

**T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİFİLİZ TANISINDA KEMİLÜMİNESAN
YÖNTEMİNİN PERFORMANS
DEĞERLENDİRMESİ**

Dr. BİLGE E. DİKENELLİ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2012

**T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİFİLİZ TANISINDA KEMİLÜMİNESAN
YÖNTEMİNİN PERFORMANS
DEĞERLENDİRMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. BİLGE E. DİKENELLİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYELERİ

Prof. Dr. İ. Hakkı BAHAR

Doç. Dr. Ö. Alpay ÖZBEK

TEŐEKKÜR

Asistanlık eđitimim ve tez çalıőmam sűresince bana her tűrlű desteęi gűsteren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandıđım Anabilim Dalı Baőkanımız Sayın Prof. Dr. Hakan Abacıođlu'na, deęerli danıőman hocalarım Sayın Prof. Dr. İ. Hakkı Bahar'a ve Sayın Doç Dr. Ö. Alpay Özbek'e, tez çalıőmam sűresince gűstermiő olduęu yardım ve desteklerinden dolayı Sayın Yrd. Doç Dr. Yavuz Doęan'a, yetiőmemde emeęi geçen tűm deęerli hocalarıma, yardımları ve her zaman hatırlayacađım dostlukları için bűtűn çalıőma arkadaşlarıma ve hayatımı ve bugűnlere gelmemi borçlu olduęum, bana her zaman destek olan sevgili ve çok deęerli aileme sonsuz teőekkűr ederim.

Dr. Bilge E. DİKENELLİ

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Giriş.....	7
4.2. Tarihçe.....	7
4.3. Epidemiyoloji	8
4.4. Etken	10
4.4.1. <i>T. pallidum</i> subsp. <i>Pallidum</i>	11
4.4.2. Patojenite ve Patogenez	14
4.4.3. İmmunite	16
4.5. Klinik	19
4.6. Tanı	24
4.7. Tedavi.....	39
4.8. Korunma ve Önlemler.....	42
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER	43
5.1. Gereçler	43
5.1.1. Çalışma Örnekleri.....	43
5.2. Çalışmanın Tasarımı	44
5.3. Yöntemler.....	45
5.3.1. “Architect ® Syphilis TP” Test Prosedürü	45

5.3.2. “Immutrep ® TPHA” Test Prosedürü.....	46
5.3.3. FTA-ABS IgG Test Prosedürü.....	47
5.3.4. “Liaison ® Treponema Screen Test” Prosedürü	47
5.4. İstatistiksel Yöntem	48
6. BULGULAR	49
7. TARTIŞMA.....	57
8. KAYNAKLAR.....	64

KISALTMALAR

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

HIV: Human Immunodeficiency Virus

TPHA: *Treponema pallidum* hemaglutinasyon assay

EIA: Enzyme-linked immuno assay

IUSTI: The International Union Against Sexually Transmitted Infections

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CMIA: Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testi

CLIA: Kemilüminesan Immuno Assay

RPR: Rapid plasma reagin

VDRL: Venereal Disease Research Laboratory

DFA-TP: *T. pallidum* için direkt floresan antikor işaretleme

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

FTA-ABS: Floresanlı treponema antikor absorbsiyon deneyi

TPPA: *Treponema pallidum* partikül aglutinasyon testi

TPI: *T. pallidum* immobilizasyon testi

MHA-TP: Mikrohemaglutinasyon assay

WB: Western blot

S/Co: Örnek/ eşik oranı

CV: “Coefficient of Variation”, varyasyon katsayısı

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: 1991-2002 yılları sifiliz morbidite oranları

Tablo2: Türkiye genelinde ve 5 büyük şehirde yıllar içindeki sifiliz vaka sayıları (100.000'de)

Tablo 3: İnsan treponematozlarının özellikleri

Tablo 4: Sifiliz evreleri

Tablo 5: Sifilizde nontreponemal serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Tablo 6: Sifilizde kullanılan bazı treponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Tablo 7: Sifiliz infeksiyonu tedavi protokolü

Tablo 8: Gerçek pozitif ve negatif örneklerin CLIA test sonuçları

Tablo 9: Çalışma içi tekrarlanabilirlik değerlendirilmesinde CLIA ile elde edilen S/Co oranları

Tablo 10: Çalışmalar arası tekrarlanabilirlik değerlendirilmesinde CLIA ile elde edilen S/Co oranları

Tablo 11: CMIA ve CLIA testlerinin düşük antikor varlığında gösterdikleri performanslarını karşılaştırma sonuçları

Tablo 12: Passing-Bablok regresyon analiz sonuçları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Passing-Bablok regresyon analizi ile yöntemlerin S/Co oranlarının karşılaştırılması

1.ÖZET

SİFİLİZ TANISINDA KEMİLÜMİNESAN YÖNTEMİNİN PERFORMANS DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Bilge E. DİKENELLİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İZMİR

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar ciddi komplikasyonlara ve ölümlere neden olarak toplum sağlığı için halen önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu hastalıklardan biri, etkeni *Treponema pallidum* olan sifilizdir. Hastalığın tanısında genellikle nontreponemal ve treponemal serolojik testler kullanılmaktadır. Son yıllarda kemilüminesan yöntemler kullanarak özgül treponemal antikorları saptayan otomatize sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler çok sayıda örnek ile sifiliz taraması yapan laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu testlerin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, otomatize testlerden biri olan ve kemilüminesan immuno assay yöntemini kullanan “Liaison® Treponema Screen” (CLIA) testinin performansını değerlendirmektir.

Çalışma örnekleri Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Seroloji Laboratuvarı ve Kan Merkezi'ne Temmuz 2006-Temmuz 2011 tarihleri arasında sifiliz taraması amacı ile gönderilmiş serumlar arasından seçildi. Çalışmada CLIA testinin doğruluğu, duyarlılığı, özgüllüğü ve tekrarlanabilirliği değerlendirildi. Ayrıca, CLIA testinin düşük antikor seviyelerini saptamadaki performansının gözlenmesi amacıyla dilüsyon çalışması yapıldı. Buna ek olarak Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testi (CMIA) ve CLIA testlerinin her ikisinde de pozitif saptanan örneklerin S/Co oranları arasında istatistiksel olarak bir uyum olup olmadığı araştırıldı.

Çalışma sonucunda, CLIA testinin doğruluğu, duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %100, %100, %100 olarak saptandı. CLIA'nın gün içi ve günler arasında tekrarlanabilir sonuçlar verdiği belirlendi. Dilüsyon çalışmasında özellikle düşük antikor seviyelerini saptamada

“Architect® Syphilis TP” (CMIA) test performansının daha başarılı olduğu gözlemlendi. Ayrıca, CMIA ve CLIA S/Co oranları arasında orta düzeyde bir korelasyon olduğu saptandı.

Sonuç olarak bu çalışmanın verilerine göre; CLIA yüksek doğruluk, duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip bir testtir. Çalışma içi ve çalışmalar arası tekrarlanabilirlik değerleri testin kendi prospektusunda ve FDA değerlendirme raporlarında bildirilen değerlerle uyum içindedir. Bu özellikleri ile CLIA testinin rutin seroloji laboratuvarlarında sifiliz taraması amacıyla kullanılmasının uygun olduğunu düşünmekteyiz. Ancak, antikor düzeyinin düşük olduğu ileri dilüsyonlarda CLIA'nın CMIA'ya göre daha kötü bir performans göstermesi, antikor seviyesi düşük olan hastaların yakalanmasında sorun oluşturabilir. Bu hipotezin gerçek hasta örnekleri ile yapılacak çalışmalarla desteklenmesi gereklidir.

Anahtar kelimeler: Sifiliz, tarama, Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testi, Kemilüminesan İmmuno Assay, değerlendirme.

2. SUMMARY

EVALUATION OF THE PERFORMANCE OF A CHEMILUMINESCENCE IMMUNO ASSAY IN THE DIAGNOSIS OF SYPHILIS

Dr. Bilge E. DİKENELLİ

Dokuz Eylul University School of Medicine

Department of Medical Microbiology

İZMİR

Sexually transmitted diseases still remain as an important problem for public health as they cause serious complications and death. One of these diseases is syphilis, caused by the spirochete *Treponema pallidum*. Usually nontreponemal and treponemal serological tests are used for the diagnosis of syphilis. Recently, fully automatized systems that detect specific treponemal antibodies by means of chemiluminescence methods have been developed. These systems have been widely used in laboratories with high volumes of syphilis testing. However, the number of studies evaluating these tests is limited. The aim of this study is to evaluate the performance of “Liaison® Treponema Screen” (CLIA), an automated treponemal chemiluminescence immuno assay.

The study samples are conducted from those that were submitted to the serology laboratory and blood bank of Dokuz Eylül University Hospital, between July 2006-July 2011 for routine syphilis screening. The accuracy, sensitivity, specificity and precision of the CLIA test was evaluated. In addition, to determine the performance of the CLIA test in detecting the low level antibody titres, a dilution study was performed. The correlation between the samples that were detected as positive by both methods was also investigated.

According to our study, the accuracy, sensitivity and specificity of the CLIA test was determined as %100, %100 and %100, respectively. CLIA also produced reproducible test results within and between runs. In the dilution study, it was determined that the “Architect® Syphilis TP” (CMIA) test performance was more successful than the CLIA test, in detecting the low antibody titres. In addition, a moderate correlation was determined between CMIA and CLIA S/Co rates.

According to the data obtained by our study, we conclude that the CLIA test has high accuracy, sensitivity and specificity. The within-run and between-run precision of the test was concordant with those declared by FDA reports and test prospectus. With these qualifications we can conclude that the CLIA test is adequate for screening of syphilis in routine serology laboratories. However, its low performance in detecting low level antibody titres can cause problems in the diagnosis of such patients. This hypothesis must be supported by studies including actual patient samples.

Keywords: Syphilis, screening, Chemiluminescence Microparticle Immuno Assay, Chemiluminescence Immuno Assay, evaluation.

3. GİRİŞ VE AMAC:

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar toplum sağlığı için önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) bildirdiği verilere göre, "Human Immunodeficiency Virus" (HIV) de dahil olmak üzere her gün yaklaşık bir milyon insan cinsel yolla bulaşan bir hastalığa yakalanmaktadır [1]. Bu hastalıklar akut ve kronik infeksiyonlara; infertilite, ektopik gebelik ve servikal kanser gibi gecikmiş ciddi komplikasyonlara; çocuk ve erişkinlerin ölümlerine neden olmaktadır. Bu hastalıklardan biri de sifilizdir. Etkeni *Treponema pallidum*'dur. DSÖ'nün 2001 yılında yayınladığı rapora göre her yıl yaklaşık 12 milyon kişi bu hastalığa yakalanmaktadır [2]. Hastalık kendi yaptığı komplikasyonlar yanında oluşturduğu lezyonlarla HIV'in yayılmasına da katkıda bulunmaktadır.

Treponema pallidum en sık cinsel ilişki ile bulaşır. Bunun yanında transfüzyonla ve vertikal olarak anneden bebeğe bulaşabilmektedir. Bu nedenle, transfüzyon öncesi donörler ve doğum öncesi hamilelerin sifiliz yönünden taranması önerilmektedir [1,3]. Geleneksel yaklaşıma göre taramada nontreponemal testler kullanılmalıdır. Pozitif çıkan örnekler de treponemal esaslı bir testle doğrulanmalıdır. Ancak, yapılan çalışmalara dayanılarak son yıllarda bu algorithmada değişiklik yapılması önerilmektedir. Bunun nedeni, nontreponemal testlerin duyarlılıklarının yetersiz bulunmasıdır. DSÖ 2009 yılında "Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections; Recommendations" adlı bir rehber yayınlamıştır [4]. Bu rehberde kan merkezlerinde sifiliz taramasının yüksek duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahip "*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay" (TPHA) ve "Enzyme Immuno Assay" (EIA) yöntemleri ile yapılması gerektiği belirtilmiştir. Nontreponemal testlerinse yalancı negatiflik için yüksek risk taşıdığı ve tarama amacıyla yalnızca sifiliz insidansının yüksek olduğu toplumlarda kullanılabileceği vurgulanmıştır. Tarama testinin treponemal esaslı olması gerektiğini belirtilen bir diğer rehber 2009 yılında "The International Union Against Sexually Transmitted Infections" (IUSTI) tarafından yayınlanan "IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis"dir [5]. Bu rehberde de nontreponemal test sonuçlarında yalancı negatiflik riski bulunduğu, bu nedenle tarama için kullanılmaması gerektiği belirtilmektedir. Bununla birlikte, "Centers for Disease Control" (CDC) treponemal testlerle pozitif bulunan örneklerin %56,7'sinin nontreponemal testlerinin negatif olduğunu ve %17,9'unun bir başka treponemal testle doğrulanmadığını belirtmektedir [3,6]. Prevalansın düşük olduğu yerlerde treponemal testler için bildirilen yalancı pozitiflik oranlarının yüksek olması ve nontreponemal testlerin ileri tetkik ve tedavi gerektiren aktif infeksiyonlu hastaları

saptayabilmesini gerekçe göstererek CDC geleneksel yaklaşımın devam etmesini savunmaktadır. Literatürde taramada treponemal testleri kullanmanın avantaj mı, yoksa dezavantaj mı olduğuna ilişkin fikirbirliğine henüz varılamadığı anlaşılmaktadır. Bunun nedenlerinden biri de testlerin performanslarına karşı duyulan kuşkuudur.

Son yıllarda endüstri tarafından kemilüminesan yöntemle özgül treponemal antikoları saptayan otomatize sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler özellikle çok sayıda örneğin bir arada çalışıldığı laboratuvarlarda avantaj sağlamaktadır. Ancak, bu sistemlerin performanslarını değerlendiren ve, özellikle, sonuçları birbirleri ile karşılaştıran çok az sayıda çalışma bulunmaktadır [7-15].

Hastanemizde 2006 yılından beri donör ve riskli grup taramasında Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testi yöntemi ile çalışan otomatize Architect® Syphilis TP (CMIA) testi kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, diğer bir otomatize test olan ve Kemilüminesan Immuno Assay yöntemini kullanan “Liaison® Treponema Screen” (CLIA) testinin performansını değerlendirmektir. Ayrıca, çalışmamız antijen farklılığı içeren bu testlerin sonuçlarını karşılaştırarak literatürdeki tartışmanın sonuçlanmasına katkıda bulunmayı hedeflemektedir.

4. GENEL BİLGİLER:

4.1. Giriş

Veneryal hastalıklar deyimi, cinsel ilişki ile bulaşan hastalıklar şeklinde genişletilerek her gün yenilerinin eklenmesi ile sayıları artan, birçok etkenin oluşturduğu bir dizi hastalığı kapsamına almaktadır. Bu hastalıklar halen dünyadaki en yaygın bulaşıcı hastalıklar olup, kaynaklar cinsel ilişki ile bulaşan hastalıkların çoğunda artış olduğunu göstermektedir. Bu hastalıklar biri de sifilizdir [2,16,17]. Sifiliz insanlara özgü bir hastalıktır ve bilinen başka bir doğal konağı bulunmamaktadır. Hastalığın tanısında genellikle serolojik testlerden yararlanılmaktadır [18]. Bu testlerin birbiriyle karşılaştırılması, klinik tanı laboratuvarlarının ve kan merkezlerinin yakından ilgilendiği bir konudur [19].

4.2. Tarihçe

Sifilizin ortaya çıkış yeri ve zamanı tam olarak bilinmemektedir. Konu ile ilgili üç farklı görüş ileri sürülmektedir. Bunlardan birincisi, hastalığın yeni dünyadan Kristof Kolomb'un askerleri tarafından eski dünyaya getirildiğidir. İkincisi, hastalığın Avrupa'daki bir başka treponemal hastalığın mutasyona uğraması ile ortaya çıktığı ve son hipotez sifilizin eski dünyadan yenedünyaya taşınmış olduğudur. Hastalığın kemiklerde tipik kalıcı değişiklikler oluşturması konu ile ilgili son yıllardaki çalışmaların esasını oluşturmaktadır [20]. Bu çalışmalarda Kolomb'un Amerika kıtasına ulaşmasından önce sifilizin bölgede var olduğunun gösterilmesi ilk hipotezi destekler niteliktedir.

Sifilizin Anadolu'ya ise İspanya'dan sürülen Musevi kadınlar ile taşındığı belirtilmektedir. Anadolu'daki ilk epidemiy Kırım ve 93 Rus harplerinden sonra Bolu ve Kastamonu'da görülmüştür. Hastalığa "Frenk hastalığı" anlamına gelen "**Frenği**" denilmiştir [21].

Türkiye'de zührevi hastalıklarla mücadelenin Osmanlı döneminde, 1897 yılında başladığı kabul edilir. Bu tarihte kurulan komisyonda sifilizle ülke çapında yapılacak mücadele için bir rapor hazırlanmıştır. Ayrıca, sifiliz vakalarına sık rastlanan Bolu ve Kastamonu için de özel bir tüzük hazırlanmıştır. Türkiye döneminde ise, 1921 yılında çıkarılan 90 numaralı "Frenği Men ve Tehdidini Sirayet ve İntişarına Ait Kanun" ile bütün sifilizli hastaların devlet kuruluşları tarafından parasız tedavi edilmelerine karar verilmiştir. 1938 yılında çıkarılan "Frenği Tedavi Talimatnamesi" ile de tedavi yöntemlerinde ve kullanılacak ilaçlarda ulusal birlik sağlanmaya çalışılmıştır. Bu kanunlar ile hastaların

kendilerini tedavi ettirmeleri zorunlu tutulmuştur. Bu amaçla büyük şehirlerde veya gereken yerlerde “Deri ve Tenasül Hastalıkları Tedavi Evleri” açılmıştır. Hala bu hastaların tedavisinde ve sifilizle mücadelede frengi yönetmeliği esas kabul edilmektedir [21].

4.3. Epidemiyoloji

DSÖ’ne göre, tüm dünyada her yıl 12 milyon yeni sifiliz olgusunun ortaya çıktığı, bunun da büyük çoğunluğunun gelişmekte olan ülkelerde olduğu tahmin edilmektedir [1]. Sifilizin tedavisinde penisilin kullanılmaya başlandıktan sonra hastalığın sıklığında belirgin bir düşme gözlenmiştir. Ancak, cinsel yaşamı etkileyen doğum kontrol haplarının yaygın şekilde kullanılmaya başlanması, genelevlerin artması gibi bir takım sosyal değişiklikler insidansda dönemsel artışlara neden olmaktadır [22].

Ülkemizde sifiliz prevalansı, batı ülkeleri ile karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar birbirine yakındır. Sağlık Bakanlığı’nın verilerine bakıldığında on yıl içinde sifiliz morbiditesinde anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Tablo 1) [21].

Tablo 1. 1991-2002 yılları sifiliz morbidite oranları [21, 23, 24]

Yıllar	Olgu sayısı	Morbidite Hızı (her 100.000 kişide)
1991	2710	4,7
1992	2648	4,5
1993	2640	4,4
1994	2798	4,5
1995	2974	4,8
1996	2882	4,6
1997	3203	5,1
1998	3475	5,3
1999	3416	5,1
2000	3313	4,9
2001	3348	4,9
2002	3512	5,2

Aktürk ve arkadaşlarının Sağlık Bakanlığı’nın verilerine dayanarak yapmış oldukları derlemeye göre, 1994-2000 yılları arasında, Türkiye’nin turizm ve ticari amaçla en çok ziyaret edilen beş ilindeki sifiliz prevalansı ve vaka sayıları Tablo 2’de gösterilmiştir [25].

Tablo 2. Türkiye genelinde ve beş büyük şehirde yıllar içindeki sifiliz vaka sayıları (100.000’de)

	Türkiye	İstanbul	İzmir	Ankara	Antalya	Trabzon
1994	4,61	12,7	3,92	4,32	3,47	6,58
1995	4,82	13,4	3,89	3,91	4,13	8,14
1996	4,43	13,5	3,25	4,18	3,55	6,39
1997	5,02	16,4	4,64	5,02	2,01	6,43
1998	5,35	18,0	5,07	5,02	2,46	8,30
1999	5,18	19,0	5,13	3,96	2,81	8,50
2000	4,95	18,8	4,70	3,27	2,95	5,01

Tablo incelendiğinde; prevalansın ülke genelinde 1994-1996 yılları arasında düşüş gösterdiği, fakat 1997 yılı ile birlikte %1 oranında arttığı gözlenmektedir. Bu çalışmada dikkati çeken bir başka bulgu da, İstanbul’da sifiliz prevalansının 1997 yılından itibaren %48’e varan oranda artış göstermesidir. Trabzon’da ise prevalansta benzer bir artış 1995 yılında görülmüştür (yaklaşık %24). Yazarlar, bu iki ildeki vaka sayılarındaki artışları 1990’lardan itibaren eski Sovyetler Birliği’nden turistik veya ticari amaçlı çok fazla ziyaretin olması ile açıklamaktadırlar [25].

Sağlık Bakanlığı’nın bildirdiği sifiliz epidemiyolojisine ait ulusal verilerin yanında, literatürde sağlık kuruluşlarına ait sifiliz olgu sayılarına da rastlanmaktadır. Bu çalışmalardan birinde Adışen ve arkadaşları, 1994-2006 yılları arasında Gazi Üniversitesi Dermatoloji polikliniğine başvuran hastaların verilerini incelemişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, sifilizli hastaların polikliniğe başvuran tüm hastalara oranı 1994 yılında %0,027 saptanırken, bu oran 2006’da %0,004’e gerilemiştir [26].

Bir başka çalışmada, Ziver ve ark. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’nde 2005-2010 yılları arasında seroloji laboratuvarına sifiliz şüphesiyle gönderilen 1366 hasta ve 68704 kan donörü örneğinin test sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucunda, 1366 şüpheli olgunun 2005-2010 (ilk beş ay) yılları için sırasıyla, %22,5; 29,9; 22; 34,5; 24,5

ve 15,4'ünün pozitif saptandığını bildirmişlerdir. Aynı periyotta kan donörlerindeki pozitiflik oranlarının sırasıyla, 0,48; 0,37; 0,45; 0,31; 0,43 ve 0,36 olduğu belirtilmiştir [27].

Koçak ve ark, İstanbul'daki üç kan merkezinde 1987-2004 yılları arasında kan donörlerinde "Rapid Plasma Reagin" (RPR) ile yapılan sifiliz tarama sonuçlarını 2004 yılında yayınlamışlardır. Bu çalışmada, 1987-2002 yılları arasında prevalansta istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu, 2002-2003 döneminde ise RPR pozitifliğinde bir düşüş gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Artış döneminde prevalansın %0,04'den %0,2'ye yükseldiğini, 2003 yılında ise %0,09'a gerilediğini rapor etmişlerdir. Yazarlar, artış dönemini seroprevalansın yüksek olduğu eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği'nden sifiliz pozitif kadınların ülkemize gelmesi ile ilişkilendirmişlerdir. Sifilizde pozitif donör oranının 2003 yılında azalmasını ise, Sağlık Bakanlığı'nın kan donörü seçiminde uygulamaya koyduğu katı kurallara ve tek kullanımlık malzemelerin kullanılmasına bağlamışlardır [28].

İzmir Kızılay Kan Merkezi'nde 2004-2006 ve 2007-2009 yılları arasında kan donörleri arasında sifiliz pozitifliği sırasıyla, %0,09 ve %0,11 olarak bildirilmiştir [29]. Aynı dönemlerde, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Kan Merkezi'nde saptanan sifiliz seropozitifliklerinde tarama testlerinde yapılan değişikliklere bağlı olarak 10 katlık bir artış olduğu gözlenmiştir [30]. Buna göre, seropozitiflik 2004-2006 yılları arasında RPR ile %0,056, 2007-2009 yılları arasında ise treponemal bir EIA testi ile %0,51 olarak saptanmıştır [30].

4.4. Etken

Sifilizin etkeni olan *Treponema pallidum*, spiral şeklinde bir mikroorganizmadır. Treponemalar Spirochaetales takımı içerisinde yer alan *Spirochaetaceae* familyasındaki dört cinsten birisidir. Familyadaki diğer cinsler, *Spirochaeta*, *Cristispira*, *Borrelia*'dır [31].

Treponema cinsi içinde; dört insan ve bir tavşan patojeni; insan ve diğer hayvanların dışındaki ceplerde bulunan çok sayıda oral spiroket ve ciltlerindeki bir kaç kommensal organizma bulunur. Cins taksonomisi, 1984 yılında yeniden düzenlenmiştir, buna göre *Treponema pallidum* türleri üç insan patojeni içermektedir: *T. pallidum* subsp. *pallidum* (veneryal sifiliz etkeni), *T. pallidum* subsp. *endemicum* (endemik sifiliz etkeni) ve *T. pallidum* subsp. *pertenue* (yaws etkeni). Genetik bilgisinin olmayışı nedeniyle, *T. carateum* (pinta etkeni), hala ayrı tür olarak kabul edilmektedir. Bu türde yer alan bütün patojenik treponemalar, birbirleriyle çok yakın ilişkilidir. Morfolojik olarak birbirlerinden ayrılamazlar.

İncelendiklerinde, DNA'ları %95'in üzerinde homologdur. Birbirlerinden ancak insandaki ve deneysel olarak infekte edilmiş hayvanlardaki patogeneze paternleri ile ayrılabilirler. *Tpr* ve *arp* genlerindeki farklılıklar, *T. pallidum* suşlarının moleküler alt tiplendirilmesinde kullanılmaktadır; bu yaklaşımın epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir olduğu gösterilmiştir. *T. pallidum*'un alt türleri ve *T. carateum* zorunlu insan parazitleridir, bilinen herhangi bir hayvan ve çevresel rezervuarları yoktur [32].

Venereal sifiliz, coğrafik bölge ve sosyoekonomik gruplara değişkenlik göstermekle birlikte tüm dünyada yaygın bir enfeksiyondur (Tablo 3). Endemik sifiliz, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'nun çöl ve ılıman bölgelerinde sınırlıdır. Yaws, en fazla Afrika, Güney Amerika ve Endonezya'nın çöl ve tropikal bölgelerinde görülür. Pinta, esas olarak Orta ve Güney Amerika'nın tropikal bölgelerinde saptanır [32].

Tablo 3. İnsan treponematozlarının özellikleri [33]

Organizma	Hastalık	Dağılım	İnfeksiyonun Görüldüğü Yaş	Bulaşma Yolu	Konjenital İnfeksiyon
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	Venereal sifiliz	Tüm dünya	Adölesanlar,erişkinler	Cinsel temas	Evet
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>pertenue</i>	Yaws (frambesia,pian)	Tropikal bölgeler,Afrika,Güney Amerika,Karaipler,Endonezya	Çocuk	Cilt teması	Hayır
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>endemicum</i>	Endemik sifiliz (bejel,dichuchwa)	Kurak bölgeler,Afrika,Orta doğu	Çocukluktan ergenliğe dek	Mukoz membran	Nadiren
<i>T. carateum</i>	Pinta (carate,cute)	Yarı kurak,ılıman alanlar,Orta ve Güney Amerika	Çocuk,erişkinler	Cilt teması	Hayır

4.4.1.*T. pallidum* subsp. *pallidum*

T. pallidum subsp. *pallidum*, ince (yaklaşık 0,25 µm eninde), 6-15 µm uzunluğunda (genellikle 10-13 µm) ve ortalama 6-14 kıvrımı bulunan sarmal biçimli bir mikroorganizmadır. Her kıvrımın boyu ve birbirine olan uzaklığı 1 µm kadardır. Birkaç tane terminal filamanı bulunabilir. Kıvrımları sık, düzenli, dik ve çok incedir. Uçları düz ve sivri olan bakteri, boyasız preparatlarda mikroskopla görülmez. Çok hareketli olan bu bakteri karanlık alan mikroskopunda incelendiğinde, mikroorganizmanın kendi eksenini etrafında dönerek ileri geri gidip gelerek, bir uçtan diğer uca dalgalanarak veya bir ucu bir yere

yapışmış ise pandül gibi sallanarak hareket ettiği görülür. Spiral kıvrımları sabittir ve hareket halinde bile spirallerin şekli değişmez. Ama bazen düzelecek kadar uzayabilir veya uçları birbirine değecek kadar sıkışabilir [32]. Bu özellikleriyle tecrübeli bir göz tarafından kolayca tanınır. Sporsuz ve kapsülsüzdürler. Bu şekildeki tipik görünüşleri dışında treponemaların granüllü, kısa, çok uzun, nispeten düz spiralli atipik şekilleri de vardır [31].

Elektron mikroskop ile enine kesitlerine bakıldığında, ortada içinde granüller ve ribozomların yer aldığı ve sitoplazmanın etrafının bir zarla çevrili olduğu görülür. Hücre duvarı peptidoglikan yapıdadır [31].

DNA, sitoplazma, sitoplazmik zar, hücre duvarı ve protoplazmik silindirden oluşan bakteri vücudunu, üç katmanlı bir kılıf dıştan sarar. Bakterinin aksiyel filament (periplazmik flagella) adı verilen kirpikleri, mikroorganizmanın kutuplarına yapıştıktan sonra hücre çeperi ile bu kılıf 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. Çoğalmaları ortadan ikiye bölünerek olur. Yapılan incelemelerde treponemaların büküm (fleksiyon) yerlerinde granüler ya da kiste benzer şişkinlikler görülmüştür. Bu yapıların uygunsuz koşullarda meydana gelen dejeneratif değişiklikler olduğu iddia edilmektedir. DNA'daki G+C oranı %52-53,7'dir [31].

Treponema pallidum boyayı güç aldığından boyamak zordur. Uzun süre uygulanırsa boyanabilir. Giemsa boyasıyla soluk pembe renkte boyandığından **pallidum** adını almıştır. Ayrıca çini mürekkebi ve gümüşleme yöntemleri ile gösterilebilir. Fakat etken en net şekilde karanlık alan mikroskopunda görülür [31].

Treponemalar, sifilizin hem birinci hem de ikinci devrelerinde hastaların kan, BOS, idrar, süt, meni gibi vücut sıvılarında bol miktarda bulunur. Etken rutin besiyerlerinde, embriyonlu yumurtada ve doku kültürlerinde üretilmemiştir. Anaerop koşullarda ve içlerine amino asitler, vitaminler ve tavşan serumu gibi maddeler konularak hazırlanan besiyerlerinde (Nelson, Eagle vb.) bakteri 5-6 gün süre ile canlı tutulabilir. Pek çok virülan türü olan bakterinin Nichols, Gand, Ami Moscow gibi suşlarının ancak deney hayvanlarında canlılıkları devamlı olarak sürdürülebilmektedir. Çeşitli laboratuvarlarda 1914'ten beri değişmeden devam ettirilen Nichols treponema suşları mevcuttur [31].

Bakteri infekte kanda üç gün canlı kalabilir. 0-4°C'de 2-3 günde ölür (kan transfüzyonunda ve kan merkezlerinde önemlidir). Dolayısıyla infeksiyöz olan taze bir kan ile sifiliz başkasına geçirilebilir. Vücut dışında oldukça dayanıksızdır. Isıya ve kuruluğa da duyarlıdır. Tavşan testisi dilimlerinde veya %15 gliserin içinde 65°C'de yıllarca canlı kalır ve laboratuvarlarda böyle saklanır. Asit fenik, sabun, üç değerli arsenik derivelere, civa, bizmut, oksijen, saponin, gliserin gibi maddelere dayanıksızdır [31].

4.4.1.1.T. pallidum Yüzeyi

Dış yüzeyler konakla karşılaşan ve konak adaptif bağışıklığının hedefi olan ilk bakteriyel komponenttir. Fakat yalnızca fiziksel olarak bozulmuş treponemaların anti-*T.pallidum* antiserumuyla etkileşime girdiği, bundan yola çıkarak da *T. pallidum*'un yüzeyinin antijenik olmadığı bildirilmiştir. Bu gözlemi takiben, treponemaların radyoaktif iodin ya da *T. pallidum*'a karşı oluşan antikörlerle işaretlenebildiği, bunun da yalnızca dış katman yapısı organizmayı yaşlandıran deterjanlarla ya da inkübasyonla bozulduğunda olabildiği belirtilmiştir. *T. pallidum* yüzeyinde, antikörlerin bağlanma ve agregasyonunu sağlayan az sayıda antijenik hedefler olduğu bildirilmiştir. *T. pallidum*'un integral dış membran proteinlerindeki bu yetersizlik, organizmanın immun yanıt tarafından algılanmaktan kurtulmasını sağlamaktadır ve bu yüzden araştırmacılar *T. pallidum*'a '**gizli patojen**' adını vermişlerdir. Çift membran katmanı olan çoğu bakteride lipoprotein molekülleri ile dış membranla bağlantıda olan peptidoglikan tabaka bulunmaktadır. *T. pallidum*'da peptidoglikanın iç membran proteinleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Buna ek olarak, *T. pallidum*'da yapısal stabiliteyi sağlayan lipopolisakkarit (LPS) bulunmaz. Bu yapısal özellikler, *T. pallidum* dış membranının hassaslığını açıklayabilmektedir [34].

4.4.1.2.Antijenik Yapı

Reiter protein; saprofit treponemalarda ortak olan antijendir.

Reagin; infeksiyon esnasında harap olan konak hücre lipidleri ve kısmen treponema hücre maddelerine karşı hasta serumlarında oluşan IgM ve IgA yapısındaki özgül olmayan maddelerdir. *T. pallidum* suspansiyonu antijen olarak kullanıldığında bunlara karşı oluşan kompleman bağlayan antikörler ise özgül antikörlerdir [31].

4.4.2. Patojenite ve Patogenez

4.4.2.1. Virülans

Dış faktörlere karşı son derece hassas olmasına rağmen, *T. pallidum* konakta kronik enfeksiyona ve çeşitli hastalık tablolarına neden olmaktadır. *T. pallidum* genomu, sifiliz bulgu ve semptomlarına yol açacak bilinen klasik virülans faktörlerini meydana getirmemektedir. *T. pallidum*'da, çoğu gram negatif bakterinin dış membranında bulunan ve ateş ve inflamasyona neden olan bir endotoksin olan lipopolisakkarit bulunmaz. *T. pallidum* Toll benzeri reseptör-2 (TLR-2) tarafından tanınma sonucu bazı inflamatuvar medyatörlerin salınımına neden olan birkaç lipoproteini üretebilmektedir. Çoğu gram negatif patojen, tip III sekresyon sistemlerini kullanır. Konak hücrelerin sitoplazmalarına virülans ile ilişkili proteinleri yerleştirmek için, *T. pallidum* tanınmış tip III komponentlerinin benzerlerine sahip değildir. Sitolitik enzimler ya da diğer sitotoksinlerin sifiliz patogenezinde rolleri olduğu gösterilmemiştir [34].

4.4.2.2. İnvazyon

Metabolik kapasitelerinin kısıtlılığına, oksijene duyarlı olmalarına ve vücut ısısından daha sıcak ortamlarda canlılıklarının azalmasına rağmen, *T. pallidum* çok çeşitli sayıda organ ve dokuyu invaze edebilmekte ve buralarda canlı kalabilmektedir. Erken sifilizli bireylerin büyük oranının BOS'unda *T. pallidum*'un saptanması; ayrıca sekonder, tersiyer ve konjenital sifilizin yaygın kliniğinin olması; organizmanın yüksek invazyon kapasitesinin kanıtlarıdır. Yayılım diğer spiroketlerde de olduğu gibi hızlıdır. Tavşan enfeksiyonunda, *T. pallidum*, intratestiküler ya da intradermal inokülasyondan dakikalar sonra kan dolaşımına girer ve saatler içinde derin dokulara da ilerler. Tavşanların intratestiküler enfeksiyonunu takiben, araştırmacılar deri ve kemik lezyonları saptamışlardır. Bunlar virülan *T. pallidum*'un varlığını göstermektedir. İnokülasyondan 18 saat sonra, treponemalar lenf nodları, beyin, hümör aköz ve BOS'ta görülebilmektedir. Treponemalar, kronik enfeksiyon sırasında uzak dokularda uzun süre kalabilmektedir. *T. pallidum* enfeksiyonun ilk giriş yerinden çok uzak dokularda da saptanabilmektedir [34].

4.4.2.3. Tutunma

Çoğu bakteriyel patojende olduğu gibi, *T. pallidum* invazyonundaki ilk basamak organizmanın konak hücreye tutunmasıdır. *T. pallidum*'un tavşan ve insanların epitelyal, fibroblast benzeri ve endotelial hücreleri gibi çok çeşitli hücre tipine tutunduğu gösterilmiştir. Özelleşmiş *T. pallidum* adezinlerinin bakterinin uçlarında yer aldığı iddia edilmekle birlikte,

treponemaların konak hücrelere kendi uzunlukları boyunca da tutunabildikleri gözlenmektedir [34].

İntegrinler *T. pallidum* için konak hücre reseptörleri olarak görev yapmaktadır. Isı ile öldürülmüş *T. pallidum* hücrelere tutunmaz, ayrıca 22-23 saat boyunca 37°C'de inkübe edilerek hareketsiz hale gelen *T. pallidum* da tutunma özelliğini kaybeder. Konak serumu, hücre membranı ve ekstrasellüler matriks elemanlarının *T.pallidum*'a bağlandığı gösterilmiştir. *T. pallidum*'un fibronektin kaplı yüzeylere bağlandığı ve bu bağlanmanın antifibronektin antikolları ile engellenebildiği de gösterilmiştir. Bu bağlanmanın *tp0155* ve *tp0483* genlerinin eksprese ettiği proteinler olan Tp0155 ve Tp0483 vasıtası ile olduğu saptanmıştır. Tp0155 matriks fibronektine bağlanırken, Tp0483 hem solubl hem de matriks fibronektine bağlanmayı sağlamaktadır. Bu bulguya göre, bir molekül kan dolaşımında bağlanmayı sağlarken, diğerinin dokularda işlev gördüğü söylenebilir. Laminin, kollajen I ve hyalüronik asit gibi ekstrasellüler matriks elemanlarına da *T. pallidum*'un bağlanabildiği belirtilmiştir. Bir diğer rekombinan *T. pallidum* proteini olan Tp0751, laminine bağlanmaya özgüdür ve bu proteine karşı oluşan antikollar *T. pallidum*'un laminin kaplı yüzeylere bağlanmasını engellemektedir [34].

4.4.2.4.Motilite

Motilite pek çok bakteriyel patojen için bir virülans faktörüdür. *T. pallidum* oldukça hareketli bir mikroorganizmadır. Bu durum bütün spiroketlerde ortaktır ve jel benzeri materyellerde kolaylıkla yüzebilmelerini sağlar. Spiroketin flagella dizilimi de bu bakteriye özgüdür. "Aksiyal filamanlar" periplazmik aralıkta bulunmaktadır. Fibriller (3-6 adet), organizmanın uçlarına yerleşmiş ve hücrenin merkezine doğru uzamaktadır. Fibrillerin tipik flagellar yapısı bulunmaktadır. Bu yapı, uzun bir sütun, kanca, boyun ve bazal tokmak denilen yapılardan oluşmaktadır. *T. pallidum* flagellasının sütunu, birçok major filament proteininden meydana gelmektedir. FlaB1 (34,5 kDa), FlaB2 (33 kDa) ve FlaB3 (31 kDa) denilen üç protein flagellar kovu oluşturur. Bu kor 37 kDa'luk FlaA protein alt birimlerinden oluşan bir kılıfla kaplıdır [34].

4.4.2.5.Kemotaksis

Hareketli bakteri, kendisine zararlı olabilecek ortamdaki, uygun çevreye doğru hareket etmek için kemotaktik cevaplara bağımlıdır. Metil kabul eden kemotaksis transmembran proteinleri (MCP) ve sitoplazmik kemotaksis proteinleri (Che), gram negatif bakterilerin

kemotaksis sistemlerini oluşturur. *T. pallidum* her iki sistemin proteinlerinin benzerlerine sahiptir [34].

4.4.3. İmmunite

Diğer bakteriyel patojenlerle karşılaştırıldığında, *T. pallidum*'un sifilizin çeşitli klinik tablolarına nasıl yol açtığı hakkında daha az şey bilinmektedir. Sitotoksinler ve diğer bilinen klasik virülans faktörlerinin yokluğunda bakterinin yol açtığı inflamasyon ve bakteriye karşı ortaya çıkan adaptif bağışık yanıtın sifiliz infeksiyonundaki karakteristik doku hasarına neden olduğu muhtemeldir [34].

T. pallidum kolaylıkla derin dokulara ve kan dolaşımına ulaşabilmektedir. Bunu endotel hücreler arasındaki bağlantıları aşarak yaptığı düşünülmektedir. Dermal hücrelerdeki matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1)'in üretimini arttırdığı gösterilmiştir. MMP-1 kollajeni yıkmakta, bu sayede de bakterinin dokulara penetre olmasına yardımcı olmaktadır. Virulan *T. pallidum* endotel hücrelerinden ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin salınmasına neden olmaktadır. Bu moleküller aynı zamanda bakterinin T_pN47 proteini tarafından da aktive edilmektedir. Fakat bu durumun ısı ile inaktive edilmiş *T. pallidum* ya da nonpatojen tür olan *T. phagedenis* ile ortaya çıkmaması, endotel hücre aktivasyonunun özgül *T. pallidum* molekülleri aracılığı ile gerçekleşen, patojene özgül, aktif bir süreç olduğunu göstermektedir. Endotel hücrelerinin lenfositler ile bağlanmalarının, ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin hücrelerine karşı oluşturulmuş antikorlarla engellenebiliyor olması, bu moleküllerin salınımının bağlanmada işlevsel bir rolü olduğunu kanıtlamaktadır [34].

Her bakteriyel infeksiyonda olduğu gibi sifilizde de bölgeye ilk ulaşan hücreler polimorf nüveli lökositler(PNL)dir. Fakat diğer bakteriyel infeksiyonlara göre, sifilizde PNL sayısı biraz daha azdır [34].

İnfeksiyon sırasında endotel hücreler, dendritik hücreler ve makrofajların bakteriyel antijenleri tanınmasında en büyük rolün TLR-2'ler aracılığıyla olduğu yapılan çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır. Bu işlevin CD14 ekspresyonu ile güçlendirildiği bildirilmektedir. Dendritik hücreler, TLR-2 aracılığı ile sentezlenen bazı sentetik mikrobiyal lipoproteinler ile uyarılmaktadır. Özelleşmiş dendritik hücrelere Langerhans hücreleri ismi verilmektedir ve bu hücreler primer ve sekonder lezyonların en fazla görüldüğü bölge olan ciltte bulunmaktadır. Ayrıca mukoza, barsak duvarı, kalp gibi *T. pallidum* infeksiyonunun

görülebildiği diğer bölgelerde de bulunmaktadır. *T. pallidum*'un immatür dendritik hücrelerle etkileştiği ve bunlar tarafından fagosite edildiği gösterilmiştir. Olgunlaştıkça, dendritik hücreler inflamatuvar sitokin oluşturmaya başlarlar. IL-1, IL-6, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin dendritik hücreler tarafından salgılanmaları *T. pallidum*'un bütününe ya da TpN47'nin lipid kısmından elde edilen sentetik bir lipoproteine maruziyet ile gerçekleşmektedir. Bu sentetik lipoprotein, olgunlaşmamış dendritik hücrelerden CD54, CD83 ve MHC Sınıf 2 gibi moleküllerin eksprese edilmesine neden olmaktadır. CD54 ve CD83 hücrenin olgunlaşma belirteçleridir. *T. pallidum* ile uyarılmış dendritik hücrelerin, uyarılmayanlarla karşılaştırıldığında, T hücreleri daha iyi aktive edebildikleri gösterilmiştir [34].

Dendritik hücreleri uyaran TpN17 ve TpN47 lipoproteinleri bakterinin yüzeyinde bulunmamaktadır. Bu nedenle, öncelikle bakterinin parçalanması ve lipoproteinlerin TLR-2'ye sunulması gerekmektedir. Bu teori *T. pallidum*'un dendritik hücreleri uyarmasının normalden daha uzun zaman almasının gözlenmesi ile desteklenmektedir. Dendritik hücre olgunlaşmasındaki gecikme, inflamatuvar yanıtta gecikmeye neden olmakta, bu da *T.pallidum*'un konak tarafından aktif inflamatuvar yanıt oluşmadan, erkenden hızlı bir şekilde dokulara yayılabilmesine olanak tanımaktadır [34].

TpN47 proteini TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ve IL-12 üretimini uyarmaktadır. TNF- α üretimi aynı zamanda TpN15, TpN17 ve TpN38 tarafından da uyarılmaktadır. Makrofajların TpN17 ile indüklenmesi IL-1 üretimine sebep olmaktadır. Ayrıca, TpN47 T hücre kemoatraktan sitokinler olan MIP-1 α ve MIP-1 β salgılamasına neden olmaktadır. Bütün bu bulgular bir arada incelendiğinde *T. pallidum* lipoproteinlerinin erken sifiliz infeksiyonu boyunca inflamasyonun etkili bir uyarıcısı olduğu söylenebilir [34].

Dendritik hücreler, T hücrelerine özgül antijenleri sunarak, bu hücrelerin farklılaşmaları ve özgül fonksiyonlarını yerine getirmeleri için infeksiyon bölgesine göç etmelerini uyararak doğal ve adaptif bağışıklık arasında bir köprü görevi görmektedir. Sifiliz infeksiyonuna cevap olarak uyarılmış T hücreleri, sitoplazmik zarın dış yaprağında gömülü olan TpN47, TpN17 ve TpN15 ve *T. pallidum* flagellasının kor ve kılıfını oluşturan TpN37, TpN35, TpN33 ve TpN15 gibi major *T. pallidum* proteinlerine karşı yüksek derece reaktiftir. T hücreleri infeksiyondan sonraki üç gün infeksiyon bölgesinde saptanmakta, 10-13. günde miktarları maksimum düzeye çıkmaktadır. Makrofajlar da 6-10. günlerde infeksiyon bölgesini infiltre

eder ve sayıları yaklaşık 13. gün maksimuma çıkar. İnfeksiyon sonrası 13-17. günlerde, saptanabilen mikroorganizma sayısı keskin bir şekilde düşmektedir. Bütün bu bilgiler, *T. pallidum* infeksiyonunun temizlenmesinde gecikmiş tipte hipersensitivite benzeri bir mekanizmanın geçerli olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, primer şankr ve sekonder lezyonlarda T hücreleri ve makrofajlar da tespit edilmektedir. CD4⁺ yardımcı T hücreleri ve CD8⁺ sitotoksik T hücreleri primer ve sekonder lezyonlarda bulunmaktadır. Ayrıca, sırasıyla makrofajları aktive eden ve T hücrelerin olgunlaşmasını uyaran sitokinler olan IFN γ ve IL-2'nin salınımına yol açan m-RNA da primer ve sekonder lezyonlarda saptanmıştır [34].

Hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T hücreleri IFN γ üretmektedir ve sifiliz lezyonlarında ayrıca granzim B ve perforin gibi litik medyatörler de saptanmıştır. Bu maddeler infiltre olan CD8⁺ T hücrelerinin aktive olduklarını göstermektedir. *T. pallidum* çoğunlukla hücre dışında bulunduğundan, CD8⁺ litik elemanların bakterinin temizlenmesindeki rolü açık değildir; granzim B ve perforinin doku hasarı ve karakteristik sifiliz lezyonlarının gelişiminden kısmen sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir [34].

Makrofajların immun cevaptaki rolü, bakterinin parçalarının ya da bütününün makrofajların fagositik vakuollerinin içinde saptanmasıyla ortaya konmuştur. Tp92 ve TprK içeren *T. pallidum* antijenlerinin opsonik antikorların üretimini arttırdığı gösterilmiştir. “Venereal Disease Research Laboratory“ (VDRL) antijenine karşı oluşan antikorlar, aynı zamanda *T. pallidum*'un makrofajlar tarafından fagositozunu da arttırmaktadırlar [34].

Hayvan modellerinde, infeksiyondan 6 gün sonra hem IgM hem de IgG antikorları saptanabilmektedir. Özgül IgM yanıtı, hastalık semptomları azalsa bile görülmeye devam etmektedir, bunun sebebi *T. pallidum* antijenlerine maruziyetin B hücrelerini sürekli olarak uyarmaya devam etmesidir. IgG pozitifliği geç latent evrede de devam eder. Hayvan modellerinde 17 aya kadar pozitiflikleri saptanmaktadır. Antikor yanıtı, yüzeyde bulunan lipidler, flagellar proteinler, lipoproteinler ve Tpr'ler gibi çok çeşitli proteinlere özgüdür. Bu proteinlerin bazısı nonpatojenik treponemalarla çapraz reaksiyon verebilmektedir [34].

Antikorların opsonizasyon dışında fonksiyonları da bulunmaktadır. Özellikle IgG antikoru bakterinin konak hücrelerine bağlanmasını engellemektedir. Bu duruma göre, hücrelere tutunmanın treponemal adezin molekülleri aracılığı olduğu söylenmektedir. Komplemanın varlığında, anti-*T. pallidum* antikorları bakteriyi hareketsiz hale getirmekte ve

bakterinin tipik deri lezyonlarını meydana getirmesine engel olmaktadır. Yapılan deneylerde, pasif immunizasyon ile deri lezyonlarının oluşumunun geciktiği; fakat antikor verilmesi kesildiğinde infeksiyon bölgesinde lezyonların oluşmaya başladığı gözlenmiştir. Bunun durum, tek başına özgül antikorun lezyon oluşumunu inhibe edebilmesine, fakat bakteriyi öldürmeye ve infeksiyonu önlemeye yeterli olmamasına bağlanmıştır [34].

T. pallidum santral sinir sistemi, plasenta, göz gibi doğal bağışıklığın daha az etkin olduğu dokulara da penetre olabilmektedir. Bakteri bu dokularda, yavaş replike olmakta ve buradan diğer dokulara da yayılmaktadır. Diğer dokularda da yavaş metabolizmasını devreye sokarak sağ kalabilmektedir. İnfeksiyonun oluşması için çok az miktarda bakteri yeterlidir. Az sayıdaki bakteriye karşı immun yanıt uyarılmayabilmekte ve bu sayede de bakteri yıllarca yaşamını sürdürebilmektedir [34].

Diğer çoğu bakteriyel patojenin aksine, *T. pallidum*'un elektron transport zinciri bulunmamaktadır. Bunun yerine, çinko ya da manganez gibi metalleri içeren bir sistem tanımlanmıştır. Dolayısıyla, bakterinin metabolizması için demire olan gereksinimi düşüktür. Bu gereksinimini de konağın demir bağlayan proteinleri olan transferrin ve laktoferrinle etkileşime geçerek sağlayabilmektedir [34].

4.5. Klinik

Sifiliz, semptomatik periyodların, bazen çok uzun süren asemptomatik fazlarla (latent sifiliz) bölüdüğü dönemlerle karakterize bir hastalıktır. Erken sifiliz, primer, sekonder ve erken latent sifiliz olarak üç bölüme ayrılabilir. Erken latent sifilizde; infeksiyon sonrası latentlik süresi CDC 'ye göre bir yılın, DSÖ'ye göre ise iki yılın altında olarak tanımlanmıştır. Geç sifiliz ise, geç latent ve tersiyer sifilizden oluşmaktadır (Tablo 4) [35].

Tablo 4. Sifiliz evreleri [35]

Evre	Süre	Klinik
İnkübasyon dönemi	3 hafta (9-90 gün)	
Primer sifiliz	6 hafta	İnokülasyon yerinde ülser, bölgesel infeksiyon
Sekonder sifiliz	Aylar	Genel semptomlar, uzak organ tutulum bulguları, kan yoluyla yayılım
Latent sifiliz	Erken latentlik <1 yıl (CDC) <2 yıl (DSÖ)	Seropozitiflik, klinik belirti yok, 2/3 spontan iyileşme
Tersiyer sifiliz	Yıllar	Sifilid ve gomlar

4.5.1. Primer Sifiliz

Ortalama üç haftalık (9-90 gün) inkübasyondan sonra, inokülasyon bölgesinde **şankr** adı verilen tek ve ağrısız primer lezyon ortaya çıkar. Lezyon makül şeklinde başlar, daha sonra papüle ve ülsera dönüşür. Bunu ödem ve bilateral asimetric, hassas olmayan lenfadenopati oluşumu izler. Klasik olarak şankr, erkeklerde “coronal sulcus”ta, kadınlarda ise labia minorlarda yerleşmektedir. Fakat infeksiyon, atipik morfoloji, semptom ve yerleşim gösterebilmektedir. Bu durum tanısız güçlüklereden neden olmaktadır. Lezyonların ağrısız olması, atipik ve kolaylıkla görülemeyecekleri yerlerde de (perianal bölge, anal kanal, vajina, serviks) bulunabilmesi nedeniyle, primer sifilizli çoğu birey infeksiyonun farkına varamaz. Bu nedenle, primer evredeki hastaların sadece %30-40’ının tanısı konabilmektedir. İnfeksiyon tedavi edilmeden bırakıldığında, lezyonlar 4-5 hafta sonra kendiliğinden iyileşir [35,36].

4.5.2. Sekonder Sifiliz

Primer sifiliden 4-8 hafta sonra, *T. pallidum* bakteriyemi ile seyreden sistemik infeksiyon oluşturur. Sekonder sifilizli hastaların yaklaşık %75 kadarında deri bulguları meydana gelmektedir. Çoğunlukla şankr bu döneme kadar iyileşir, %15 hastada infeksiyonun varlığı devam eder. Yayılımın ilk gözlenen belirtisi, genellikle **sifilitik rozeol** denilen, asemptomatik, sınırları belirli olan ve vücudun yan taraflarında gözlenmeyen, iki haftada da ortadan kaybolan pembe maküler döküntülerdir. Bu evrenin ilerleyen dönemlerinde,

karakteristik makülopapüler ya da papuloskuamöz, sınırları düzgün, daha koyu renkli ekzantemler avuç içi, ayak tabanı, gövde, yüz ve ekstremitelere yayılır. Çeşitli oral lezyonlar tanısal önem taşıyabilmekte ve hastaların 1/3-1/2'sinde görülebilmektedir. Müköz plaklar ve sifilitik anjin en sık görülen bulgulardandır. Papüller nadiren ülserleşir. Bu ülserleşme, yaygın lenfadenopati ve mukozal ülserasyona bağlıdır. Ülserler, genital bölgelerde “**condyloma lata**” adı verilen son derece bulaştırıcı, siğil benzeri lezyonlar meydana getirirler. Saçlı derideki papüller kıl köklerinin infeksiyonu sonucunda alopesi oluşturabilmektedirler. Bu saç kaybı, kaşlar, kirpikler ve sakalı da etkileyebilmektedir [34-36]. Halsizlik, boğaz ağrısı, ateş, yaygın mikrolenfadenopati, kas ve eklem ağrıları gibi genel semptomlar çeşitli yoğunluklarda görülebilmektedir. Yaygın vaskülit oluşumu nedeniyle, hepatit, periostit, artrit, üveit, gastrit ya da menenjit gibi diğer organ bulguları da görülebilmektedir [35,36].

Sekonder sifilizin bu komplikasyonları hastaların %10'undan azında görülmektedir. Tekrarlayan sekonder sifiliz ve latent sekonder sifilizli hastalar tedavi görmediklerinde 3-6 haftada kendiliğinden düzelirler. Hastaların yaklaşık %25'inde tekrarlayan raşlar, mukozal ülserasyonlar ve ateş gibi bulguların olduğu tekrarlayan ataklar görülmektedir. Bu relapslar, bir yıldan sonra nadiren görülmeye başlar, iki yıldan sonra da hiç gözlenmez. İnfeksiyon daha sonra asemptomatik (latent) hale gelir [35,36].

4.5.3. Latent Sifiliz

Sekonder sifilizin dissemine lezyonları ve diğer belirtileri tedavi edilmemiş bireylerde, genellikle üç ay içinde kendiliğinden düzelir ve semptomlar bir süre sonra ortadan kalkar. Latent sifiliz iki evreden oluşur. İnfeksiyondan bir yıl sonraki döneme erken latent sifiliz denilmektedir. Hastaların %25'i rekürren sekonder klinik bulgulara sahiptir. Geç latent sifiliz ise, bir yıldan daha uzun süre olan asemptomatik infeksiyondur. Geç latent sifilizde serolojik testler pozitif fakat cinsel yolla bulaş yoktur. Latent sifiliz boyunca mikroorganizma kan dolaşımına yayılabilir ve hamilelik söz konusu ise gelişmekte olan fetusu etkileyebilir. Antibiyotik tedavisi başlandığında ya da tersiyer evrenin bulguları ortaya çıkmaya başladığında, latent dönem sona erer [34].

4.5.4. Tersiyer Sifiliz:

Günümüzde başarılı antibiyotik tedavisi nedeniyle sifilizin geç dönem bulguları nadiren görülmektedir. Geç latent sifilizli hastaların yaklaşık %35'i sifilizin geç bulgularını (tersiyer sifiliz) göstermektedir. Bu dönemde mukozalarda, deride, kemiklerde, karaciğer ve diğer iç

organlarda gom denilen granülomatöz, tümöral oluşumlar meydana gelir. Bu bulgular çoğunlukla infeksiyonun başlamasından 20-40 yıl sonra ortaya çıkar. Geç sifilizin üç temel klinik tablosu; nörosifiliz, kardiyovasküler sifiliz ve gommatöz sifilistir. Bu komplikasyonlar gelişmiş ülkelerde nadiren görülmektedir [31,34-36].

4.5.4.1.Nörosifiliz

Nörosifiliz, BOS'ta protein ve lökosit miktarının artması ya da BOS-VDRL testinin reaktif saptanması olarak tanımlanabilir. İnkübasyon süresi genellikle 5-12 yıldır ve semptomları erken meningovasküler sifilizin semptomları ile benzerdir. Erken sifilizli hastaların yaklaşık %40'ında, latent infeksiyonlu bireylerin de %25'inde nörosifilizin en az bir kriteri bulunmaktadır. Parankimatöz nörosifiliz omuriliğin (özellikle dorsal kolonun) ve beynin de etkilendiğini göstermektedir. Bu tablonun inkübasyon süresi genellikle 10-20 yıldır. Spinal kord sendromuna tabes dorsalis denilmektedir, beynin etkilendiği tabloya ise jeneralize paralizi ismi verilmektedir. Her iki sendrom da demans, psikiyatrik hastalıklar, hareket bozuklukları gibi pek çok nörolojik tablonun ayırıcı tanısında önem taşımaktadır. Akut erken menenjitin tipik bulguları, ateş, başağrısı, halsizlik, kusma ve ense sertliği olarak sayılabilir. Kranial sinir tutulumu ile görme bozuklukları, üveit, fotofobi, işitme kaybı ve yüz felci gibi belirtiler de tabloya eklenebilir. Nadir olarak, erken nörosifilizli bireylerde hafıza kaybı ve mental konfüzyon gibi bulgular da bildirilmiştir [34,36].

4.5.4.2.Kardiyovasküler Sifiliz

Kardiyovasküler sifiliz genellikle primer sifiliden 15-30 yıl sonra ortaya çıkar. Bu komplikasyon, büyük damarlarda herhangi birinde görülebilmektedir. Tedavi edilmemiş hastaların %10'unda komplikasyon gelişirken geri kalan grup asemptomatiktir. Genellikle, proksimal aortayı etkileyen aortit tablosuyla karakterizedir. Aort yapısında bozulmalara (bunun sonucunda da kalp yetmezliği tablosuna), anjina ile kendini gösteren koroner ostial stenoza ve aort anevrizmasına neden olan aortik medial nekroza yol açabilmektedir [35,36].

4.5.4.3.Gommatöz Sifiliz

Tedavi görmemiş hastaların %15'inde ilerleyici inflamasyon sonucu oluşan, doku ve kemik harabiyetinin lokal formu olan gomlar görülür. Bu lezyonlar, primer sifiliden 3-12 yıl sonra ortaya çıkan granülomatöz lezyonlardır. *T. pallidum* bu lezyonlardan izole edilebilir.

Lezyonlar nadiren spontan olarak iyileşir, fakat uygun antibiyotik tedavisi ile hızla gerilerler. En sık deri ve kemikte gözlenirler. Neredeyse her dokuda (karaciğer, kalp, beyin, mide ve üst solunum yolu) oluşabilirler. Buna rağmen genellikle ciddi komplikasyonlara neden olmazlar [34-36].

4.5.5. Konjenital Sifiliz:

Sifilizli hamilelerde infeksiyonun hangi evresi olursa olsun fetusa bulaş olmaktadır. Bulaş genellikle plasenta yoluyla olmakta ve özellikle de infeksiyonun ilk iki yılında gerçekleşebilmektedir. Erken sifilizli annelerin bebeklerinin yaklaşık 1/3'ü infeksiyon olmadan, 1/3'ü konjenital sifilizle doğar. Geriye kalan gebelikler ise düşük ya da ölü doğum ile sonuçlanır. Her yıl, bütün dünyada, yarım milyon ile bir milyon arasında konjenital sifiliz vakası meydana gelmektedir [34,36].

Konjenital sifiliz olgularının neredeyse tamamı, gebelerde sifiliz taranması ve hastalık saptanan gebelerin özellikle ilk iki trimesterde tedavisi ile önlenmektedir. Doğumdan sonraki ilk haftalarda sifiliz semptomları görüldüğünde prognoz kötüdür. Spontan abortus, ölü ya da erken doğum görülür. Etkilenmiş bebekler tipik olarak düşük doğum ağırlığına sahiptir. Pulmoner hemoraji, sekonder bakteriyel infeksiyonlar ve ciddi hepatit tabloları ile *T. pallidum* ile infekte doğan bebeklerin yaklaşık %4'ü doğumdan kısa süre sonra kaybedilir. Konjenital sifiliz, iki yaşından önce ya da sonra görülmesine göre erken ya da geç konjenital sifiliz olarak sınıflandırılmaktadır. Erken belirtiler erişkin sekonder sifilize benzerlikler gösterir ve genellikle doğumdan 2-10 hafta sonra görülmeye başlar. Bebeklerin %50'sinde görülen ilk bulgu, burun akıntısıdır. Bazen burun kanaması da eşlik eder. Bakteri zamanla burun kemiği ve kıkırdağını etkileyerek burunda harabiyete neden olabilir. Diğer bulgular deri döküntüleri, anemi, hepatosplenomegali, sarılık ve karaciğer fonksiyonlarında bozulmadır. Uzun kemiklerde osteokondrit gelişebilir. Geç belirtiler ise 5-25 yaşları arasında görülmektedir. Bu dönemde, interstisyel keratit nedeniyle kornea ve iriste hasar gelişebilmekte, 8. sinir sağlığı meydana gelebilmektedir. Asemptomatik ya da semptomatik nörosifiliz, artropati, diz ve dirseklerde bilateral efüzyon (Clutton eklemi) ve damak ve nazal septumun gommatöz periostiti, semer burun ortaya çıkabilmektedir. Bu bulguların çoğu tedaviye rağmen görülmektedir. Hutchinson dişleri, yarım ay şeklindeki üst kesici dişlerle karakterize bir tablodur ve konjenital sifilizin geç bulgularından biridir [34,36].

4.6. Tanı

T. pallidum'un kültürü mümkün olmadığından, sifilizin tanısı patojenin direkt incelenmesine ya da serolojik testlerle saptanmasına dayanmaktadır. Serolojik yöntemler, sifilizin laboratuvar tanısında primer öneme sahiptir, fakat sonuçlar hastanın kliniği ve geçmişi ile birlikte değerlendirilmelidir [35].

4.6.1. Direkt Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri:

Karanlık Alan Mikroskopisi

Şankr serolojik cevaptan 1-3 hafta önce ortaya çıktığı için, hastalığın bu evresinde patojenin direkt olarak araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu genellikle lezyonlardan elde edilen sekresyonların karanlık alan mikroskopisiyle incelenmesi ile yapılmaktadır [35]. Ağızdakiler dışındaki primer ve sekonder lezyonlar, eksudalar, lenf nodu aspiratı, BOS, amniyotik sıvı ve diğer sıvılar örnek olarak kullanılabilir. Bu yöntem, acil tanı ve tedaviyi sağlayabilen tek laboratuvar testidir. Güvenilir bir değerlendirme, iyi bir deneyim gerektirmektedir. Mikroskopi en kısa sürede yapılmalıdır, patojen karakteristik hareketi ile tanınmaktadır. Görüntüleme için yaklaşık 10^5 mikroorganizma/ml gerektiğinden, negatif mikroskopi sifilizi ekarte ettirmez. Oral floranın nonpatojen, kommensal spiroketleri, deneyimli kişiler tarafından bile *T. pallidum* ile karıştırılabilmektedir. Bu nedenle, oral lezyonların karanlık alan mikroskopisi yapılmamalıdır. Deneyimli kişiler için karanlık alan mikroskopisinin duyarlılığı %79-97, özgüllüğü ise %77-100 arasında değişmektedir. Yalancı negatif sonuçlar, genellikle topikal antibiyotiklerin kullanıma bağlı görülmektedir. Az miktarda bile olsa sistemik antibiyotiklerin kullanımı da yalancı negatifliklere neden olmaktadır. Karanlık alan mikroskopisi partnerlerin hızlı tanı ve tedavisini sağlamakta, bu sayede de yayılımı engellemektedir. Son derece ucuz olduğundan ve her yerde uygulanabildiğinden, çok değerli bir yöntemdir [35, 37].

Direkt İmmunofloresan Yöntem

Karanlık alan mikroskopisine alternatif olabilecek bir yöntem de, nonpatojen treponemalardan ayrımı sağlayan, özgül floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli monoklonal antikoları kullanan direkt immunofloresan yöntemdir (DFA-TP; *T. pallidum* için direkt floresan antikor işaretleme). Bu yöntem *T. pallidum*'u antijen saptama ve morfolojiye

dayanarak tanımlamaktadır. DFA-TP, immunofloresan enzim temelli mikroskopi metodudur ve yöntemde örnek türü olarak lezyon sürüntüleri, konsantre sıvılar, doku fırçalama örnekleri, fikse edilmiş ya da edilmemiş dokular kullanılmaktadır. Yöntemin özgüllüğü kullanılan primer antikorun türüne bağlıdır. Duyarlılık ise örnekteki *T. pallidum* miktarına bağlıdır. Araştırma amacıyla kullanılmak üzere çok çeşitli özgül antikorlar olmasına rağmen, FDA onayı almış DFA-TP tanı testi bulunmamaktadır [35,37].

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR, *T. pallidum*'u organizmaya özgül DNA ya da RNA sekansları çoğaltılması ile tanımlamaktadır. Sürüntü örneklerinden, lenf nodu aspiratlarından, BOS'dan, kandan, amniyon sıvısından, fikse edilmiş/edilmemiş doku örneklerinden çalışılabilmektedir. Ne yazık ki, duyarlılık örnek tipi ile ilişkili olarak çeşitlilik göstermektedir. PZR teorik olarak bir gen kopyasını dahi saptayabilmektedir. Özgüllük kullanılacak primerin seçimi, çalışanın deneyimi, örneğin türü, kalitesi ve laboratuvara ulaşım koşullarına bağlı değişmektedir [37]. Bazı kaynaklarda, primer sifilizde duyarlılığı %94,7, özgüllüğü ise %98,6 olarak bildirilmiştir [36].

4.6.2. İndirekt (Serolojik) Mikrobiyolojik Tanı yöntemleri:

T. pallidum infeksiyonuna yanıt olarak oluşan hümmoral antikorlar, primer sifiliz döneminde saptanabilir düzeye gelir. Sekonder dönemde konsantrasyonları artar ve latent dönemde düzeyleri düşer. Primer ve sekonder dönemlerde tanıda mikroorganizmayı direkt saptayan yöntemlere ilave olarak antikor saptama testleri kullanılırken, latent ve geç sifiliz dönemlerinde bu testler, tanıda kullanılacak yegane pratik tanı yöntemleridir [32].

Sifilizin serolojik tanısı nontreponemal ve treponemal antikorların test edilmesine dayanmaktadır. Bu antikorlar hastalık boyunca ortaya çıkan antijenik reaktivitelerine göre oldukça farklılık gösterirler [3]. Tarama amacıyla yaygın olarak kullanılan nontreponemal testlerin ucuz, çok sayıda örneğin aynı anda çalışılmasına uygun ve tedavi etkinliğini saptamada kullanılabilen testler olmaları avantajları arasında söylenebilmektedir. Nontreponemal testlerin dezavantajları ise erken primer ve geç sifilizde duyarlılığının düşük olması, yalancı pozitifliğin ve prozon reaksiyonunun olabilmesidir [32]. Treponemal testler, *T. pallidum* subsp. *pallidum* veya onun derivelerinin (Örn: rekombinan proteinler) antijen olarak kullanıldığı *T. pallidum*'a özgül antikorların saptandığı testlerdir. Primer olarak

nontreponemal testlerin pozitifliğini doğrulamada veya nontreponemal testlerin negatif olduğu geç sifiliz tanısında kullanılır. Bununla birlikte EIA gibi treponemal testlerin sifiliz tanısında tarama testi olarak kullanılma sıklığı artmaktadır. Avantajları, maliyetlerinin düşük oluşu, özgüllük ve duyarlılıklarının yüksek oluşu ve sonuçların objektif değerlendirilmesidir. Treponemal testler, tarama amacıyla kullanılabilse de tedavi takibinde veya reinfeksiyonda kullanılamaz, çünkü başarıyla tedavi edilmiş sifilizli kişilerin %85'inde test yaşam boyu veya yıllarca pozitif kalır. Bu nedenle, tanıda nontreponemal ve treponemal testler birlikte kullanılır. IgM antikorlarını saptayan treponemal testler, yeni doğanda konjenital sifilizin tanısında yardımcı olabilir. IgM antikorlarını saptayan testlerin erişkindeki erken sifiliz veya reinfeksiyonda kullanılabilirliği yeterince araştırılmamıştır [32].

4.6.2.1.Nontreponemal Testler:

Geleneksel olarak nontreponemal testler, konak tarafından infeksiyona yanıt olarak oluşturulan ve özgül olmayan antijenlere (öncelikle kardiyolipin) karşı oluşan antikorları (reaginik antikorlar) saptamaktadır. Son yapılan çalışmalara göre, kardiyolipinin aynı zamanda *T. pallidum* hücrelerinin de bir parçası olduğu ve nontreponemal antikorların oluşumunun aynı zamanda özgül antijenlere karşı da olan bir immun yanıt olduğu bildirilmiştir. Fakat bu antijen özgül antijenlerin aksine lipoidal yapıdadır [3]. Bu antijene karşı oluşan IgM ve IgG yapısındaki antikorlar şankrın ortaya çıkışından 1-3 hafta sonra nontreponemal testlerle saptanabilmektedir [31,35].

Standart nontreponemal testlerde flokülasyon yöntemi kullanılır; lipoidal partiküllerin (antijenlerin) flokülasyonu, testin pozitif olduğunu gösterir. Antijen hasta serumu ile solid bir matriks üzerinde karıştırılır, belirlenen hız ve sürede rotasyon hareketi ile çevrilir ve sonuçlar okunur. Nontreponemal testlerin tümü yaklaşık olarak aynı duyarlılık ve özgüllüktedir (Tablo 5) [32].

Tablo 5. Sifilizde nontreponemal serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri [32]

Test	Duyarlılık(%)				Özgüllük(%)
	Primer	Sekonder	Latent	Geç	
VDRL	78(74-87)	100	95(88-100)	71(37-94)	98(96-99)
RPR	86(77-100)	100	98(95-100)	73	98(93-99)
USR	80(72-88)	100	95(88-100)		99
TRUST	85(77-86)	100	98(95-100)		99(98-99)

Nontreponemal testlerin tümü, antikor titresinin belirlenebilmesi için hasta serum örneğinin seri çift kat dilüsyonları hazırlanması ile kantitatif olarak uygulanabilir. Test tarama amacıyla kalitatif olarak çalışılırken, tedavi takibinde kantitatif test sonuçları kullanılmaktadır. Bazal antikor titresini için serum örneği, tedavinin başladığı gün alınmalı, tedavi takibinde de aynı test kullanılmalıdır [32].

Pozitif sonuç treponemal infeksiyonu kanıtlamaz, doku hasarı olduğunu gösterir. Primer ya da sekonder sifiliz vakalarında tedaviye başladıktan altı ay sonra gözlenen en az dört katlık titre azalması tedavinin başarıya ulaştığını gösterir. Hastalığın süresi uzadıkça, bu testlerin negatifleşme süresi de uzamaktadır. Geç latent dönemde, bu durum bir yıl geçtikten sonra görülmektedir. Hastaların %25'inde, tedavi görmemelerine rağmen, geç dönem sifilizde, nontreponemal testler negatifleşebilmektedir. Genellikle, tedavi sonrası testlerin negatifleşmesi, hastalığın süresine, titre yüksekliğine ve infeksiyonun ciddiyetine bağlıdır. Tedaviye rağmen pozitif titrenin devam etmesi, tedavinin başarısızlığını, reinfeksiyonu ya da yalancı pozitif reaksiyonu göstermektedir. Ayrıca, hastaların %5'inden daha azında tedavi başarılı olmasına rağmen, nontreponemal testler negatifleşmez. Uzun bir süre, bazen de ömür boyu, düşük bir titrede saptanmaya devam edebilir, bu duruma "serofast reaksiyon" adı verilmektedir [3,35,38].

Farklı testlerin titreleri birbirleri ile karşılaştırılmamaktadır. Bu nedenle, titre takibi aynı test ile aynı laboratuvarında yapılmalıdır. Nontreponemal testlerin duyarlılığı, hastalığın evresine bağlı değişmektedir. Bu yüzden, bu testler taramada sınırlı kullanıma sahiptir. Testler, infeksiyonun başlamasından 4-8 hafta sonra pozitifleşir (duyarlılık %59-87). Sekonder sifilizde, yüksek antikor titrelerine bağlı olarak, duyarlılık %100'e yaklaşmaktadır. Geç sifilizde ise antikor seviyelerinin düşmesine bağlı olarak duyarlılık da düşmektedir [35].

Nontreponemal testler primer sifilizde, %13-41 hastada negatif çıkabilir. Bu yüzden testin reaksiyon vermemesi, her zaman hastalığın olmadığı anlamına gelmez. Bu testlerin tarama amaçlı kullanılmasının en ciddi sakıncası, prozon olayının meydana gelmesidir. Prozon reaksiyonu, antikorun yüksek titrede ve eksik olduğu durumda veya normal antijen-antikor bağlanmasının engellenmesi ile meydana gelir ve yalancı negatif sonuca yol açar. Serumun dilüsyonu ile burada ortaya çıkan prozon reaksiyonun önüne geçilebilir. Sekonder sifilizde ise, bu testler her zaman pozitifdir. Sadece yine çok yüksek antikor titrasyonlarında prozon olmakta ve test negatif sonuç vermektedir. Nontreponemal testlerin pozitif çıktığı durumlarda doğrulama amacıyla treponemal testlere geçilmelidir [39,40].

Nontreponemal testlerde 1/8'in altındaki titrelerde, yalancı pozitiflik görülebilmektedir. Yalancı pozitiflikler %1-20 sıklıkta görülmekte olup akut (<6ay) ya da kronik yalancı pozitif sonuçlar olarak sınıflandırılmaktadır. Akut yalancı pozitif reaksiyon infeksiyonlara (mononukleoz, varisella, kızamık, sıtma, bruselloz, kabakulak, lenfograduloma venereum) bağlı görülebilir. Kronik yalancı pozitiflikler ise çoğunlukla otoimmün ya da kronik inflamatuvar hastalıklarla (sistemik lupus eritematozus (SLE), poliarteritis nodosa, antifosfolipid sendromu, kronik karaciğer hastalığı) ilişkilidir. HIV pozitif hastaların %10-30'unda yalancı pozitif nontreponemal reaksiyonlar görülmektedir [35].

Yalancı negatiflikler ise, genellikle hastalığın erken ya da geç evrelerinde, düşük antikor titrelerine bağlı olarak görülmektedir. Bazen, çok yüksek antikor titrelerinin olduğu sekonder sifilizde de yalancı negatif sonuçlar saptanabilmektedir. Bu prozon fenomeni hastaların %2'sinde görülmektedir ve aglutinasyonu engelleyen uygunsuz antikor-antijen oranına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu fenomen, hamilelerde ve HIV infeksiyonunda görülmektedir. Bu durumu engellemek için, eğer sifiliz şüphesi kuvvetli ise, hasta serumu 1/16 titreye kadar dilüe edilmelidir [35].

A. Kompleman Birleşmesi Deneyleri:

Bunlar Wasserman ve Kolmer reaksiyonlarıdır. Her iki reaksiyonda da temel öge reagin içeren hasta serumlarının kardiolipin antijenler yanında komplemanı bağlamalarıdır.

Wasserman, Kolmer Kompleman Birleşmesi Deneyi:

Bir antijen kendi antikorunu ile birleştikten sonra, oluşan bileşik, ortama katılan kompleman ile birleşerek onu bağlar. İşte bu serolojik deneyle tarafımızdan katılan komplemanın izlenmesi ile, elde bilinen bir antijen var iken serum ya da vücut sıvılarında ona uygun antikorun, ya da elde bilinen antikorları içeren bağışık serum varken, bunlara uygun antijenin varlıklarının araştırılmasına olanak sağlar. Elektrolitli ortamda kendi antikorları ile bir arada kalan koyun eritrositleri, komplemana karşı duyarlılaşırlar. Bu karışıma hemolitik sistem adı verilir. Kolmer kompleman birleşmesi deneyi bilinen kardiolipin antijenleri kullanılarak hasta serumlarında nontreponemal antikorları ortaya çıkararak hastalık tanısı koymak amacıyla kullanılır [31,40].

B. Flokülasyon Deneyleri:

Bu testlerde antijen olarak, lestin ve kolesterolle birleştirilmiş bir fosfolipid olan kardiyolipin kullanılmaktadır. Bu mikroflokülasyon testleri hızlı bir şekilde uygulanabilmektedir ve çok duyarlı sonuçlara sahiptir, reaktivliklerinde seri dilüsyonlar yapılarak kantitatif olarak da çalışılabilmektedir [41].

VDRL (Venereal Disease Research Laboratory):

Kardiyolipin-Kolesterol-Lesitinden oluşmuş antijen kullanılır. Hasta serumları 56°C'de inaktive edilir. Belli bir oranda sulandırılarak veya sulandırılmadan kullanılırlar. Antijenler de kendi titrelerine uygun sulandırıldıktan sonra belli miktarlarda hasta serumları ile tüp içinde ya da özel lamalar üzerinde karıştırılırlar. Bir süre çalkalanırlar ya da bazı deneylerdeki gibi rotasyon hareketleri ile çevrilirler. Mikroskopta antijen ve antikor kompleksinin oluşturduğu flokülasyon incelenir. Antikor antijen kompleksi bu testte kısa bir süre sonra antijenin özelliğine bağlı olarak pıhtıya benzer bir agregat oluşturur. Sonuçlar reaktif, zayıf reaktif, ya da nonreaktif olarak adlandırılır. VDRL mutlaka titrasyon belirtilerek rapor edilmelidir [31].

VDRL testinin bir modifikasyonu olan VDRL-BOS testi, BOS'ta reagenik antikorların saptanması ve titresinin belirlenmesini sağlar. Antijen ve hasta örneğinin hazırlanışı serum VDRL testinden farklıdır, bu nedenle önerilen test prosedürlerinin dikkatle izlenerek testin uygulanması gerekir. VDRL-BOS testi, BOS örnekleri için standardize edilmiş tek nontreponemal testtir [32].

RPR (Rapid Plasma Reagin):

Çok sayıda örneğin hızlı bir şekilde çalışıldığı bir alan izleme prosedürü olarak geliştirilmiştir. RPR, yüksek reaktiviteye sahiptir ve plazmanın istenilen hacimlerinde yapılan bir testtir. Taramaya uygundur, kömür emdirilmiş antijen kullanılır. RPR testi özel laboratuvar elemanları gerektirmeden kolayca uygulanabilir. Bütün gerekli malzemeler kit içinde kullanılıp atılabilir. Sonuçlar makroskopik olarak pozitif veya negatif olarak gözlenir [31,40]. RPR testi için yapılan çalışmalarda; primer sifiliz enfeksiyonunda duyarlılık %77–100, sekonder sifilizde %100, latent sifilizde %95–100, tedavi edilmiş latent sifiliz hastalarında %57,9, özgüllük %88,8–99 bulunmuştur [32].

USR Testi:

USR (Unheated serum reagin) testi VDRL testine çok benzeyen, antijen olarak VDRL antijenine ek olarak kolin klorid kullanılan kalitatif ve flokulasyon temelli bir testtir. Kolin klorid serumdaki diğer bileşenlerle etkileşimi önler, serumun testten önce ısıtılmasına da gerek olmaz. Antijenin önceden EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) ile stabilize edilmesi de antijenin günlük hazırlanması gerekliliğini ortadan kaldırır. Değerlendirme de VDRL testi gibi flokulasyon partüküllerinin yoğunluğuna göre zayıf pozitif, pozitif ya da negatif olarak yapılır [42].

TRUST Testi:

TRUST (Toluidine red unheated serum test) tekniği RPR kart testine benzeyen, kantitatif flokulasyon temelli bir testtir. Antijen olarak VDRL antijeni EDTA ile stabilize edilerek, Toluidin red toner ilave edilmiş, kolin klorid kullanılır [43].

4.6.2.2. Treponemal Testler

Treponemal testler nontreponemal testler ile alınan sonuçları doğrulamak ya da negatif sonucun alındığı geç dönem sifiliz vakalarında tanı amacıyla kullanılırlar. Antitreponemal reaksiyonlar nonveneryal endemik treponematozlarla (pinta, yaws, bejel) sifilizi birbirinden ayıramamaktadır. Spesifik antitreponemal antikorlar hastalığın aktivitesi ile ilişkili değildir. Genellikle uygun tedaviye rağmen ömür boyu saptanabilmektedir. Bu testler hastalığın başladığı ilk günler dışında, hastalığın tüm evrelerinde yüksek duyarlılık gösterirler [35]. Tablo 6’da bazı treponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri görülmektedir.

Tablo 6. Sifilizde kullanılan bazı treponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri [32]

Test	Duyarlılık(%)				Özgüllük(%)
	Primer	Sekonder	Latent	Geç	
FTA-ABS	84(70-100)	100	100	96	97(94-100)
TPPA	88(86-100)	100	100		96(95-100)
IgG EIA	92(88-97)	100	99(96-100)	100	

A. TPI (Treponema Pallidum İmmobilizasyon Testi)

Nelson ve Mayer ilk treponemal antikor testi olan TPI testini bulmuşlardır. TPI testinde antijen olarak tavşan testisinde üretilen *Treponema pallidum*'lar kullanılır. Canlı treponemaların hareketini durduran ve sifilitik hasta serumlarında bulunan özgül antikorların aranması bu deneyin temelini oluşturmaktadır. İnaktive ve dilüe edilmiş hasta örneklerinde bulunan özgül antikorların canlı treponemaların hareketlerini durdurup durdurmadığı incelenir. Normal serumlarda treponemaların yaklaşık %70'i hareketli kaldığı halde sifilitik hasta serumlarında hareketli treponemalar daha azdır. Özgül, ancak duyarlılığı az ve çalışması güç olan bir testtir. Bugün TPI testi sadece laboratuvar araştırmalarında kullanılmaktadır [31].

B. FTA-ABS (Floresanlı Treponema Antikor-Absorbsiyon Denevi)

FTA-ABS yalancı pozitif sonuç veren nonpatojen treponemalara karşı oluşan, özgül olmayan antikorları uzaklaştırmak amacıyla kullanılan bir testtir. FTA-ABS testi bir indirekt floresan antikor yöntemidir. Antijen olarak öldürülmüş Nichols virülan treponema suşları kullanılır. Hasta serumu, *T. pallidum*'a özgül olmayan antikorları uzaklaştırmak için nonpatojenik Reiter treponemasından hazırlanan antijen niteliğindeki maddelerle absorbsiyona tabi tutulur. Bu şekilde 1/5 oranında dilüe edilen hasta serumu *T. pallidum* ile fikse edilmiş ve üzerinde 1 cm çapında halkalar bulunan lamlara yayılır. Eğer hasta serumunda antikor varsa, treponemal antijene bağlanır. Konjugat olarak FITC işaretli "anti-human immunglobulin" kullanılır, o da antijen-antikor kompleksine bağlanır. Daha sonra lamalar immunfloresan mikroskobu ile incelenir [31].

FTA-ABS, enfeksiyonun üçüncü haftasından itibaren pozitifleşir. Duyarlılığı, kesin olmamakla beraber, %92 ile 99 arasında değişir. Primer enfeksiyonda duyarlılık %86 ile %100 arasında değişirken, tüm sekonder vakalarda ve geç dönem enfeksiyonların %96-100'ünde reaksiyon pozitif sonuç verir. Sağlıklı insanlarda yalancı pozitif reaksiyonla %1 oranında

karşılaşılmaktadır. Yapılan çalışmalar, yalancı pozitif FTA-ABS reaksiyonlarının, artmış gamma globulin veya antinükleer antikor seviyelerine sahip hastalarda, otoimmün hemolitik anemili hastalarda, Lyme ve pek çok akut ve kronik hastalıklarda, genital herpes simpleks ve tip 1 diabetes mellituslu hastalarda, hamilelerde ve yaşlılarda görüldüğünü belirtmektedir [39].

C. Floresans Treponemal Antikor Absorbsiyon Çift Boyanma (“FTA-ABS doublestaining”) Testi:

Standart FTA-ABS testinin bir modifikasyonudur. Bu yöntemde, tetrametilrodamin izotiyosiyanat işaretli, “anti-human IgG” ve zıt boyama olarak da FITC işaretli anti-*T. pallidum* konjugat kullanılmaktadır. Bu test de FTA-ABS’da olduğu gibi, “reaktif”, “minimal reaktif”, “nonreaktif” ya da “atipik floresans gözlendi” şeklinde raporlanır. “Minimal reaktif” olarak raporlanan örneklerde test tekrar edilmelidir. Aktif SLE ya da başka otoimmün hastalığı olan bireylerde atipik boyanma görülebilir [44].

D. FTA-ABS 19S IgM Testi:

Konjenital sifiliz tanısında kullanılan eski bir yöntemdir. Ticari bir formu bulunmamaktadır. IgM testlerindeki bir sorun, yenidoğanda oluşan IgM’lerin, infeksiyon etkeninden ziyade anneden geçen IgG’lere karşı da oluşabilmesidir. Bu, testlerin özgüllüğünü azaltmaktadır. Testte IgM’in 19S parçasının kullanılması, aktif infeksiyon ile pasif antikorlara karşı oluşan reaksiyon birbirinden ayrılabilir. Bu sayede testin özgüllüğü artmaktadır. Ancak, halen duyarlılığı düşük bir yöntemdir. Bu sebeple, FTA-ABS 19S IgM testi konjenital sifiliz tanısında doğrulama testi olarak yararlı olduğu halde, tarama testi olarak kullanılmamalıdır [30,44].

E. TPHA (Treponema Pallidum Hemaglutinasyon Denevi):

Antijen olarak tannik asit ile muamele edilmiş formollü ve parçalanmış *Treponema pallidum* antijenleri ile kaplanmış koyun eritrositleri kullanılarak hasta serumları ile karıştırılıp hemaglutinasyon araştırması esasına dayanır. Spesifik olmayan antikorlar absorbsiyona uğradıkları için oldukça duyarlı bir deneydir. Bu test ile IgM ve aynı zamanda IgG antikorları saptanmakta olduğundan, sifilizin tanısında önemli bir yeri vardır, yapılması kolay olup, titre de edilebildiğinden tercih edilmektedir. Antijende ve tekniklerde yapılan ufak değişikliklerle bu deneyin değişik türleri geliştirilmiştir [31,40]. Tedavi olmuş hastalarda ömür boyu pozitif kalmaktadır [27].

F. MHA-TP (Micro Hemagglutination Assay *Treponema Pallidum*):

T. pallidum antijenli mikro hemaglutinasyon deneyidir. TPHA'ya benzer prensibe dayanır. Fakat daha az reaktif ve serumla çalışan mikro testtir [31,39,40]. *T. pallidum* (Nichols) suşunun ultrasonikasyonu ile elde edilen materyal ile hassaslaştırılmış eritrositlerin antijen olarak kullanıldığı, indirekt mikrohemaglutinasyon yöntemine dayanır. Eğer hasta serumunda treponemal antikor varsa, dipte yaygın şekilde çöken eritrositler mat (donuk) bir yüzey oluştururlar. Aglutine olmamış eritrositlerin dipte ortasında çok küçük boşluk olan veya olmayan keskin kenarlı düğme tarzında çökmesi, negatif olarak değerlendirilir. Aglutine olmamış hücrelerin ortada küçük delikli düğme tarzında çökmesi başlangıçta şüpheli (+/-) olarak değerlendirilir ve test tekrarlanır. Eğer aynı şekil oluşursa, o zaman sonuç negatif olarak değerlendirilmelidir. Hem test hem de kontrol çukurlarında aglutinasyon oluşması, nonspesifik aglutinasyonun varlığını gösterir. Bu durumda test tekrar edilmelidir. Genel olarak sağlıklı bir kişide yalancı pozitif reaksiyon nadiren görülür [39].

G. TPPA (*Treponema Pallidum* Partikül Aglutinasyon) Testi:

T. pallidum'a karşı oluşan antikorların saptanmasında TPPA testi (Fujirebio Diagnostics, Inc, Malvern, Pa.), mikrohemaglutinasyon testinin yerini almıştır. Bu testte eritrositler yerine, *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Nichols suşu) antijenleri ile sensitize jelatin partikülleri kullanılır. Ayrı bir absorpsiyon basamağı yoktur; bu nedenle, yapılışı basittir ve daha kısa sürede uygulanır. Serum örneği mikrotitrasyon plağında dilüe edilir. Sensitize jelatin partikülleri, 1/40 dilüe olmuş serum örneğine eklendiğinde final dilüsyon 1/80 olur. Serumdaki *T. pallidum*'a karşı oluşmuş antikorlar, sensitize partiküllerle reaksiyona girer ve mikrotitrasyon plağında partiküllerin aglutinasyonu sonucu kümeleşme görülür. Nonspesifik reaksiyonları gözlemlemek için kontrol olarak sensitize olmayan partiküller, 1/20 oranında dilüe serum örneğine eklenir (final dilüsyon 1/40 olur) [32].

Sonuçlar “pozitif”, “negatif” veya “+/-“ olarak raporlanır. Pozitif sonuçlar, aglutinasyon paternlerine göre +1'den (büyük halka şeklinde düzensiz dış kenar ve periferik aglutinasyon) +4'e (kuyucuğun tabanını kaplayan aglutine olmuş partiküllerin oluşturduğu düzgün yüzeyli küme) kadar derecelendirilir. Kuyucuğun merkezinde ortasında çok küçük bir açıklık bulunsun veya bulunmasın yoğun düğme şeklinde yapı görüldüğünde sonuç negatif olarak raporlanır. Merkezinde küçük açıklık bulunan aglutine olmamış partiküllerin oluşturduğu yapı, başlangıçta +/- olarak değerlendirilir; test bu durumda tekrarlanmalıdır. Test

tekrarlandığında da aynı patern görülüyorsa sonuç, negatif olarak raporlanır. *T. pallidum*'a karşı oluşan antikorların saptandığı mikrohemaaglutinasyon testinde koyun eritrositleri antijenle kaplıdır. TPPA testinde ise koyun eritrositleri yerine jelatin partikülleri kullanıldığından sensitize olmayan partiküllerin nonspesifik aglutinasyonu nadiren gözlenir. TPPA testinde hataların kaynağı, laboratuvarında genellikle kirli veya uygun olmayan mikrotitrasyon plaklarının kullanılması, pipetleme hataları veya vibrasyondur [32]. TPHA testine göre, TPPA'da daha az şüpheli (+/-) sonuçlar alındığı için okunması daha kolaydır [39].

H. “Enzyme Immuno Assay” (EIA):

Son yıllarda sifilizin laboratuvar tanısında kullanılmak üzere EIA kullanarak birçok alternatif test geliştirilmiştir. Fazla miktarda treponemal testin çalışılacağı durumlarda EIA ve kemilüminesan prensibi ile çalışan testler kullanılmaktadır. Bunların bir kısmında spesifik *T. pallidum* rekombinant antijenleri kullanılmıştır. EIA testleri sadece IgG'yi saptayabildiği gibi, IgM ve IgG'yi saptayabilen kombine testler de mevcuttur. Primer infeksiyonda daha duyarlı oldukları için, hem IgM'i hem de IgG'yi saptayabilen EIA'ler önerilmektedir, böylelikle özgüllük de artmaktadır. Yüksek özgüllükleri, yüksek duyarlılıkları, objektif değerlendirilmeleri ve otomasyona uygunlukları nedeniyle EIA'lerin başlangıç tarama testi olarak kullanımını artmaktadır. EIA pozitif saptandığında, tanı TPPA ya da TPHA gibi başka bir treponemal testle doğrulanır. Daha sonra hastalığın evresini belirleyebilmek için, nontreponemal bir test uygulanır [38,41].

EIA testlerinin ilk değerlendirilmelerinde tümünün duyarlılık ve özgüllüğünün diğer treponemal testlerle benzer olduğu saptanmıştır [32,45]. Primer sifiliz döneminde alınan örneklerin analizinde *T. pallidum* sonikatları veya rekombinan antijenlerinin kullanıldığı dokuz EIA testinin bir kaçının duyarlılığının FTA-ABS IgM testi ile benzer olduğu saptanmıştır [32]. Son zamanlarda ise kemilüminesan temelli testler kullanılmaktadır. Bu testlerin performansları hakkında daha az bilgi mevcuttur [41].

I. İmmun Blotting Yöntemler (Western blot vb):

T. pallidum için kullanımı giderek artan diğer bir test, Western blot'dur (WB) [32,46]. Bugün araştırmacıların çoğu 15,5 (TpN 15,5); 17 (TpN 17); 44,5 (TpN 44,5) ve 47 (TpN 47) kDa'luk immünodeterminantlara karşı antikorların saptanmasının kazanılmış sifilizde tanı koydurucu olduğu konusunda hemfikirdir. IgM spesifik bir konjugat kullanıldığında *T.*

pallidum western blot testinin, konjenital sifiliz tanı testi olarak değeri vardır. Konjenital sifilizde IgM Western blot testinin özgüllük ve duyarlılığının, IgM EIA'dan daha fazla olduğu görülmektedir [32].

Bu yöntemde nitroselüloz flerit üzerine fikse edilmiş antijen bantlardaki değişim değerlendirilir. Bazı araştırmacılar WB test sonuçlarını değerlendirirken en az dört ana antijenden üçünün gösterilmesi durumunda sonucun pozitif olarak değerlendirilmesini önermektedirler. Aynı araştırmacılar, bir veya iki antijenin pozitif olduğu durumlarda sonucun sırasıyla, negatif ve belirsiz olarak değerlendirilmesi gerektiğini belirtmektedirler. Ayrıca yapılan çalışmalarda, IgM Western blot testinin spesifik IgM varlığının gösterilmesinin esas olduğu konjenital sifiliz tanısında ve reinfeksiyonun belirlenmesinde çok değerli bir test olduğu gösterilmiştir. Çalışılmasının basit olması ve objektif olarak değerlendirilebilmesi önemlidir. Aglutinasyon ve FTA-ABS testlerinin aksine WB sonuçlarının değerlendirilmesi kişiye göre değişmez. SLE ve diğer otoimmün hastalığı olan hastalarda subjektif laboratuvar değerlendirmesi ve yalancı pozitif sonuçlar sıklıkla görülür. Yapılan bir çalışmada, SLE ve diğer otoimmün hastalıkları olan hastalarda gold standart test olarak WB kullanılmış ve sifiliz tanısının doğruluğu araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, FTA-ABS'nin SLE ve diğer otoimmün hastalığı olan hastalarda, sifiliz tanısı için yeterli bir doğrulama testi olmadığı gösterilmiştir. Negatif FTA-ABS sonucu, sifiliz infeksiyonunu düşündürmeyebilir. Fakat pozitif bir FTA-ABS sonucu bu pozisyonda sifiliz infeksiyonunu doğrulamaz. Sonuç olarak, bu çalışmada, WB'ın sifiliz için uygun bir doğrulama testi olduğu ve sifilizin immunolojik cevabını bu tür hastalarda kesin olarak gösterebilmek için gerekli olabileceği vurgulanmıştır [39].

Hızlı Tanı Testleri

Son zamanlarda çeşitli hızlı tanı testleri üretilmiştir. Bu testler, laboratuvar hizmetlerinin olmadığı bölgelerde sifiliz taramasında kullanılabilir. Sifilizin inkübasyon döneminde ve erken primer infeksiyonda bu testler negatif saptanabilir [36]. Bu testlerin, halen kullanılmakta olan treponemal testlere göre çok sayıda avantajı vardır. Tümü 30 dakika içinde uygulanır, örnek olarak bazılarında tam kan (parmak ucundan alınan kan da olabilir) kullanılabilir. Uygulama için özel ekipman gerekmez. Mevcut ticari testlerin çoğu, “lateral flow immünokromatografik strip” yöntemini kullanan benzer formatta testlerdir. Nitroselüloz

stribin iki ucunda küçük filtre yastıkçıkları bulunur. Birinde anti-Ig antikorları, kontrol stribine karşı antikorlar ve indikatör (ör: kolloidal altın) yer alır. Stribin diğer ucundaki küçük filtre yastıkçık ise serum örneğinin strip boyunca yayılmasını sağlar. Örnek (serum, plazma veya tam kan) stribin antikor ve konjugat içeren ucuna konur. Bazı testlerde örneğin strip boyunca yayılması için tampon eklenir. Belirlenen süre sonunda, genellikle 15-30 dakika sonunda reaksiyon tamamlanır. İki bant varsa, örnek pozitif olarak kabul edilir. Sadece kontrol bandı varsa, negatif olarak değerlendirilir. Kontrol bandı yoksa sonuç geçersiz kabul edilir, bu durumda test tekrarlanmalıdır [32]. Bu testlerin duyarlılıkları, TPHA/TPPA ile karşılaştırıldığında, %85-98 arasında değişmektedir, özgüllükleri ise %93-98 olarak bildirilmiştir [36].

Sifiliz Tanısında Test Seçimi

Geleneksel sifiliz tanı algoritmasında tarama RPR gibi bir nontreponemal testle yapılmakta, reaktif sonuçlar da treponemal bir testle doğrulanmaktadır. Son yıllarda, laboratuvarlar tarama testi olarak otomatize EIA ya da benzer yöntemleri kullanan treponemal testleri tercih etmeye başlamışlardır [37]. Reaktif EIA sonuçları aktif infeksiyon tanısını koydurmaz. Daha önce geçirilmiş infeksiyon ile mevcut infeksiyon ayırımını yapamaz. Bu nedenle, tek başına bir treponemal teste dayanarak tanı konması önerilmemektedir. Nontreponemal bir test ile kombinasyonu önerilmektedir. Fakat pozitif bir treponemal tarama testinin ardından negatif saptanan bir nontreponemal testin nasıl raporlanacağı hala belirsizdir. Bu örneklerin yorumlanmasında ya da primer sifilizin doğrulanmasında, IgM özgül testlerin faydası olabilmektedir. CDC uzman grubu tarafından, bu sorunlar düşünülerek, bir treponemal test ile tarama algoritması oluşturulmuştur. Bu algoritma treponemal pozitif, nontreponemal negatif örneğin yorumlanabilmesi için, birden fazla ileri testin yapılmasını gerektirmekte ve hastanın kliniği ve tıbbi geçmişi ile birlikte sonuçların yorumlanmasını önermektedir [41].

Primer sifiliz döneminde karanlık alan mikroskopisi tanı için kullanılacak yöntemdir. Karanlık alan mikroskopisi ile *T. pallidum*'u sindirim sistemi spiroketlerinden ayırmak mümkün olmadığından, perirektal ve oral ülserlerde DFA-TP testi kullanılmalıdır. Şankr iyileşmeye başladığında veya hasta topikal ya da sistemik antibiyotik kullanıyorsa; treponemaların sayısı saptanamayacak kadar az olabilir, hareketlerini kaybedebilir veya

parçalanmış olabilir. Günümüzde sifiliz tanısında kullanılan serolojik testlerle saptanan hümorale antikorlar, şankr oluşuktan 1-4 hafta sonra ortaya çıkar. Bu nedenle serolojik testlerin şankr iyileşmeye başladığında pozitifleşmesi beklenir. Karanlık alan mikroskopisi ve DFA ile mikroskopik inceleme negatif olsa dahi serolojik testlerin pozitif olması veya nontreponemal testlerin titrelerinin 1-2 haftadan sonra artışı tanıyı destekler [32].

Sekonder sifiliz döneminde, mikroorganizma vücudtaki tüm organ ve vücut sıvılarına yayılır. Bu dönemde serolojik testler genellikle pozitifdir, ayrıca nemli lezyonlarda treponemalar bulunabilir [32].

Erken latent dönemde nontreponemal ve treponemal serolojik testler, daima pozitifdir; ancak hasta bu dönemde asemptomatiktir. Geç latent sifilizde nontreponemal testler negatifleşebilir. Nontreponemal testi negatif olan bir hastada treponemal test sonucu pozitif ise ve hastada sifiliz öyküsü varsa bu sonuç farklı bir treponemal test ile doğrulanmalıdır. Erken latent sifiliz tanısına karşın geç latent sifiliz tanısı enfeksiyonun başlangıcının geçen bir yıl içinde veya öncesinde olduğunun (i) serokonversiyon (ii) primer veya sekonder sifiliz semptomlarının olması veya (iii) cinsel partnerinde primer, sekonder veya erken latent sifilizin saptanması ile konur. Bu bilgilerin olmaması durumunda kişiye “süresi bilinmeyen latent sifiliz” tanısı konur [32].

Geç ve tersiyer sifiliz kronik, progresif bir hastalıktır; semptomları enfeksiyonun başlamasından 10-20 yıl sonraya dek görülmeyebilir. Nadiren HIV ile koinfekte hastalarda geç ve tersiyer sifilizin daha erken başlayabildiği gösterilmiştir. Geç sifilizli hastaların yaklaşık %71’inde nontreponemal testler pozitifdir, ancak treponemal testler daima pozitifdir. Bu testler tanının tek dayanağı olabilir. Benign (gommatöz) sifilizde görülen granülom benzeri lezyonlar (gomlar), lenfosit, makrofajlar ve eğer varsa az sayıda spiroket içerir. Kardiyovasküler sifiliz tanısı, aort yetmezliği veya torasik aorta anevrizmasını gösteren bulgular, treponemal testlerin pozitif oluşu ve sifiliz tedavisi öyküsünün olmayışı ile konur [32].

HIV koinfeksiyonu olan hastalarda atipik serolojik reaksiyonlar olduğu bildirilmiştir. Bunlar, primer ve sekonder sifilizdeki sık yalancı negatif seroloji, prozon fenomeni, “sero-fast reaksiyonlar” ve tedavi sonrası negatifleşen özgül antikorlar olarak sayılabilir. Yalancı pozitif nonspesifik reaksiyonlar %11 oranında görülmektedir. Genellikle HIV enfeksiyonu serolojiyi değiştirmez, etkilemez, ama atipik sonuçlar beklenmelidir. Bazen FTA-ABS testinde de

yalancı negatiflik saptanabilir. Titre azalmasında gecikme görülebilir ve bunun herhangi bir klinik önemi yoktur. Erken sifilizdeki negatif seroloji olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır ve böyle vakalarda direkt yöntemlerle patojenin aranması düşünülmelidir [35].

Nörosifiliz; BOS'un *T. pallidum* tarafından invazyonu çok sık görülmektedir ve sıklıkla infeksiyonun çok erken evresinde ortaya çıkmaktadır. Çoğu hastada santral sinir sistemi infeksiyonu temizlenir ya da kontrol altına alınır. Genellikle, geç sekel ortaya çıkmaz. Ne yazık ki, bu her zaman geçerli değildir. Hastalar primer, sekonder ya da latent sifiliz tedavisine yanıt vermediklerinde ya da HIV ile koinfekte olduklarında, ya da immun sistemlerini baskılayan bir neden olduğunda geç sekel ortaya çıkmaktadır. Nörosifilizin tanısında lomber ponksiyon gereklidir. Geleneksel olarak tanı, BOS'un test edilmesini, beyaz kan hücrelerinin, proteinin varlığı açısından BOS'un mikroskopik incelenmesini, VDRL analizini içermektedir. Fakat nonreaktif VDRL sonucu nörosifilizi dışlamamaktadır. Treponemal testler genellikle kullanılmaz [37]. Serumda $>1/32$ RPR saptanmasının, uygulanmış tedavi olup olmadığı ya da hastalığın evresinden bağımsız olarak, nörosifilizin bir belirteci olduğu bildirilmektedir [41].

Konjenital sifiliz tanısı maternal nontreponemal ve treponemal IgG antikorlarının plasenta ile fetusa geçmesi ile komplike hale gelir. Bu antikor transferi, yenidoğandaki reaktif serolojik sonuçların yorumlanmasını güçleştirir. Tedavi kararları bazı koşullara dayanılarak verilmelidir. Bunlar;

1) Annede sifiliz tanısı olması, 2) Yeterli maternal tedavi, 3) Yenidoğanda sifilizin klinik, laboratuvar ya da radyolojik kanıtlarının bulunması, 4) Doğum sırasında anne ve yenidoğanda, aynı laboratuvar tarafından, aynı yöntem kullanılarak yapılan nontreponemal testlerin titrelerinin karşılaştırılması [6].

Nontreponemal ve treponemal testlerle sifiliz saptanmış annelerden doğan bebekler, kantitatif nontreponemal serolojik testle değerlendirilmelidir. Bu test infant serumu kullanılarak yapılmalıdır. Çünkü umbilikal kord kanına anne kanı da karışmış olabilir ve bu da yalancı pozitif bir sonuca neden olabilir. Yenidoğan serumuna treponemal test yapılması gerekli değildir. Herhangi bir ticari IgM testi de önerilememektedir. Sifiliz tarama amacıyla yapılan serolojik testleri reaktif saptanan annelerden doğan bebeklerin tümü konjenital sifiliz bulguları (nonimmun hidrops, sarılık, hepatosplenomegali, rinit, deri döküntüsü, ekstremitelerin psödoparalizi) açısından detaylı bir şekilde incelenmelidir. Plasenta ya da

umblikal kordun özgül floresan antitreponemal antikor boyaması ile patolojik incelemesi önerilmektedir. Şüpheli lezyon ya da vücut sıvısının (örn. burun akıntısı) karanlık alan mikroskopik inceleme ya da DFA boyaması ile incelenmesi de yapılabilir [6].

Yenidoğan döneminden sonra (>1 ay) serolojik testlerde reaktiflik saptanan çocukların annelerinin serolojik geçmişlerinin incelenmesi gereklidir, bu şekilde infeksiyonun konjenital mi yoksa sonradan kazanılmış bir infeksiyon mu olduğu söylenebilir. Konjenital infeksiyon riski olan her çocuk, HIV infeksiyonu açısından da incelenmelidir. Çocuğun tanısı için BOS analizi, VDRL ile hücre sayımı, protein miktarı, tam kan sayımı, klinik olarak gerekli olan diğer testler (uzun kemik radyografileri, göğüs radyolojisi, karaciğer fonksiyon testleri, batin ultrasonu, göz muayenesi, işitme muayenesi) yapılabilecek incelemeler arasında sayılabilir [6].

4.7. Tedavi

Sifiliz tedavisinde önerilen antibiyotik penisilindir. Penisilinin sifiliz tedavisindeki etkisi 50 yıllık bir klinik deneyime dayanmaktadır. Tedavi önerilerinin neredeyse tamamı klinik deneyler ve vaka serileriyle oluşturulmuş uzman görüşlerine dayandırılmaktadır. Benzilpenisilin (penisilin G) parenteral olarak uygulanır ve sifilizin her evresinin tedavisinde, gebelikte görülen sifiliz de dahil olmak üzere, tercih edilen ilaçtır. Kullanılan penisilin preparatı (benzatin, prokain, kristalize), doz, tedavinin uygulanma süresi, hastalığın evresine, klinik bulgularına ve coğrafik bölgeye bağlıdır. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde benzil penisilin (benzatin penisilin G) kullanılması önerilen tedavidir, çoğu Avrupa ülkesinde ise prokain penisilin (10-14 gün, IM olarak 600 000 IU) kullanılması tercih edilmektedir [38]. Uygun penisilin türevinin seçimi çok önemlidir çünkü *T. pallidum* bazı penisilin türlerinin geçemediği yerlerde (santral sinir sistemi ve hüner aköz gibi) yerleşebilmektedir [3].

Tedavinin ilk 24 saati içinde Jarisch-Herxheimer reaksiyonu denilen, başağrısı, ateş ve myalji gibi semptomlarla giden bir akut febril reaksiyon görülebilmektedir. Bu tablo özellikle de erken sifilizli hastalarda görülmektedir [38]. Bunun sebebi bu evrede hastalardaki bakteri yükünün daha fazla olmasıdır. Antipiretikler semptomları kontrol altına alabilir, fakat reaksiyonu önledikleri kanıtlanmamıştır. Bu reaksiyon hamilelerde erken doğumu tetikleyebilmekte ya da fetal distrese neden olabilmektedir fakat bu durum tedaviye engel

olmamalı ya da tedaviyi ertelememelidir. Hastalar bu muhtemel yan etki hakkında bilgilendirilmelidir. Latent sifiliz cinsel yolla bulaşmadığından bu evredeki hastaların tedavisindeki amaç, komplikasyonların önlenmesidir. Klinik deneyimler bu amaca ulaşmada penisilinin etkinliğini desteklese de, özgül rejimlerin seçiminde yön verecek kanıtlar sınırlıdır. Konjenital sifilizde ise; tedavi bir gün bile aksatıldığında, tedaviye en baştan başlanmalıdır. Penisilin dışındaki ilaçlar uygulandığında hasta, tedavinin başarısının değerlendirilmesi açısından yakın bir serolojik takibe alınmalıdır [3]. HIV pozitif hastalarda, HIV negatif bireylerle karşılaştırıldığında, nörolojik komplikasyon gelişme riski ve tedavinin başarısız olma ihtimali daha fazladır. HIV pozitif bireylerde sifiliz tanısı konduğunda, diğer sifilizli hastalara uygulanan tedavi başlanmaktadır. Tedavi sonrası hastaların dikkatli bir şekilde takip edilmesi gerekli ve önemlidir. Penisilin allerjisi olan hastalarda, makrolid ve sefalosporinler kullanılabilir [38].

Evre	Tedavi (Nörosifiliz tablosu olmayan hastalar)		
	Erişkin	Bebek ve çocuk	Penisilin allerjisi olan hasta
Primer Sifiliz	Benzatin penisilin G, 2.4 milyon ünite IM, tek doz	Benzatin penisilin G 50 000 ünite/kg IM, tek doz, erişkin dozu olan 2.4 milyon üniteye kadar çıkılabilir	Doksisiklin 2x100 mg PO,14 gün Tetrasiklin 4x500 mg PO,14 gün Azitromisin 2gr PO tek doz Seftriakson 1 gr tek doz IM/IV,10-14 gün
Sekonder sifiliz	Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM, tek doz	Benzatin penisilin G 50 000 ünite/kg IM, tek doz, erişkin dozu olan 2.4 milyon üniteye kadar çıkılabilir	Primer sifiliz ile aynı
Latent sifiliz Erken Evre	Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM, tek doz	Benzatin penisilin G 50 000 ünite/kg IM, tek doz, 2.4 milyon ünite erişkin doza kadar çıkılabilir	Primer sifiliz ile aynı
Geç Evre	Benzatin Penisilin G 7.2 milyon ünite total doz IM (3 hafta, haftada 2.4 milyon ünite IM)	Benzatin penisilin G 50 000 ünite/kg IM (3 hafta boyunca haftada 1 kez IM uygulanır)	Doksisiklin 2x100 mg PO, 28 gün Tetrasiklin 4x500 mg PO, 28 gün
Geç sifiliz	Benzatin penisilin G 7.2 milyon ünite (3 hafta boyunca her hafta 2.4 milyon ünite) IM		Geç latent sifiliz ile aynı
Nörosifiliz	Kristalize penisilin G 18-24 milyon ünite/gün (4 saatte bir 3-4 milyon ünite IV olacak şekilde ya da devamlı infüzyon şeklinde), 10-14 gün boyunca		Seftriakson 2 gr/gün IM/IV, 10-14 gün
Konjenital sifiliz		1 aya kadar bebek	Daha büyük yaşta çocuk
		Kristalize penisilin G 100 000-150 000 ünite/kg/gün(12 saatte bir 50 000 ünite/kg) IV ilk 7 gün, sonraki 3 gün 8 saatte bir uygulanır. Ya da Prokain Penisilin G 50 000 ünite/kg IM, 10 gün boyunca.	Kristalize penisilin G 200 000-300 000 ünite/kg/gün IV (4-6 saatte bir 50 000 U/kg olacak şekilde), 10 gün.
Gebe hastalar	Hastalığın her evresinde Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM, haftada 1 doz, 2 hafta. Allerji durumunda desensitizasyon uygulanmalı ve penisilin tedavisine devam edilmelidir.		
HIV pozitif hastalar	HIV negatif hastalar hangi evre nasıl tedavi ediliyorsa, aynı tedavi önerilmektedir.		

Tablo 7. Sifiliz infeksiyonu tedavi protokolü

IM: intra muskuler, IV: intravenöz.

4.8. Korunma ve Önlemler

Vakaların saptanması ve güçlü sürveyans çalışmaları sifiliz endemisine etkili bir halk sağlığı yanıtının temel taşıdır. Antenatal taramalar, yüksek riskli popülasyonların rutin taramaları, gelişmiş ülkelerde, kaynakların başarılı bir şekilde hedeflenmesini ve vertikal geçişin engellenmesini sağlamıştır. Yeni geliştirilen hızlı tanı testleri yüksek riskli bireylerin kolaylıkla taranmasını sağlamaktadır. İnfekte bireylerin erken tanısı, hem etkili tedavi için hem de hastalığın yayılımının kontrol altına alınabilmesi için büyük önem taşımaktadır. Bazı hastalar, özellikle HIV pozitif bireyler, atipik hastalık belirtileri gösterebildiğinden, yüksek insidanslı bölgelerde sifiliz açısından rutin taramaların normal tıbbi pratikler içinde olması gerekmektedir. Yeni tanı konmuş sifilizli bireylerde HIV açısından da tarama yapılması hayati önem arz etmektedir. Yeni tanı almış kişilerle yakın temasta olan bireylerin riskler konusunda bilgilendirilmeleri ve test edilip gerektiğinde tedavi edilmeleri önemini korumaktadır. Mevcut CDC yönergelerine göre; cinsel partnerinde primer, sekonder ya da erken latent sifiliz saptanmasından önceki 90 gün içinde maruz kaldığı belirlenen bir birey, seronegatif olsa dahi infekte olmuş olabilir diye kabul edilmeli ve tedavi verilmelidir [38].

Partner bildiri mi ve maruz kalan partnerlerin tedavisi amacıyla, sifiliz evresi bilinmeyen bireylerin nontreponemal test titrelerine bakılmakta, $>1/32$ titre saptanması erken sifiliz olarak yorumlanmaktadır. Fakat bulaştırıcı kişi latent vaka olarak kabul edilmeli ve eğer nörosifiliz bulgusu yoksa ona göre tedavi edilmelidir. Latent sifiliz tanısı olan kişilerin uzun süreli cinsel partnerlerinin klinik ve serolojik olarak sifiliz açısından değerlendirilmesi ve elde edilen bulgulara dayalı olarak tedavi edilmesi gerekmektedir [38].

Yeni antikor ya da nükleik asit amplifikasyon testlerinin kullanılması ile birlikte, bu yaklaşımlar bulaştırıcılığı büyük oranda azaltacaktır. Basın-yayın yoluyla eğitim kampanyaları, yüksek sifiliz prevalanslı toplumlardaki yüksek riskli davranışları önleyen yaklaşımlar, kondom kullanımının yaygınlaştırılması ve genişletilmiş tarama çalışmaları gibi yöntemler, toplumda sifiliz yayılımını ciddi ölçüde engellemektedir. Bölgesel salgın ve epidemilerin engellenmesi için çözüm arayışına etkilenmiş toplumların da katılması, sifilizin kontrolü için yapılan çalışmalarda anahtar role sahiptir [38].

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER:

5.1. Gereçler

5.1.1. Çalışma Örnekleri

Çalışma örnekleri Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Seroloji Laboratuvarında ve Kan Merkezi'nde Temmuz 2006-Temmuz 2011 tarihleri arasında sifiliz taranması ve/veya tanısı amaçları ile gönderilmiş, -20°C'de saklanan ve farklı hastalara ait olan serumlar arasından seçildi. Hemolizli ve serum miktarı yetersiz örnekler çalışmaya alınmadı. Örnekler bu çalışma öncesi elde edilmiş test sonuçları dikkate alınarak gruplara ayrıldı.

1- CMIA ve TPHA testleri pozitif örnekler

Bu grup içinde her iki treponemal testle pozitif saptanan örnekler bulunmaktadır. Örnekler, CMIA testi ile saptanan Örnek/Eşik oranları ("Sample/Cut-off" (S/Co)) sonuçlarına göre düşük, orta ve yüksek düzey pozitif olarak üç alt gruba ayrıldı. Düşük (S/Co; 1,00-9,99), orta (S/Co; 10,00-19,99) ve yüksek (S/Co; >20,00) düzey pozitif saptanan sırasıyla, 9, 9 ve 16 örnek çalışmaya alındı.

Bu grup içindeki toplam dört örnek laboratuvarımızda yapılmış bir başka tez çalışmasında da kullanılmıştır [30]. Bu tez çalışmasının verilerine göre, örneklerin tümü CMIA ve TPHA testleri ile pozitifdir. Ayrıca, bu örneklerle yapılan WB IgG çalışmasında TpN15 ve TpN47 antijenlerine karşı antikor varlığı saptanmış, ancak TpN17 bantlarında hiçbir reaksiyon gözlenmemiştir. Bu örneklerle CMIA testi yeniden çalışıldı. Pozitif saptanan örnekler çalışmaya alındı.

2- CMIA ve TPHA testleri negatif örnekler

CMIA ve TPHA testleri ile pozitif saptanan örneklerle yaş ve cinsiyet açısından birebir eşleştirilmiş treponemal antikoru negatif 34 örnek seçildi. Seçim işlemi CMIA testleri negatif hasta örnekleri arasından yapıldı. Daha sonra bu örneklerle çalışma prensibi CMIA testinden farklı olan TPHA testi çalışıldı. TPHA testi de negatif örnekler bu gruba alındı.

3- CMIA pozitif ve TPHA negatif örnekler

Bu grupta, seroloji laboratuvarında CMIA ile pozitif, TPHA ile negatif saptanmış sekiz örnek yer almaktadır.

4- Çapraz pozitiflik vermesi beklenen örnekler

Çapraz reaksiyon varlığını ortaya koyabilmek için, Ebstein barr virusu (EBV), hepatit A virusu (HAV), sitomegalovirus (CMV) veya *Toxoplasma gondii* ile akut infeksiyon geçirmekte olduğu kabul edilen sırasıyla, anti-EBV IgM pozitif 10, anti-HAV IgM pozitif üç, anti-CMV IgM pozitif 10 ve anti-*Toxoplasma gondii* IgM pozitif 10 örnek çalışmaya alındı. Ayrıca, gebelerde sifiliz taramasının yapıldığı düşünülerek β HCG pozitif 10; otoantikörlerin test performanslarını etkileyebilmesi nedeni ile antinükleer antikor (ANA) pozitif 10 ve romatoid faktör (RF) pozitif 10 örnek bu gruba eklendi.

5- Dilüsyon çalışması örnekleri;

CMIA ve CLIA testlerinin antikor miktarının azaldığı koşullarda gösterdikleri performanslarını karşılaştırabilmek için üç örneğin seri dilüsyonları hazırlandı. Bu örnekler seçilirken, TPHA da dahil olmak üzere, her üç treponemal testle pozitif saptanmış olmasına ve S/Co oranlarının yüksek, ancak ölçülebilir sınırlar içinde bulunmasına dikkat edildi.

5.2. Çalışmanın Tasarımı;

CMIA ve TPHA pozitif örnekler gerçek pozitif; her iki test sonucu da negatif örnekler gerçek negatif olarak kabul edildi. Bu test sonuçları uyumsuz olan örneklerle FTA-ABS çalışıldı. FTA-ABS sonucu pozitif ve negatif olan örnekler sırasıyla, gerçek pozitif ve gerçek negatifler arasına eklendi.

CLIA testinin performansı doğruluk, çalışmalar arası ve çalışma içi tekrarlanabilirlik yönünden değerlendirildi. Doğruluk için gerçek pozitif ve negatif kabul edilen tüm örnekler CLIA testi ile çalışıldı. Elde edilen veriler doğrultusunda CLIA testinin saptadığı gerçek pozitif, gerçek negatif, yalancı pozitif ve yalancı negatif örnek sayıları belirlendi. Kalitatif bir test olan CLIA'nın çalışmalar arası tekrarlanabilirlik değerlendirmesinde yüksek S/Co oranı olan bir, düşük düzey S/Co'ları olan iki adet gerçek pozitif örnek ve bir adet negatif örnek üç ayrı gün birer kez çalışıldı. Çalışma içi tekrarlanabilirlik için yukarıda tanımlanmış örnekler bir gün içinde üçer kez çalışıldı. Değerlendirme kalitatif sonuçlar üzerinden yapıldı [47].

Çapraz pozitiflik vermesi beklenen örneklerle önce CMIA, TPHA ve CLIA testleri çalışıldı. Bu testlerden herhangi birinde pozitiflik saptanması durumunda FTA-ABS çalışılması planlandı.

Çalışmada CMIA ve CLIA testlerinin düşük antikor varlığında gösterdikleri performansları karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma için dilüsyon çalışması örnekleri başlığı altında belirtilen koşullara uygun üç örneğin seri çift kat dilüsyonları hazırlandı. Örnekleri dilüe etmek için her üç treponemal testle negatif saptanan beş adet örnekden hazırlanmış serum havuzları kullanıldı. Hazırlanan dilüe edilmiş örneklerle CMIA ve CLIA testleri çalışıldı. Yukarıda tanımlanmış basamaklar işlem hatalarının etkisini azaltabilmek için üçer kez tekrarlandı.

CMIA ve CLIA testlerinin her ikisinde pozitif saptanan örneklerin S/Co oranları arasında istatistiksel olarak bir uyum olup olmadığı araştırıldı. Değerlendirmeye yalnızca her iki testte ölçülebilir sınırlar arasında pozitif saptanan örnekler alındı.

5.3. Yöntemler

Testler üretici firmaların önerileri doğrultusunda aşağıda belirtilen basamaklara uygun olarak çalışıldı. TPHA ve FTA-ABS testlerinin değerlendirmesi örneklerin diğer test sonuçları bilinmeden yapıldı.

5.3.1. “Architect® Syphilis TP” (Abbott Diagnostics, Japonya) Test Prosedürü:

“Architect® Syphilis TP” testi sifilizin tanısına yardımcı olmak için Architect/sistem üzerinde insan serumu veya plazmasındaki *Treponema pallidum*'a karşı antikorların (IgM ve IgG) kalitatif tespiti için yapılan iki adımlı bir Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testidir (CMIA).

TpN15, TpN17 ve TpN47 rekombinant antijenlerini kullanmaktadır. İlk adımda örnek rekombinant *T. pallidum* (TP) antijenleri ile kaplı mikropartiküller ve test dilüenti ile birleştirilir. Örnekte var olan TP antikorları ile TP kaplı mikropartiküller bağlanır. Yıkamanın ardından ikinci adımda akridinium etiketli anti-insan IgG ve IgM konjugat eklenir. Diğer yıkama döngüsünden sonra reaksiyon karışımına “Pre-Trigger” ve “Trigger” çözeltileri eklenir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon bağlı ışık birimleri (RLU) olarak ölçülür. Örnekte bulunan anti-TP antikorların miktarı ve Architect sistemi optik birimi tarafından saptanan RLU'lar arasında doğrudan bir ilişki vardır.

Numunedeki anti-TP antikorların varlığı ya da yokluğu bir önceki “Architect® Syphilis TP” kalibrasyonundan tespit edilen eşik değer sinyaline reaksiyon halindeki kemilüminesan sinyali karşılaştırılarak belirlenir. Örnekteki kemilüminesan sinyal eşik değer sinyalinden büyük ya da ona eşitse, örnek anti-TP açısından reaktif olarak değerlendirilir [30].

5.3.2. “IMMUTREP® TPHA” (Omega Diagnostics, İskoçya) Test Prosedürü:

Treponema pallidum (Nichol’s suşu) antijeni kaplı tavuk eritrositleri kullanılarak hasta serumundaki özgül antikorların varlığı, indirekt hemaglutinasyon yöntemi ile araştırılır. Testin özgüllüğünü kontrol etmek için her örnek, antijen kaplı ve kaplı olmayan eritrositlerle test edilir. Serum örnekleri kullanılmaktadır. Testte “U tabanlı” çukurcuklar içeren mikrotitrasyon plakları kullanılmaktadır.

Testin yapılışı:

Tarama Testi: Dört kuyucuk ile çalışılmaktadır. 1, 3 ve 4. kuyucuklara 25 µL, 2. kuyucuğa ise 100 µL diluent konuldu. 25 µL serum örneği pipetlendi. İlk kuyucuğa eklendi, serum ve diluent yeterince homojenize edildikten sonra 25 µL alınarak 2. kuyucuğa eklendi. Homojenizasyondan sonra, 25 µL alınıp 3. kuyucuğa eklendi. İyi pipetlenip karıştırıldıktan sonra 25 µL alınarak dışarı atıldı. Daha sonra, 2. kuyucuktan 25 µL alınıp 4. kuyucuğa eklendi. İyi homojenize edildikten sonra 25 µL alınıp dışarı atıldı.

Daha sonraki aşamada, 75 µL kontrol hücresi pipetlenip 3. kuyucuğa, 75 µL de test hücresi pipetlenip 4. kuyucuğa eklendi. Bu şekilde en son 1/80’lik titrasyon elde edilmiş oldu. Plak, oda ısısında, titreşime maruz kalmayacağı bir ortamda inkübe edilip bir saat sonra değerlendirildi.

Kantitatif Test: Pozitif saptanan serum, 1/80’lik titrasyondan devam edecek şekilde 25 µL hacim taşınması ile aynı şekilde dilue edildi. Dilüsyonların bulunduğu kuyucuklara 75 µL test hücresi eklenerek plak inkübe edildi. Bir saat sonra değerlendirildi.

İşlem sonucunda çukur tabanında düğme görüntüsü, aglutinasyon olmadığını, çukurda tül görüntüsü ise aglutinasyon olduğunu gösterir. Kontrol çukuru negatif, test çukuru pozitif ise; “*T. pallidum* antikorları var”, kontrol çukuru negatif, test çukuru negatif ise; “*T. pallidum* antikorları yok” olarak raporlanır. Kontrol çukuru pozitif ise; testte kullanılan eritrositlere karşı antikor vardır ve test geçersiz kabul edilir. Kantitatif testte

hemaglutinasyonun saptandığı en yüksek titre bildirilir. Kantitatif testin başlangıç titresini 1/80'dir [48].

5.3.3. *FTA-ABS (EUROIMMUN, Almanya) IgG Test Prosedürü:*

İnsan serum ve plazmasında *T. pallidum* antikorlarını saptamada kullanılan, immunofloresan prensiple çalışan bir testtir. Lamlar *T. pallidum* yaymaları ile kaplı beş "BIOCHIP" içermektedir. Bu bölgelere, "FTA sorbent" ile dilüe edilmiş hasta serum örnekleri pipetlenip inkübe edilir. Eğer pozitif reaksiyon mevcut ise, IgA, IgG ve IgM tipi spesifik antikorlar bakteriyel antijenlere bağlanır. İkinci aşamada, bağlanmış antikorlar floresan işaretli antihuman antikorları ile bağlanır ve floresan mikroskopta görülebilir hale gelir. En başta "FTA sorbent" ile absorpsiyon yapılmasının amacı; nonspesifik, çapraz reaksiyon verebilecek antikorları uzaklaştırmaktır. Bu basamakta örnek serumlar, *T. phagedenis* ultrasonikatları ile işlemlenmektedir [49].

Testin Yapılışı ve Değerlendirilmesi:

Örnekler öncelikle "FTA sorbent" ile 1/5 oranında dilüe edildi ve 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi.

30 dakikalık inkübasyondan sonra örneğin süpernatant kısmı, "PBS-Tween" ile en son 1/10'lük dilüsyon elde edilecek şekilde dilüe edildi. Bu örnekten 30 µL "reagent tray" adı verilen, üzerinde kuyucuklar bulunan reaktif tepsiye pipetlendi, üzerine "BIOCHIP" içeren lamlar kapatıldıktan sonra 30 dakika oda ısısında ışıktan korunacak şekilde inkübe edildi. Testin ilk iki kuyucuğuna sırasıyla pozitif ve negatif kontroller kondu.

"PBS-Tween" ile iki kez yıkama yapıldıktan sonra reaktif tepsiye 25µL floresan ile işaretli "anti-human globulin" içeren konjugat pipetlendi ve üzeri "BIOCHIP" içeren lamlar ile kapatıldı. 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

İki kez yıkamadan sonra "BIOCHIP" içeren lamlardaki kuyucuklar üzerine inceleme yağı eklenip lamel kapatıldı ve immunofloresan mikroskopta incelendi [49].

5.3.4. *"Liaison® Treponema Screen Test" (Diasorin, İtalya) Prosedürü:*

"Liaison® Treponema Screen Test", insan serum ya da plazmasındaki spesifik *T. pallidum* antikorlarını saptamaya yarayan kantitatif, tam otomatize bir metodur. Tek basamaklı sandviç Kemilüminesan Immuno Assay (CLIA) prensibiyle çalışmaktadır. Rekombinant spesifik TpN17 antijeni, manyetik partüelleri kaplamak için kullanılmakta (solid

faz) ve aynı antijen isoluminol bir maddeye bağlı alışmaktadış (isoluminol-antijen konjugatı). İnkübasyon sırasında, kalibratörlerdeki, örneklerdeki ya da kontrollerdeki *T. pallidum* antikorları solid faza ve antijen konjugata bağlanır. Bağlanmayan maddeler bir yıkama siklusu ile ortadan kaldırılır. Daha sonra, başlatıcı reaktif eklenir ve bir kemilüminesan reaksiyon tetiklenmiş olur. Işık sinyali yani isoluminol-antikor konjugat miktarı RLU olarak ölçölür ve bu ölçüm, kalibratörlerde, örneklerde ve kontrollerde mevcut bulunan *T. pallidum* antikor konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Elde edilen sonuç üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda “Arbitrary Unit”(AU)/ml olarak hesaplanır ve indeks değerleri belirlenir. İndeks değerleri <0,9 olan örnekler negatif, ≥1,1 olan örnekler pozitif ve bu değerlerin arasında indeks değerleri olan örnekler belirsiz olarak kabul edilmektedir [11].

5.4. İstatistiksel Yöntem

CLIA testinin doğruluğu, tekrarlanabilirliği, duyarlılığı ve özgülölüğü istatistiksel olarak değerlendirildi. Doğruluk için CLIA testinin saptadığı doğru sonuçların toplam gerçek pozitif ve negatif örnek sayısına oranı belirlendi [50]. Bu rakam 100 ile çarpıldı. Tekrarlanabilirlik için, bu amaçla yapılan çalışmalarda beklenen değerlerle uyumlu sonuç sayısının aynı çalışmalarda elde edilen toplam sonuç sayısına oranı hesaplandı ve 100 ile çarpıldı. Testin duyarlılık ve özgülölüğü MEDCALC programı ile hesaplandı. CMIA ve CLIA testlerinin pozitif örnekler için S/Co oranları arasında istatistiksel olarak bir uyum olup olmadığı %95 güven aralığında, korelasyon-regresyon analiz yöntemlerinden biri olan “Passing-Bablok” regresyon analizi ile araştırıldı. Testler arasındaki değişimin anlamlılığı varyans analizi (ANOVA) ile test edildi.

6. BULGULAR:

CLIA testinin doğruluğunun belirlenmesinde gerçek pozitif ve gerçek negatif örneklerin sonuçları değerlendirildi. Gerçek pozitif grupta CMIA ve TPHA testleri pozitif 34 ve bu test sonuçlarında çelişki bulunan ancak FTA-ABS testi ile doğrulanan iki olmak üzere toplam 36 örnek (CMIA S/Co; 3,61-34,13) yer aldı. Gerçek negatif grupta her iki treponemal testi negatif 34 ve treponemal test sonuçları çelişkili olup FTA-ABS testi ile doğrulanmayan dört (CMIA S/Co; 1,32-3,56) olmak üzere toplam 38 örnek yer aldı. Bu örneklerle CLIA testi ile yapılan çalışmaların sonuçları Tablo 8'de gösterildi. Bu sonuçlara göre, CLIA testinin doğruluğu %100, duyarlılığı %100 (% 95 güven aralığında 0,879–1,000) ve özgüllüğü %100 (% 95 güven aralığında 0,882–1,000) olarak hesaplandı.

Tablo 8. Gerçek pozitif ve negatif örneklerin CLIA test sonuçları

CLIA Sonuçları	Gerçek Pozitif	Gerçek Negatif
Pozitif	36	0
Negatif	0	38

Gerçek pozitif örneklerin dört tanesi laboratuvarımızda başka bir çalışmada kullanılan örneklerden oluşmaktadır. Bu örneklerin tümü bir önceki çalışmanın verilerine göre, CMIA, TPHA ve WB IgG pozitif idi. WB IgG bantları değerlendirildiğinde her dört örneğin TpN15 ve TpN47 bantlarının pozitif olduğu, TpN17 ve TmpA bantlarında hiç reaksiyon gözlenmediği belirlendi. Bu örneklerin içinde antikor varlığının devam ettiğini kontrol etmek için CMIA testi çalışıldı. Örneklerin önceki çalışmada ve kontrol çalışmasında elde edilen S/Co oranları sırasıyla, 9,81-10,18; 9,44-6,73; 8,31-7,28; 7,7-8,75 olarak bulundu. Bu sonuçlara dayanılarak örneklerde özgül antikor varlığının devam ettiğine karar verildi. Örneklerin tümü ile CLIA testi çalışıldı ve pozitif bulundu. CLIA testinde yalnızca TpN17 antijeni kullanılmaktadır. WB IgG testinde TpN17 bantlarında hiç reaksiyon olmamasına karşın, örneklerin CLIA testi ile pozitif saptanması dikkati çeken bir bulgudur.

Treponemal testleri çelişkili olan (CMIA pozitif ve TPHA negatif), ancak FTA-ABS testi belirsiz olarak değerlendirilen iki örnekten biri CLIA ile pozitif, diğeryse negatif

bulundu. FTA-ABS testi belirsiz olarak değerlendirilen bu iki örnek gerçek pozitif ve negatif gruplar içinde değerlendirilmedi.

CLIA testinin tekrarlanabilirliği çalışma içi ve çalışmalar arası olarak iki ayrı basamakta değerlendirildi. Çalışma içi tekrarlanabilirlik için CLIA S/Co oranları yüksek pozitif iki, düşük pozitif bir ve negatif bir örnek aynı gün üçer kez çalışıldı. Sonuçlar Tablo 9’da gösterildi. Çalışmalar arası tekrarlanabilirlik için aynı örnekler üç farklı günde birer kez çalışıldı (Tablo 10). Değerlendirme kalitatif sonuçlar üstünden yapıldı.

Tablo 9. Çalışma içi tekrarlanabilirlik değerlendirilmesinde CLIA ile elde edilen S/Co oranları

CLIA S/Co Oranları*		
A**	B**	C**
Pozitif (39,3)	Pozitif(39,7)	Pozitif(38,9)
Pozitif (4,9)	Pozitif (4,7)	Pozitif (4,5)
Pozitif (2,1)	Pozitif (2,2)	Pozitif (2,4)
Negatif (0,66)	Negatif (0,70)	Negatif (0,70)

* S/Co oranı ≥ 1 olan örnekler pozitifdir

** Gün içi çalışmalar

Tablo 10. Çalışmalar arası tekrarlanabilirlik değerlendirilmesinde CLIA ile elde edilen S/Co oranları

CLIA S/Co Oranları*		
23.1.2012**	24.01.2012**	25.01.2012**
Pozitif (39,3)	Pozitif(40,7)	Pozitif (35,7)
Pozitif (4,5)	Pozitif (4,9)	Pozitif (4,7)
Pozitif (2,4)	Pozitif (2,5)	Pozitif (2,5)
Negatif (0,69)	Negatif (0,73)	Negatif (0,75)

* S/Co oranı ≥ 1 olan örnekler pozitifdir

** Günler arası çalışmalar

CLIA testinde çapraz reaksiyon varlığını ortaya koyabilmek için, anti-EBV IgM pozitif 10, anti-HAV IgM pozitif üç, anti-CMV IgM pozitif 10 ve anti- *Toxoplasma gondii* IgM pozitif 10, β HCG pozitif 10, ANA pozitif 10 ve RF pozitif 10 örnek çalışıldı. Bu örneklerle her üç treponemal test de (CLIA, CMIA ve TPHA) çalışıldı. Bu çalışmaların hiç birinde pozitiflik saptanmadı. Bu nedenle, hiçbir örnek ile FTA-ABS testi çalışılmadı.

CMIA ve CLIA testlerinin düşük düzey antikorları saptamada gösterdikleri performansları karşılaştırıldı (Tablo 11). Dilüsyon çalışması, kit prospektuslarında sonuçları yorumlama bölümlerinde belirtilen kriterlere göre negatif sonuç elde edilinceye kadar devam edildi. Her iki testin sonuç yorumlama bölümü incelendiğinde farklılık olduğu görülmektedir. CMIA testi S/Co indeks oranı 1 ve üzeri örnekleri “Pozitif”, 1’in altındaki oranları “Negatif” olarak yorumlamaktadır. Buna karşın, CLIA testi S/Co indeks oranı 0,9-1,09 aralığında bulunan örnekleri “Belirsiz”, bu aralığın üzerini “Pozitif” ve altını “Negatif” olarak yorumlamaktadır.

Tablo 11. CMIA ve CLIA testlerinin düşük antikor varlığında gösterdikleri performanslarını karşılaştırma sonuçları.

ÖRNEK A						
Dilüsyon oranları	1.Dilüsyon Çalışması		2.Dilüsyon Çalışması		3.Dilüsyon Çalışması	
	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA
1/1	31,48	47	31,48	47	31,48	47
1/2	25,54	27, 4	25,48	27, 4	25,11	27
1/4	17,59	9,9	18, 55	9,7	17, 38	9,9
1/8	10,27	5	10,75	5	10,2	4,8
1/16	7,06	3,4	5,6	2,9	5,32	2,7
1/32	3,28	1,73	2,85	1,57	2,48	1,58
1/64	2	1,11	1,78	1	1,56	0,97
1/128	0,97	0,73	0,82	0,62	0,59	0,58
ÖRNEK B						
Dilüsyon oranları	1.Dilüsyon Çalışması		2.Dilüsyon Çalışması		3.Dilüsyon Çalışması	
	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA
1/1	26,53	38,1	26,53	38,1	26,53	38,1
1/2	22, 05	32, 1	22,87	32, 6	23,29	34, 7
1/4	20, 28	25,9	19, 67	25,3	20, 30	27,7
1/8	16,05	19,1	16,9	19,2	16,18	20,5
1/16	12,5	9,7	12,29	10,5	12,35	11,4
1/32	9,08	4,9	8,92	5,1	9,4	5,2
1/64	6,04	2,7	6,02	2,5	6,53	3
1/128	3,12	1.18	2,91	1,1	3,46	1,26
1/256	1,6	0,6	1,51	0,55	1,73	0,73
1/512	0,84		0,9		0,91	
ÖRNEK C						
Dilüsyon oranları	1.Dilüsyon Çalışması		2.Dilüsyon Çalışması		3.Dilüsyon Çalışması	
	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA	CMIA	CLIA
1/1	27,19	69,8	27,19	69,8	27,19	69,8
1/2	19,79	21, 9	17,89	20, 6	19,09	21, 8
1/4	11, 56	8	11, 07	7,8	10, 88	8
1/8	6,04	4	5,44	3,9	6,36	4,3
1/16	2,71	2,3	3,04	2,2	3,59	2,6
1/32	1,3	1,41	1,8	1,26	1,48	1,46
1/64	1,05	0,91	0,93	0,78	0,91	0,86
1/128	0,56	0,49	0,46	0,5	0,5	0,48

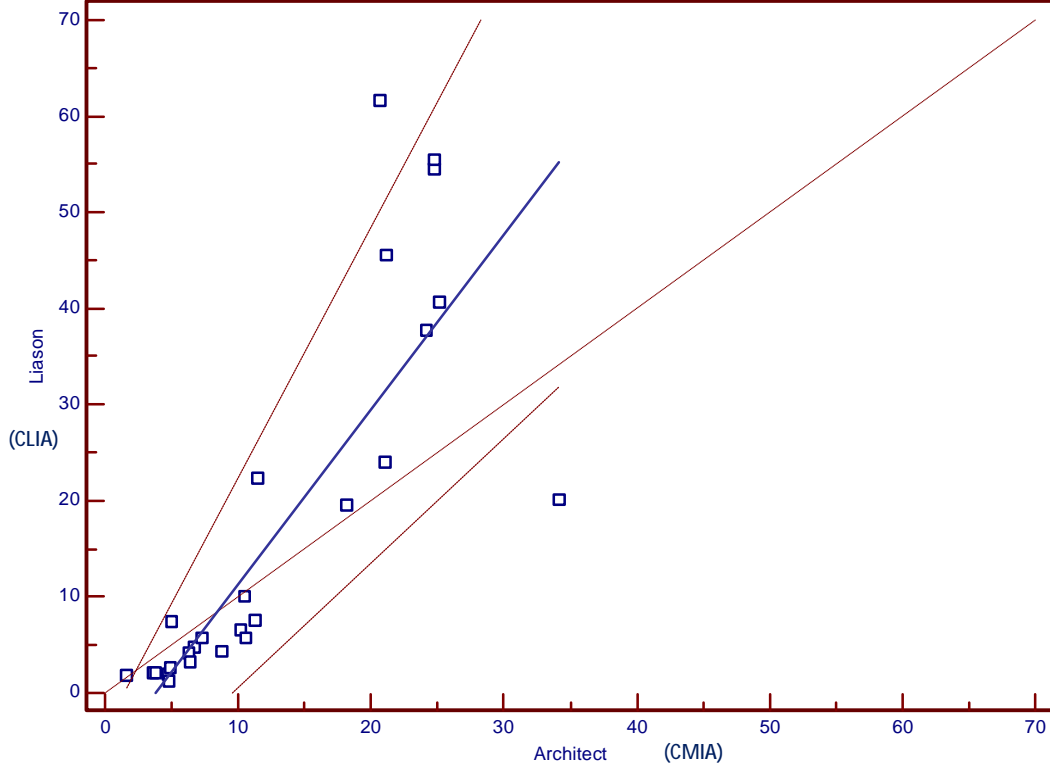
Her testin kendi sonuç yorumlama kriterleri dikkate alındığında A örneği için yapılan ilk dilüsyon çalışmasında her iki testin de 1/128 dilüsyonda birlikte negatifleştiğini görmekteyiz. İkinci ve üçüncü çalışmalarda da 1/64 dilüsyonda CMIA'daki pozitifliğin devam devam ettiği, CLIA'daysa sonuçların belirsiz gerilediği görülmektedir. B örneğinin sonuçları değerlendirildiğinde, her üç dilüsyon çalışmasında da 1/256 dilüsyonda CMIA pozitifliği devam ederken, CLIA'nın negatifleştiği anlaşılmaktadır. C örneğindeyse 1/64 dilüsyonda birinci çalışmada CMIA pozitif, CLIA belirsiz bulunurken, aynı dilüsyonda ikinci ve üçüncü çalışmalarda her iki testin birlikte negatifleştiği görülmektedir.

Değerlendirme CMIA testinin kriterlerine göre yapıldığında; S/Co 1 ve üzeri pozitif, altı negatif kabul edilmektedir. Bu durumda, A örneğinde birinci ve ikinci çalışmalarda sonuçların uyumlu olduğu, üçüncü çalışmada 1/64 dilüsyonda CMIA pozitifken CLIA'nın negatifleştiği görülmektedir. B örneğinde her üç çalışmada da 1/256 dilüsyonda CMIA'nın pozitifliğini koruduğu, ancak CLIA'nın negatifleştiği izlenmektedir. C örneğindeyse CMIA ve CLIA sonuçları arasında yalnızca birinci çalışmada fark bulunmaktadır. Bu çalışmada, 1/64 dilüsyonda CMIA pozitifken, CLIA negatif olmaktadır. Diğer iki çalışmada 1/32 dilüsyonda pozitif olan sonuçlar 1/64'de birlikte negatifleşmektedir.

Değerlendirme CLIA testinin kriterlerine göre yapıldığında, S/Co 1 oranının +/-%10'u içinde kalan aralık belirsiz kabul edilmektedir. Buna göre, A örneğinin birinci çalışmasında 1/128 dilüsyonda CMIA belirsiz ve CLIA negatif olmakta; ikinci ve üçüncü çalışmalarda 1/64'de CMIA pozitifken CLIA belirsiz dönüşmektedir. B örneğinin her üç çalışmasında da 1/256 dilüsyonda CMIA pozitifken CLIA negatif hale geçmektedir. C örneğinde, 1/64'de; birinci çalışmada CMIA ve CLIA birlikte belirsizleşmekteyken, ikinci ve üçüncü çalışmalarda CMIA belirsiz CLIA ise negatif saptanmaktadır.

CMIA ve CLIA testlerinin her ikisinde pozitif saptanan örneklerin S/Co oranları arasında istatistiksel olarak bir uyum olup olmadığı araştırıldı. Örneklerin TPHA ve FTA-ABS sonuçları dikkate alınmadan CMIA ve CLIA pozitif olan tüm örneklerin S/Co oranları değerlendirildi. Ancak, CLIA testi ile S/Co oranları ">70" saptanan örneklerin sonuçları dilüsyon sırasında oluşabilecek hata payı göz önüne alınarak değerlendirme dışı bırakıldı. Değerlendirmeye uygun toplam 26 örneğin CMIA ve CLIA testlerinde bulunan S/Co oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. S/Co oranları arasındaki değişimin ilişkisi ve bu değişimin anlamlı olup olmadığı "Korelasyon ve Regresyon Analizi" ile değerlendirildi. Yöntemlerin

S/Co oranlarının “Passing-Bablok Regresyon Analizi” ile elde edilen uyumluluk eğrisi Şekil 1’de görülmektedir.



Şekil 1. Passing-Bablok regresyon analizi ile yöntemlerin S/Co oranlarının karşılaştırılması.

Analiz sonuçları Tablo 12’de görülmektedir.

Tablo 12. Passing-Bablok regresyon analiz sonuçları.

X değişkeni	CMIA (Architect)	
Y değişkeni	CLIA (Liaison)	
Örnek miktarı	26	
	X değişkeni	Y değişkeni
En düşük değer	1,6200	1,2600
En yüksek değer	34,1300	61,6000
Aritmetik orta	12,7685	17,4112
Median	10,3250	6,9500
Standart sapma	8,9122	19,3609
Ortalamanın standart hata payı	1,7478	3,7970
Regresyon denklemi		
$y = -6,8749 + 1,8170x$		
“Intercept” (Kesme noktası)A	-6,8749	
%95 güven aralığı	-12,4992’den -3,6266’ya	
B eğimi	1,8170	
%95 güven aralığı	1,2990’dan 2,6096’ya	
	p <0.05	

$y=a+bx$ formülü MEDCALC programı kullanılarak hesaplandı ve $y=-6,8749+1,8170x$ olarak bulundu. Burada “y” CLIA, “x” ise CMIA testlerine karşılık gelmektedir. R kare

(belirleyicilik katsayısı); 0,6505 olarak saptandı. Saptanan katsayıların önem kontrolü varyans analizi ANOVA ile değerlendirildi. Buna göre elde edilen katsayılar istatistiksel olarak çok anlamlı birlikteliği göstermektedir ($p:<0.05$).

Eğri incelendiğinde, özellikle düşük pozitif sonuçlarda iki yöntem arasında büyük oranda uyumluluk bulunduğu, değerler yükseldikçe uyumun azaldığı görülmektedir. R^2 değerine göre ise, iki yöntem arasında orta düzey bir uyumluluk olduğu söylenebilmektedir. Ayrıca iki örnek dışındaki bütün sonuçların %95 güven aralığı içinde olduğu gözlenmektedir.

7. TARTIŞMA:

Sifilizin tanısına ilişkin sorunlar halen devam etmektedir. Hastalığa klinik olarak tanı koymak güçtür. Bunun nedeni, klinik bulguların diğer infeksiyonlara ve infeksiyon dışı klinik tablolara benzerlik göstermesidir. Örneğin, nöroborreliyozis ön tanısı alan ve Lyme tarama testi pozitif saptanan altı olguda Lyme doğrulama testleri negatif, VDRL ve TPPA testleri pozitif saptanınca hastalara önce aktif sifiliz tanısı konmuştur ve sonradan yapılan testlerle hastaların aslında nörosifiliz hastası oldukları saptanmıştır [51]. Bir başka olgu çalışmasında ise Guillain-Barré sendromu bulguları ile başvuran bir hastada öncelikle diabete bağlı nöropati düşünülmüş, daha sonra yapılan tetkiklerde hastaya nörosifiliz tanısı konmuştur [52].

Karanlık alan mikroskopisi ve direkt floresan antikör yöntemleri sifilizin kesin tanısını koyduran direkt yöntemlerdir. Ancak, bir takım kısıtlılıkları mevcuttur. Öncelikle, bu testler iyi bir deneyim gerektirmektedir. Floranın nonpatojen, kommensal spiroketleri, deneyimli kişiler tarafından bile *T. pallidum* ile karıştırılabilmektedir. Bunun yanında, değerlendirme açısından subjektif testlerdir. Her merkezde ekipman ve deneyimli personel bulunmamaktadır. Buna ek olarak, latent ve geç sifiliz dönemlerinde bu yöntemlerle lezyonlarda mikroorganizma saptanamamaktadır. Ayrıca topikal ya da sistemik antibiyotiklerin kullanımına bağlı yalancı negatif sonuçlar elde edilebilmektedir [35,37].

Hastalığı taramada uzun yıllar özgül olmayan nontreponemal testler kullanılmıştır. Bu testler ucuz, çok sayıda örneğin aynı anda çalışılmasına uygun ve tedavi etkinliğini saptamada kullanılabilen testlerdir. Fakat nontreponemal yöntemlerin yalancı pozitif ve negatif sonuçlar verdiği kabul edilen bir gerçektir. Ayrıca hastaların bir kısmında tedaviye rağmen, RPR titrelerinde bir değişiklik olmamakta ve serofast reaksiyon oluşmaktadır [3]. Bunun yanında, nontreponemal testlerin değerlendirmesi gözle yapılmakta ve yorumlanmasında çalışandan çalışana değişkenlik olduğu bildirilmektedir [53]. Tüm bunlara ek olarak, bu testlerin duyarlılığı, hastalığın evresine bağlı değişmektedir. Bu yüzden, bu testler taramada sınırlı kullanıma sahiptir. Pozitif sonuçların treponemal testlerle doğrulanmaları gerekmektedir.

Treponemal testlerde de farklı sorunlarla karşılaşmaktadır. Örneğin, testler geçirilmiş infeksiyon ile aktif infeksiyon ayırımını yapamamaktadır. Ayrıca, tedavi edilmiş kişilerin %85'inde yaşam boyu veya uzun yıllar boyunca pozitif kalması nedeniyle, tedavi başarısı treponemal testlerle değerlendirilememektedir [3]. Bu nedenle, hastaya tanı koyarken treponemal testler yetersiz kalmakta, ek olarak nontreponemal bir test sonucuna ihtiyaç

duyulmaktadır. Treponemal testlerin doğrulama amacı ile kullanılmasında da sorunlar yaşanmaktadır. Bu test grubunda da gözle değerlendirilen FTA-Abs, TPHA gibi subjektif testlerde değerlendiren kişinin deneyim düzeyi test sonuçları için belirleyici olmaktadır [53]. Doğrulama amacıyla kullanılan bir başka test de WB'dur. Bu testin değerlendirilmesi için literatürde farklı kriterler tanımlanmıştır. Kimi araştırmacılar WB testinin pozitif olması için en az üç major bant pozitifliğini ararken [11], diğerleri iki major bant pozitifliğini yeterli görmektedirler [54]. Ayrıca, bazı otoimmün hastalıklarda sifiliz WB testinin yalancı pozitif sonuçlar verebildiği bilinmektedir [39].

Günümüzde sifiliz taramasında özgül antikorları saptayan treponemal testlerin (EIA, kemilüminesan immuno assay) kullanılması, ardından pozitif örneklerin nontreponemal bir testle çalışılması yaygınlaşan bir uygulamadır. Bu uygulamanın birçok avantajı vardır. Öncelikle, hastalık treponemal antikorlarla taranmakta ve sonuçların özgüllüğü artmaktadır. Ayrıca, bu test yöntemleri otomatize edilebilir özelliktedir ve sonuçları sayısal değerlere dönüştürülerek objektif olarak yorumlanabilmektedir. Bu nedenle, yüksek kapasite ile çalışan laboratuvarlar sifiliz testleri için çalışma sürelerinden ve işgücünden tasarruf etmektedirler. Treponemal testlerin bir başka avantajı da IgM ve IgG antikorlarını birlikte veya ayrı ayrı saptayabilmesidir. Hastada özgül IgM tipi antikorların varlığının gösterilmesi aktif infeksiyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [5].

Son yıllarda ticari firmalar kemilüminesan immuno assay yöntemle çalışan otomatize sifiliz testlerini pazarlamaya başlamışlardır. Bu testler arasında piyasaya ilk sunulan Diasorin firmasının ürettiği CLIA testi olmuştur. Bu test treponemaya özgül antijen olarak TpN17 proteinini kullanmaktadır. CLIA testinden sonra satışına başlanan Abbott firmasının ürettiği CMIA testindeyse TpN17 yanında TpN15 ve TpN47 proteinleri de antikor araştırılmasında kullanılmıştır. Kemilüminesan immuno assay yöntemi kullanan son otomatize ticari test Siemens firması tarafından üretilen, "Immulite® 2000 Syphilis Screen" testi olmuştur. Bu testte de CLIA testinde olduğu gibi, yalnızca TpN17 antijeni kullanılmıştır. Üretici firmaların testlerinde kullandıkları antijenlerin farklı olması, tüketicilerin test performansları ile ilgili kuşku duymalarına neden olmaktadır.

Literatürde testlerde kullanılan antijenlerin performanslarına ilişkin çok sayıda çalışma yer almaktadır. Marangoni ve ark. [10] TpN15 antijeninin özgüllüğünün yüksek olduğunu bildirirken, Lemos ve ark. bu antijene karşı oluşan antikorların hastalığın tüm evrelerinde

saptanabildiğini belirtmektedirler [55]. TpN17 antijeni çeşitli çalışmalarda özgüllüğü en yüksek antijen olarak tanımlanırken [10,56,57], TpN47 antijeni için literatürde fikirbirliği sağlanamamıştır. TpN47 antijeni için bazı yazarlar özgül olmayan yalancı pozitif sonuçlar rapor ederken [56], diğerleri sifilizin her evresinde özgül antikorlarla reaksiyon verdiği için duyarlılığı yüksek bir antijen olarak tanımlamaktadırlar [57,58].

Her üç testin prospektus verileri incelendiğinde, duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirlik değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görülmektedir [59-61]. Ancak literatürde yeni çıkan bu testlerin performanslarını değerlendiren az sayıda çalışmaya rastlanmaktadır.

Bu çalışmalardan birinde, Park ve arkadaşları CMIA testinin performansını, VDRL ve FTA-ABS testleri ile karşılaştırmışlar. Çalışma gruplarından biri, İç hastalıkları ve Dermatoloji Polikliniklerine başvuran ve sifiliz öntanısı konan hastalara ait 616 serumu içermekteymiş. Bu örnekler laboratuvara FTA-ABS testi için gönderilmiş. Örneklerden 400 tanesine aynı zamanda VDRL testi de uygulanmış. Üç testin uyumsuz sonuç verdiği durumda, hastanın tıbbi kayıtlarına başvurulmuş. Ayrıca, ANA pozitif olduğu bilinen 108 adet serum da çapraz reaksiyonun taranması açısından çalışılmış. Bu serumların VDRL ve FTA-ABS testlerinin negatif olduğu bilinmekteymiş. Sonuçlar değerlendirildiğinde, CMIA testinin FTA-ABS testi ile %99, VDRL testi ile ise %83,8 uyumlu olduğu bildirilmiş [13].

Young ve ark.nın CMIA testinin duyarlılık ve özgüllüğünü saptamayı amaçladıkları bir diğer çalışmada, CMIA testi ile bir “Immun Capture Enzyme” (ICE) EIA karşılaştırılmış, altın standart olarak da TPPA testi kullanılmıştır. Sonuç olarak CMIA testi ve ICE %98,9 oranında uyumlu bulunmuş, CMIA testinin duyarlılık ve özgüllükleri ise sırasıyla %100 ve %99,1 saptanmıştır [15].

Otomatize sistemlerin TPHA ve WB ile karşılaştırıldığı, Marangoni ve ark.nın yaptıkları çalışmada, otomatize sistemlerden CMIA testinin duyarlılığı %99,2; özgüllüğü ise %98,5 saptanmıştır. Yalancı pozitifliğe neden olabilecek örneklerde ise herhangi bir pozitifliğe rastlanmamıştır. Sonuçta, bu testin uygun bir tarama testi olabileceği, fakat TPHA ya da WB ile doğrulama yapılmasının da uygun olabileceği yorumu yapılmıştır [10].

Sadece TpN17 antijeni içeren, tek basamaklı kemilüminesan immuno assay prensibi ile çalışan, “Immulate® 2000 Syphilis Screen” testinin performansının Bioelisa sifiliz testi ve WB ile karşılaştırıldığı Donkers ve ark.nın 2009 yılında yaptıkları çalışmada, “Immulate®

2000 Syphilis Screen” testi WB ile %99,4 uyumlu bulunmuş, duyarlılık ve özgüllükleri ise sırasıyla %100 ve %99,4 saptanmıştır. Tek antijen içermesine rağmen, “Immulate® 2000 Syphilis Screen” testinin Bioelisa’dan daha duyarlı olduğu bildirilmiştir [62].

“Immulate® 2000 Syphilis Screen” testinin TPPA ile karşılaştırıldığı Vlaspolder ve ark.nın 2009’da yaptıkları bir başka çalışmada ise, iki testin uyumu %98 saptanmış, “Immulate® 2000 Syphilis Screen” testinin duyarlılığı %94, özgüllüğü ise %100 saptanmıştır. Negatif prediktif değer ve pozitif prediktif değerler ise sırasıyla %98 ve %98 bulunmuştur [63].

Bu çalışmada kemilüminesan yöntemi kullanan üç ticari testten biri olan CLIA’nın performansı değerlendirilmiştir. Literatürde CLIA’yı değerlendiren üç çalışma ve bir de CDC’nin verisi bulunmaktadır.

İlk çalışma 2005 yılında Marangoni ve ark. tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada, CLIA testinin performansını RPR, TPHA, WB ve TpN15 ile TpN17 antijenlerini içeren bir EIA ile karşılaştırmışlar. Testlerle önce stoklanmış sifiliz negatif kan donörü; evreleri klinik ve laboratuvar bulguları ile kanıtlanmış, tedavi edilmiş veya edilmemiş sifiliz pozitif hasta örnekleri çalışılmıştır. Ayrıca, çalışmada çapraz reaksiyon verebilecek kültürle doğrulanmış Lyme ve *Streptococcus pyogenes*, klinik ve laboratuvarla doğrulanmış infeksiyöz mononükleoz infeksiyonları geçiren, otoimmün bozukluğu olan ANA veya RF pozitif, ağzında şiddetli *Treponema denticola* ile ilişkili periodontal rahatsızlığı olan hastaların ve son olarak hamile kadınların serum örnekleri ile belirlenen testler çalışılmıştır. Çalışmada ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarına rutin sifiliz taraması için gönderilen örnekler herhangi bir seçim kriteri uygulanmadan tüm testlerle çalışılmıştır. Sonuçlar değerlendirilirken WB testini altın standart olarak kabul etmişlerdir [11].

Marangoni ve ark. CLIA ve WB testleri arasında %99,9 oranında uyum olduğunu, CLIA’nın duyarlılığı ve özgüllüğünün sırasıyla, %99,2 ve %99,9 bulunduğunu bildirmişlerdir [11]. Yazarlar, CLIA’nın 2 kan donöründe yalancı pozitif sonuç verdiğini, bununla birlikte çapraz reaksiyon beklenen hiçbir örnekte CLIA ile pozitiflik saptanmadığını belirtmişlerdir. CLIA ile negatif, WB ile pozitif bulunan iki serumdan birinin tedavi edilmiş latent sifilizli bir hastaya ait olduğunu belirten yazarlar, diğer serumun WB testinde TpN17’de zayıf, diğer bantlarda güçlü reaksiyon saptadıklarını bildirmişler ve negatif sonucu CLIA’da yalnızca TpN17 antijeninin kullanılması ile açıklamışlardır. Bizim çalışmamızda laboratuvarımızda

yapılan bir başka çalışmada kullanılan dört serum örneği de kullanılmıştır. Serumların ortak özellikleri; önceki çalışmada CMIA ve CLIA testlerinin pozitif saptanmış olması ve WB IgG testinde yalnızca TpN15 ve TpN47 bantlarında reaksiyonun saptanmış olmasıdır. TpN17 bantlarında hiç reaksiyon saptanmayan bu örneklerle CLIA testi ile yapılan çalışmada tüm örnekler pozitif bulundu. Beklenmeyen bu sonuç önceki çalışmada kullanılan WB IgG testinin duyarlılığının CLIA testine göre düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Knight ve ark. 2007 yılında yayınladıkları makalelerinde CLIA testinin tarama ve doğrulama performansını değerlendirmişlerdir. Tarama testi olarak değerlendirebilmek için primer ve sekonder sifiliz tanısı konmuş, rutin sifiliz taraması yapılan, HIV pozitif, hamile ve sağlıklı erişkin kan örneklerini kullanmışlardır. Bu örnekler CLIA ve bir başka EIA testi ile çalışılmış, pozitif çıkan sonuçlar RPR ve TPPA ile doğrulanmıştır. CLIA'nın doğrulama testi olarak kullanıldığında göstereceği performansı değerlendirebilmek için RPR pozitif örnekler çalışılmıştır. Test sonuçları doğrulama testi olarak kullanılması önerilen bir EIA testininkilerle karşılaştırılmış ve uyumsuz sonuçlar için TPPA hakem olarak kullanılmıştır. Knight ve ark. CLIA testinin duyarlılığını %95,8; özgüllüğü ise %99,1 olarak bildirmişlerdir. Doğrulama testi olarak kullanıldığında CLIA'nın sonuçlarının TPPA sonuçları ile %100 uyumlu olduğunu belirtmişlerdir [9].

CLIA performansını değerlendiren son çalışma 2011 yılında Wellinghausen ve ark. tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada, sifiliz taraması nedeniyle mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen örnekler, dışlama kriteri kullanılmadan CLIA, CMIA ve TPPA testleri ile çalışılmış, herhangi birinde pozitif saptanan örnekler sonradan FTA-ABS testi ile değerlendirilmiştir. Bu test sonuçları arasında uyumsuzluk gözlenen örneklerle, ek olarak, rekombinant antijenler içeren ve özgül IgG ve IgM antikorlarını saptayan bir immunblot testi çalışılmıştır. Yazarlar, CLIA testinin duyarlılığı ve özgüllüğünü sırasıyla, %100 ve %99,8 olarak bildirmişlerdir. Yalancı pozitif tek örnek için bir açıklama getirmemişlerdir.

CLIA ile ilgili literatürde yer alan son veri CDC'nin sifiliz tanı algoritmasını değerlendirmek için beş laboratuvardan topladığı 2006-2010 yıllarına ait test sonuçları arasında yer almaktadır. Laboratuvarlardan biri belirtilen dönemde CLIA testini kullanarak toplam 21 623 hasta örneğinde sifiliz taramıştır. Taramada pozitif bulunan toplam 438 örneğin 88 tanesi TPPA veya FTA-ABS testi ile doğrulanmamıştır. Bu sayılarla CLIA için özgüllük ve pozitif öngörü değerleri sırasıyla, %99,6 ve %79,9 olarak hesaplanmaktadır [7].

Bu çalışmada, CLIA testinin doğruluğunun belirlenmesi amacıyla, gerçek pozitif ve gerçek negatif örneklerin sonuçları değerlendirildi. Sonuçlara göre CLIA testinin doğruluğu, duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla, %100, %100, %100 olarak bulundu. Duyarlılık, Wellinghausen ve ark. bildirdiği değerle aynı fakat diğerlerine göre yüksektir. Özgüllük literatürdeki en yüksek değerdir. Bu değerlerin yüksek bulunması, olasılıkla çalışma grubumuzun sayısının oldukça düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Çalışmamızdaki bir diğer kısıtlılık örneklerin sifiliz hastalığının farklı dönemlerini yansıtmamasıdır. Marangoni ve ark. çalışmalarında infeksiyonun dönemlerini temsil eden serum örnekleri kullanmışlar ve testin duyarlılığını daha doğru bir şekilde inceleyebilmişlerdir [11]. Benzer durum çapraz reaksiyon beklenen örnek seçimimizde de görülmektedir. Çalışmamızda farklı infeksiyonların akut evrelerini yansıtan, otoantikörleri bulunan hastaların ve hamilelerin serumları kullanılmış, ancak diğer spiroket infeksiyonlarını temsil edebilecek örnekler çalışılmamıştır. Yine Marangoni ve ark. yaptığı çalışma kültür ile tanısı doğrulanmış Lyme hastalarının örneklerini kullanması yönünden dikkat çekicidir. Çalışmamızda, çapraz reaksiyon beklenen örneklerin hiç birinde CLIA ve CMIA pozitifliğine rastlanmamıştır.

Myrmel ve ark, 2005 yılında yayınladıkları makalede Abbott firmasının Architect ve AxSYM anti-HCV testlerinin anti-HCV antikörlerini saptama performanslarını örneklerin seri dilüsyonlarını çalışarak değerlendirmişlerdir [64]. Bu çalışmada, benzer yöntemle CMIA ve CLIA testlerinin düşük düzey antikörleri saptama güçleri karşılaştırıldı. Literatürde yaptığımız incelemeye dayanarak, kemilüminesan immuno assay yöntemini kullanan treponemal testlerin performans değerlendirilmesinde bu yöntemin ilk kez uygulandığını söyleyebiliriz.

Çalışmada, üç ayrı pozitif örneğin çift kat seri dilüsyonları hazırlanarak her iki testle kendi sonuç yorumlama kriterlerine göre negatif değere ulaşmaya kadar çalışıldı. CMIA'dan farklı olarak CLIA testinin yorumlama kriterinde "belirsiz" olarak değerlendirilen bir aralık bulunması nedeniyle, sonuçlar üç farklı biçimde değerlendirildi. İlk olarak, elde edilen tüm S/Co oranları her testin kendi kriterlerine göre, daha sonra da yalnızca CMIA ve CLIA kriterlerinden birine göre değerlendirildi. Her üç değerlendirme biçiminde de, CMIA ve CLIA'nın ya aynı dilüsyonda birlikte negatifleştiği, ya da dilüsyon oranları ilerletildikçe CMIA pozitifliğini korurken CLIA'nın belirsiz veya negatife gerilediği gözlenmiştir. Bu gözleme dayanarak CMIA'nın antikör miktarı düşük olan hastaları saptamada CLIA'ya göre daha başarılı olduğunu düşünmekteyiz.

CLIA testinin tekrarlanabilirliğini değerlendirmek amacıyla, S/Co oranlarına göre yüksek pozitif ve negatif saptanmış olan birer örnek ve düşük pozitif saptanmış iki örnek çalışıldı. Elde edilen verilerin beklenen kalitatif test sonuçlarıyla %100 uyumlu olması nedeniyle, sonuçların gün içi ve günler arasında bir farklılık göstermediğine karar verildi.

Çalışmamızda testlerin her ikisinde de pozitif saptanan örneklerin S/Co oranları arasında istatistiksel olarak bir uyum olup olmadığı araştırıldı. Her iki yöntem arasında doğrusal bir uyumun olduğu görüldü ($R^2:0,65$). Fakat R^2 değeri göz önüne alındığında bu uyumun orta düzeyde olduğu söylenebilir. Bu durum, testlerin yöntem ve sonuç yorumlama kriterlerinde farklılıklar olması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak bu çalışmanın verilerine göre; CLIA yüksek doğruluk, duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip bir testtir. Çalışma içi ve çalışmalar arası tekrarlanabilirlik değerleri testin kendi prospektusunda ve FDA değerlendirme raporlarında bildirilen değerlerle uyum içindedir. Bu zellikleri ile rutin laboratuvarlarda sifiliz taraması amacıyla kullanılmasının uygun olduğunu düşünmekteyiz. Ancak, antikor düzeyinin düşük olduğu ileri dilüsyonlarda CLIA'nın CMIA'ya göre daha kötü bir performans göstermesi, antikor seviyesi düşük olan hastaların yakalanmasında sorun oluşturabilir. Bu hipotezin gerçek hasta örnekleri ile yapılacak çalışmalarla desteklenmesi gereklidir.

8.KAYNAKLAR:

- [1] Global strategy for the prevention and control of sexually transmitted infections: 2006-2015. WHO; 2007.
- [2] Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. Geneva, Switzerland: World Health Organization Department of HIV/AIDS 2001.
- [3] Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. Morbidity and Mortality Weekly Report: CDC; 2010.
- [4] Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections; Recommendations. WHO, France; 2009.
- [5] French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, Van Voorst Vader P, Young H. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. International Journal of STD & AIDS 2009;20:300-309.
- [6] Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006. Morbidity and Mortality Weekly Report: CDC; 2006.
- [7] Discordant Results from Reverse Sequence Syphilis Screening-Five Laboratories, United States, 2006-2010. Morbidity and Mortality Weekly Report February 11, 2011: CDC; 2011.
- [8] Bondareva VP, Deriabina VP, Zakharova EN, Kotel'nikova N, Osipova TA, Pugacheva NM, Ruzhanskaia AV, Poletaeva OA. Current approaches to laboratory diagnosis of syphilis. Klin Lab Diagn. 2010;11:46-48.
- [9] Knight CS, Crum MA, Hardy RW. Evaluation of the LIAISON chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis. Clin Vaccine Immunol. 2007 Jun. Epub 2007 Apr 25;14:710-713.
- [10] Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. J Clin Lab Anal. 2009;23:1-6.
- [11] Marangoni A, Sambri V, Accardo S, Cavrini F, D'Antuono A, Moroni A, Storni E, Cevenini R. Evaluation of LIAISON Treponema Screen, a novel recombinant antigen-based

chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis. Clin And Diag Lab Immun. 2005;12:1231-1234.

[12] Ozbek OA, Doğan Y. Evaluation of a syphilis testing algorithm using a treponemal test for screening. Mikrobiyol Bul. 2011;45:93-103.

[13] Park Y, Park Y, Joo SY, Park MH, Kim HS. Evaluation of a Fully Automated Treponemal Test and Comparison With Conventional VDRL and FTA-ABS Tests. Am J Clin Pathol. 2011;136:705-710.

[14] Wellinghausen N, Dietenberger H. Evaluation of two automated chemiluminescence immunoassays, the LIAISON Treponema Screen and the ARCHITECT Syphilis TP, and the *Treponema pallidum* particle agglutination test for laboratory diagnosis of syphilis. Clin Chem Lab Med. 2011;49:1375-1377.

[15] Young H, Pryde J, Duncan L, Dave J. The Architect Syphilis assay for antibodies to *Treponema pallidum*: an automated screening assay with high sensitivity in primary syphilis. Sex Transm Infect. 2009;85:19-23.

[16] Bilgehan H, Büke M, ve ark. Cinsel İlişki ile Bulaşan Hastalıklar. XX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. İzmir; 1982.

[17] Campbell EC. VD to STD: Redefining venereal disease. Am J Nurs 1981;81.

[18] Bozkurt H, Çiftçi H, Güdücüoğlu H, Körkoca H, Akdeniz N, Aygül K, Berktaş M. Van bölgesinde sifiliz reagenik antikor seropozitifliğinin araştırılması. Van Tıp Dergisi 2005;12:137-139.

[19] Cole MJ, Perry KR, Parry JV. Comparative evaluation of 15 serological assays for the detection of syphilis infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007;26:705-713.

[20] Rothschild BM. History of Syphilis. Clinical Infectious Diseases 2005;40:1454-1463.

[21] Türkiye üreme sağlığı programı, Ek V: Türkiye’de cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE) ve HIV/AIDS’in sürveyans sistemine ilişkin durum analizi. İlerleme raporu III; Şubat 2005.

[22] Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. *Treponema*, *Borrelia* ve *Leptospira*, Bölüm 42. 6. baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2010. 405-419.

[23] Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. 2004.

- [24] Tezcan S. HIV/AIDS Epidemiyolojisi ve Türkiye'deki diğer CYBE'ler. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Turizm Sağlığı Paneli. Antalya; 25-27 Mayıs 2000
- [25] Aktürk AS, Bilen N, Demirsoy EO, Kiran R. The increase rates of syphilis in Turkey in the beginning of the third millennium. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009;23:1209-1210.
- [26] Adışen E, Öztaş M, Gürer MA. 1994-2006 yılları arasında izlediğimiz sifilizli hastaların demografik bulguları. TÜRKDERM- Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi 2008;42:113-117.
- [27] Ziver T, Yüksel P, Güngördü Z, İzmirli S, ve ark. Sifiliz enfeksiyonlarının tanısında kullanılan Rapid Plazma Reagin (RPR) ve *Treponema pallidum* Hemaglutinasyon Assay (TPHA) test sonuçlarının 2005-2010 yılları arasındaki değerlendirilmesi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2011;1:1-7.
- [28] Koçak N, Hepgül S, Özbayburtlu S, Altunay H, Özsoy MF, Koşan E, Aksu Y, Yılmaz G, Pahsa A. Trends in major transfusion-transmissible infections among blood donors over 17 years in Istanbul, Turkey. J Int Med Res. 2004;32:671-675.
- [29] İzmir Kızılay kan merkezi istatistikleri (Yayınlanmamış veridir). 2004-2009.
- [30] Akyüz İE. Kan Bankası Donörlerinde Tekrarlayan Sifiliz Pozitifliğinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009.
- [31] Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Treponemalar, konu 31. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. 681-691.
- [32] Murray P Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. Treponema ve İnsan İle İlişkili Diğer Spiroketler, Bölüm 63, Cilt 1. 9. baskı; 2009. 987-1003.
- [33] Antal GM, Lukehart SA, Mehaus AZ. The endemic treponematoses. Microbes Infect. 2002;4:83-94.
- [34] LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. Clin Microbiol Rev. 2006;1:29-49.

- [35] Lautenschlager S. Diagnosis of syphilis: clinical and laboratory problems. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2006;4:1058-1075.
- [36] French P. Syphilis. *BMJ* 2007;334:143-147.
- [37] Laboratory Diagnostic Testing for *Treponema pallidum* Expert Consultation Meeting Summary Report. Atlanta: Association of Public Health Laboratories; 2009.
- [38] Fenton KA, Breban R, Vardavas R, Okano JT, Martin T, Aral S, Blower S. Infectious syphilis in high-income settings in the 21st century. *Lancet Infect Dis.* 2008;8:244-253.
- [39] Aktaş G. Sifilizin serolojik tanısı. 2005;1:73-79.
- [40] Öztuzcu S. Sifiliz tanısında mikrokompleman yönteminin kullanılması ve bunun diğer serolojik yöntemlerle karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı: İstanbul Üniversitesi; 1996.
- [41] Zanto SN. Changing Algorithms in Syphilis Laboratory Diagnosis. *Clinical Microbiology Newsletter* 2010;32:59-64.
- [42] Pettit DE, Larsen SA, Pope V, Perryman MW, Adams MR. Unheated serum reagin test as a quantitative test for syphilis. *J Clin Microbiol.* 1982;15:238.
- [43] Pettit DE, Larsen SA, Harbec PS, Feeley JC, Parham CE, Cruce DD, Hambie EA, Perryman MW. Tolidine red unheated serum test, a nontreponemal test for syphilis. *J Clin Microbiol.* 1983;18:1141.
- [44] Larsen SA, Steiner BM. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:1-21.
- [45] Pope V, Fears MB, Morrill WE, Castro A, Kikkert SE. Comparison of the Serodia *Treponema pallidum* particle agglutination, Captia Syphilis-G, and SpiroTek Reagin II tests with standard test techniques for diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2543-2545.
- [46] Marangoni A, Sambri V, Oimo A, D'Antuono A, Negosanti M, Cevenini R. IgG Western blot as a confirmatory test in early syphilis. *Zentbl Bakteriol.* 1999;289:125-133.
- [47] Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2007;40:93-8.

- [48] Merkez Seroloji Laboratuvarı TPHA test rehberi. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi 2008.
- [49] Anti-*Treponema pallidum* IIFT (IgG ya da IgM) test kit prospektüsü. EUROIMMUN.
- [50] American Society for Microbiology. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology. Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory. Washington: ASM press; 2009, p. 1-23.
- [51] Naesens R, Vermeiren S, Van Schaeren J, Jeurissen A. False positive Lyme serology due to syphilis: report of 6 cases and review of the literature. Acta Clin Belg. 2011;66:58-59.
- [52] Wasserman S, Vallie Y, Bryer A. The great pretender. Lancet 2011;377:1976.
- [53] Vulcano F, Milazzo L, Volpi S, Battista MM, Barca A, Hassan HJ, Pimpinelli F, Giampaolo A. Italian National Survey of Blood Donors: External Quality Assessment (EQA) of Syphilis Testing. J Clin Microbiol. 2010;48:753-757.
- [54] Wang LN, Li JM. Evaluation of immunoglobulin M and G Western blot and ELISA for screening antibodies to *Treponema pallidum* in blood donors. Sex Transm Dis. 2009;36:413-416.
- [55] de Lemos EA, Belém ZR, Santos A, Ferreira AW. Characterization of the Western blotting IgG reactivity patterns in the clinical phases of acquired syphilis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;58:177-183.
- [56] Backhouse JL, Nesteroff SI. *Treponema pallidum* western blot: comparison with the FTA-ABS test as a confirmatory test for syphilis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2001;39:9-14.
- [57] McGill MA, Edmondson DG, Carroll JA, et al. . Characterization and serologic analysis of the *Treponema pallidum* proteome. Infect Immun. 2010;78:2631-2643.
- [58] Sanchez PJ, Wendel GD, Grimpel E Jr, Goldberg M, Hall M, Arencibia-Mireles O, Radolf JD, Norgard MV. Evaluation of molecular methodologies and rabbit infectivity testing for the diagnosis of congenital syphilis and neonatal central nervous system invasion by *Treponema pallidum*. J Infect Dis. 1993;167:148-157.
- [59] "Architect ® Syphilis TP" Test Prospektusu. Abbott Diagnostics.
- [60] "Liaison ® Treponema Screen" Test Prospektusu. DiaSorin.
- [61] "Immulite® 2000 Syphilis Screen" Test Prospektusu. Siemens.

- [62] Donkers A. Comparative evaluation of IMMULITE 2000 syphilis screen assay and bioelisa Syphilis 3.0 assay for determination of antibodies to *Treponema pallidum* in pregnancy samples. 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Helsinki, Finland; 2009.
- [63] Vlaspolder F, Singer P. Evaluation of the IMMULITE 2000 Syphilis Screen Assay in comparison with *Treponema pallidum* particle agglutination. 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Helsinki, Finland; 2009.
- [64] Myrmel H, Navaratnam V, Asjo B. Detection of antibodies to hepatitis C virus: False-negative results in an automated chemiluminescent microparticle enzyme (ARCHITECT Anti-HCV) compared to a microparticle enzyme immunoassay (AxSYM HCV Version 3.0). J Clin Vir. 2005;34:211-215.