği incelendiğinde ; Erken sifiliz olgularının 19' unda Western-blot IgM pozitif olarak belirlenmiş ve bir olguda borderline olarak saptanmış . Latent sifiliz olgularının 17' sinde Western-blot IgG pozitif olarak belirlenmiş ve üç olguda borderline olarak saptanmış . Çalışma ve kontrol gruplarının Western-blot IgM ve IgG değerleri Tablo 21' de gösterilmiştir

Tablo 21. Çalışma ve kontrol gruplarında Western-blot IgM ve IgG sonuçlarının dağılımı

Gruplar	n	Western-blot IgM			Western-blot IgG		
		(+)	B	(-)	(+)	B	(-)
ES	20	19	1	0	17	1	2
LS	20	1	0	19	17	3	0
BYP	20	0	0	20	0	0	20
DSİO	20	0	0	20	0	0	20
SKG	20	0	0	20	0	0	20

ES:Erken sifiliz , LS:Latent sifiliz, BYP:Biyolojik yalancı pozitif, DSİO:Diğer spiroket infeksiyonlu olgular, SKG:Sağlıklı kontrol grubu
B:Borderline(sınırdadır)

Erken sifilizli olguların dönemlere göre(primer / sekonder) Western - blot IgM ve IgG sonuçlarının dağılımı Tablo 22 ' de gösterilmiştir.

Tablo 22. Erken sifilizli olguların dönemlerine göre Western-blot IgM ve IgG sonuçları

Dönem	n	WB IgM		WB IgG			
		(+)	B	(-)	(+)	B	(-)
Primer	7	7	0	0	5	0	2
Sekonder	13	12	1	0	12	1	0

B:Borderline(sınırdı değer), WB:Western-blot

Çalışmamızda , ES'li olgularla SKG'u olgular WB IgM pozitifliği yönünden karşılaştırıldığında ;ES'li olgularda WB IgM pozitif olgu sayısı kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı olacak şekilde yüksek saptanmıştır.($p<0.001$) (Tablo 23)

Tablo 23. Erken sifilizli olgular ile sağlıklı kontrol grubu olgularının Western-blot IgM testi pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Gruplar	WB IgM				$\chi^2:36.1$ $p<0.001$
	(+)		(-)		
	n	%	n	%	
ES(n:20)	20	100	0	0	
SKG(n:20)	0	0	20	100	

Çalışmamızda LS'li olgular ile SKG olguları WB IgG pozitifliği yönünden karşılaştırdığımızda ;LS'li olgularla kontrol grubu olgular arasında WB IgG pozitifliği yönünden ileri derecede anlamlı bir fark saptanmıştır($p<0.001$)(Tablo 24)

Tablo 24. Latent sifilizli olgular ile sağlıklı kontrol grubu olgularının Western-blot IgG pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Gruplar	WB IgG				X ² :36.1 p<0.001
	n	%	n	%	
LS(n:20)	20	100	0	0	
SKG(n:20)	0	0	20	100	

ES'li olguların tanısında Western-blot IgM testinin performans parametreleri ve tanısal uyumu incelendiğinde; Duyarlılık %100 , Özgüllük %100 , PKD %100, NKD %100 , Doğruluk %100 iken Kappa katsayısı,K:1>0.70 olarak bulunmuştur.(Tablo 25)

Tablo 25. Erken sifilizli olguların tanısında Western-blot IgM testinin performansının değerlendirilmesi

				Du(%)	Öz(%)	PKD(%)	NKD(%)	Doğruluk(%)	Kappa
		ES	SKG						
WB IgM	+	20	0	100	100	100	100	100	1
	-	0	20						

Du: Duyarlılık, Öz:Özgüllük, PKD:Pozitif kestirim değeri, NKD:Negatif kestirim değeri

LS'li olguların tanısında WB IgG testinde performans parametreleri ve tanisal uyumu incelendiğinde ; Duyarlılık %100 , Özgüllük %100, PKD %100 , NKD %100 , Doğruluk %100 iken Kappa katsayısı ,K: 1>0.70 olarak belirlenmiştir. (Tablo 26)

Tablo 26.Latent sifilizli olguların tanısında Western-blot IgG testinin performansının değerlendirilmesi

		LS	SKG	Du(%)	Öz(%)	PKD(%)	NKD(%)	Doğruluk(%)	Kappa
				%95 CI					
WB IgG	+	20	0	100	100	100	100	100	1
	-	0	20						

Du: Duyarlılık, Öz:Özgüllük, PKD:Pozitif kestirim değeri, NKD:Negatif kestirim değeri

TARTIŞMA

Semptomatik ve asemptomatik devreleriyle yıllarca süren sifiliz , kronikleşme eğilimi ile başlangıcından itibaren sistemiktir. Edinsel sifilizin erken infeksiyöz ve geç, non-infeksiyöz olmak üzere iki devresi vardır. Klinik belirtilerinin çeşitliliği ile tanınan sifiliz çok çeşitli deri ve mukoza belirtileri ile birçok deri hastalığı ile karıştırılabilmekte ve tanısal problemler meydana gelmektedir. Sifiliz tanısının kesin konulabilmesi için klinik bulgu ve belirtilerin yanında klinisyenin her zaman laboratuvara gereksinimi vardır. Etkenin tavşan testisi veya deri içinde infeksiyonuyla üretiminin dışında izolasyonu mümkün olmadığından , geçmişten günümüze kadar genellikle serolojik testler ve bazen karanlık saha mikroskopisi invitro tanıda önemlerini korumuşlardır. Laboratuvarda kullanılan testlerin ; yeterince pratik , özgül ve duyarlı olması serolojik tanı için oldukça önemlidir. Bugün için serolojik tanıya yönelik laboratuvarlarda en sık kullanılan nonspesifik(nontreponemal) , ve spesifik (treponemal) yöntemlere ilişkin bazen görülebilen yalancı pozitiflik ve negatiflik problemleri hastalığın erken tanısı, prognozu ve tedavisi yönünden oldukça ciddi problemlerdir(1,7,21,37,53).

Gerek sifilizin değişik dönemlerine ilişkin , gerekse sifilizin serolojik laboratuvar sonuçlarını çapraz reaksiyonlarla taklit eden değişik patolojiler nedeniyle nontreponemal ve treponemal testlerdeki bilinen problemler nedeniyle son yıllarda daha duyarlı ve özgül test arayışları artmıştır. Bu testlerden biri de sifilizin serolojik tanısında rutin kullanımdan daha fazla araştırmalar amacıyla kullanılan ve genelde hastalığın dönemlerinin belirlenmesinde yararlanılan western-blot (WB) testidir.(5,11,19,33,37,42,63)

Deneysel olarak enfekte hayvanlar ve sifilizli kişilerin serumlarında yapılan çalışmalarda geliştirilen WB testinde en az dokuz *Treponema pallidum* polipeptidi , beş major antijen 15(TpN15),17 (TpN17), 33,37(TpN37),39,43,45(TmpA), 47(TpN47) ve 97 kDa olarak tanımlanmış , bu polipeptitlerden en azından beşinin TpN15, TpN17,TpN37,TmpA ve TpN47'inin tanısal değeri olduğu bildirilmiştir.(3,6,32,35,42). Sifiliz tanısı ve WB ilişkisi temelinde yapılan çalışmalarda genelde tanı için hedeflenen major antijen bandlarında pek farklılık olmamasına (genellikle TpN15,TpN17,TmpA ve TpN47 ortak) karşın testte kullanılan antijenlerin niteliği (doğal yada rekombinant) ve pozitiflik kriterinde temel alınan band sayısındaki farklılıklar dikkati çekmektedir. Nitekim çoğu çalışmalarda testte kullanılan antijenler , *T. pallidum* 'un doğal hücre komponentlerinin elde edilirken 1999 yılında Brezilya'dan, 2001 yılında Almanya'dan bildirilen iki çalışmada rekombinant antijenler kullanılmıştır (54,57).

Bizim çalışmamızda kullandığımız ve ticari olarak geliştirilen WB kitinde antijenler , *T. pallidum* Nichos suşunun membran proteinlerinden elde edilen antijenler ,TpN15, TpN17,TmpA,TpN47 proteinleridir. Çalışmamızda erken sifilizli olguların (hem primer hem sekonder)WB IgM testinde en sık saptanan antijen TpN17 olmuş, onu üç olguda TmpA (TpN17 ile birlikte) izlemiş , bir olguda ise sadece TmpA belirlenmiştir. WB IgG testinde ise yine en sık saptanan antijen TpN17 antijeni olmuş onu TmpA izlemiştir. WB IgM TpN17 antijeni erken sifilizli olgularda kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha yüksek bulunurken , Latent sifilizli olgularda da WB IgG testinde dört antijen(TpN15, 17,TmpA,TpN47) kontrol grubuna göre istatistiki olarak yüksek bulunmuştur.

Josephine ve ark(26) sifilizli 98 hasta ile yaptıkları çalışmada *T.pallidum*' a ait major dört antijeni kullanmışlar , en sık saptanan antijenlerin sırasıyla TpN15, TmpA ve TpN47 olduğu bildirilmiş, 1999 yılında ABD'de 124 hasta ile yapılan bir çalışmada benzer nitelikte antijenler kullanılmış 47 ve 15 kDa 'luk antijenlerin en sık saptanan antijenler olduğu belirtilmiştir(16). 2001'de Sambri ve ark (54) primer sifilizli 74 , sekonder sifilizli 48 toplam 122 erken sifilizli ve latent sifilizli 74 olguda yaptıkları çalışmada ;*T. pallidum*'un doğal antijenlerinden elde edilen WB kitiyle rekombinant antijenlerden ibaret WB kitini karşılaştırmışlar , bizim kitimize benzer olarak, doğal antijenlerden ibaret WB'da en sık TpN47 antijeni , rekombinant WB' de ise rTmpA antijeni pozitif bulunmuştur. Brezilyadan Sato ve ark(57) farklı klinik aşamalardaki sifilizli 25 hasta ile yaptıkları çalışmada , rekombinant WB kitinde en sık pozitif saptanan antijenik bantın, TpN17 olduğu belirtilmiş, buna benzer bir sonuç Fujimura ve ark(15) tarafından da bildirilmiştir. Murphy ve ark (36) 1999 yılında otoimmün hastalıklı 107, sifilizli 50 ve sağlıklı kontrol grubu 57 kişi ile yapılan çalışmada 17 kDa 'luk antijenin erken sifilizde en özgül antijen olduğu , 15 kDa ' luk antijenin ise erken ve geç dönemde yüksek özgüllük gösterdiği bildirilmiştir. Wosnicova ve Votava(76) ES'li 27, LS'li 10 kişi ile yaptıkları çalışmada 47 kDa'luk antijenin önemli olduğu vurgulanarak , bu antijene karşı düşük aviditeli IgG antikoları meydana geldiği bildirilmişlerdir.

Çalışmamızda gerek ES gerek LS dönemlerinde saptanan antijenlerin tanısal performansı incelendiğinde , ES'liler de WB IgM TpN17 antijeninin duyarlılık , özgüllük, PKD,NKD,doğruluk ve kappa değerleri sırasıyla %95,%100,%100,%97.5 ve 0.95 olarak bulunmuş, tmpA'nın ise duyarlılığı ve NKD oldukça düşük bulunurken , özgüllük ve PKD ise yüksek bulunmuştur. Latent sifilizli olgularda da WB IgG TpN17 antijeninin performansı diğer antijenlere göre oldukça yüksek (sırasıyla,

duyarlılık %90, Özgüllük %100,PKD %100,NKD %91,doğruluk %95 ve kappa katsayısı 0.90) olarak belirlenmiş, onu duyarlılık ve NKD değerleri pek de iyi olmayan TmpA antijeni izlemiştir.

2001 yılında Avusturalya'dan bildirilen ve major antijenlerden TpN15, TpN17,TmpA ve TpN47 'nin kullanıldığı çalışmada, tanısal performansı en yüksek antijenin TpN15 olduğu belirlenmiş, diğerlerinden en az iki antijenin pozitif olması halinde tanının daha güvenilir olduğu, TpN45 ve 47 bandlarıyla genellikle belirsiz WB sonucu alındığı belirtilmiştir(26).George ve ark.(16) yaptıkları çalışmada sifilizli 124 hastada 17 kDa ' luk antijenin tanısal performansının çok yüksek olduğu , bu band yokluğunda belirsiz WB sonuçları alındığı belirtilmiştir. Benzer bir sonucu Sato ve ark.(57) ile Fujimura ve ark. (15)da bildirmişlerdir. Almanya' da yapılan bir çalışmada ise erken ve latent sifilizli olgularda TpN47 antijeninin performansının diğer antijenlere göre yüksek olduğu belirlenmiştir(54). Yapılan farklı üç çalışmada ise özellikle konjenital sifiliz tanısında WB IgM TpN47 kDa' luk antijenin önemli olabileceği vurgulanmıştır.(32,55,56)

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar , George ve ark.(16), Sato ve ark(57), Fujimura ve ark(15) ile Murphy ve ark.(36) çalışmalarına benzerlik gösterirken , diğer çalışma sonuçlarından farklı bulunmuştur. Çalışma sonucumuz ve uluslararası çalışmalar , sifilizin (hem erken hem latent dönem) serolojik tanısında kullanılan WB testinde her bir major antijenin tanısal performansının çalışma yapılan ülkelere göre farklılık gösterdiğini vurgulamıştır.

Çalışmamızda hasta (ES ve LS)ve kontrol grubu (BYP,DSİO,SKG) olguların en az kuvvetli bir band pozitifliği temelinde WB IgM ve en az iki band pozitifliği temelinde WB IgG sonuçlarını irdelediğimizde ES'li 20 olgunun 19(%95)'unda WB IgM pozitif ,bir olguda borderline, LS'li 20 olgunun 17(%85) 'sinde WB IgG pozitif iken , bir olguda (39 nolu olgu) uzamış IgM serokonversiyonuna bağlı olarak WB IgM pozitif

saptanmıştır. ES'li olgularda farklı iki antijenin(TpN17 ve TmpA) belirlendiği primer sifilizli 5 nolu olgu (C.A) ve 16 nolu olgu (N.K) da ise erken dönemde başvuru olduğu için WB IgG serokonversiyonun gelişmediği şeklinde değerlendirilmiştir. BYP , DSİO ve SKG kontrol grubu olgularında ise WB IgM ve IgG testlerinde hiçbir pozitif sonuç belirlenememiştir.

Marangoni ve ark (34) erken sifilizli 21 olgu , 30 kan vericisi, 15 Borrelia ve Leptospirali kontrol olgularıyla yaptıkları çalışmada , ES'li tüm olgularda WB IgG testini pozitif bulmuşlar , kontrol grubunda ise WB IgG testini negatif saptayarak, WB IgG testinin duyarlılığı ve özgüllüğünün %100 olduğunu bildirmişlerdir. Almanya da bizim çalışmada kullandığımız nitelikteki antijenleri kullanarak yapılan bir çalışmada ,ES'li 122 olgunun 121'inde , LS'li 74 olgunun 74' ünde WB IgG testini pozitif bulmuşlar, WB testinin duyarlılığını %97.1, özgüllüğünü %96.1 olduğu bildirilmiştir(54). Bir başka çalışmada ise 124 sifilizli hastada WB testinin duyarlılığı %94 özgüllüğü %98 olarak bulunmuştur(16). ABD'den Bryne ve ark .(5) yaptığı çalışmada primer sifilizli 40 olgunun 36 'sında WB pozitif bulunmuş , BYP'li 29 olguda ise hiç pozitiflik bulunmamış, kan vericisi 28 olgunun sonuçları ise negatif bulunmuş, testin primer sifilizdeki duyarlılığının %93.8, özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmiştir. Avusturalya 'da yapılan bir çalışmada erken sifilizli 41, LS'li 24 serumun tümü WB pozitif saptanmış , BYP'li 91 serumun ve 37 kan vericisinin tümü negatif olarak saptanmıştır(27). ABD'de otoimmün hastalığı olan 107 hasta ve sifilizli 50 hasta ile benzer 57 olguluk kontrol grubunu içeren çalışmada WB testinin , otoimmün kaynaklı patolojilerle , sifilizin serolojik tanısı ayırımında mutlaka uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır(36).

Nitekim bizim çalışmamızda da WB IgM testinin erken sifilizli olgularda perfomans parametreleri(Duyarlılık, Özgüllük, PKD, NKD, Doğruluk) %100 olarak bulunmuş ve sifilizin farklı iki dönemi ile WB testinin tanısal temeldeki uyum katsayısı oldukça yüksek bir değer

olarak saptanmıştır. Kullanılan doğal antijenler ve pozitiflik olarak kabul edilen kriterler (IgM için en az belirgin bir band , IgG için ise en az belirgin iki band pozitifliği)temelinde , gerek erken , gerek latent dönemlerinde gösterdiği yüksek ayırt edici tanısal performans ve diğer kontrol gruplarında (BYP,DSİO,SKG) hiç pozitifliğin saptanmaması gibi sonuçlar bize, WB testinin sifiliz tanısında başvurulacak referans bir yöntem olduğu fikrini vermiştir.

Sonuç olarak; Bu çalışmada , rutinde kullanılan nontreponemal ve treponemal testlerin bilinen değişik nedenlere bağlı sifilizin farklı dönemlerinde bazen gösterdikleri performans yetersizliklerinde ve hastalığın farklı dönemlerinin tayininde WB yönteminin referans bir yöntem olarak kullanılabileceği fikrini vermiştir. Ayrıca çalışmamızda ES' li ve LS'li olgulardan alınan WB IgM ve IgG antijen sıklığı sonuçları, ülkemize özgü suşlarda TpN17 proteininin, sifiliz serokonversiyonunda en etkin antijen olduğunu ve bunu da TmpA' nın izlediğini göstermiştir. Bu sonuçla, *T. pallidum* suşlarının ülkelere göre antijenik komponentlerinde etkinlik yönünden varyasyon gösterebileceği izlenimi alınmıştır. Ancak 40 sifilizli , 60 kontrol grubu olgusuyla ülkemizde ilk defa yapılan bu çalışma sonuçlarına karşın, sifiliz olgularında ülkemize özgü *T. pallidum* suşlarında etkin antijen paterninin daha iyi tanımlanabilmesi ve doğal antijenlerden ibaret , kendine özgü pozitiflik kriterlerine sahip ticari kitin daha iyi değerlendirebilmesi için farklı merkezlerde yeni, geniş serili hasta-kontrol çalışmalarının yapılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Bu çalışma ile *Treponema pallidum* western-blot testi ile sifilitik ve nonsifilitik tablolarla antijenler arasındaki ilişkinin saptanması ve western-blot testinin sifiliz tanısındaki performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla sifilize ait klinik bulgu ve belirtilere sahip semptomatik ES'li 20 hastadan ayrıca , nonsemptomatik ancak sifiliz için yapılan serolojik testleri pozitif bulunan LS'li 20 olgunun oluşturduğu 40 hasta çalışmaya alınmıştır. Ayrıca kontrol grubu oluşturmak amacıyla çeşitli klinik nedenlerle biyolojik yalancı pozitiflik (BYP)gösteren 20 olgu,diğer spiroket infeksiyonlu olguların (DSİO) oluşturduğu 20 olgu ve sağlıklı kan vericilerinden(SKG) oluşan 20 olgunun oluşturduğu toplam 60 olgu çalışmaya alınmıştır. Çalışma ve kontrol grubu olguların tanısının netleşmesi için nontreponemal ve treponemal testler çalışıldı. Daha sonra çalışmamızda değerlendirilmesi amaçlanan Western-blot(WB) testi çalışıldı.

WB IgM testi ile ES'li olgularda en sık(%95) ve WB IgG testi ile LS'li olgularda en sık (%90) saptanan antijen TpN17 antijeni olmuş ve onu TmpA antijeni izlemiştir. ES'li olgularda WBİgM/TpN17 performans parametreleri ;Duyarlılık, Özgüllük,PKD,NKD,Doğruluk ve Kappa uyum katsayısı sırasıyla,%95, %100, %100, %97.5, 0.90, LS'li olgu WBİgG/TpN17 performans parametreleri sırasıyla %90, %100, %100,%91, %95, 0.90 olarak bulundu . ES'li hastalarda WB IgM test pozitifliği sayısı SKG'na göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p <0.001). LS'li olgularla SKG olgular arasında WB IgG test pozitifliği yönünden de ileri derecede anlamlı bir fark belirlenmiştir (p <0.001). ES'li hastalarda WB IgM testinin ve LS'li hastalarda WB IgG testinin performansı, Du:%100, Öz:%100, PKD:%100, NKD:%100, Doğruluk:%100, Kappa(K) :1 olarak bulunmuştur. Kontrol gruplarında ise WB IgM ve IgG testlerinde hiç pozitiflik saptanmamıştır.

Bu çalışma , rutinde kullanılan nontreponemal ve treponemal testlerin bilinen değişik nedenlere bağlı olarak sifilizin farklı dönemlerinde bazen gösterdikleri tanısal performans yetersizliklerinde ve hastalığın farklı dönemlerinin tayininde WB yönteminin referans bir yöntem olarak kullanılabileceği fikrini vermiştir. Ayrıca çalışmamızda ES' li ve LS'li olgulardan alınan WB IgM ve IgG antijen sıklığı sonuçları, ülkemize özgü suşlarda TpN17 proteininin, sifiliz serokonversiyonunda en etkin antijen olduğunu ve bunu da TmpA' nın izlediğini göstermiştir. Bu sonuçla, *T. pallidum* suşlarının ülkelere göre antijenik komponentlerinde etkinlik yönünden varyasyon gösterebileceği izlenimi alınmıştır. Ancak 40 sifilizli , 60 kontrol grubu olgusuyla ülkemizde ilk defa yapılan bu çalışma sonuçlarına karşın, sifiliz olgularında ülkemize özgü *T. pallidum* suşlarında etkin antijen paterninin daha iyi tanımlanabilmesi ve doğal antijenlerden ibaret , kendine özgü pozitiflik kriterlerine sahip ticari kitin daha iyi değerlendirebilmesi için farklı merkezlerde yeni, geniş serili hasta- kontrol çalışmalarının yapılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

SUMMARY

THE EVALUATION OF WESTERN BLOT ASSAY IN THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF EARLY AND LATENT SYPHILIS

In this study, we aimed to detect the relationship between antigens and syphilitic and non-syphilitic clinical stages, using Western blot (WB) assay and to evaluate the WB assay performance in the diagnosis of syphilis. A total of 40 patients including symptomatic 20 patients with early syphilis (ES) having clinical findings and symptoms and asymptomatic 20 patients with latent syphilis (LS) having positive serological test results for syphilis were included in this study. A total of 60 cases including 20 cases with biological false positiveness (BFP) resulted from various clinical causes and 20 cases with other spirochete infections (COSI) and 20 healthy blood donors (HBD) were included as control groups. Treponemal and non-treponemal tests were performed in order to clarify the diagnosis of study and control groups. Finally; WB assay which we aimed to evaluate its test performance, was applied for all of the groups.

The most encountered antigen was TpN17 in ES (95%) and LS (90%) cases using WB IgM and IgG assays, respectively. TmpA antigen was the second most encountered antigen for the same groups. The performance parameters; sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), accuracy and kappa coefficient of WB IgM/TpN17 were detected as 95%, 100%, 100%, 100%, 95%, 95%, 97.5% and 0.90 in cases with ES, respectively. The same performance parameters of WB IgG/TpN17 were detected as 90%, 100%, 100%, 91%, 95% and 0.90 in cases with LS, respectively. The positiveness number of WB IgM assay in patients with ES was found significantly higher than cases with HBD ($p < 0.001$). It was also found a higher significant difference between cases with ES and HBD for WB IgG assay positiveness ($p < 0.001$). The test performances of WB

IgM and WB IgG assays in patients with ES and LS, respectively were found as follows; sensitivity: 100%, specificity: 100%, PPV: 100%, NPV: 100%, Accuracy: 100% and Cappa coefficient: 1. It was found any positive result in control groups using WB IgM and IgG assays.

This study suggested that, WB assay can be used as a reference method for differentiate the various stages of syphilis, sometimes in the cases with diagnostic insufficiency of routinely used treponemal and non-treponemal tests resulting from known various causes. In addition, the antigen results results of WB IgM and IgG of cases with ES and LS showed that, TpN17 protein was the most effective antigen in the *T. pallidum* strains specific to our country and the second most effective antigen was TmpA in the syphilis seroconversion. These results suggested that the antigenic components of *T. pallidum* strains show variations for effectiveness. New extended serial patient-control studies were needed for defination of active antigen pattern of *T. pallidum* strains specific to our country and also to evaluate the commercial WB kit having native antigens and positiveness criteria specific to its own nature in different centers.

KAYNAKLAR

1. Aaçfidan A .Treponema pallidum : Etken , Labaratuvar Tanısı ve Tanıda Karşılaşılan Sorunlar. Aaçfidan A, Anđ Ö. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar,İstanbul,2000;141-150
2. Baker- Zander SA, Fohn MJ,Lukehart SA. Development of cellular immunity to individual soluble antigen of T. pallidum during experimental syphilis.J.immunol.1998;4363-69
3. Baughn RE,Muscher DM. Immun response spirochetes. Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W. Clinical Immunology Principles and Practice .Mosby,St Louis 1996;519-534
4. Bilgehan H. Treponema pallidum .Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler kitabevi Barış yayınları,İzmir.2002;(37):596-605
5. Byrne R.E, Laska S, Bell M, Larson D, Phillips J, Todd J. Evaluation of a Treponema pallidum western immunblot assay as a confirmatory test for syphilis. J Clin Microbiol,1992;115-22
6. Chapel TA. The variability of syphilitic chancres. Sex Transm Dis, 1978;5:68-70
7. Crissey JT, Denenholz D A.Syphilis. Clin Dermatol.1984; 1-122
8. Csonca G , Pace J.Endemic nonvenereal treponematosıs (bejel) in Saudi Arabia . Rev infect Dis.1985;5260-5
9. Cushman P, Sherman C. Biologic false-positive reactions in serologic test for syphilis in narcotic addiction Reduced incidence syphilis during methadone maintenance treatment .AMI Clin Pathol.1974;61:346-51

10. Deacon WE, Lucas JB, Price EV. Fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) test for syphilis. *JAMA*. 1966;624-8
11. Dettori G, Grillo R, Mora G, Cavalli A, Alinovi A, Chezzi C, Sanna A. Evaluation of Western immunoblotting technique in the serological diagnosis of human syphilitic infections. *Eur. J. Epidemiol.* 1989;522-30
12. Dobson SRM, Taber LH, Baugh RE. Recognition of *Treponema pallidum* antigens by IgM and IgG antibodies in congenitally infected newborns and their mothers. *J Infect. Dis.* 1998; 903-910
13. Egglestone SI, Ellis DA, Herring A, Smith EG, Turner AJL, Zadik PM. Serological diagnosis of syphilis. PHLS Syphilis serology working group. 2000;158-62
14. Erbeding EJ, Vhalov D, Nelson KE, Rompalo AM, Cohn S, Sanchez P, Quinn TC, Brayhwaite W, Thomas D.L. Syphilis serology in Human Immunodeficiency Virus Infection: Evidence for false – Negative Fluorescent Treponemal testing. *The Journal of Infectious Diseases*, 1997;1397-1400
15. Fujimura K, Ise N, Ueno E, Hori T, Fujii N, Okada M. Reactivity of recombinant *Treponema pallidum* (r-Tp) antigens with anti -Tp antibodies in human syphilitic sera evaluated by ELISA. *J. Clin. Lab. Anal.* 1997;315-322
16. George RW, Pope V, Fears M, Morrill B, Larsen S. An analysis of the value of some antigen-antibody interaction used as diagnostic indicators in a treponemal western blot (TWB) test for syphilis. *J Clin Lab Immunol.* 1998;27-44
17. George RW, Pope V, Larsen SA. Treponemal Western blot test (TWB). Larsen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy J. A manual of test for syphilis. American Public Health Association Washington. 1998;346-61

18. Gimpel E, Sanchez PJ, Wendel GD, Burstain JM, McCracken GH, Radolf JD, Norgard MV. Use of polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *T. pallidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sera and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*. 1991;17:11-18
19. Hanft PA, Bishop NH, Miller JN, Lovett MA. Humoral immune response in experimental syphilis to polypeptides of *Treponema pallidum*. *J Immunol*. 1983;131:73-77
20. Hay PE, Clarke JR, Strugnell RA, Taylor RD, Goldmeier D. Use of the polymerase chain reaction to detect DNA sequences specific to pathogenic treponemes in cerebrospinal fluid. *FEMS Microbiol Lett*. 1990;78:233-8
21. Hollier LM, Cox SM. Syphilis. *Semin Perinatol*. 1998;22:323-31
22. Hunter EF, Adams MR. Problems effecting performance of the fluorescent treponemal antibody absorption test for syphilis. *J Clin Microbiol*. 1979;19:163-166
23. Isselmuiden OE, Schouls LM, Stolz E, Aelbers GNM, Agterberg CM, Emborj JDA. Sensitivity and Specificity of an enzyme linked immunosorbent assay using the recombinant DNA derived *Treponema pallidum* protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and potential use of TmpA for assessing the effect of therapy. *J Clin Microbiol*. 1989;27:152-7
24. Jackman JD, Rodol JD. Cardiovascular syphilis. *Am J Med*. 1989;87:425
25. Jaffe HW, Muscher DM. Management of the reactive syphilis serology. Holmes KK, Mardh PA, Sparling PH, Weisner PJ, Cates W, Lemon SM, Stamm WE. *Sexually Transmitted Diseases*. New York. 1990;64:935-939

26. Josephine L, Backhouse JL, Serge J, Nesteroff SI. Comparison with the FTA-ABS test as a confirmatory test for syphilis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2001;9-14
27. Klein VR, Cox SM, Mitchell MD. The Jarish Herxheimer reaction complicating syphilotherapy in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1990;375-80
28. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Spirochetal infections. *Color Atlas and Textbook of Diagnostik Mikrobiology.* Philadelphia Newyork. 2000;18:953-62
29. Larsen SA, Hunter EF, Creighton ET. Syphilis. Holmes KK, Mardh PA, Sparling PH, Wiesner PJ, Cates W, Lemon SM, Stamm WE. *Sexually Transmitted Diseases.* New york. 1990;927-34
30. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 1995;1-21
31. Levett P. *Leptospira and Leptonema. Manual of Clinical Microbiology.* 2003.829
32. Lewis LL, Taber LH, Baughn RE. Evaluation of immunoglobulin M Western Blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. *J. Immunol.* 1990;296-302
33. Lukehart SA, Baker-Zander SA, Gubish E. Identification of *Treponema pallidum* antigens :comparison with nonpathogenic treponemes. *J Immunol* .1982;833-38
34. Marangoni A, Sambri V, Olmo A, D'Antuano, Negosanti M, Cevenini R. IgG western -blot as a confirmatory test in early syphilis. *Zentrabl Bacteriol* ,1999;125-33

42. Norris SJ. Treponema pallidum Polipeptide Research Group . Polypeptides of Treponema pallidum : progress toward understanding their structural, functional and immunologic roles. Microbiol.Rev.1993;750-79
43. Ozanne G, D' Haleweyn M, Larsen S.A. Comparison of the fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) test with the FTA-ABS double staining test for detection of antitreponemal immunoglobulin M in the 19S fraction of human serum . J Clin Microbiol. 1993;102-6
44. Özbal Y. Sifiliz Tanısında Uygulanan testler. Temel immunoloji. Nobel tıp kitapçevleri İstanbul. 2000;8:372-75
45. Petit DE, Larsen SA, Pope V, Perryman MW, Adams MR . Unheated serum reagin test as a quantitative test for syphilis. J. Clin Microbiol.1981;238-42
46. Pierangeli SS, Goldsmith GH , Krnic S, Horris Differences in functional activity of anticardiolipin antibodies from patients with syphilis and those with antiphospholipid syndrome . Infect Immun . 1994;4081-84
47. Pillay A, Liu H, Ebrahim S, Chen CY, Lai W, Fehler G, Ballard RC, Steiner B, Sturm AW, Morse SA. Molecular Typing of Treponema pallidum in South Africa :Cross-Sectional studies .Journal of Clinical Microbiology.2002;256-58
48. Pope V, Bragg SL, Schriefer ME, Larsen SA. Immunologic Methods for Diagnosis of Spirochetal Diseases. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of clinical Laboratory Immunology. ASM press . Washington D.C.2002;477-86
49. Reginato AJ. Syphilitic arthritis and osteitis Rheum Dis Clin North Am, 1993;19:379-98
50. Riviere GR, Vagoner M. Identification of spirochetes related to Treponema pallidum in nekrotizing ulcerative gingivitis and chronic periodontitis .N Engl J Med ,1991;539-43

51. Robbins KC. Basic Pathology(Türkçe çeviri),Cinsel ilişki ile geçen hastalıklar ,Sifiliz. Nobel tıp kitapçevleri İstanbul. 2000;588-592
52. Rompalo AM. Can Syphilis be Eradicated from the world?.Division of infectious Diseases. 2001;41-44
53. Salyers AA, Whitt DD,Bacteriel Pathogenesis A Molecular Approach .The spirochetes *Borrelia Burgdorferi* and *Treponema pallidum*. ASM press.Washington.2002;197-200
54. Sambri V, Marangoni A, Eyer C, Reichhuber C,Schet ES, Megosanti M, Antuono AD, Cevenini R. Western Immunblotting with five *Treponema pallidum* Recombinant Antigens for serologic Diagnosis of syphilis. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology,2001;534-39
55. Sanchez PJ, McCraccken JR, Wendel G.D.Moleculer analysis of the fetal IgM response to *Treponema pallidum* antigens : implications for improved serodiagnosis of congenital syphilis. J.Infect.Dis.1989;508-17
56. Sanchez PJ, Wendel GD, Norgard MV. IgM Antibody to *Treponema pallidum* in cerebrospinal fluid of infants with congenital syphilis. Amer Dis. Child. 1992;1171-75
57. Sato NS, Hirata RD, Zerbini LC, Silveira ED, Ueda M. Analysis of *Treponema pallidum* recombinant antigen for diagnosis of syphilis by western blotting tecnique. Rev Inst Med Trop Sao Paulo,1999;115-8
58. Saunders GC ,Clinard EH. Rapid micromethod of screening for antibodies to disease agents using the indirect enzyme labelled antibody test . J.Clin Microbiol,1976;604-8

59. Sell S, Hsu P. Delayed hypersensitivity immun deviation , antigen processing and T cell subset selection in syphilis pathogenesis and vaccine design. *Immunol Today* ,1993;576-82
60. Shore RN. Hemagglutination tests and related advances in serodiagnosis of syphilis. *Arch Dermatol*,1974;854-7
61. Singh AE, Romanowski B.Syphilis. Review with emphasis on clinical , epidemiologic and some biologic features.*Clin Microbiol Rev*,1999;187-209
62. Sparling PF. Natural history of syphilis .KK Holmes ,PA Mardh, PF Sparling,PJ Wiesner , W Cates , SM Lemon , WE Stamm .*Sexually Transmitted Disiases* . McGraw Hill information Services Co. New York. 1990;213-219
63. Stefan HE, Kaufman , Alan S , Ahmed R. Bacteriel Persistence .*Immunology of Infectious Diseases*..2000;333-36
64. Strugnell RA,Williams WF, Drummond L, Pedersen JS, Toh BH., Faine S. Development of increased serum immunblot reaktivty against a 45 000-dalton polypeptide of *Treponema pallidum* (Nichols) correlates with establishment of chancre immunity in syphilitic rabbits . *Infect. Immun* .1986;957-960
65. Tabidze IL, Lee FK, Tembe P. Enzyme –Linked immunospotassay for the diagnosis of active *T. pallidum* infection during the various stages of syphilis . *Sex Transm Dis*. 1999;426-30
66. Tonsy MH, Gaffoor PM, Benhawi, Davidson JC. Late Yaws: a case report. *Sex Trans Dis*.1982;205-7
67. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Infeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere göre infeksiyonlar (Cilt 2). Dökmetaş İ. *Spiral Mikroorganizmalar Treponema türleri*. Nobel Tıp kitabevleri.2002;1722-57

68. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji 2000. Spiroketler. Asya yayıncılı . İzmir. 2000; 186-194
69. Unat EK. Tıp Bakteriyolojisi. Spiroketler. Dergah tıp yayınları. İstanbul. 1986; 741-65
70. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Baysal B. Treponemalar. Güneş kitapevi Ankara . 1999; 681-91
71. Vural M, Ilikkan B, Polat E, Demir T, Perk Y. A Premature newborn with vesiculobullous skin lesion . Eur J Pediatr. 2003; 197-199
72. Young H, Moyes A, Mcmillan A, Patterson J. Enzyme Immunoassay for antitreponemal IgG: screening confirmatory test.? J. Clin Pathol. 1992; 37-41
73. Young H. Syphilis serology . Dermatol Clin . 1998; 16:691-698
74. Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium . Microbes Infect. 1999; 1035-49
75. Wicher K, Wos SM , Wicher V. Kinetics of antibody response to polypeptides of pathogenic treponemes in experimental syphilis. Sex. Transm. Dis. 1986; 251-257
76. Wosnicova V, Votava M. Western Blot Determination of IgG Avidity in primary and secondary syphilis. Scripta Medica , 2001; 353-360
77. www.infocompu.com/adolfo-arthur/ingles/sifilis.ht
78. <http://www.mikrogen.de/en/produkte/5102treponema.htm>

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Malatya'da doğdum. İlk , orta ve lise eğitimimi burada tamamladıktan sonra 1996 yılında I.Ü Cerrahpaşa Tıp fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nü kazandım. 2001 yılında bölümden mezun oldum. 2001-2002 eğitim yılında I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım ve halen burada devam etmekteyim.

Tıbbi Biyolog Sonay Temurhan