

176478

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAN BANKASI DONÖRLERİNDE TEKRARLAYAN SİFİLİZ
POZİTİFLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. İ. EBRU AKYÜZ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2009

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAN BANKASI DONÖRLERİNDE TEKRARLAYAN SİFİLİZ
POZİTİFLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. İ. EBRU AKYÜZ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYELERİ

Yrd. Doç. Dr. Ö. Alpay ÖZBEK

Prof. Dr. Y. Hakan ABACIOĞLU

İZMİR

2009

TEŐEKKÜR

Asistanlık eğitimim ve tez çalışmam sũresince bana her tũrlũ desteği gũsteren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Hakan Abacıoğlu'na, yetişmemde ve uzmanlık eğitimi almamda bũyũk emeği olan, yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. . Alpay zbek'e, tez çalışmam sũresince yardım ve desteğinden dolayı Sayın Phd. Dr. Yavuz Doğan'a, yetişmemde emeği geçen değerli tũm hocalarıma, yardımları ve her zaman hatırlayacağım dostlukları için tũm çalışma arkadaşlarıma ve hayatım boyunca her zaman yanımda olan, destek ve sevgilerini esirgemeyen sevgili aileme içtenlikle teőekkũr ederim.

Dr. İ. Ebru AKYŐZ

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	<i>i</i>
TABLO LİSTESİ	<i>ii</i>
ŞEKİL LİSTESİ	<i>iii</i>
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	4
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Giriş	7
4.2. Tarihçe	7
4.3. Epidemiyoloji	8
4.4. Hastalık Etkeni	14
4.5. Virulans Faktörleri	18
4.6. Patogenez	19
4.7. İmmun Yanıt	20
4.8. Klinik	23
4.9. Tanı	27
4.10. Tedavi	39
4.11. İzlem ve Korunma	41
4.12. Aşı Çalışmaları	41
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER	43
5.1. Gereçler	43
5.1.1. Çalışma grubu	43
5.2. Yöntemler	43
5.2.1. “Architect® Syphilis TP” testi	43
5.2.2. “Immuntrep®RPR” testi	45
5.2.3. “EUROIMMUN Anti-Treponema pallidum WESTERNBLOT IgG/ IgM” testi	46

5.3 İstatistiksel Yöntem	50
6. BULGULAR	51
6.1. Çalışma Grubunun Genel Özellikleri.....	51
6.2. EIA S/Co Gruplarına Göre WB IgM ve IgG Sonuçları.....	52
6.3. EIA S/Co Gruplarına Göre RPR Sonuçları.....	53
6.4. ROC Analizi.....	53
6.5. İndeks S/Co Değerine Göre WB IgM/IgG Testinin Değerlendirilmesi	57
6.6. İndeks S/Co Değerine Göre RPR Testinin Değerlendirilmesi.....	57
6.7. Antijen bölgelerine göre WB IgM ve IgG Test Sonuçları.....	61
6.8. Tek başına WB IgG testinin değerlendirilmesi.....	63
6.9. “Architect® Syphilis TP” Testi İçin Tanı Algoritma Önerisi	66
7. TARTIŞMA.....	68
8. KAYNAKLAR.....	79

KISALTMALAR

CYBE: Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

RPR: Rapid Plasma Reagin

EIA: Enzyme-linked immuno assay

WB: Western blot

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

HCV: Hepatit C virusu

CMIA: Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testi

DFA: Direkt floresans antikor testi

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

FTA-ABS: Floresans treponemal antikor absorbsiyon testi

MHA-TP: Mikrohemaglutinasyon assay

TPHA: Mikrotreponema pallidum hemaglutinasyon assay

TPPA: *Treponema pallidum* partikül aglutinasyon testi

TPI: *T. pallidum* immobilizasyon testi

VDRL: Venereal Diseases Research Laboratory

HIV: Human Immunodeficiency Virus

ROC: Receiver Operation Characteristics

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: İllere göre sifiliz vakalarının dağılımı ve morbidite oranları, Türkiye, 2002

Tablo 2: 2004–2009 yılları arasında Ege Bölgesi sifiliz seropozitiflik oranları

Tablo 3: Sifiliz vakalarının cinsiyete göre dağılımı, Türkiye, 2002–2006

Tablo 4: *T. pallidum*'un bilinen polipeptidleri ve genel özellikleri

Tablo 5: Patojenik treponema gruplarının genel özellikleri

Tablo 6: Nontreponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Tablo 7: FTA-ABS ve FTA-ABS çift boyanma testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü

Tablo 8: Sifiliz enfeksiyonu klinik evrelerine göre tedavi protokolü

Tablo 9: “Architect[®] Syphilis TP” testi reaktif kiti içeriği

Tablo 10: “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM/IgG” test şeritlerindeki antijen bölgeleri

Tablo 11: “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM” testi değerlendirme kriteri

Tablo 12: “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgG” testi değerlendirme kriteri

Tablo 13: WB IgG ve IgM sonuçlarının EIA S/CO değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı

Tablo 14: RPR sonuçlarının EIA S/CO değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı

Tablo 15: EIA S/CO değerleri için ROC analizi ile elde edilen duyarlılık ve özgüllük sonuçları

Tablo 16: WB IgM+IgG sonuçlarının EIA ≥ 7.19 ve < 7.19 S/CO gruplarına göre dağılımı

Tablo 17: RPR sonuçlarının EIA ≥ 7.19 ve < 7.19 S/CO gruplarına göre dağılımı

Tablo 18: WB IgG testi pozitif antijen bölgeleri

Tablo 19: WB IgG testi “borderline” antijen bölgeleri

Tablo 20: WB IgM testi pozitif antijen bölgeleri

Tablo 21: WB-IgM testi “borderline” antijen bölgeleri

Tablo 22: EIA S/CO değerleri için ROC analizi ile elde edilen duyarlılık ve özgüllük sonuçları (WB IgG)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Tüm dünyada beklenen yeni sifiliz vaka sayıları, DSÖ, 1999

Şekil 2: *T. pallidum* elektron mikroskopisi görüntüsü

Şekil 3: Spiroket hücre duvar yapısı

Şekil 4: EIA S/Co değerlerine göre grupların dağılımı

Şekil 5: ROC eğrisi ve eğri altında kalan alan (WB IgM/IgG testi ile yapılan değerlendirme)

Şekil 6: RPR sonuçlarının WB IgM ve WB IgG sonuçları ile karşılaştırılması

Şekil 7: ROC eğrisi ve eğri altında kalan alan (WB IgG testi ile yapılan değerlendirme)

Şekil 8: “Architect® Syphilis TP” testi için öngörülen tanı algoritması

1. ÖZET

KAN BANKASI DONÖRLERİNDE TEKRARLAYAN SİFİLİZ POZİTİFLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kan merkezlerinde güvenli kan transfüzyonu için sifiliz enfeksiyonunun uygun test yöntemiyle doğru ve hızlı olarak tanımlanabilmesi gerekmektedir. Kan merkezleri için önerilen algoritmalarda tarama testlerinde saptanan pozitifliklerin ileri inceleme yöntemleri ile doğrulanması önerilmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, yöntem olarak CMIA teknolojisini kullanan “Architect® Syphilis TP” testi için doğrulama testlerine olan gereksinimi ortadan kaldıran indeks S/Co değerini saptamaktır. İkincil amaçlar ise “Architect® Syphilis TP” testi ile pozitif saptanan örneklerin RPR test sonuçlarının değerlendirilmesi ve referans yöntemde kullanılan treponemal antijenlere (TpN15, TpN17, TpN47 ve TmpA) verilen antikör yanıtlarının analizini yapmaktır. Elde edilen veriler doğrultusunda kan merkezlerinde “Architect® Syphilis TP” testi ile sifiliz taraması için uygulanabilecek bir algoritma önerisi hazırlanmıştır.

Çalışmada, 20.07.2006/10.11.2008 tarihleri arasında “Architect® Syphilis TP” testiyle tekrarlayan pozitif bulunan toplam 177 serum örneğinde WB IgG/IgM ve RPR testleri çalışıldı. Sonuçlar ROC analizi ile değerlendirilerek indeks S/Co değeri belirlendi.

ROC analizinde indeks olarak 7.19 S/Co değeri saptandı. Çalışma sonuçlarına göre, örneklerin 107’sinin (% 60.5) S/Co değerleri “<7.19” un altında bulundu. Bu örneklerin yalnızca 3 tanesi (%. 4.6) doğrulandı, geriye kalan 104 örnekte (% 92.9) EIA’nın yalancı pozitif sonuç verdiği düşünüldü. S/Co değeri “≥7.19” olan örneklerin ise % 95.4’ü doğrulandı. WB testi ile pozitif bulunan örneklerin % 69.8’inde dört antijen bölgesinin tümünde reaktivlik saptandı. Reaktivlik en sık TpN47, en az da TmpA antijen bölgelerinde gözlemlendi. RPR testi ile toplam 39 (%22) serum örneğinde pozitiflik saptandı. S/Co indeks değerine göre pozitifliklerin 7’si (% 18) “<7.19” S/Co grubunda bulundu ve bu örneklerin hiçbiri WB testi ile doğrulanmadı. RPR testi ile pozitif bulunan “≥7.19” grubundaki 32 (% 82) örneğin ise 31’inde (% 96.8) WB testleri de pozitif. Tüm serum örnekleri değerlendirildiğinde RPR testi WB G/M testleri ile pozitif bulunan örneklerin yalnızca 31’inde (% 48) pozitif sonuç vermiştir.

Sonuç olarak “Architect® Syphilis TP” testi için saptanan “7.19” S/Co indeks değerine göre bir tanı algoritması önerildi. RPR testinin tarama testi olarak kullanılmasının özellikle kan merkezleri için donör taramasında uygun olmadığı düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Sifiliz, Kan Merkezi, Örnek / Eşik değer, Western Blot, RPR, CMIA

2. SUMMARY

AN EVALUATION OF RECURRENT SYPHILIS POSITIVITY IN BLOOD BANK DONORS

To ensure safe blood transfusion in blood centers, syphilis infection should be identified precisely and rapidly, using an appropriate test method. The recommended algorithms to be used in blood centers include the reconfirmation of the positivity detected via screening tests, using advanced diagnostic methods. The main goal of the present study is to determine the index S/Co value that eliminates the necessity of reconfirmation tests when “Architect[®] Syphilis TP” test, which uses CMIA technology, is applied. The secondary goals of the study are the evaluation of the RPR test results of the samples detected as positive by the “Architect[®] Syphilis TP” test, and the analysis of the antibody responses to the treponemal antigens (TpN15, TpN17, TpN47 and TmpA) used in the reference method. In the light of our findings, we have also set forth a diagnosis algorithm that is applicable for syphilis screening to be performed in blood centers using the “Architect[®] Syphilis TP” test.

In the present study, WB IgG/IgM and RPR tests were conducted for 177 serum samples detected as recurrent positive by the “Architect[®] Syphilis TP” test between 20.07.2006 and 10.11.2008. The results were evaluated using ROC analysis and an index S/Co value was set.

The index was determined as 7.19 S/Co by the ROC analysis. According to the results of the study, S/Co values of 107 samples (60.5%) were found to be lower than 7.19 (these samples constitute the “<7.19” group). Only three of these samples (6.4%) were confirmed by WB. The remaining 104 (92.9%) samples were negative by WB, therefore considered false positive. As for the group with an S/Co value equal to or greater than 7.19 (the “≥7.19” group), 95.4% of the samples were confirmed as positive using the WB test. In 69.8% of the WB-positive samples, the WB test revealed reactivity in all four antigen regions. Reactivity was most pronounced in the TpN47 and least pronounced in the TmpA regions. The RPR test revealed positivity in 39 (22%) serum samples. Seven (18%) of these RPR positive samples were in the “<7.19” group, and were all WB negative. 32 (82%) RPR positive samples belonged to the “≥7.19” group and 31 of these samples were also WB positive. When all samples are taken into account, RPR test yielded positive results in only 31 (48%) of the samples which were positive in the WB test.

In conclusion, a diagnosis algorithm was set forth according to the S/Co index value of “7.19”, which was set for the “Architect[®] Syphilis TP” test. It was concluded that the use of RPR as a donor screening test is particularly inconvenient for the selection of donors in blood centers.

Key Words: Syphilis, blood center, Sample/ threshold value, Western Blot, RPR, CMIA

3. GİRİŞ VE AMAC

Sifiliz enfeksiyonu, dünya çapında özellikle de gelişmekte olan ülkelerde yaygın olan önemli bir sağlık sorunudur. Etkeni bir spiroket olan *Treponema pallidum*'dur. Sadece insanda enfeksiyon yapan bu hastalık, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE) arasında yer almaktadır (1).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) büyük çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerde görülmekle birlikte, her yıl 12 milyon yeni sifiliz olgusunun ortaya çıktığını tahmin etmektedir (2). Dünya çapında yapılan araştırmalara göre sifiliz enfeksiyonu sıklığında bir artış söz konusudur (3–6). Ülkemizde de sifiliz enfeksiyonu görülme sıklığı dünyadaki artışa benzer bir seyir izlemektedir (7, 8).

T. pallidum'un +4°C'de bekletilmiş kanda üç günden uzun süre canlılığını koruyamadığı, bu nedenle kan merkezlerinde üç günden uzun süre bekletilen kanla bulaşma olasılığının olmadığı yönünde bilgiler vardır. Ancak spiroketlerin +4°C'de bekletilmiş kan ürünlerinde ne kadar sürede canlılıklarını kaybettikleri halen kanıtlanabilmiş değildir (9). Bu nedenle kan merkezlerinde güvenli kan transfüzyonu için sifiliz enfeksiyonunun uygun test yöntemiyle doğru ve hızlı olarak tanımlanabilmesi önemlidir. Ülkemizde 1992 yılında yayınlanan bir yasa ile bağışlanan her kan için sifiliz tarama testi yapılması yasal bir zorunluluktur. Ülkemizde kan merkezlerimiz 1992 yılından itibaren zorunlu olarak, bağışlanan her kan için sifiliz tarama testi çalışmaktadır (10).

Sifiliz tanısında kullanılan testler treponemal ve non treponemal olmak üzere iki grup altında değerlendirilmektedir. Non treponemal grupta yer alan "Rapid Plasma Reagin" (RPR) kan merkezlerinde yapılan sifiliz taramasında yaygın olarak kullanılan bir testtir (11–14). Özgül treponemal antikor varlığını araştıran "Enzyme-linked immuno assay" (EIA) testleri ise RPR' ye görece kan merkezlerinde daha nadir kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda EIA üreticileri testlerin otomasyonunda önemli gelişmeler sağlamıştır. Bu gelişmelerin testlerin kan merkezlerinde daha sık kullanılmasında etkili olacağı öngörülmektedir.

Kan merkezinde tarama testlerinde pozitiflik saptanması durumunda genellikle alınan kan ve kan ürünleri imha edilmekte, donörün adı uygun verici listelerinden çıkartılmaktadır. Oysa yalancı pozitiflik tarama testlerinde sıkça karşılaşılan bir sorundur. Olası yalancı pozitif sonuçlar ise gereksiz kan ve kan ürünü, maliyet, iş gücü ve en önemlisi de donör kaybına, ayrıca donörde psikolojik sorunlara neden olmaktadır. Bu

nedenle, kan merkezleri için önerilen algoritmalarda tarama testlerinde saptanan pozitifliklerin ileri inceleme yöntemleri ile doğrulanması önerilmektedir (15, 16). Ancak birçok kan merkezi alt yapı eksiklikleri, yorumlama zorluğu ve yüksek maliyet nedeniyle doğrulama testi çalışmamaktadır. Doğrulama maliyetlerinin azaltılması kan merkezlerinin bu yöndeki çabalarına katkıda bulunabilir.

“Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) 2003 yılında Hepatit C virusu (HCV) enfeksiyonu tanısı için yayınladığı bir öneride anti-HCV doğrulama testlerinin uygulanmasında bazı kolaylıklar getirilmiştir. Bu öneride, EIA tarama testlerinde saptanan S/Co (serum örneği /eşik değeri) değerleri doğrulama testlerine geçilmesinde bir gösterge olarak kullanılmıştır. Her bir test markası için çalışmalarla indeks S/Co değerleri belirlenmiş, bu değer üstünde kalan örneklerin gerçek pozitif olduğu ve doğrulama testi çalışılmasına gerek olmadığı belirtilmiştir. Bu sayede doğrulama testi gerektiren örneklerin sayısı en aza indirilmekte ve maliyetin azaltılması sağlanmaktadır (17). HCV tanısı için yapılan önerinin bir benzeri sifiliz tanısı için uygulandığında doğrulama testlerinde tasarruf sağlanacağı açıktır. Ancak yapılan incelemede literatürde sifiliz için benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi (DEUH) Kan Merkezi’nde sifiliz taraması, kan merkezimizin kuruluş tarihi olan 1987 yılından bu yana RPR testi ile çalışılmaktaydı. 20.07.2006 tarihten itibaren ise tarama yöntem olarak CMIA teknolojisini kullanan “Architect® Syphilis TP” testi ile yapılmaya başlanmıştır. Her iki dönemde de pozitif örneklerle doğrulama testleri çalışılmamıştır. Halen sürdürülmekte olan uygulamaya göre bir donörde sifiliz pozitifliği saptandığında alınan kan ve kan ürünleri imha edilmekte kişi uygun donör listesinden çıkartılmaktadır.

Kan Merkezimizde RPR ve EIA testi kullanılan dönemlerde sifiliz seropozitiflik ortalamaları sırasıyla % 0.056 ve % 0.51 olarak gerçekleşmiştir. 2004 yılından itibaren kan merkezimize başvuran donör sayımızda % 1.4 katlık bir artış görülmüştür. Verilerimize göre sifiliz seropozitiflik oranımızda yaklaşık 10 katlık bir artış bulunmaktadır. RPR kullandığımız dönemde bölgemizde yapılan çalışmalarla oranlarımız benzer bulunmuş ve sifiliz seropozitifliğinde bölgesel bir artış bulunmadığı görülmüştür (18). Bu artışın tarama testi olarak EIA kullanmaya başladıktan sonra görülmesi, kullanılan yöntemlerin farklı olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ancak seropozitifliğin yükselmesi kan merkezinde kan ve kan ürünlerinin, daha da önemlisi donör kaybının artmasına neden olmuştur.

Sonuç olarak bu durum, kan merkezinin doğrulama testlerine olan gereksinimini arttırmış; pozitif bulunan örnekler için izlenmesi gereken yolların gözden geçirilmesini gerektirmiştir.

Bu çalışmanın temel amacı;

- 1) Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Kan merkezinde “Architect® Syphilis TP” testi ile pozitif bulunan örnekler için doğrulama testleri ile \geq % 95 pozitif sonuç alınan S/Co oranlarını saptayarak, doğrulama testlerine olan gereksinimi ortadan kaldıran indeks S/Co değerini saptamaktır.

İkincil amaçlar ise;

- 2) “Architect® Syphilis TP” testi ile pozitif saptanan örneklerin RPR test sonuçlarının değerlendirilmesi
- 3) Çalışmada referans yöntem olarak kullanılan Western blot testinde bulunan treponemal antijenlere verilen antikor yanıtlarının analizinin yapılması
- 4) Çalışma sonuçları dikkate alınarak, kan merkezlerinde “Architect® Syphilis TP” testi ile sifiliz taraması için uygulanabilecek bir algoritmanın önerilmesidir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Giriş

Sifiliz enfeksiyonu, dünya çapında özellikle de gelişmekte olan ülkelerde yaygın olan CYBE arasında yer alan önemli bir sağlık sorunudur. Etkeni bir spiroket olan *Treponema pallidum*'dur. Sadece insanda enfeksiyon yapan bu hastalık, sıklıkla cinsel yolla olmak üzere, maternal yolla, kan nakli ile primer ve sekonder dönemlerdeki lezyonlardan direkt temasla da bulaşabilir (1).

4.2. Tarihçe

Sifilizin ne zaman nerede ortaya çıktığı kesin olarak bilinmemektedir. Genel olarak kabul edilen hipotez hastalığın Amerika kaynaklı olduğu ve Avrupa'ya ilk defa 1493 yılında Haiti'den Kristof Kolomb'un askerleri ile taşındığıdır (19). Hastalığın ilk tanımlanması 1495 yılında Napoli'de yapılmıştır. Bu tarihin Kolomb'un dönüşü ile olan yakınlığı sifilizin Amerika kıtasından yayıldığı görüşünü kuvvetlendirmektedir (20). Hastalık bu tarihlerde hızla yayılmış ve Avrupa'nın büyük bir kısmını kapsayan epidemiler oluşturmuştur. Bu durum, çok sayıdaki savaşlar ve askerlerin göçüyle açıklanabilmektedir (19).

Hastalık Avrupa'da 1494'de İtalya'yı istila eden Fransız ordusundaki kiralık İspanyol askerleri ile yayılmaya başlamıştır. 1497 yılında İsviçre, Fransa ve Almanya'ya, 1499 yılında Macaristan ve Rusya'ya doğru ilerlemiştir. Buna karşın, Anadolu, Mısır ve Fransa'daki kemik kalıntıları üzerinde yapılan çalışmalar, sifilizin tarihin çok eski dönemlerinde de eski dünyada var olduğunu düşündürmektedir (21).

Hastalık ilk kez 1527 yılında Ruen'li hekim Jacques Bethencourt tarafından veneryal hastalık olarak kabul edilmiştir (22).

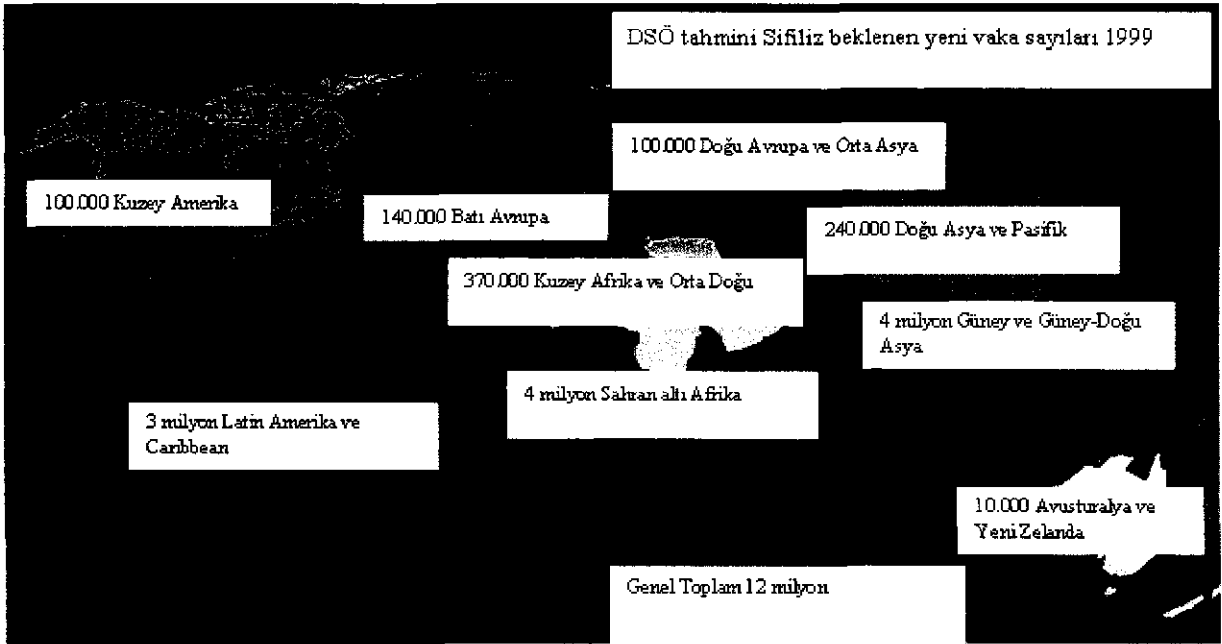
Sifiliz sözcüğü ise ilk defa 1530 yılında Hieronymus Fracostarius'un yazdığı bir hikayede kullanılmıştır. Anlamı "Domuz Çıbanı" olup hikayede hastalığa yakalanmış olan çobanın adıdır (21, 22, 23).

Hastalığın İspanya'dan sürülen Musevilerce önce Fas'a oradan da deniz yoluyla Anadolu'ya taşındığı kabul edilmektedir. Anadolu'daki ilk epideminin, Kırım ve 93 Harbi'nden (Osmanlı-Rus Savaşı) sonra özellikle Kastamonu ve çevresinde görüldüğüne ait kanıtlar bulunmaktadır. Enfeksiyon, Frenk hastalığı anlamında "Frengi" olarak adlandırılmıştır. Hastalıkla mücadele Osmanlı İmparatorluğu zamanında başlamıştır. Cumhuriyet döneminde 1925 yılında kurulan özel Frengi Tarama Ekipleri ve Kurulları ile

hastalığın yoğun olduğu bölgelerde mücadele devam ettirilmiştir. Halen hastalığın tedavisi Frengi Yönetmeliği doğrultusunda uygulanmaktadır (24).

4.3. Epidemiyoloji

Cinsel ilişki ile bulaşan hastalıklar dünyada oldukça yaygındır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) büyük çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerde görülmekle birlikte, dünya çapında her yıl 12 milyon yeni sifiliz olgusunun ortaya çıktığını tahmin etmektedir (Şekil 1). DSÖ raporlarına göre; 2. Dünya Savaşından sonra özellikle Avrupa ülkelerinde başta sifiliz olmak üzere, cinsel yolla bulaşan hastalıklarda hızlı bir artma olduğu, 1950'den sonra ise penisilin bulunması ile tekrar kontrol altına alındığı ve hasta sayısında azalma olduğu belirlenmiştir (2, 25, 26).



Şekil 1: Tüm dünyada beklenen yeni sifiliz vaka sayıları, DSÖ, 1999

Gelişmiş ülkeler:

Amerika Birleşik Devletleri (ABD);

Primer ve sekonder sifiliz enfeksiyonunun insidansı 1940 yılında penisilin kullanılmaya başlaması ile büyük ölçüde azalmıştır. İnsidans 1947 yılında 100.000 olguda 66.4 iken, 1956 yılında 100.000 olguda 3.9'a düşmüştür. ABD Halk Sağlığı Servisi bu oranın düşmesinde bilinçli ya da bilinçsiz antibiyotik kullanımının etkin olduğunu savunmuştur. 1960 yılı başlarından itibaren hastalığın insidansı tekrar artmaya başlamış ve her 10 yıllık periyodlarda pikler görülmüştür (27). 1949 yılından sonra en yüksek oran

100.000'de 20 ile 1990 yılında görülmüştür. 1997 yılında ise, 100.000 olguda 3.2 olarak ABD'deki o yıllara kadar ki en düşük insidans saptanmıştır (6).

Sifiliz insidansı ABD'de 2000–2005 yıllarında tekrar artmaya başlamıştır. 2005 yılında 8.724 olan primer ve sekonder sifilizli vaka sayısı 2006 yılında 9.756'ya çıkmıştır, artış oranı % 11.8'dir (6).

Enfeksiyonun görülme sıklığının cinsiyet ve ırklara göre değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. ABD'de seropozitiflik en sık Afrika kökenli Amerikalılar arasında görülmektedir (28, 29).

Geçmiş yıllarda enfeksiyon insidansı erkek popülasyonda kadınlara göre daha yüksekti. 1980 yılında primer ve sekonder sifiliz enfeksiyonu açısından, erkek/kadın oranı; 3.5/1 olarak bildirilmiştir. 2004–2005 yıllarından sonra ise cinsiyete göre enfeksiyon görülme sıklığı değişmiş ve erkek/kadın oranı 1/1'e yaklaşmıştır (6, 27, 30, 31).

Diğer gelişmiş ülkeler;

Kanada'da 1984 yılında primer ve sekonder sifiliz enfeksiyonu görülme sıklığı 100.000 vakada 5.5'e çıkmıştır ve daha sonraki yıllarda azalmıştır. 1992'de görülen küçük bir artış dışında da azalma devam etmiştir. İnsidans 1995 yılında 100.000 vakada 0.4'e gerilemiştir (32). Ancak 1996 yılından sonra sifiliz vakalarında hızlı bir artış gözlenmiştir. 2004 yılında sifiliz enfeksiyonu pozitifliği 1997 yılına göre 9 kat artmış ve 100.000'de 3.5 oranına yükselmiştir. 2006 yılı istatistiklerine göre de oran 100.000'de 5.1'e çıkmıştır. Bu durum sifiliz enfeksiyonunun Kanada'da özellikle de yüksek risk gruplarında önemli bir sağlık sorunu olduğunu düşündürmektedir (33).

İngiltere'de sifiliz enfeksiyonu; 1984 yılından bu yana en yüksek orana 2004 yılında ulaşmıştır. Seropozitifliğe en sık 25–34 yaş grubunda rastlanmıştır. 2004 yılı için enfeksiyon insidansı erkeklerde 17/100.000, kadınlarda 4/100.000 olarak bulunmuştur (34).

Avustralya'da coğrafi bölgelere göre enfeksiyon sıklığı değişmektedir. Güney Avustralya'da 1980'de sıklık 100.000 vakada 201, 1993'de 100.000'de 4 bulunmuştur, Aynı yıllarda kuzeydeki oranlar sırasıyla, 100.000 vakada 521 ve 721 olarak saptanmıştır. Enfeksiyonun % 90'ı, genel popülasyondaki oranı % 2'den az olan Avustralya yerlilerinde görülmektedir. 2002 yılında yapılan epidemiyolojik bir çalışmada batı Avustralya'da her yıl yaklaşık olarak % 0.3 oranında kişinin sifilizle enfekte olduğu saptanmıştır (35, 36).

Almanya’da her yıl 1.3–1.4/100.000 sifiliz vakası rapor edilmektedir. 2003 yılında kadınlarda sifiliz görülme sıklığı 100.000’de 0.65 iken, erkeklerde 100.000’de 6.5 olarak bildirilmiştir. Aynı yıl 30–39 yaş grubunda yapılan istatistiğe göre ise sifiliz insidansı o yıla kadar ki en yüksek değere ulaşmış ve 100.000’de 17.1 olarak bulunmuştur (37).

Gelişmekte olan ülkeler;

Gelişmekte olan ülkelerden gelen sifiliz insidansı verileri eksik ve yetersizdir. Ancak 1999 yılı Dünya Sağlık Örgütü’nün erişkinlerdeki tahmini sifiliz yeni vaka sayısına göre en yüksek oranlar Sahra Altı Afrika ile Güney ve Güneydoğu Asya’da görülmektedir. Batı Pasifik’de en yüksek oran % 4 olarak Kamboçya’da bulunmuştur. Kan donörlerinde ise en yüksek oran % 1.3 olarak Fas’da görülmüştür (26).

Hindistan’da kan donörlerinde yapılan bir çalışmada sifiliz için RPR pozitifliği 2004 yılı için % 0.68 ve 2005 yılı için % 0.80 bulunmuştur. Bu sonuca göre sifiliz seroprevalansının bu bölgede istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği belirtilmiştir (3).

Trinidad ve Tobago, Singapur ve eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği (SSCB) ülkelerinde, 1980’lerin ortalarından itibaren erken ve konjenital sifiliz vakaları artmıştır (38).

Ülkemizde;

Sifiliz görülme sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artmaktadır. Ülkemizdeki sifiliz görülme sıklığı gelişmiş batı ülkeleri ile karşılaştırıldığında sonuçların birbirine yakın olduğu görülmektedir (39, 40). T.C Sağlık Bakanlığı verilerine göre; 1991 yılında % 0.047 olan sifiliz görülme sıklığı, 2002 yılında % 0.052’ye çıkmıştır (41). Bu oran 2005 yılında % 0.056, 2006 yılında ise % 0.079 olarak bulunmuştur (42, 43). Bu verilere göre 1994–2006 yılları arasında sifiliz görülme sıklığında % 49.3 oranında artış gözlenmiştir (7, 8). 2002–2006 yılları arası toplam vaka sayısı ise % 19 oranında artmıştır (8). Görülme sıklığındaki artışın; cinsel eğitim programlarının yetersizliğine, cinsel ilişki yaşının küçülmesine, evlilik öncesi cinsel ilişki ve cinsel eş sayısındaki artışa, seyahat olanaklarının yaygınlaşmasına, cinsel davranışlardaki değişikliklere, kondom dışı doğum kontrol yöntemlerinin kullanımında artışa bağlı olabileceği bildirilmektedir (44).

Ülkemizde, sifiliz olgularının büyük çoğunluğu üç büyük şehirden (% 71.7) bildirilmektedir. Tablo 1’de Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye’de 2002 yılında illere göre prevalans değerleri görülmektedir. 25 ilde yapılan prevalans çalışmasında İstanbul ve

Artvin en yüksek sifiliz olgusu olan şehirdir. Bu durum İstanbul için ülkemiz nüfusunun büyük bir bölümüne sahip olması ve çok sayıda göç almasından, Artvin'in ise sınır şehri olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (41, 45, 46). 2002 yılında 25 ilden yeni sifiliz olgusu bildirilmemiştir (Adıyaman, Bilecik, Bitlis, Diyarbakır, Edirne, Eskişehir, Hakkâri, Hatay, Kırklareli, Kütahya, Malatya, Kahramanmaraş, Siirt, Sinop, Tokat, Şanlıurfa, Uşak, Bayburt, Aksaray, Batman, Şırnak, Bartın, Iğdır, Yalova, Karabük). Sağlık bakanlığı 2006 istatistik verilerine göre ise sifiliz en fazla İstanbul, İzmir, Ankara, Kayseri, Yozgat ve Erzurum'dan bildirilmiştir. 1994–2006 yılları arasında İstanbul'da kayıtlı olan sifilizli vaka sayısı 2.5 kat, İzmir'de ise 1.5 kat artmıştır. Aynı yıllar arasında sifilizli vaka sayısı Ankara'da azalmıştır (7, 8, 47).

Tablo 1: İllere göre sifiliz vakalarının dağılımı ve morbidite oranları, Türkiye, 2002

İller	Nüfus	Toplam Sifiliz Olgu Sayısı			
		Toplam	Kadın	Erkek	Morbidite (her 1000 kişide)
İstanbul	10 018 735	2192	786	1406	0.2
İzmir	3 370 866	176	67	109	0.05
Ankara	4 007 860	150	65	85	0.03
Kayseri	1 060 432	76	35	45	0.07
Erzurum	937 389	53	12	41	0.05
Manisa	1 260 169	47	17	30	0.03
Denizli	850 029	45	22	23	0.05
Balıkesir	1 076 347	39	13	26	0.03
Antalya	1 719 751	38	15	23	0.02
Kırşehir	328 461	38	12	26	0.1
Muğla	715 328	37	13	24	0.05
Artvin	191 934	36	13	23	0.2
Aydın	950 757	35	13	22	0.03
Rize	365 938	35	9	26	0.09
Çanakkale	464 975	34	11	23	0.07
Muş	453 654	34	14	20	0.07
Ordu	887 765	32	3	29	0.03
Yozgat	682 919	30	14	16	0.04
Giresun	523 819	29	7	22	0.05
Sakarya	756 168	29	6	23	0.03
Samsun	1 209 137	26	7	19	0.02
Tekirdağ	623 591	25	7	18	0.04
Trabzon	975 137	23	16	7	0.02
Erzincan	316 841	20	9	11	0.06
İçel	1 651 400	20	8	12	0.01

Sifiliz görülme sıklığının artması özellikle kan merkezleri açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ülkemiz kan merkezlerinde, 1992 yılından itibaren zorunlu olarak, bağışlanan her kan için sifiliz tarama testi çalışmaktadır (10).

İstanbul Üniversitesi kan merkezinde 1998–2006 yılları arasında yapılan sifiliz RPR pozitifliği değerlendirilmiş ve pozitifliğin 1998 yılından itibaren giderek artış gösterdiği ve en yüksek seropozitifliğin 2001 yılında görüldüğü saptanmıştır. Ortalama seropozitiflik oranı ise % 0.17 olarak bulunmuştur (48). Yine İstanbul bölgesinde kan donörlerinde yapılan başka bir çalışmada 2000–2006 yılları arasında sifiliz RPR pozitifliği % 0.2 olarak saptanmıştır. Yıllar içinde dağılım oranında bir fark bulunmamaktadır (49).

Diyarbakır bölgesinde kan merkezinde yapılan bir çalışmada 2004–2006 yılları arasında, sifiliz VDRL pozitifliği % 0.005 olarak bulunmuştur (50). Van bölgesi kan merkezlerinde 1995–2003 yıllarında kan merkezine başvuran tüm donörlerin sifiliz VDRL pozitifliğin % 0.057 olarak saptanmıştır (51).

Isparta bölgesi kan merkezinde 2005–2006 yıllarında sifiliz TPHA pozitifliği % 0.03 olarak bildirilmiştir (52). Hatay bölgesinde 2003–2004 yıllarında sifiliz VDRL pozitifliği % 0.03 olarak bulunmuştur (53).

DEUH Kan merkezinde 2004–2006 yılları arasında sifiliz seropozitifliği RPR testi ile 0.056, 2007–2009 yılları arasında ise EIA testi ile % 0.51 olarak bulunmuştur. 2004 yılından sonra sifiliz seropozitifliğinde 10 katlık bir artış olduğu görülmektedir. Bu yıllar içinde başvuran donör sayısında ise yalnızca % 1.4'lük bir artış görülmüştür. (Tablo 2). Ayrıca, aynı tabloda İzmir Kızılay Kan Merkezi'nde ve Ege bölgesi genelinde kan donörlerinde saptanan seropozitiflik oranları gösterilmiştir (18). Bu sonuçlar incelendiğinde DEUH Kan Merkezi'nde 2007–2009 döneminde pozitiflik oranının diğer bölge kan merkezlerine göre 5 kat fazla olduğu görülmektedir

Tablo 2: 2004–2009 yılları arasında Ege bölgesi sifiliz seropozitiflik oranları

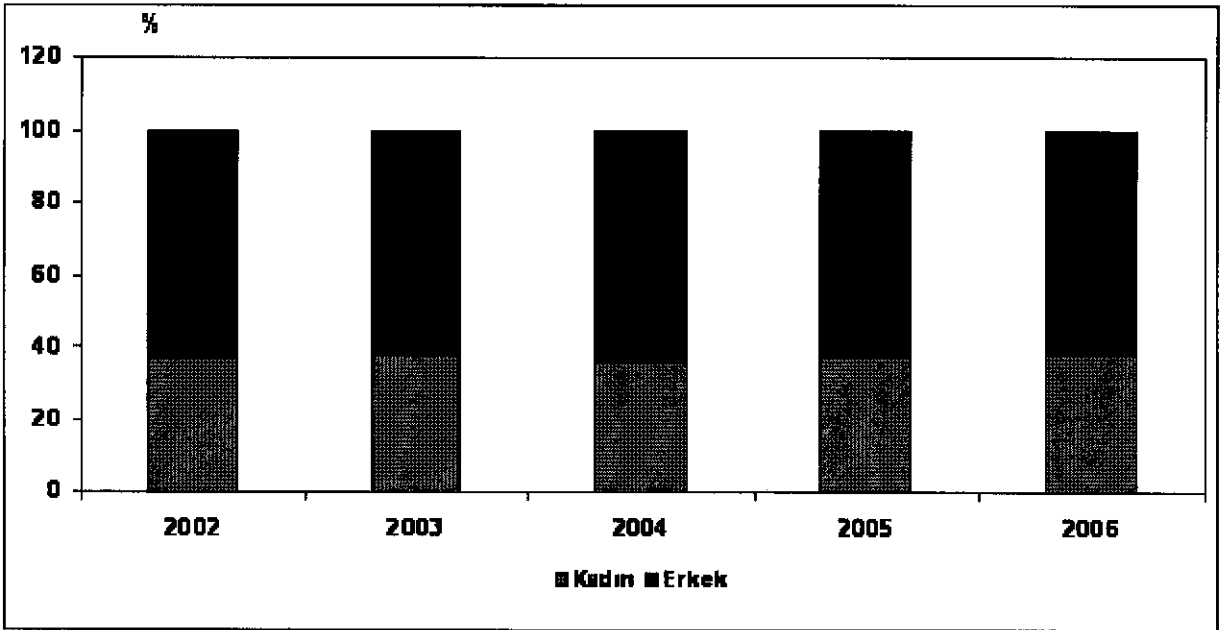
Yıllar	DEUH Kan Merkezi				Kızılay-İzmir Ege Bölgesi*	
	Donör sayıları	Pozitif vaka sayısı	Sifiliz pozitiflik %	Yöntem	(TPHA) %	
2004–2006	35597	20	0.056	RPR	0.09	0.10
2007–2009	50947	264	0.51	EIA	0.11	0.13

*Ege Bölgesi: İzmir, Denizli, Ödemiş, Aydın, Uşak

Sifiliz enfeksiyonu prevalansı risk gruplarında da oldukça yüksektir. Bu oran yaygın ve tatmin edici önlemler alınmayan eski Sovyetler Birliği'nden İstanbul'a gelen kadınlarda % 0.75, Afrikalılarda ise % 2.2 olarak belirlenmiştir. Bu kadınların çoğu illegal şekilde seks ticareti yapmakta ve partnerlerine enfeksiyon bulaştırmaktadırlar (41). Sifiliz prevalansı illegal çalışan Türk seks işçilerinde % 8, illegal çalışan Türk transseksüellerde % 31.6 iken, Türkiye'de illegal çalışan Romen seks işçilerinde % 16.7 olarak saptanmıştır (46).

Ülkemizde sifiliz sıklığı cinsiyete göre değişkenlik göstermektedir. (54–56). Sağlık Bakanlığı verilerine göre, sifiliz vakalarının % 62.2'sini erkekler % 37.8'ini kadınlar oluşturmaktadır (Tablo 3) (7).

Tablo 3: Sifiliz vakalarının cinsiyete göre dağılımı, Türkiye, 2002–2006



Yapılan çalışmalara göre sifiliz seropozitifliği bölgelere göre değişmektedir. Bu oranlar ülkemizin batısında doğu bölgelerine göre daha yüksektir (48, 49, 51, 52, 53).

Ülkemizde sifilizli vaka sayısı artış göstermektedir. Bu rakamlar Türkiye'de hastalığın özellikle, kan merkezleri, cinsel açıdan aktif yaş grupları, seks işçileri ve müşterileri için önemli bir sağlık sorunu olduğunu düşündürmektedir (41).

4.4 Hastalık Etkeni

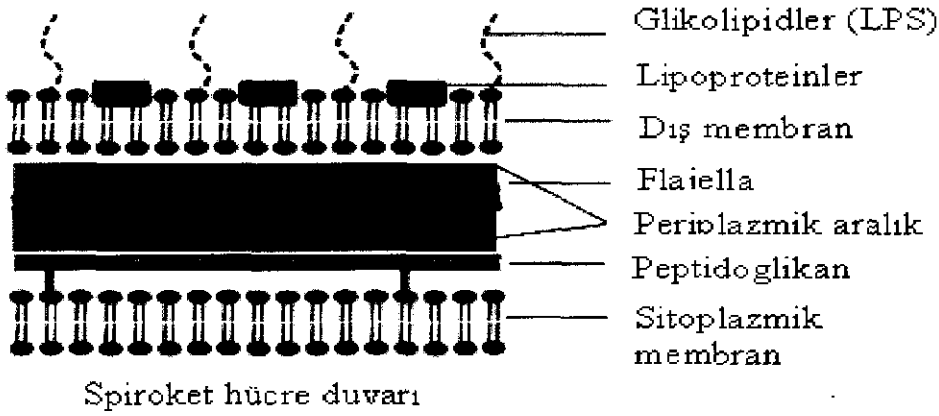
Treponemalar, Spirochaetales takımı içinde yer alan Spirochaetaceae familyasındaki 4 cinsten biridir. Bu familya içinde Spirochaeta, Cristispira, Borrelia cinsleri de yer almaktadır. Treponemalar enfeksiyon yapabilme özelliklerine göre alt gruplara ayrılmaktadır. Bu alt gruplar etkeni oldukları hastalıklarla ilişkili klinik göstergelerinin farklı olması ile *Treponema pallidum*'dan ayrılırlar. *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*; cinsel ilişki ile bulaşan sifiliz etkenidir. *Treponema pallidum* subsp. *endemicum*; endemik sifiliz etkeni, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*; yaws etkeni ve *Treponema pallidum* subsp. *carateum*; pinta etkenidir. Endemik sifiliz ve yaws etkeni olan treponemalar benzer morfolojiye, ortak antijenlere ve % 95'den fazla DNA uygunluğuna sahiptir (57).

T. pallidum ince, 6–15µm uzunluğunda, 0.2µm eninde, ortalama 6–14 kıvrımı bulunan sarmal şeklinde bir mikroorganizmadır. Çok hareketlidir, çevresi etrafında burgu gibi döner, çok fazla olmasa da ileri geri yer değiştirebilir ya da bükülebilir. Spiralleri düzenli, sabit ve burgu şeklindedir. Etken ikiye bölünerek çoğalır. Adi anilin boyaları ile boyamak zordur. Giemsa boyası ile soluk pembe boyanır, çini mürekkebi ve gümüşleme yöntemleri ile de gösterilebilir. Mikroorganizma küçük boyutlarından dolayı ışık mikroskobundan çok karanlık alan mikroskobu veya faz-kontrast mikroskobu ile iyi görüntülenebilir (57–60). Şekil 2'de *T. pallidum* elektron mikroskobisi görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 2: *T. pallidum* elektron mikroskobisi görüntüsü (<http://phil.cdc.gov> adresinden alınmıştır)

Spiral şekilli bakterinin etrafı sitoplazmik membran, bunu takip eden ince bir peptidoglikan tabaka ve gevşek bir şekilde birleşmiş olan dış membranla çevrilidir. *T. pallidum*'un genomu 1000 kilobaz çift uzunluğunda ve çembersel yapıdadır (61). *T. pallidum*'un karakteristik spiral hareketini sağlayan, 2 ya da 3 tane bulunan flajella (endoflajella, periplazmik flajella), periplazmik bölgede yer almaktadır ve bir kılıfa sahiptir (57–59). Gram negatif bakterilerden farklı olarak dış membran proteinden fakirdir Spiroket hücre duvar yapısı şekil 3'de gösterilmiştir. *Escherichia coli* ile karşılaştırıldığında protein oranının % 1'den az olduğu bulunmuştur. (62, 63).



Şekil 3: Spiroket hücre duvar yapısı

T. pallidum'un invitro ortamda kültürü yapılamamakla birlikte, tavşan epitelial SfEpl hücrelerinde kısıtlı olarak üretilebildiği bildirilmiştir (64). Bakteri 33–35 °C'de, mikroaerofilik ortamda üretilebilir; jenerasyon süresi 30–33 saattir ve sınırlı sayıda pasajlanabilir. Kültür çalışmaları mikroorganizmanın ısı, oksijen seviyesi ve pH gibi çevre şartlarına çok hassas olduğunu göstermiştir (65). Başta glukoz, galaktoz ve maltoz olmak üzere kısıtlı enerji kaynakları bulunmaktadır. Bakteri sınırlı biyosentez kapasitesine sahiptir; kendi yağ asitlerini, enzim kofaktörlerini ve nükleotidlerini sentezleyemez, konağın besin kaynaklarına ihtiyaç duyar. *T. pallidum*'un süperoksit dizmutaz, katalaz ve peroksidaz gibi oksijen toksisitesinden koruyan enzimleri bulunmamaktadır. NADH oksidaz, mikroorganizmanın O₂ kullanımını için önemli tek enzimdir (66, 67). *T. pallidum*'da Embden-Meyerhoff-Parnas yolu, heksoz-monofosfat yolu enzimleri ve flavoproteinler, sitokromlar gibi elektron transport zinciri ile ilişkili pek çok enzim elde edilmiştir. *In vivo* ortamda üretilme zorluğuna rağmen mikroorganizma DNA, RNA ve protein sentezi ile ilgili tüm gerekli enzim aktivitelere sahiptir (68, 69).

T. pallidum'un tam genom dizisi 1998'de yayınlanmıştır. Çembersel genomu 1041 açık okuma bölgesi (ORF) ve 1.138.006 baz çifti içermektedir (70). Bilinen bakteriyel genomik yapılara göre göreceli olarak küçük bir genoma sahiptir. Genom dizisi çalışmaları mikroorganizmanın virulans faktörlerinden kabul edilen 12 üyeli "*T. pallidum* repeat" (Tpr) gen ailesinin tanınmasına yardımcı olmaktadır. Bu 12 üyeli gen ailesi; alt grup I (Tpr C, D, F ve I), alt grup II (Tpr E, G ve J) ve alt grup III (Tpr A, B, H, K ve L) olarak üçe ayrılmaktadır. Tpr gen ailesinin (dış membranda yer alan bazı Tpr gen ürünleri ile birlikte bazı Tpr geni dizi varyasyonlarının), immün yanıtlardan kaçış ve mikroorganizmanın rezistansında etkisi olduğu belirtilmiştir (66, 71). Tpr K ile immünizasyon kısmen mikroorganizma hasarına karşı koruyucu olmaktadır. Tpr K koruyucu immunitede ve antikor bağlanmasında hedef bölgedir (72).

T. pallidum'un polipeptidleri adlandırılırken TpN ön eki kullanılır. Polipeptidleri birbirinden ayırt etmek için SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez) temelli moleküler kümelenme yöntemi kullanılmıştır (73). Birçok bakteride flajella tek bir polipeptid alt biriminden oluşmaktadır. Ancak *T. pallidum*'un endoflajellar filamentleri dış kılıfın içinde ve çekirdeğin merkezinde sıralı olmak üzere birçok polipeptidten oluşmaktadır. *T. pallidum*'da TpN37a, TpN34.5, TpN33, TpN30, TpN29 ve TpN27.5'a benzer, altıdan fazla flajella ilişkili polipeptid tanımlanmıştır. Bu polipeptidlerin çoğu genom düzeyinde iyi tanımlanmıştır ve N-terminal ucundaki aminoasit dizisi, gen dizisi ve antijenik ilişkisine göre Grup A ve Grup B olarak alt gruplara ayrılmıştır (74). TpN37a; Grup A flajellalar içinde yer almaktadır ve FlaA olarak da tanımlanabilir. TpN30, TpN33 ve TpN34.5 da Grup B de yer almaktadır ve FlaB1, FlaB2 ve FlaB3 olarak da isimlendirilebilir. Tp27.5 ve TpN29; bazı *T. pallidum* endoflajellasında yer alan iki ek polipeptidtir. Yapıları, fonksiyonları ve elde edilebilirlikleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır (75). Tablo 4'de bakterinin bilinen polipeptidleri ve genel özellikleri yer almaktadır (61).

Tablo 4: *T. pallidum*'un bilinen polipeptidleri ve genel özellikleri (Kaynak 61'den alınmıştır)

İsim	Ortalama Molekül Ağırlığı (Dalton)	İşlev
TpN94	94.000	Penisilin bağlayan protein. SDS patern'de görüntülenmemiştir.
TpN83	82.000	Fibronektin bağlayan protein (sitoplazmik filament protein)
TpN71	70.000	<i>E. coli</i> DnaK proteinine karşı anti-serumla reaksiyon verir
TpN60	59.000	GroEL ısı şok proteini benzeri
TpN57	57.000	Belirgin bir şekilde <i>T. pallidum</i> subsp. <i>pertenue</i> ile benzerdir.
TpN47	45.000	Major membran proteini, çok immünojenik, lipoprotein, endotelial hücreleri uyarır
TpN44.5 (a) TnpA	42.000	Sinyal peptidi ile birlikte membran lipoproteinidir. <i>T. phagedenis</i> ile benzerdir.
TpN44.5 (b)	42.000	TpN44.5 (a)'dan daha önemlidir.
TpN41	39.000	Anti-TpN37 tavşan antiserumu ile reaksiyon verir.
TpN39(a)	38.000 40.000	Sinyal peptidle birlikte membran lipoproteini.
TpN39(b)	38.000	Sinyal peptidle birlikte ana membran proteini.
TpN38	37.000	SDS PAGE de henüz tanımlanamamıştır. İnsan sifiliz serumu ile reaksiyon verir.
TpN37	37.000	Sinyal peptidle birlikte kılıfla ilişkili flajel. <i>S. aurantia</i> , <i>T. phagedenis</i> , <i>S. hyodysenteriae</i> ile benzer dizi özellikte. Kılıf ilişkili flajella proteini.
TpN36	36.000	-
TpN35	35.500	Sinyal peptidaz II'yi tanıyan dizile birlikte membran lipoproteini.
TpN34.5	35.000	Flajellar çekirdekte lokalize, Grup B flajella; TpN33 ve TpN30'la ilişkili.
TpN33	33.000	Flajellar çekirdekte lokalize, Grup B flajella; TpN33 ve TpN34.5'la ilişkili.
TpN29-35	30-38.000	SDS-PAGE'de yaygın, asidik leke. Sinyal dizileri ile birlikte lipoprotein.
TpN31.5 (a) TpN31.5 (b)	33.000	İzoelektrik noktada farklı iki nokta şeklinde görülür.
TpN30	32.000	Grup B flajella; TpN33 ve TpN34.5'la ilişkili.
TpN29	30.000	Flajella ilişkili protein.
TpN27.5	29.000	Flajella ilişkili protein.
TpN24-28	24-30.000	Sinyal dizileri ile birlikte lipoprotein.
TpN24 (a, b)	24.000	-
TpN20	20.000	-
TpN19		İmmünojenik.
TpN17	17.000	Sinyal dizileri ile birlikte major membran lipoproteini.
TpN15	15.000	Sinyal peptidleri ile birlikte lipoprotein. Enfeksiyon sırasında antikor yanıtını oluşturur.
TpN12(a)	<14.400	-

TpN ön eki; Bilimsel isimlendirme biçimi.

Son-ek (a, b); Elektroforez de benzer molekül ağırlığındaki polipeptidleri ayırmak için gereklidir.

T. pallidum flajella genleri; *flaA*, *flaB1*, *flaB2* ve *flaB3* olarak adlandırılmış ve yapısal genlerden klonlanarak, dizi analizleri yapılmıştır. Bu dört gen de aynı flajella üstünde ya da farklı flajellalara dağılmış olarak bulunabilir. Bu gen bölgelerinin protein ürünleri olan *flaB1* (34.5kDa), *flaB2* (33kDa), *flaB3* (31kDa) flajellar çekirdek bölgesini oluşturmaktadır, çekirdek bölgesi de kılıf olarak 37kDa olan *flaA* proteini ile çevrilidir. Endoflajellar proteinler; *flaA* bölgesi sınıf A ve *flaB* bölgesi de sınıf B olarak gruplandırılır (76). Özellikle *flaA* bölgesinin deneysel sifiliz enfeksiyonunda erken immün yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir (74).

Sitoplazmik membran *T. pallidum*'un transport ve oksidatif fosforilasyonun gerçekleştirdiği yerdir. İnamembranöz partiküllerle ilişkili olduğu varsayılan dış membran proteinleri; treponemal dış membran proteinleri (TROMPs) olarak isimlendirilmektedir (77).

T. pallidum'un hidrofobik ve membran ilişkili olarak tanımlanmış proteinlerinin büyük kısmının lipitlenmiş olduğu görülmektedir. Böylelikle mikroorganizmanın 8 major proteini lipoprotein olarak tanımlanmıştır ve önemli immünmodülatör etkiye sahip oldukları düşünülmektedir. (78).

4.5. Virulans Faktörleri

T. pallidum çevre şartlarına karşı çok hassas olmasına rağmen konakta çeşitli hastalıklarla ortaya çıkmakta ve kronik enfeksiyona yol açmaktadır. Bakterinin tam genom dizisi gösterilememiştir ve sifiliz semptomlarına yol açan klasik virulans faktörleri de kesin olarak tanımlanamamıştır. Lipopolisakkaritten yoksundur, pek çok Gram negatif bakteride dış membranda bulunan, ateş ve inflamasyona neden olan endotoksini de bulunmamaktadır. Ancak Toll benzeri reseptör 2 (TLR2)'nin tanınması aracılığı ile inflamatuvar mediatörlerin salınımına yol açan lipoprotein üretmektedir (58, 79). Çok sayıda gram negatif patojenin, konak hücresinin sitoplazmasında yer alan virulansla ilişkili proteinlere girmekte kullandıkları tip III sekresyon sistemi *T. pallidum*'da yoktur (66). Sitolitik enzimler ya da sitotoksinler sifilizin patogenezinde rol almaz. Bunlara karşın bakterinin genomunda çok sayıda hemolizin olduğu varsayılan protein bulunmuştur. Bu proteinler bilinen sitolizinlerle zayıf benzerlik gösterirler ve rekombinant formları hemolitik aktivite göstermemektedir. Tam olarak fonksiyonları bilinmemektedir. Bununla birlikte mikroorganizmanın patogenezi ile ilgili araştırma amaçlı birçok deneysel çalışma yapılmaktadır (58).

4.6. Patogenez

Sifiliz enfeksiyonu ile ilgili patogenez çalışmaları, bakterinin yapay ortamlarda üretilmemesi nedeniyle sınırlıdır. *T. pallidum* enfeksiyonu ile ilgili konak bağışık yanıt bilgilerinin büyük kısmı; enfeksiyon geçiren bireylerden ve tavşan deney modellerinden elde edilmiştir (80).

Birçok bakteriyel patojen gibi mikroorganizmanın konak hücrelerine invazyonunda ilk adım, konağın laminin ve fibronektin'ine bağlanmasıdır. Mikroorganizma deneysel çalışmalarda genellikle kapiller, böbrek ve abdominal duvara tutunmaktadır. Konağın serum, hücre membranı ve ekstrasellüler matriks (ESM) komponentleri *T. pallidum*'a bağlanmada rol oynamaktadır. Laminin, kollajen I ve hyalüranik asit gibi diğer ESM komponentlerinin de bağlanmada rol aldığı gösterilmiştir (58, 81). Rekombinant proteinler olan TP0155, TP0483 ve TP0136'nın fibronektin'e, TP0751'in de laminin'e bağlandığı gözlenmiştir, TP0136'nın mikroorganizmanın dış membranında lokalize olduğu görülmüştür. Bağlandığı varsayılan treponemal ligandlar, peptid haritalaması ile bulunur. *T. pallidum*, fosfatidil kolin, fosfatidil gliserol, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin, fosfatidil inozitol, sfingomyelin ve kardiyolipin gibi çok çeşitli fosfolipidlere sahiptir, bu fosfolipidlerin büyük çoğunluğunu tekrarlayan fosfatidil kolin'lerden oluşan fosforil kolin oluşturmaktadır. Son çalışmalar hayvan deney modellerinde pasif immünizasyonla elde edilen monoklonal antikolar için fosforil kolin'in özgül hedef bölgesi olduğunu ve bu antikoların fosforil kolin epitop'una bağlandığını göstermektedir (82-84).

T. pallidum bağlandıktan sonra hızla derin dokulara ve kan dolaşımına geçer. Mikroorganizmanın dermal hücrelerde matrix metalloproteaz-1 (MMP-1) üretimini arttırdığı gösterilmiştir. MMP-1 ise *T. pallidum*'un dokulara tutunmasına yardım eden kollajen üretimini engellemektedir. ICAM-1, VCAM ve E-Selektin gibi adhezyon moleküllerinin salgılanmasına da neden olmaktadır (58, 85). Bu moleküllerin üretiminin artması, *T. pallidum* antijenlerini uyarıcı etkiye sahiptir (85).

T. pallidum'un konakta yayılmasının kolaylaşması; Gram negatif bakterilerle de benzer olan, "methyl-accepting chemotaxis proteins" (MCP_S) ve sitoplazmik kemotaksis proteinleri (Che) ile sağlanır. *T. pallidum* genomunda MCP_S için MCP-1,2,3 ve 4 olmak üzere dört gen, Che için de CheA, B, R, W ve Y olmak üzere altı gen bulunmuştur (66).

4.7. İmmün Yanıt

Enfeksiyon; güçlü bir sıvısal ve hücrel immün yanıtı açar. *T. pallidum*'a karşı oluşan hücrel ve humoral immün yanıtın enfeksiyonun tekrarlamasında önleyici olduğu düşünülmektedir (86). *T. pallidum*'da enfeksiyon bölgesinde erken dönemde tek hücrel yanıt nötrofilik infiltrasyon değildir. Mononükleer lökositler (T lenfosit, makrofaj ve plazma hücreleri) enfeksiyon bölgesinde 1 haftadan da erken dönemde bulunur (87). Lezyonların gelişmesinin ardından hücrel infiltratlar, *T. pallidum*'a spesifik T hücreleriyle birlikte iki haftada en yüksek seviyeye ulaşır. Epidermis nekrotik olmaya başladığında da polimorfonükleer hücreler (PMNH) göç eder (88). PMNH'ler fagosite ettikleri bakterileri enzimler, süperoksit radikalleri ve anti-mikrobiyal peptidler aracılığı ile öldürmektedir. Deneysel tavşan modellerinde *T. pallidum*'un konağa girmesinden 24 saat sonra, enfeksiyon bölgesinde PMNH ve makrofajlarda bulunan NP-1, NP-2 ve NP-5 olarak adlandırılan nötrofil kökenli defensinler gösterilmiştir (89). Bir başka anti-mikrobiyal peptid grubu olan katherisidin'ler de PMN granüllerinde yer almaktadır ve altı farklı katherisidin in-vitro olarak bakterinin öldürülmesinde rol almaktadır (90).

Bakteriyel enfeksiyon süresince, endotelial hücreler, dentritik hücreler, Toll benzeri reseptörler (TLR) patojen ilişkili moleküllerin makrofajlar tarafından tanınmasını üstlenmektedirler. Hücre yüzeyinde bulunan Toll benzeri reseptör (TLR) aracılığı ile tanıma gerçekleşir. *T. pallidum*'da dış membran altında yer alan lipoproteinler güçlü immünojenik etkiye sahiptir ve CD14'ün uyarımıyla birlikte, TLR4 aracılığıyla oluşan doğal inflamatuvar yanıtı aktive etme özelliğindedir. TLR2 de bakteriyel lipoproteinleri tanıma ve enfeksiyona karşı erken inflamatuvar yanıtta rol oynar (79, 91, 92). T hücreleri ve makrofajlar; primer ve sekonder enfeksiyon evresinde enfeksiyondan korunma ve immüнопатolojik yönü açısından çok önemlidir, ancak geç dönemde konak doku hasarının da en büyük sebebini oluşturmaktadır (58).

Lipoproteinleri TLR2 aracılığı ile dentritik hücreleri uyarır. Primer ve sekonder sifilitik lezyonlarda "Langerhans hücreleri" olarak adlandırılan hücreler bulunmaktadır. Enfeksiyon bölgesindeki dentritik hücreler daha sonra lenf nodlarına göç ederler ve T hücreleri uyarılır. Dentritik hücreler bakteriyle karşılaşma sonrasında, İnterlökin -1 β (IL-1 β), IL-6, IL-12 ve Tümör nekroz faktör (TNF) gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açar (58, 93).

Rekombinant *T. pallidum* lipopeptidleri ile makrofajların uyarılması da pro-inflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açar. TpN 47 lipopeptiti ile TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 IL salınımını aktive eder. TNF- α üretimi aynı zamanda TpN15, TpN17 ve TpN38 aracılığıyla da olur ve makrofajların uyarımıyla birlikte TpN17 lipopeptidi IL-1 β üretimini uyarır (94).

Enfeksiyondan 3 gün sonra enfeksiyon bölgesinde T hücreler saptanabilir ve 10–13 gün sonra en yüksek seviyeye çıkar. Makrofajlar da 6–10 gün sonra enfeksiyon bölgesinde bulunur ve yaklaşık 13 gün sonra en yüksek seviyeye ulaşır. 13–17. günler arasında saptanabilen *T. pallidum* sayısı hızla düşer. Çalışmalar bakteriye karşı immün yanıtın gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna benzediğini göstermektedir (58). Deneysel çalışmalarda enfeksiyonun başlangıcından 10- 12 gün sonra mikroorganizma hedef organı olan dalağa invaze olur, önce dalak ardından karaciğer ya da beyin dokularında büyük miktarda spiroket gösterilebilir (95).

İnsanlardaki primer ve sekonder lezyonlarda olduğu gibi tavşan deri lezyonlarında da T hücreleri ve makrofajlar tespit edilmiştir. CD4⁺ T yardımcı hücreler ve CD8⁺ T Sitolitik hücreler primer ve sekonder lezyonlarda bulunmaktadır. CD4⁺ ve CD8⁺ hücreler INF- γ ve granzim B ve perforin gibi litik mediatörlerin salınımına yol açar. CD8⁺ hücrelerin bakterinin immün temizlenmesindeki rolü kesin olarak belirlenememiştir ancak litik mediatörlerin doku yıkımında rol aldığı düşünülmektedir (96).

Hızlı ve etkin bir şekilde immün yanıt oluşmasına karşın, enfeksiyon tedavi edilmezse, *T. pallidum* insan vücudunda uzun dönem kalabilir ve organ hasarlarına neden olabilir. Enfeksiyonun tüm dönemleri, sifilitik lezyonlar; vaskülopatik değişiklikler ve lenfositler, makrofajlar ve plazma hücrelerinden oluşan lokal hücresel infiltratlarla karakterizedir. Patogenez ve enfeksiyon boyunca oluşan hücresel immün yanıt; granülomatöz hastalıklarda görülen granülom varlığıyla gösterilebilir. Primer şankr'da CD4⁺ T hücre ve makrofajlar, sekonder sifilitik lezyonlarda da CD8⁺ T hücreleri baskındır.

Serolojik çalışmalar mikroorganizmaya karşı oluşan antikorların hastalığın primer döneminde ortaya çıktığını, enfeksiyonun başından sonuna kadar kolaylıkla saptandığını ve bu antikorların tedavi takibinde de kullanılabilirliğini göstermektedir. Treponemalar; tavşan modellerinde, enfeksiyonun giriş bölgesinden uzak bölgelere kadar yayılır ve 24 saatten de erken olarak plazma da saptanabilir. Sifilitik hastalarda IgM ve IgG antikor yanıtı 6 günden daha erken saptanabilir ve bu yanıt enfeksiyonun erken latent ve sekonder döneminde pik

yapar. IgM seviyeleri enfeksiyonun daha sonraki evrelerinde ya da penisilin tedavisinden sonra düşer (97, 98). Deneysel çalışmalarda dış membran proteinlerinin konakta güçlü antijenik rol oynadığı, TprK, TpN37, TpN17 ve TpN47 protein, lipoproteinlere karşı antikor yanıtının arttığı gözlenmiştir (99).

Enfeksiyon sırasında tespit edilen en erken antikor yanıtı 47- kDa'lık lipoprotein ve flajellar proteinlere karşı gelişir ve klinik semptomlar ortaya çıkmadan bulunabilir. Konakta mikroorganizmaya karşı gelişen anti-kardiyolipin antikorları üretilir. Anti-lipoidal antikorlar bilinmeyen mekanizmalarla enfeksiyonun evrelerine göre değişen miktarlarda üretilir ki, bunlarda "Rapid Plasma Reagin" (RPR) gibi yaygın olarak kullanılan nontreponemal serolojik testlerin temelini oluşturur (58).

4.8. Klinik

Treponemalar enfeksiyon yapabilme özelliklerine göre alt gruplara ayrılmaktadır. Bu alt gruplar etkeni oldukları hastalıklarla ilişkili klinik göstergelerinin farklı olması ile *Treponema pallidum*'dan ayrılırlar. *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*; cinsel ilişki ile bulaşan sifiliz etkenidir. *Treponema pallidum* subsp. *endemicum*; endemik sifiliz etkeni, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*; yaws etkeni ve *T. carateum*; pinta etkenidir. Tablo 5'de treponema alt gruplarının genel özellikleri gösterilmiştir (57, 100).

Tablo 5: Patojenik treponema gruplarının genel özellikleri

Organizma	Hastalık	Dağılım	Hastalığın başlama yaşı	Bulaşma yolu	Konjenital enfeksiyon
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>pertenue</i>	Yaws	Tropikal bölgeler Afrika, Güney Amerika, Caribbean, Endonezya	Çocukluk	Lezyonla direkt temas	Yok
<i>T. pallidum</i> subsp. <i>endemicum</i>	Endemik sifiliz	Kurak bölgeler, Afrika, Orta doğu	Çocukluk, adölesan, yetişkinler	Lezyonla direkt temas, Muköz membranlardan bulaş	Nadir
<i>T. carateum</i>	Pinta	Ilıman iklim bölgeleri, Orta ve Güney Amerika	Çocukluk ve adölesan	Lezyonla direkt temas	Yok

Sifiliz etkeni olan *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*'da en önemli bulaşma yolu cinsel temastır. Mikroorganizma sağlam mukozadan veya deride bulunan küçük bir çatlaktan vücuda girer. Dış ortam koşullarına ve kuruluğa çok dayanıksızdır. Bu nedenle hasta ile aynı eşyaları kullanmakla bulaş nadirdir. Kuru deri üzerinde de canlılığını sürdüremediğinden, sadece erken evredeki, bol miktarda spiroket içeren nemli deri ve mukoza lezyonlarından direkt temas yoluyla bulaşabilir. Enfekte anneden bebeğe intrauterin olarak, kan transfüzyonu ile de bulaşabilir. (58, 101).

Klinik sınıflama:

Sifiliz enfeksiyonu günümüze kadar çeşitli araştırmacılar tarafından klinik belirtilerine göre değişik şekillerde sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma, özellikle klinik belirtilerin ortaya çıkışına göre aşağıdaki şekilde yapılmaktadır.

A-) Edinsel sifiliz

- a) Erken sifiliz (I ve II. dönem sifiliz ya da primer ve sekonder sifiliz)
- b) Latent sifiliz
- c) Geç sifiliz (Tersiyer sifiliz- III. dönem)

B-) Konjenital sifiliz

A-) Edinsel sifiliz:

a) Erken sifiliz

Primer sifiliz (Şankr dönemi):

Primer sifilizin karakteristik lezyonu “şankr”dır. Lezyon genital organların deri veya mukozalarında görülür. *T. pallidum*'un organizmaya girmesinden yaklaşık 21 gün sonra (10- 90 gün) inokulasyon yerinde bir papül oluşur (58). Daha sonra bu papül ülserleşir ve sert şankr denilen, ağrısız, sert, keskin sınırlı primer lezyon oluşur. Lezyon sıklıkla erkeklerde prepisyum ve glans peniste, kadınlarda ise serviks, vajina ve vulvada yerleşir. Şankr 4- 6 haftada iz bırakmaksızın kendiliğinden iyileşir. Şankr'dan 1 hafta sonra bölgesel lenf bezleri büyür. Bunlar sert, ağrısız, birbirine yapışık olmayan ve bilateral yerleşimli lenf bezleridir. Şankr'dan 15 gün sonra serolojik testler pozitif olmaya başlar. Şankr'dan ve ponksiyonla alınan lenf materyalinden yapılan taze yaymalarda (karanlık saha mikroskopisi) bol miktarda spiroket bulunur ve oldukça bulaştırıcıdır. Tedavi edilmediğinde primer lezyon 3-6 haftada küçük, atrofik bir iz bırakarak kendiliğinden iyileşir (102, 103).

Sekonder sifiliz:

Şankr'ın ortaya çıkmasından yaklaşık 4-10 hafta sonra ortaya çıkan ve *T. pallidum*'un hematogen yayılımı sonucu çok çeşitli belirtilerle seyreden dönemdir. Bu dönemin en sık belirtisi yaygın deri döküntüsüdür. Deri lezyonlarından başka başağrısı, ateş, halsizlik, kas-eklem ağrıları gibi semptomlar olabilir. Sert, mobil, ağrısız yaygın lenfadenopati oluşur. Deri lezyonları çok çeşitlidir ve birçok hastalıkla karışabilir. Ayrıca saç, tırnak, oral mukoza lezyonları, gövde de pigmentasyon bozuklukları da oluşur. Bu lezyonlar haftalarca devam eder. Sekonder dönem lezyonlarının ortak özelliği kaşıntısız olmaları, bakır kırmızısı renk ve simetrik dağılımdır. Süperenfeksiyonlar eklenmedikçe sekonder dönem lezyonları da ağrısız ve bulaştırıcıdır. Makül (rozeola sifilitika), papül (sifiliz papüloza), mukoza lezyonları (plak müköz), genitoanal bölgede görülen plaklar (Kondiloma lata) sekonder dönem sifiliz lezyonlarıdır. Tüm sekonder dönem sifiliz lezyonlarında da bol spiroket görülür. Tüm serolojik testler pozitifdir. Tedavi ile ya da

tedavisiz bu dönem sifilizin tüm bulguları birkaç haftada geriler ve bazen hasta ömür boyu da sürebilen latent döneme girer (102, 103).

b) Latent sifiliz:

İnfeksiyonun klinik belirti ve semptomlarının olmadığı, fakat serolojik testlerin pozitif olduğu dönemdir. Latent dönemdeki hastaların % 25'inde ilk 1- 2 yıl içinde relapslar olur ve sekonder dönem bulguları tekrarlar. Bu nöksler birkaç kez de olabilir. Bu durum geç sifiliz belirtileri ortaya çıkıncaya kadar yaklaşık 3-5 yıl devam eder. İlk 2 yıl içindeki erken latent sifiliz bulaşıcı dönemdir. Daha sonraki geç latent devrede bulaşıcı olma özelliği giderek azalır. Ancak bu dönemde intrauterin enfeksiyon oluşabileceği ve enfeksiyonun kan transfüzyonuyla da bulaşabileceği unutulmamalıdır.

c) Geç sifiliz:

Tedavi edilmemiş sifilizli hastaların yaklaşık olarak % 15'inde ikinci devir sifiliz belirtileri iyileştikten 3- 5 yıl sonra gelişir. Tüm doku ve organlarda parankimatöz yıkımın olduğu devredir. Deri lezyonlarından, nodüloülseratif lezyonlar lupus vulgarise benzer atrofik pigmente skatris bırakır. Plak ve nodüller, ülserleşmeyen tüberküller ense ve saçlı deride gruplaşmış halde bulunurlar. Eritem tersiyer, kaşıntısız, kepeklenmeyen, gövdede yerleşen lezyonlardır.

Gom: 3. devir sifilizin ilk 10 yılı içinde, subkutan yerleşen, yumuşak, ülsere olan derin granülomatöz lezyonlardır. Genellikle alt ekstremitte, kas, periost, kemik, karaciğer, mide, kardiovasküler sistem, santral sinir sistemi tutulabilir. Kemik tutulumu sonucu sert ve yumuşak damakta perforasyon, septum nazı'de perforasyon sonucu semer burun oluşur. Gomlar skrofuloderma, noduler vaskülit, aktinomikoz, lenfoma ve pannikülitlerle karışabilir.

Nörosifiliz'de: meninksler, meninks damarları ve parankimatöz tutulum, progresif paralizi, tabes dorsalis ve ataksi oluşur.

Lezyonlarda *T. pallidum* yoktur. Bulaştırıcı değildir. Non-spesifik testler % 50, spesifik testler ise her zaman pozitifdir (101-104).

B-) Konjenital sifiliz:

Konjenital sifiliz (KS), intrauterin hayatta *T. pallidum*'un plasenta yoluyla fetüse geçmesiyle ortaya çıkan bir tablodur. Gebelikte geçen süre uzadıkça fetusun enfekte olma olasılığı da o oranda azalır. Gebelikte erken dönem sifilizin vertikal geçişi ile % 50-80 oranında maruz kalan yenidoğanlarda konjenital enfeksiyon görülür. Konjenital sifiliz etkilenmiş fetuslarda % 40 oranında fetal ya da perinatal ölüm ile sonlanmaktadır.

Erken konjenital sifiliz (EKS)'li olgular sifiliz belirtileriyle doğabilecekleri gibi, doğumdan sonraki 2 yıl içinde de sifiliz belirtileri ortaya çıkabilir. EKS'in ana belirtileri, pemfigus sifilitikus, rinitis sifilitika, osteokondritis sifilitika, 2. dönem deri ve mukoza belirtileri, sarılıkla birlikte veya sarıksız hepatosplenomegalidir. Bunların dışında büyük plasenta, plasentada sertleşme ve hemorajiler, generalize lenfadenopati, pnömoni, hidrosefali, nefrotik sendrom, nörolojik belirtiler (psödoparalizi, leptomenenjit), çocukta hematemez, melena, gelişme geriliği, epilepsi, testislerin büyük ve sert olması, hidrosel, üç aylıktan önce tonsillerde hipertrofi, strabismus, hidrosefali, mikrosefali, iştahsızlık, inatçı kusmalar gibi çok sayıda semptom ve bulgular görülebilir. Bu dönem görülen deri lezyonlarında *T. pallidum* pozitifdir.

Geç konjenital sifiliz (GKS)'in semptom ve bulguları 2 yaşından sonra belirgin olur (5–25 yaş). Bu olgularda sifilizin 2. ve 3. dönem deri belirtileri birlikte bulunur. GKS'de önemli belirtiler; frontal kemikte çıkıntı, semer burun, kısa maksilla, yüksek arkuslu damak, dut şeklinde azı dişleri, kılıç kını tibia, eklemlerde ağrı ve hidrartrozlar, Higoumenakis belirtisi, göz, burun ve ağız etrafında ragatlar vardır. Ayrıca üst orta kesici dişlerde yarım ay şeklinde çentiklenme, labirent tipinde sağırılık ve interstisyel keratitten oluşan Hutchinson triadı GKS için patognomoniktir. Mental retardasyon, tabes dorsalis, epilepsi, paraliziler, iridosiklit ve optik sinir atrofisi görülür. Hematolojik bulgulardan, anemi, monositoz ve trombositemi sık görülür (105–107).

4.9. Tanı

T. pallidum'un kültürü yapılamaz ve basit boyalarla boyanamaz. Bu nedenle sifiliz tanısında, etkenin doğrudan gösterilmesine dayanan direkt ve organizmada oluşturduğu antikorları saptamak amacıyla indirekt tanı yöntemleri kullanılarak birçok tanı testi geliştirilmiştir.

Direkt mikrobiyolojik yöntemler:

Lezyonlardan ya da vücut sıvılarından alınan örneklerin mikroskopik incelenmesi, doku örneklerinin histolojik incelemesi ya da polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi nükleik asit çoğaltma yöntemleri ile *T. pallidum*'un tanısı direkt mikrobiyolojik yöntemlerdir. Direkt mikroskopik inceleme için karanlık alan mikroskopisi ve direkt immunfloresans boyama yöntemleri kullanılmaktadır (108).

Direkt floresans antikor (DFA) testi:

Antijen saptamaya yönelik bir tanı yöntemidir. Mikroorganizmanın canlı olmasına gerek duymaz. Testte patojenik treponemalara karşı floresein izotisiyanat işaretli antikorlar kullanılır. Lezyon varlığında, en özgül tanı testidir. Serolojik testler negatif iken pozitif sonuç verebilirler. Ancak bu test *T. pallidum* ile yaws, endemik sifiliz ve pinta'ya neden olan diğer patojenik treponemaları ayırt edemez.

Direkt floresan antikor testi *T. pallidum*'u tüm doku örneklerinde tespit edebilir ancak en çok kullanılan dokular; parafinli kesitlerde incelenen beyin, gastrointestinal kesitler, plasenta, umbilikal kord ve deri örnekleridir. Histolojik boyama yöntemleri ile beraber kullanılabilir (108–110).

Karanlık alan mikroskopisi:

Lezyon varlığında sifiliz tanısında kullanılan kolay ve özgül bir testtir. Pozitif test sonucu *T. pallidum* ya da diğer patojenik treponemaların varlığını gösterir. Treponemanın canlılığını sürdürebilmesi için; uygun ekipman ve personel hazır olmalı, örnek alındıktan sonra test hızlı bir şekilde yapılmalı ya da hasta testin yapılacağı yere yönlendirilmelidir. Bu yöntemin primer, sekonder enfeksiyonda, relapslarda ya da erken konjenital sifilizde lezyon varlığında duyarlılığı % 80 bulunmuştur (111). Ancak karanlık alan mikroskopisi; sistemik antimikrobisidler kullanıldığında yalancı negatif sonuç verebilir, oral ve rektal lezyonlarda da nonpatojenik spiroketlerin varlığından dolayı güvenilir sonuç vermez (108, 109, 112).

Gümüş boyama:

Gümüş boyama yöntemi de patoloğlar tarafından yaygın kullanılan, yararlı ancak nonspesifik bir boyama yöntemidir. Gümüş boyama yöntemleri arasında; Warthin-Starry ve Dieterle boyama yöntemleri yer almaktadır. Gümüş nitrat çok sayıda mikroorganizmayı emdiğinden sadece mikroorganizmanın morfolojisini tanımaya yardımcı olur ve doku kalıntıları nedeniyle de tanı zorlaşmaktadır. Bu nedenle, tanı hatalarını engellemek için floresan antikor testleriyle kombine edilmesi yararlı olacaktır (113, 114).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR):

PZR taze materyalde *T. pallidum*'a ait farklı gen bölgelerini tespit etmek amacıyla kullanılan, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek moleküler bir yöntemdir. Günümüzde kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), amniyotik sıvı, genito-üriner ülserler gibi pek çok örnek bu yöntemle işlemlenebilmektedir. Birçok çalışmada 47kDa'luk proteini kodlayan gen bölgesi hedef bölge olarak kullanılmaktadır. *T. pallidum* DNA polimeraz I bölgesinin kullanılmasına göre 47kDa'luk proteini kodlayan gen bölgesinin kullanılmasının duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir. 47kDa'luk proteini kodlayan genin çoğaltılması genellikle *T. pallidum*'un histolojik örneklerden tespitinde kullanılır. PZR ile canlı ve ölü mikroorganizma ayırt edilemez, test sonucu pozitifse aktif enfeksiyon varlığını gösterir. (115–118). PZR yöntemi serolojik testlerle karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllük sırasıyla primer sifilizde % 94.7-% 98.6, sekonder sifilizde ise; % 80-% 98.6 bulunmuştur (119).

İndirekt mikrobiyolojik yöntemler:

Sifiliz süresince hastada iki tip antikor oluşmaktadır. Oluşan antikor yanıtlarına göre de bu testler treponemal ve nontreponemal testler olarak adlandırılır. Bunların bir kısmı hastalık sırasında hasarlanan konak hücrelerinden serbestleşen ve bir miktar da *T. pallidum*'un yüzeyinde bulunan bakteri hücre lipidlerine karşı konakta oluşan reagin denilen antilipoidal, nonspesifik antikorlardır.

Bunlar, memeli hayvan dokularından elde edilen lipid ekstratları ile serolojik reaksiyonlar verirler. Bu tip antikorları saptamaya yönelik testler de nontreponemal testler olarak gruplandırılır. Diğer antikor tipi ise doğrudan doğruya *T. pallidum*'un antijenlerine karşı oluşmuş özgül antikorlardır ve bunların saptanması için doğrudan *T. pallidum* antijenleri kullanılarak serolojik testler geliştirilmiştir. Bu testler treponemal testler olarak adlandırılır (82, 109, 113).

Nontreponemal Testler:

Kompleman birleşmesi testleri:

Wasserman

Kolmer

Flokulasyon testleri:

“Venereal Diseases Research Laboratory” (VDRL)

“Rapid Plasma Reagin” (RPR)

“Unheated serum reagin” (USR)

“Toluidine red unheated serum test” (TRUST)

Treponemal Testler:

T. pallidum immobilizasyon (TPI) testi

Floresans treponemal antikor absorpsiyon (FTA-ABS) testi

Floresans treponemal antikor absorpsiyon (FTA-ABS) çift boyanma testi

FTA-ABS 19S IgM testi

Mikrohemaglutinasyon assay (MHA-TP)

Mikrotreponema pallidum hemaglutinasyon assay (TPHA)

Treponema pallidum partikül aglutinasyon (TPPA)

Western blot (WB) testi

“Enzyme-linked immuno assay” (EIA)

Nontreponemal Testler:

Kompleman Fiksasyon testleri:

Wasserman, Kolmer testleri:

İlk olarak 1901’de Bordet ve Gengou tarafından kompleman fiksasyon testi bulunmuştur. Daha sonra 1906 yılında Wasserman ve ark. tarafından kompleman fiksasyon testi sifilizin serolojik tanısı için geliştirilmiştir. Antijen olarak da önce konjenital sifiliz enfeksiyonundan ölmüş yenidoğan karaciğer ekstraktı, daha sonra da alkolde ekstre edilen sığır kalbi kullanılmıştır. Kompleman fiksasyon deneyi bilinen antijenler kullanılarak, hasta serumunda nontreponemal antikorları tespit edip tanı koymak amacıyla kullanılırlar ancak yapılması zor testlerdir ve günümüzde kullanılmamaktadır (109).

Flokulasyon testleri:

Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) veya Rapid Plasma Reagin (RPR) gibi nontreponemal testler antilipoidal antikorları (reaginleri) saptayan, antijen olarak içinde treponemaya ait antijenler bulunmayıp normal organ ekstrelerinin kullanıldığı testlerdir. Bu testlerde kullanılan en uygun antijen, insan ya da sığır kalbinden elde edilen

kardioliipin (difosfatidil gliserol)'dir. *T. pallidum*, fosfatidil kolin, fosfatidil gliserol, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin, fosfatidil inozitol, sfingomyelin ve kardioliipin gibi çok çeşitli fosfolipidlere sahiptir. Bu testlerde en sık antijen olarak kullanılan kardioliipin de bakteride bulunan fosfoliplerdendir. Nontreponemal antikörlerle saptanan antikor yanıtının mekanizması hala net olmamakla birlikte, enfeksiyon sırasında hasarlanan bakteri hücrelerinden salınan bu fosfolipidlere karşı oluşan antilipoidal antikörleri ya da hasarlı konak hücrelerinden salınan kardioliipin ya da diğer lipidlere karşı oluşan IgM ve IgG antikörlerini saptadığı düşünülmektedir (82, 120).

Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) veya Rapid Plasma Reagin (RPR) gibi nontreponemal testler, hasarlı konak hücrelerinden salınan kardioliipin ve diğer lipitlere karşı oluşan IgM ve IgG antikörlerini saptarlar. Anti-lipoidal antikörler sadece treponema enfeksiyonları sonucunda oluşmaz, aynı zamanda otoimmün hastalıklar, gebelik, doku hasarı, akut ve kronik hastalıklarda da oluşabilir (82, 120). Tanıda tarama amaçlı kalitatif veya tedavinin takibinde kantitatif olarak kullanılırlar. Reaktivitenin derecesinin saptanmasında ve tedavinin yeterliliğinin değerlendirilmesinde titre düşüşü önemlidir. Ancak nontreponemal testler *T. pallidum* ile diğer patojenik treponemaları ayırt edemez ve non-patojenik treponemalarla ya da diğer mikroorganizmalarla çapraz reaksiyonlar görülebilir. 1945'den önce fosfolipid antikörler; kompleman fiksasyon testi ya da presipitasyon testleri kullanılarak organlardan, genellikle de kalpten elde ediliyorken, 1946'da Harris, Rosenberg ve Riedel ABD' de bulunan Venereal Disease Research Laboratory'de kardioliipin-lesitin-kolesterol antijenini mikroflokulasyon testi ile buldular ve VDRL olarak adlandırdılar (12, 113).

Unheated serum reagin (USR) ve Toluidine red unheated serum test (TRUST) testleri ise günümüzde sık kullanılmayan diğer nontreponemal tanı testlerindedir.

VDRL testi:

Bu test, antijen olarak kardioliipin-lesitin ve kolesterol karışımını kullanan bir lam mikroflokulasyon testidir. Antijen; % 0.03 kardioliipin, % 0.21 lesitin, % 0.9 kolesterol içeren tamponlanmış tuz solüsyonundan oluşur. VDRL testi için hasta serumu reaktivitesinin artırılması için hasta serumu 56⁰C'de 30 dakika ısıtılır ve cam bir lam üzerine aktarılır. Antijen karışımıyla karıştırılan serum cam lamda mekanik olarak çalkalanır. Flokulasyon mikroskopik olarak değerlendirilir. Test sifilizi saptamak için kalitatif veya tedavi takibinde kantitatif olarak kullanılabilir. Şankr'ın ortaya çıkmasından 7-10 gün sonra pozitifleşirler. Tedaviye başlamadan önce daima VDRL miktarı saptanmalıdır çünkü titrelerde 4 kat düşüş tedaviye yanıt alındığını gösterir. Artan titreler

(4 kat) enfeksiyon tekrarı ya da tedaviye yanıtızsızlığı gösterir. Bu durumlarda tedavinin tekrarlanmasına ihtiyaç vardır. Bu yöntemle nörosifiliz şüphesinde BOS'da test edilebilir (11–14, 121).

RPR testi:

Bu test VDRL testinin kolaylaştırılmış versiyonudur, hasta serumunun ısıtılmasına gerek yoktur. Lam aglütinasyon testidir. Karbon mikropartikülleri içeren kardiyolipin antijeni (reagin), serumla bir kart üzerinde karıştırılır. Mekanik olarak 100 rpm'de 8 dakika çalkalanır. Karbon mikropartikülleri sonuçların makroskopik olarak okunmasını kolaylaştırır. Antikardiyolipin antikoru içeren serumda siyah küme şeklinde flokulasyon görülür. Kalitatif ve kantitatif değerlendirme yapılabilir. Tedavi takibinde kantitatif takip yapılır ancak aynı testle ve tercihan aynı laboratuvarında izlenmelidir. VDRL testinden daha kolay uygulanabildiği ve hızlı olduğu için daha sık kullanılır (11–14) .

Nontreponemal testler hızlı ve ucuz olmaları nedeniyle çok sayıda örneğin çalışılmasında kolaylıkla uygulanabilirler. Bu testlerde saptanan antikolar, primer şankr'ın gelişiminden 1–4 hafta sonra ortaya çıkar. Başarılı bir tedaviden sonra VDRL ve RPR testlerinde; primer sifilizde 1 yıl, sekonder sifilizde ise 2 yılda negatiflik gözlenir. Ancak % 15–25 hastada primer dönem sifiliz tedavisi sonrası antikolar 2–3 yılda negatifleşir bazı hastalarda da düşük titrelerde uzun süre bazen hayat boyu reaktif olarak kalabilir. Sekonder geç veya latent sifilizde titrelerde düşmeye rağmen 2 yıl sonrasında olguların yaklaşık % 50'sinde halen düşük titreler görülür. Bu, tedavinin başarısızlığını veya enfeksiyon nüksünü göstermez. Bu hastalar tekrar tedavi alsalar da pozitif kalırlar. Erken sifiliz tedavisi ile bir yılın sonunda genellikle bu testlerle titreler çok düşer (14, 121–123).

Nontreponemal testlerde yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuçlara rastlanabilmektedir. Yalancı negatiflik özellikle erken ve geç dönem sifiliz olgularında görülebilmektedir. Sekonder sifilizde yüksek antikor titrelerine sahip hastalarda % 0,4–2 sıklıkta prozon fenomeni yalancı negatifliğe yol açabilir. Prozon olayı gibi antikorun yüksek titrede olduğu durumlar ya da normal antijen-antikor birleşmesinin engellenmesine yol açan durumlar yalancı negatif sonuca yol açar. Yalancı negatif sonuca özellikle hamile hastalarda, prenatal, konjenital enfeksiyonda ve HIV (Human Immunodeficiency Virus) hastalarında rastlanır (13, 123, 124).

Yalancı pozitiflik akut ya da kronik hastalıklardan kaynaklanan nedenlerle % 40 kadar yüksek değerlerde bildirilmektedir. Yalancı pozitiflik, altı aydan kısa süren akut yalancı pozitiflik ve altı aydan uzun süren kronik yalancı pozitiflik olarak iki gruba ayrılır:

Akut yalancı pozitiflik:

- Enfeksiyöz mononükleoz, *M. pneumoniae*, Klamidya enfeksiyonu, hepatit, viral pnömoni, kızamık gibi enfeksiyöz akut hastalıklar
- Sıtma
- Bazı aşılamlar
- Gebelik
- Yaws ve pinta gibi diğer treponemal enfeksiyonlarla çapraz reaksiyon
- Riketsiyal hastalıklar
- Şankroid
- Bakteriyel endokardit
- Teknik hata

Kronik yalancı pozitiflik:

- Kollagen damar hastalıkları, lepra, malignite, kronik karaciğer hastalığı, multipl myeloma gibi altta yatan kronik bir hastalık varlığı
- İntravenöz ilaç bağımlılığı
- Sistemik lupus eritematozus (SLE)
- Romatoid faktör (RF), anti-nükleer antikor (ANA), antitiroid antikorlar, kriyoglobulinler,
- Yükselmiş serum gamaglobulinleri
- 70 yaşından büyük hastalar
- Bazı antihipertansiflerin kullanımı (13, 123, 125).

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 (Tablo 6) (109, 126).

USR testi:

USR (Unheated serum reagin) testi VDRL testine çok benzeyen, antijen olarak VDRL antijenine ek 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 (127).

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 (128). Tablo 6'de nontreponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri gösterilmiştir (109).

Tablo 6: Nontreponemal testlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Test	Enfeksiyonun evresine göre % Duyarlılık			% Özgüllük
	Primer	Sekonder	Latent	
VDRL	78 (74–87)	100	95 (88–100)	98 (96–99)
RPR	86 (77–100)	100	98 (95–100)	98 (93–99)
USR	80 (72–88)	100	95 (88–100)	99
TRUST	85 (77–86)	100	98 (95–100)	99 (98–99)

Treponemal Testler:

Nontreponemal testler ile nonspesifik ve yalancı pozitif sonuçlar alınmasından dolayı *T. pallidum* (Nichols suşu) antijen olarak kullanılan ve buna karşı oluşan antikorların tespit edilmesine dayalı özgül treponemal testler geliştirilmiştir. Bu testler hastalığın başladığı ilk günler dışında, hastalığın tüm evrelerinde yüksek duyarlılık gösterirler. Nontreponemal testler ile alınan sonuçları doğrulamak ya da negatif sonucun alındığı geç dönem sifiliz vakalarında tanı amacıyla kullanılırlar.

T. pallidum immobilizasyon (TPI) testi:

TPI testi treponemal testlerden ilk bulunan testtir. Antijen olarak tavşan testisinde üretilen *T. pallidum* (Nichols suşu) kullanılmıştır. Bu test için canlı treponemaların hasta antikor ve komplemanı ile etkileşimi esas alınmıştır. Treponemal testler arasında yer almıştır ancak testin uzun sürede yapılması, pahalı olması ve teknik olarak zor olmasından dolayı kullanımı sınırlanmıştır. Günümüzde TPI testi sadece laboratuvar araştırmalarında kullanılmaktadır (109).

Floresans treponemal antikor absorpsiyon (FTA-ABS) testi:

FTA-ABS testi indirekt floresans-antikor tekniğine dayanır. *T. pallidum* (Nichols suşu) antijen olarak kullanılır. Hasta serumu sorbent çözeltisinde 1:5 oranında sulandırılır. Sorbent çözeltisi, patojen olmayan Reiter türü treponema kültürlerinden elde edilen bir ekstraksiyondur ve bazı hastalarda patojen olmayan treponemalara karşı oluşmuş antikorları ortamdaki yalancı pozitif sonuç alınmasını engellemek için

kullanılır. *T. pallidum* antijeni fiske edilmiş lam üzerine hasta serumu eklenir. Eğer serumda antikor varsa treponemaya bağlanır. Floresein izotiyosiyanat (FITC) işaretli anti-human immunoglobulin ilave edilir. Bu da hasta antikorları ile bağlanır ve floresans mikroskopunda incelendiğinde FITC boyalı spiroketler görülür. Eğer hasta serumunda özgül antikorlar yoksa floresans izlenmez, bu durumda karanlık alan incelemesi ile lam üzerinde treponemalar izlenerek varlığından emin olmak gerekir. Böylece negatif sonucun lam üzerinde treponemaların olmadığından değil, ama hasta serumunda antikor olmadığından dolayı olduğu gösterilmelidir. FTA-ABS testinde saptanan antikorlar (IgM ya da IgG) nontreponemal testlerle saptanan antikorlardan daha önce ortaya çıkar. Nontreponemal testlerle henüz tanı konulamayan, tedavi edilmemiş primer evredeki hastalarda saptanan antikorların % 75'den fazlası IgM, yaklaşık % 25 kadarı da IgG tipi antikorlardan oluşmaktadır. FTA-ABS testi, hastalığın 3. haftasından itibaren pozitifleşmektedir (109, 113).

Floresans treponemal antikor absorpsiyon çift boyanma ("FTA_ABS double-staining") testi:

Bu test standart FTA-ABS testinin bir modifikasyonudur. Bu testte tetrametil rodamin izotiyosiyanat ile işaretli anti-human IgG ve zıt boya olarak FITC (floresan izotiyosiyanat) işaretli anti-*T. pallidum* konjugatı kullanılır. Bu teknikte zıt boya, hasta serumunda *T. pallidum* antikoru saptanmadığı durumlarda, treponemaları karanlık alanda inceleme ile görme gereğini ortadan kaldırmak için kullanılır. Böylece özgül antikoru ile bağlanmamış mikroorganizmanın zıt boya ile boyanması, negatif sonucun hasta serumunda özgül antikorların yokluğundan dolayı olduğunun gösterilmesini sağlar.

Her iki testte de sonuçlar pozitif, düşük düzeyde pozitif (1+) veya atipik floresans izlendi olarak rapor edilir. FTA-ABS testinde şüpheli sonuçlar, hastanın sifiliz hikayesine ve yapılan diğer testlerin sonucuna göre değerlendirilmelidir.

Her iki testin de duyarlılığı yüksektir ancak normal populasyonda % 1, hamilelerde % 3 oranında yalancı pozitif sonuçlara rastlanabilir (109). SLE ve diğer otoimmün hastalığı olanlarda atipik boyanma izlenebilir. Yüksek gama globulin veya ANA pozitifliği, otoimmün hemolitik anemiler, infeksiyöz mononükleoz, lepra, Lyme ve birçok akut ve kronik hastalıklar, sıtma, SLE, tiroiditler, genital herpes simpleks, tip 1 diabetes mellitus, hamilelik, yaşlılık, yaws ve pinta gibi diğer treponemal enfeksiyonlarda yalancı pozitif reaksiyonlar görülebilir (13). Her iki test için de duyarlılık ve özgüllük Tablo 7'de gösterilmiştir (109).

Tablo 7: FTA-ABS ve FTA-ABS çift boyanma testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü

Test	Enfeksiyonun evresine göre % Duyarlılık			Özgüllük %
	Primer	Sekonder	Latent	
FTA-ABS	84 (70–100)	100	100	97 (94–100)
FTA-ABS çift boyanma	80 (69–90)	100	100	98 (97–100)

FTA-ABS 19S IgM testi:

Bu test konjenital sifilizin tanısı için geliştirilmiştir. Özgüllüğü FTA-ABS IgM testinden daha yüksektir. Konjenital sifilizde yenidoğanların serumunda % 80 oranında Romatoid faktör (RF) bulunabilmektedir ve hatalı test sonuçlarına yol açabilmektedir. Hatalı sonuçları dışlamak için FTA-ABS 19S IgM testinde tüm IgG antikorları ve RF ile bağlı IgM antikorları uzaklaştırılarak özgüllük artırılmıştır. Konjenital sifiliz için FTA-ABS IgM testinin duyarlılığı ve özgüllüğü % 90 ve % 75, FTA-ABS 19S IgM testinin ise % 92 ile % 93 bulunmuştur (113).

Mikrotreponema pallidum hemaglutinasyon assay (TPHA)/

Mikrohemaglutinasyon assay (MHA-TP):

Her iki test de mikrohemaglutinasyon temelli testlerdendir. *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 bir yüzey oluştururlar. 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 değerlendirilir. Hem test hem de kontrol çukurunda aglutinasyon oluşması, nonspesifik aglutinasyon varlığını gösterir, test tekrarlanır. MHA-TP testi de aynı prensibe dayanan, TPHA testinin mikropklara uygulanmış şeklidir. Genel olarak sağlıklı kişilerde yalancı pozitif reaksiyon nadiren görülürken Lyme hastalığı, leptospirozlar, lepra, sıtma ve SLE'de yalancı pozitif reaksiyonlar görülebilir (123). Kantitatif nontreponemal testlerden farklı olarak, tedavi sonrası kantitatif MHA-TP testinin yapılmasının yararı yoktur (109).

MHA-TP testi için duyarlılık: primer sifilizde % 88 (69–90), sekonder sifilizde % 100, latent sifilizde % 99.4 (97–100) ve tedavi edilmiş sifiliz vakalarında ise % 92.6, özgüllük % 100 (98–100) bulunmuştur (109, 126).

TPHA testi ise primer sifilizde daha düşük duyarlılığa sahip olmakla birlikte (% 80), sekonder sifilizde % 99–100, geç dönem sifilizde ise % 95 duyarlılık ve % 99 özgüllüğe sahiptir (12).

***T. pallidum* partikül aglutinasyon (TPPA) testi:**

T. pallidum partikül aglutinasyon (TPPA) testi de MHA-TP ve TPHA testi gibi mikrohemaglutinasyon tekniğine dayalı bir testtir. Burada, patojen *T. pallidum* (Nichols) suşu ile hassaslaştırılmış eritrositler yerine jelatin partikülleri kullanılmıştır, bu da nonspesifik reaksiyonların daha az olmasına yardımcı olur. TPPA'da daha az şüpheli sonuçlar alındığı için okunması daha kolaydır ve eritrositlerle heterofil reaksiyonlara rastlanmaz (109).

TPPA testi için duyarlılık primer evrede % 89, sekonder evrede % 100, geç evrede % 100 bulunmuştur (129, 130).

Western blot (WB) testi:

WB yöntemi sifilizin laboratuvar tanısında kullanılan diğer treponemal testlere alternatif olarak 1980'lerin ortalarında kuşkulu serolojik test sonuçlarını elimine etmek ve pozitif test sonuçlarını doğrulamak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. İnsan serum ya da plazmasında *T. pallidum* antikörlerini saptamak için yapılan kalitatif bir testtir. Bu yöntem HIV, HTLV ve hepatit C gibi birçok viral enfeksiyon sonucunu doğrulamak amacıyla da kullanılmaktadır (131–133).

Bu testte *T. pallidum*'a ait çeşitli antijen bölgeleri jel elektroforezi yöntemiyle molekül ağırlıklarına göre dağıtılır. Bu proteinler nitroselüloz membrana aktarılır ve fikse edilir (61). Yöntem ev içi olarak yapılabileceği gibi, nitroselüloz şeritler üzerine fikse edilmiş *T. pallidum* antijenlerini içeren şeritler şeklinde ticari test kitleri de bulunmaktadır. Ticari kitler için reaksiyonun ilk basamağında bu şeritler sulandırılmış hasta örneği ile kaplanır ve inkübe edilir. Pozitif örneklerde özgül antikörler, (IgM ya da IgG) şeritlere bağlanır. Yıkama aşamasından sonra ikinci basamakta bağlanmış antikörler enzimle işaretli anti-human IgM ya da IgG konjugatı ile kaplanır ve inkübe edilir. Üçüncü basamakta ise enzimle işaretli substrat solusyonu eklenir, inkübe edilir ve yıkanır (113). Ticari kitlerde üretici firmanın önerileri doğrultusunda pozitif bulunan bant sayılarına göre sonuç pozitif, şüpheli ya da negatif kabul edilmektedir.

Birçok araştırmacı kompleks antijenik yapısından dolayı *T. pallidum* antijenlerinin elde edilmesinin zorluğunu belirtmiştir (133, 134). Araştırmacılar *T. pallidum* antijenlerini; mikroorganizmayı parçalayarak, genetik mühendisliğini kullanarak ya da

immunodominant peptidlerden sentezleme yollarıyla WB yöntemini standardize etmişlerdir (73, 135).

T. pallidum antijenlerine karşı immün yanıtını araştırmak için, deneysel olarak enfekte edilmiş hayvan modellerinde ve enfekte olan insanlarda bu yöntemle araştırmalar yapılmıştır. Günümüzde çeşitli antijen bölgelerinin kullanıldığı çeşitli ticari kitler geliştirilmiştir. TpN15, TpN17, TpN30, TpN33, TpN34, TpN37, TpN44, TpN47, TpN 44,5 (TnpA) gibi protein bölgeleri kullanılmaktadır. En az 9 tane *T. pallidum* polipeptidi belli moleküler ağırlıklarıyla [15 (TpN15), 17 (TpN17), 33, 37 (TpN37), 45 (TnpA/ TpN44,5) 39, 43 (TpN47) ve 97kDa] major immunojen olarak tanımlanmıştır. Bu polipeptidlerden en az 5'inin (TpN15, TpN17, TpN37, TpN47 ve TnpA) tanısal değeri bulunmaktadır. Çalışmalara göre en sık kullanılan ve tanıda en yardımcı olan antijen bölgeleri ise 15,5 kDa (TpN 15,5), 17 kDa (TpN 17), 44,5 kDa (TpN 44,5), ve 47 kDa (TpN 47) bulunmuştur (73, 133–138).

Farklı klinik evrelerde olan hastaların serumlarıyla yapılan WB çalışmalarında *T. pallidum*'a ait immunodominant komponentler araştırılmıştır. Sifiliz enfeksiyonu ile karşılaşmadan 3–6 gün sonra TpN37, TpN47 proteinlerine karşı, bunu takip eden evrelerde de TpN15, TpN17 proteinlerine karşı reaktivite gözlenmiştir (139).

WB IgM testi konjenital sifiliz tanısında oldukça duyarlı ve özgül bulunmuştur. Testin kolay uygulanabilmesi, aglutinasyon ve FTA-ABS testlerinin aksine objektif olarak değerlendirilebilmesi avantajları arasındadır (134).

HIV pozitif serumlarda yanlış pozitif sonuçlar görülebilmektedir ancak bu yöntemde yalancı pozitif sonuçlar çok nadir görülmektedir. Yapılan çalışmalara göre WB IgG testi; TpN15, TpN17, TnpA, TpN47 antijen bölgeleri için primer, sekonder ve geç evrelerde duyarlılık % 100, özgüllük % 99.2–100 bulunmuştur (133, 135, 137, 138, 140).

“Enzyme-linked immuno assay” (EIA):

Günümüzde rekombinant *T. pallidum* antijenleri kullanılarak yapılan EIA yöntemine dayalı, IgM, IgG ya da her ikisini de saptayan, ev içi olarak geliştirilmiş ya da ticari testler sistemleri bulunmaktadır. Tek ya da iki basamaklı sandviç EIA, tek basamaklı yarışmalı EIA, Kemiluminesan tekniği gibi farklı temelli EIA yöntemlerini kullanan çok sayıda ticari test sistemi geliştirilmiştir. Bu testlerle kalitatif ya da kantitatif değerlendirme yapılabilmekte, TpN 15, TpN 17, TpN 44.5 (TnpA) ve TpN 47 gibi farklı *T. pallidum* antijen bölgeleri tanı amacıyla kullanılabilir (129, 140–144).

EIA testleri pek çok tanı laboratuvarında, kan merkezlerinde rutin tarama testi olarak ya da doğrulama testi olarak kullanıma girmiştir. Yapılan değerlendirmeler çok sayıda ve farklı maliyetlere sahip EIA testlerinin duyarlılığının diğer doğrulama testlerine çok benzer olduğunu göstermektedir. FTA-ABS ve MHA-TP, TPHA testleri gibi sonuçların uzun ve subjektif değerlendirilmesi zorluğu bu yöntemle ortadan kalkmaktadır. Çok sayıda serum örneği aynı anda çalışılabilir ve sonuçlar spektrofotometrik olarak okunabileceği gibi otomasyon sistemine de olanak tanımaktadır (109, 129, 144–146).

EIA testleri sifiliz enfeksiyonunun tüm evrelerinde tanı koyabilir, antikor titreleri ile ilgili kantitatif değerlendirme yapılabilir, ancak daha önce tedavi edilmiş enfeksiyonu ya da tedavi edilmemiş aktif enfeksiyonu ayırt edemez. Bazı hastalarda etkili bir tedavi uygulansa bile reaktif sonuçlar ömür boyu da pozitif kalabilir (141, 146).

Yapılan çalışmalara göre EIA testlerinin duyarlılıkları; farklı test kitlerine ve enfeksiyonun evrelerine göre değişmekle birlikte genel olarak % 88.9–100, özgüllükleri ise % 98.5–100 olarak bulunmuştur (126, 129, 140–142).

4.10. TEDAVİ

Her dönem sifilizde seçilecek antibiyotik penisilindir. Ancak penisilin allerjisi olanlarda diğer alternatif tedavi seçenekleri uygulanır. CDC'nin sifiliz enfeksiyonu için 2006 yılı tedavi protokolü tablo 8'de gösterilmiştir (102).

Sifiliz tedavisinin ilk 24 saatinde penisilin uygulandıktan sonra spiroketal antijenlerin hızlı serbestleşmesine bağlı olarak akut sistemik bir reaksiyon ortaya çıkabilir ve ölüme yol açabilir. Bu reaksiyona Jarisch-Herxheimer reaksiyonu adı verilir. Baş ağrısı, bulantı-kusma, miyalji gibi çeşitli semptomların eşlik ettiği akut febril bir reaksiyondur. Jarisch-Herxheimer reaksiyonu genellikle erken sifiliz evresindeki hastalarda görülür. Ateş düşürücü ilaçlar kullanılabilir ancak bunlar reaksiyonun ortaya çıkmasını önlemez. Tedavi sırasında görülen bu reaksiyona karşı hastalar bilgilendirilmelidir. Hamilelerde de erken doğuma ya da fetal distress'e neden olabilir ancak bu tedavinin kesilmesine ya da ertelenmesine sebep olmamalıdır (102).

Tablo 8: Sifiliz enfeksiyonu klinik evrelerine göre tedavi protokolü

Evre	Tedavi	Penisilin allerjisi olanlarda alternatif tedavi (hamile olmayan hastalarda)
Primer sifiliz	Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM (intra müsküler) Tek doz	Doksisiklin 100mg 2x1 oral 2 hafta Tetrasiklin 500 mg 6x1 oral 2 hafta Seftriakson 1 gr 1x1 IM ya da IV 8- 10 gün Azitromisin 2 gr oral tek doz
Sekonder sifiliz	Primer sifilizle aynı tedavi	Primer sifilizle aynı tedavi
Latent sifiliz Erken dönem	Primer ve sekonder sifilizle aynı tedavi	Primer ve sekonder sifilizle aynı tedavi
Geç dönem	Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM haftada 1 doz, 3 hafta	Doksisiklin 100mg 2x1 oral 4 hafta Tetrasiklin 500 mg 6x1 oral 4 hafta
Geç sifiliz	Geç latent sifilizle aynı	Geç latent sifilizle aynı
Nörosifiliz	Kristalize penisilin G 3-4 milyon ünite IV 6x4 10-14 gün veya Prokain penisilin G 2.4 IM 1x1 ve Plus probenesid 500 mg oral 6x4 iki ilaç birlikte 10-14 gün	
Konjenital sifiliz	Kristalize penisilin G 100.00-150.000 U/kg IV 1x1 10 gün veya Kristalize penisilin G 50.000 U/kg IV 2x1 (ilk 7 gün) 3x1 (sonraki 3 gün) Toplam 10 gün veya	
Gebelikte	Benzatin penisilin G 2.4 milyon ünite IM haftada 1 doz, 2 hafta	

IM: İntra müsküler

IV: intra venöz

4.11. İzlem ve Korunma

Sifiliz enfeksiyonunda serolojik testler tedavi sonrasında negatifleşinceye kadar ya da non-treponemal test titreleri 4 kat azalana kadar, 2- 3 ayda bir tekrarlanmalıdır. Ancak bu negatifleşme uzun bir zaman dilimi içinde gerçekleşir; bazen birkaç yılı bulabilir. Tedavi başarısızlıkları da görülebilir. Nontreponemal test titrelerinde 6 ay içinde 4 katlık bir azalmanın görülmemesi tedavi başarısızlığını gösterebilir. Bu hastalar diğer CYBE ve özellikle HIV enfeksiyonu açısından da değerlendirilmelidir. Birinci ya da ikinci evre sifiliz olan kişilerin, bulaştırıcı olmaları nedeniyle, kendilerinin ve cinsel eşlerinin tedavisi tamamlanana kadar cinsel temastan kaçınmaları gerekir. Birinci evredeki hastaların son 3 ayda içinde ilişkiye girdikleri eşleri, ikinci evredeki hastaların ise son bir yıl içinde ilişkiye girdikleri eşleri tehlike altındadır. Bu kişiler de kan örneği alınarak incelenmeli ve sonuç pozitif ise tedavi edilmelidir. Küratif olarak tedavi sonuçlanuncaya kadar cinsel aktivite engellenmelidir. Tedaviden sonra birinci, ikinci ve latent evre sifiliz tam olarak iyileşir. Üçüncü evre beyin ya da kalp sifilizindeki hasar genellikle geri dönüşlü değildir. Uygun ilaçlar ile tam tedavi edilen bir kişi, koruyucu bağışıklığın gelişmemesi nedeniyle yeniden sifiliz geçirebilir

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlarda temel korunma yolu güvenli cinsel ilişki, tek eşliliklerdir. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonu olan kişi bu yolla bulaşan diğer enfeksiyonlar açısından da risk altındadır ve test edilmelidir. Tek cinsel eşi olanlarda ilişki öncesi, CYBE açısından tarama yapılması, ileride geçirilecek asemptomatik enfeksiyondan koruyabilir (102, 103, 147).

4.12. Aşı Çalışmaları

Etkili bir tedavi protokolü olmasına rağmen sifiliz enfeksiyonu sıklığı artmaktadır. Sifiliz enfeksiyonunun, HIV enfeksiyonuna yakalanma sıklığını artırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Sifiliz enfeksiyonunun önlenmesi ile HIV vakalarında da azalma olacağı düşünülmektedir, bu nedenle etkili bir aşı bulunması halk sağlığı açısından çok önemli olmaktadır (148).

Sifiliz enfeksiyonuna karşı canlı ve ölü aşı çalışmaları yapılmaktadır ancak *T. pallidum*'un kültürü yapılamadığından bağışıklıkla ilgili bilgiler ve aşı çalışmalarının etkinliğini değerlendirmek de sınırlı olmaktadır. *T. pallidum* moleküllerinden olan endoflajella, TmpB, Tp92, TpN15, TpN47, TprF, TprI ve TprK immunizasyonları ile enfeksiyondan korunmayı gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Enfeksiyona karşı dış membran proteinleri konakta güçlü antijenik rol oynamaktadır ancak çalışmalar hayvan

modellerinde yapılmaktadır ve henüz insanlarda denenmiş rekombinant antijenlerle ilgili çalışma bulunmamaktadır (149, 150).

5. GEREK VE YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. Çalışma grubu

Çalışma grubu, DEUH Kan merkezine başvuran kan donörlerine ait serum örneklerinden oluşturuldu. 20.07.2006/10.11.2008 tarihleri arasında “Architect® Syphilis TP” testiyle tekrarlayan pozitif bulunan toplam 177 serum örneği çalışmaya alındı. Kan merkezimizde pozitif bulunan serum örnekleri; “Kan ve Kan Ürünleri Kanunu” gereği - 80°C’ de zorunlu olarak saklanmaktadır (151).

Yeterli serum miktarı olan tüm örnekler çalışmaya dahil edildi ve herhangi bir dışlama kriteri kullanılmadı. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan onay alındı.

5.2. Yöntemler

5.2.1. “Architect® Syphilis TP” test prosedürü:

“Architect® Syphilis TP” testi, insan serum veya plazmasında bulunan *T. pallidum*’a (Tp) karşı oluşmuş antikorların kalitatif olarak saptanması amaçlı bir Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Testidir (CMIA). Test, insan serumu ve plazmasında bulunan anti-Tp antikorlarının kalitatif olarak belirlenmesi için CMIA teknolojisi ile “Chemiflex®” gibi kolay uyum sağlayabilen protokoller kullanan iki adımlı bir immünolojik tetkiktir. İlk adımda, numune rekombinant Tp antijenleri ile kaplı paramanyetik mikro parçacıklar (TpN15, TpN17 ve TpN47) bir araya getirilir. Serumda bulunan anti-Tp antikorları Tp kaplı mikro parçacıklara bağlanır. Yıkamadan sonra, akridinyum işaretli anti-insan IgG ve IgM konjugatı ilave edilir. Elde edilen kemilüminesan reaksiyon, relatif ışık birimi (RLU) olarak ölçülür. Örnekteki anti-Tp antikor miktarı ile ölçülen RLU arasında doğrudan bir ilişki vardır.

Örnekte anti-Tp antikor varlığı ya da yokluğu reaksiyondaki kemilüminesan sinyalinin önceki anti-Tp kalibrasyonundan elde edilen “cut off” sinyali ile karşılaştırılması ile saptanır. Örnekteki kemilüminesan sinyal, cut off sinyalinden büyük ya da eşit ise, örnek anti-Tp için reaktif olarak değerlendirilmektedir.

“Architect® Syphilis TP” reaktif kiti:

“Architect® Syphilis TP” reaktif kiti içeriği Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9: “Architect® Syphilis TP” testi reaktif kiti içeriği

Reaktif adı	Reaktif içeriği
Mikropartiküller	MES tamponu [2(N-morfolin) etan sülfonik asit] içerişinde rekombinant Tp antijeni kaplı mikro parçacıklar
Konjugat	Protein stabilizatörle birlikte MES tamponu içerişinde sıçan anti-IgG/anti-IgM akridinyum-etiketli konjugat. Koruyucu madde olarak sodyum azid ve antimikrobiyal maddeler
Test dilüenti	MES tamponu. Koruyucu madde olarak sodyum azid ve antimikrobiyal maddeler

Kontroller:

Pozitif kontrol: rekalsifiye insan plazmasından hazırlanmıştır. Anti-Tp pozitifdir.

Negatif kontrol: rekalsifiye insan plazmasından hazırlanmıştır. Anti-Tp negatifdir.

Sonucun hesaplanması:

Analizör örnekte bulunan anti-Tp düzeyini S/Co bazlı bir hesaplama ile belirler.

“Cut off” hesaplaması;

Kalibratör 1 ortalama RLU Değer x 0.020 = Cut off RLU

S/Co = Numune RLU/Cut off RLU

Sonucun raporlanması:

Anti-Tp için S/Co değer < 1.0 = Negatif

Anti-Tp için S/Co değer ≥ 1.0 = Pozitif olarak rapor edilir.

5.2.2. “Immuntrep®RPR” (Rapid Plasma Reagen) (Omega) test prosedürü:

“Immuntrep®RPR” serum veya plazmada bulunan reagin antikorlarının kalitatif ve semi-kantitatif olarak saptanabilmesi için kullanılan, non-treponemal bir flokulasyon testidir. Sonucun gözle görülebilmesi için karbon mikropartikülleri içerir. Örnek içindeki reagin antikorları ile reaktif içinde bulunan kolesterol/kardiolipin/lesitin arasında bağlanma olduğunda sonuç siyah parçacıkların ortaya çıkmasına göre değerlendirilir. Flokulasyonun değerlendirilebilmesi için beyaz zeminli plastik test kartları veya cam plaklar kullanılmaktadır.

Hemolizli, bakteriyel bulaş olmuş veya lipemik örnekler test sonucunu etkileyebileceğinden kullanılmaz.

Reaktif içeriğindeki RPR Ag'i: 0.2 g/L karbon

: % 0.003 kardiyolipin

: % 0.02 lesitin

: % 0.09 kolesterol içeren süspansiyondan oluşmaktadır.

Kontroller:

Pozitif kontrol: *T. pallidum*'a karşı antikorlar içeren serum (“Immuntrep®RPR”-Omega OD051/OD061)

Negatif kontrol: *T. pallidum*'a karşı antikor içermeyen serum (“Immuntrep®RPR”-Omega OD051/OD061) kullanılmaktadır.

Testin yapılışı:

Tüm serum örnekleri test çalışılmadan önce oda ısısına getirilip vortekslenerek çalışmaya başlandı.

1. RPR test kartına 50 mikrolitre hasta örneği pipetlendi
2. Tüm çember içine yayılacak şekilde dağıtıldı
3. Serumun üzerine 16 mikrolitre antijen pipetlendi
4. 100 rpm'de 8 dakika mekanik rotatorda çevrildi
5. Pozitif bulunan örnekler semi-kantitatif yöntemle de değerlendirmek için; 1/2, 1/4...1/256 oranında distile su ile sulandırıldı ve yukarıda anlatılan yöntemle test tekrar çalışıldı.

Karışımında aglütinasyon varlığı araştırıldı. 8 dakikadan sonra meydana gelen reaksiyonlar dikkate alınmadı.

Çalışmamızda RPR testi üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Sonuçlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi.

Karışımında herhangi bir kümeleşme yoksa: Negatif

Hafif, ince taneli kümeleşme varsa: Zayıf pozitif

Gözle görülür, belirgin kümeleşme varsa: Pozitif olarak değerlendirildi.

5.2.3. "EUROIMMUN Anti-Treponema pallidum WESTERNBLOT IgM/IgG"

Test Prosedürü:

Western blot (WB) test kiti insan *T. pallidum* antikorlarını saptamak için yapılan kalitatif, *in vitro* bir testtir. Test kiti elektroforetik olarak dağılmış *T. pallidum* antijenlerini içeren test şeritlerinden oluşur. Reaksiyonun ilk basamağında bu şeritler seyreltilmiş hasta serum örneği ile kaplanır ve inkübe edilir. Pozitif örneklerde spesifik antikorlar, (IgM/IgG) antijenlere bağlanır. Yıkama aşamasından sonra ikinci basamakta; bağlanmış antikorlar alkalın fosfataz'la işaretli ve renk reaksiyonu veren anti-human IgM/IgG ile kaplanır ve inkübe edilir. Üçüncü basamakta substrat solusyonu eklenir, inkübe edilir ve yıkanır. Hemolizli, lipemik ve ikterik serumların test sonucunu etkilemediği gösterilmiştir.

"EUROIMMUN Anti-Treponema pallidum WESTERNBLOT IgM/IgG" test kiti içeriği;

1. Test şeritleri: Elektroforetik olarak dağılmış *T. pallidum* antijenlerinden oluşur. Kullanıma hazırdır (Test şeritlerindeki antijen bölgeleri Tablo 10'da gösterilmiştir).
2. Enzim konjugat: Alkalın fosfataz işaretli anti-insan IgM, 10x konsantrasyonda bulunmaktadır. Kullanımı için üniversal sıvı ile 1:10 oranında seyreltilir.
3. Üniversal sıvı: 10x konsantrasyonda bulunur. Kullanımı için 1:10 oranında distile su ile seyreltilir.
4. Substrat solusyonu: kullanıma hazırdır. İçeriğinin ışığa hassas olmasından dolayı kullanımdan sonra şişe hemen kapatıldı.
5. İnkubasyon tepsileri

Tablo 10: “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM/IgG” test şeritlerindeki antijen bölgeleri

Bant	Antijen	Özgüllük
47 kDa	Membran proteini TpN 47	Özgül
45 kDa	tmpA	Özgül
22 kDa	p22	Özgül değil
17 kDa	Membran proteini TpN 17	Özgül
15 kDa	Membran proteini TpN 15	Özgül

Testin yapılışı:

WB testi manuel yapılabileceği gibi, yöntem için kullanılabilen yarı otomatize WB cihazı ile de yapılabilmektedir. Test, laboratuvarımızda bulunan yarı otomatize cihazla çalışıldı. Sonuçlar cihaza bağlı bilgisayar sistemi (“EUROSCAN”) ile değerlendirildi. “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM ve IgG” testlerinin konjugat aşaması dışındaki tüm aşamaları aynı şekilde çalışıldı.

Hazırlık: Cihaz çalışılacak test seçilerek başlatılır. İnkübasyon tepsileri çalışılacak serum sayısına göre üniversal sıvı ile doldurulur. Her tepsiye 1.5 ml üniversal sıvı eklenir ardından test şeritleri kuyucuklara yerleştirilir. Her şeritte bulunan lot numarası ve şerit numarası serum sırasına göre kaydedilir. 15 dakika oda ısısında cihaz tarafından çalkalama işlemi yapılır ve tüm sıvı aspire edilir.

Örnek inkübasyonu: Her kuyucuğa 1,5 ml üniversal sıvı ile seyreltilmiş serum örneği (1:51) eklenir ve 30 dakika çalkalama işlemi yapılarak inkübe edilir. (Tüm serum örnekleri test çalışılmadan önce oda ısısına getirildi ve vortekslenerek çalışmaya başlandı).

Yıkama: Tüm kuyucuklardaki sıvı aspire edilir ve 3 kez 5'er dakika üniversal sıvı ile yıkama işlemi yapılır.

Konjugat inkübasyonu: Alkalın fosfataz işaretli anti-insan IgM/IgG konjugatı her kuyucuğa 1,5 ml ilave edilir ve 30 dakika çalkalama işlemi yapılarak inkübe edilir.

Yıkama: Tüm kuyucuklardaki sıvı aspire edilir ve 3 kez 5'er dakika üniversal sıvı ile yıkama işlemi yapılır.

Substrat inkübasyonu: Tüm kuyucuklara 1.5 ml substrat solusyonu eklenir ve 10 dakika çalkalama işlemi yapılarak inkübe edilir.

Durdurma: Tüm kuyucuklardaki sıvı aspire edilir ve 3'er kez tüm kuyucuklar distile su ile yıkanır.

Değerlendirme:

Değerlendirme işlemi için; Lot numaraları ve değerlendirme şeritinin olduğu lot kağıtları cihaza tanıtıldı (Böylece bilgisayar sisteminde hangi testin değerlendirileceği cihaza tanıtılmış olur).

Serum sırasına göre kaydedilmiş şeritlerde bulunan lot numarası ile cihaza yüklenen lot numarası eşleştirildi. Şerit numarası verileri (serumlar için hasta adı-soyadı, şerit numarası) reaksiyon tepsisindeki sıralarına göre cihaza bağlı bilgisayar sistemine kaydedildi. Değerlendirme işlemi kolaylaştıran özel test kağıtlarına bu veriler yazdırılarak aktarıldı.

Test bitiminde kuyucuklardaki test şeritleri, verilerin yazdırıldığı özel kağıda, serum sıralarına göre yapıştırıldı ve şeritlerin kuruması beklendi.

Kuruma işleminden sonra şeritlerin yapıştırıldığı özel kağıt cihaza bağlı okuyucu tarafından okutuldu.

Cihaz tarafından her şerit için test sonuçları değerlendirilir.

Değerlendirme:**Kontrol:**

Pozitif ve negatif kontrol olarak her şeritte kontrol bantları bulunmaktadır. Şerit numaralarının altında bulunan ilk bant kontrol bantıdır ve testin doğru değerlendirilebilmesi için pozitif kontrol bantının çalışmış olması gerekmektedir.

“EUROIMMUN Anti-Treponema pallidum WESTERNBLOT IgM” testi için:

Test sonuçları negatif, “borderline” ve pozitif olarak değerlendirilir.

Tablo 11: “EUROIMMUN Anti-Treponema pallidum WESTERNBLOT IgM” testi değerlendirme kriteri

Test sonucu	Bant özellikleri
Negatif	Spesifik antijen bölgelerinin hiçbirinde bant yok
“Borderline”	Spesifik antijen bölgelerinde (p15 kDa, p17 kDa, p45 kDa, p47 kDa) bir zayıf pozitif bant görülmesi
Pozitif	Spesifik antijen bölgelerinde (p15 kDa, p17 kDa, p45 kDa, p47 kDa) en az bir tane bantta pozitiflik görülmesi

Çalışmada kullanılan p22 (22 kDa) bölgesi leptospira türlerinde de bulunan ortak antijen bölgesidir ve treponamalara özgül değildir. Bu bantta görülen pozitiflik çapraz reaksiyonu göstermektedir; özgül antijen bölgesi olmadığı için sifiliz pozitifliğini değil çapraz reaksiyonu gösterir ve testin tekrarlanması gerektirir.

“EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM” testinde saptanan “borderline” sonuçların üretici firmaya göre 3–6 hafta sonra tekrarlanması önerilmektedir.

“EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgG” testi için:

Test sonuçları negatif, “borderline” ve pozitif olarak değerlendirilir.

Tablo 12: “EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgG” testi değerlendirme kriteri

Test sonucu	Bant özellikleri
Negatif	Spesifik antijen bölgelerinin hiçbirinde bant yok
“Borderline”	Spesifik antijen bölgelerinde (p15 kDa, p17 kDa, p45 kDa, p47 kDa) bir pozitif bant görülmesi
Pozitif	Spesifik antijen bölgelerinde (p15 kDa, p17 kDa, p45 kDa, p47 kDa) birden fazla bantta pozitiflik görülmesi

Çalışmada kullanılan p22 (22 kDa) bölgesi leptospira türlerinde de bulunan ortak antijen bölgesidir ve treponamalara özgül değildir. Bu bantta görülen pozitiflik çapraz reaksiyonu göstermektedir; özgül antijen bölgesi olmadığı için sifiliz pozitifliğine değil çapraz reaksiyonu gösterir ve testin tekrarlanması gerektirir.

“EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgG” testinde saptanan “borderline” sonuçların üretici firmaya göre 3–6 hafta sonra tekrarlanması önerilmektedir.

Çalışmamızda “Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM/IgG” testleri için tüm test aşamaları ve değerlendirme işlemi üretici firmanın talimatlarına uygun olarak yapılmıştır.

Yöntem:

“Architect® Syphilis TP” testiyle pozitif saptanan örneklerin doğrulanması altın standart olarak kabul edilen WB yöntemi ile yapıldı (133, 134, 135, 137, 152).

Hasta örneklerinin tümü ile “Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM” ve “Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgG” testleri çalışıldı.

Ayrıca hastaların klinik evresinin tahmin edilmesi için serum örneklerinin tümü ile “Immuntrep®RPR” testi çalışıldı.

Değerlendirme kriteri:

Çalışmamızda değerlendirme kriteri olarak WB IgM ya da IgG’den herhangi birinin pozitif olduğu hastalar pozitif olarak kabul edildi. “Receiver Operation Characteristics” (ROC) analizi ile indeks değeri belirlerken, WB testinde “borderline” çıkan hasta sonuçları bu hastalara ileri testlerin yapılmasına olanak sağlamak için negatif olarak kabul edildi.

5.3. İstatistiksel Yöntem

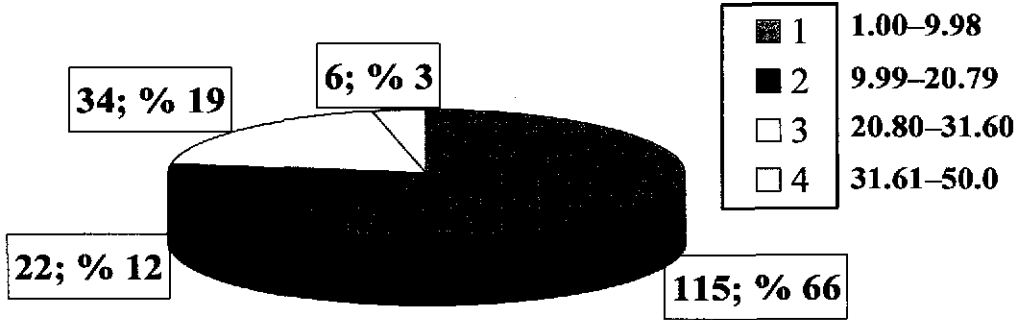
Çalışmamızda elde edilen sonuçlar bilgisayar ortamına aktarılarak istatistiksel analiz yöntemi olan SPSS for Windows 15.0 programında veri tabanı oluşturuldu. “Architect® Syphilis TP” testi için indeks S/Co (serum örneği /eşik değeri) değeri bulunmasında ise ROC analizi kullanıldı. ROC eğrisi bir tanı testine ilişkin duyarlılık ve seçicilik değerleri arasındaki ilişkiyi grafiksel olarak gösterir. Bu analiz yönteminde, belirli bir tanım aralığında sürekli değerler alan bir değişkenin (sürekli değişken) tanı testi olarak kullanımı amaçlanmaktadır. ROC eğrisinden yararlanılarak sınır değerlerinin belirlenmesinde istatistik paket program veya grafik çizerek hesaplama yöntemi kullanılır. Klinik laboratuvarlarda uygulanan birçok testin tanısal yeterlilik ve doğruluğunu gösterebilen istatistiksel bir analiz yöntemidir ve istatistik karar teorisine dayanmaktadır. Prevalanstan etkilenmemesi ve olası tüm karar eşiklerindeki durumları değerlendirilebilmesi testin önemli avantajlarından. ROC eğrisi altında kalan alan hesaplandığında, değerler 1 (iki grubun test sonuçlarının ideal ayrımı) ile 0.5 (iki grup arasında test sonuçlarında dağılım yönünden farkın olmaması) arasında dağılım göstermektedir. Sonuçlar 1’e ne kadar yakınsa testin tanısal yeterliliği o kadar yüksek olmaktadır (153–155).

6. BULGULAR:

6.1. Çalışma Grubunun Genel Özellikleri

Değerlendirmenin yapıldığı 20.07.2006/10.11.2008 tarihleri arasında DEUH Kan Merkezi'ne toplam 35597 donör kan vermek için başvurdu. Başvuran donörlerin serum örneklerinde “Architect® Syphilis TP” testiyle sifiliz taraması yapıldı. Tarama sonucunda 177 donöre ait serum örneğinde tekrarlayan sifiliz pozitifliği saptandı. Pozitif örneklerin 169 tanesi (% 95.5) erkek, 8 tanesi (% 4.5) kadın donörlere aitti. Bu donörlerin yaş ortalaması 39 (Yaş Aralığı: 21–61) olarak bulundu.

Değerlendirmede kolaylık sağlamak için, “Architect® Syphilis TP” testiyle sifiliz pozitif bulunan serum örnekleri S/Co değerlerine göre gruplandırıldı. Gruplandırılmada; S/Co ortalaması 9.98 ve standart sapması 10.80 (1.00–43.12 S/Co) olarak saptandı. Ortalama S/Co değeri olan 9.98 değerine bir standart sapma (10.80) eklenerek 4 grup oluşturuldu. EIA S/Co değerlerine göre grupların dağılımı şekil 4’de gösterildi.



Şekil 4: EIA S/Co değerlerine göre grupların dağılımı.

EIA S/Co değerlerine göre, serumların % 66’sı 1. grupta (S/Co 1.00–9.98) bulunmaktadır. Gruplandırılmada en az serum % 3 ile 4. grupta (S/Co 31.61–50.00) yer almaktadır.

6.2. EIA S/Co Gruplarına Göre WB IgM ve IgG Sonuçları:

WB IgM sonuçları;

EIA ile pozitif saptanan 177 serum örneğinden 7'si (% 4) pozitif, 8'i (% 4.5) "borderline" ve 162'si (% 91.5) negatif olarak bulundu. WB sonuçlarımızın EIA S/Co değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı Tablo 13'de gösterildi.

WB IgG sonuçları;

Toplam 177 serum örneğinden 63 serum (% 35.6) pozitif, 36 serum (% 20.3) "borderline" ve 78 serum (% 44.1) negatif olarak bulundu. En sık pozitiflik % 52.4 ile 3. grupta saptandı. "Borderline" sonuçların ise % 88.9'u 1. grupta görüldü.

Tablo 13: WB IgG ve IgM sonuçlarının EIA S/Co değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı (Sütun yüzdeleri esas alınmıştır).

EIA	WB-IgG			WB-IgM		
	Negatif Sayı/ (%)	"Borderline" Sayı/ (%)	Pozitif Sayı/ (%)	Negatif Sayı/ (%)	"Borderline" Sayı/ (%)	Pozitif Sayı/ (%)
1.00-9.98	75 (96.2)	32 (88.9)	8 (12.7)	111 (68.5)	2 (25)	2 (28.6)
9.99-20.79	3 (3.8)	3 (8.3)	16 (25.4)	18 (11.1)	3 (37.5)	1 (14.3)
20.80-31.60	0 (0)	1 (2.8)	33 (52.4)	28 (17.3)	3 (37.5)	3 (42.9)
31.61-50.00	0 (0)	0 (0)	6 (9.5)	5 (3.1)	0 (0)	1 (14.3)
Toplam	78 (100.0)	36 (100.0)	63 (100.0)	162 (100.0)	8 (100.0)	7 (100.0)

6.3. EIA S/Co Gruplarına Göre RPR Sonuçları;

EIA ile pozitif bulunan toplam 177 serum örneğinin tümü ile RPR testi çalışıldı. RPR testi ile örneklerin 39'u (% 22) pozitif, 138'i (% 78) negatif bulundu. RPR pozitifliği en sık 3. grupta (% 56.4) bulunurken, negatiflik en sık 1. grupta (% 76.8) saptandı. RPR sonuçlarımızın EIA S/Co değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı Tablo 14'de gösterildi.

Tablo 14: RPR sonuçlarının EIA S/Co değerleri için oluşturulan 4 gruba göre dağılımı (Satır yüzdeleri esas alınmıştır).

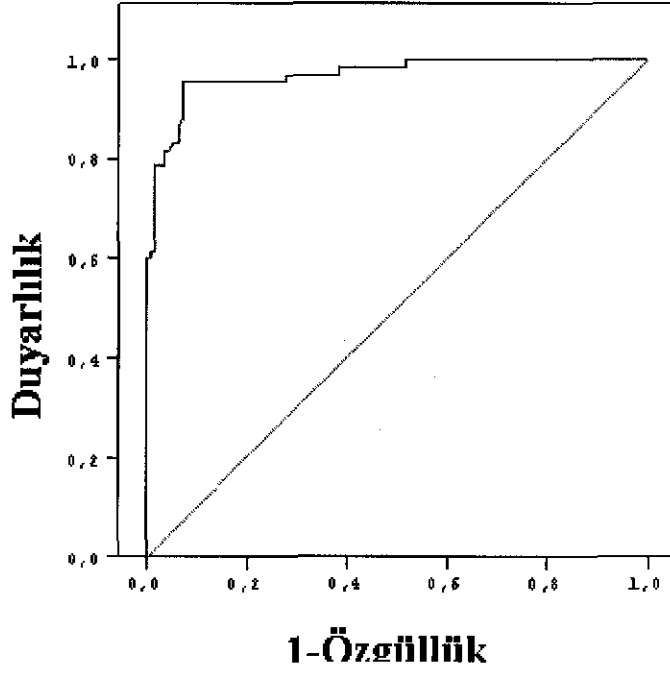
RPR	EIA				TOPLAM
	1.00–9.98 Sayı/ (%)	9.99–20.79 Sayı/ (%)	20.80–31.60 Sayı/ (%)	31.61–50.00 Sayı/ (%)	
Negatif	106 (76.8)	20 (14.5)	12 (8.7)	0 (0)	138 (100.0)
Pozitif	9 (23.1)	2 (5.1)	22 (56.4)	6 (15.4)	39 (100.0)
Toplam	115 (65)	22 (12.4)	34 (19.2)	6 (3.4)	177 (100.0)

6.4. “Receiver Operation Characteristics” (ROC) Analizi:

ROC analizi ile yapılan değerlendirmede, WB IgG ya da IgM testinden herhangi birinde pozitiflik saptanan serum örneklerinin doğrulama testleri pozitif olarak kabul edildi. Her iki WB testi negatif veya “borderline” saptanan örneklerle, WB IgM ya da WB IgG testlerinden biri negatif diğeri “borderline” saptanan örneklerin doğrulama test sonuçları negatif olarak kabul edildi. EIA testi ile pozitif bulunan örneklerin, en yüksek duyarlılık ve özgüllükle doğrulanabildiği S/Co oranını belirlemek için ROC analizi yapıldı. Buna göre Tablo 15’ de gösterildiği gibi, indeks değer 7.19 olarak belirlendiğinde EIA testi için duyarlılığın % 95.4 ve özgüllüğün % 92.9 olduğu gözlemlendi. ROC analizi sonucunda çizilen eğri altında kalan alan ise 0.968 olarak saptandı (% 95 güven aralığında 0.944–0.993). Bu değer “1”e yakın bir değer olduğu için yöntemin tanısal yeterliliği anlamlı bulundu. Şekil 5’de ROC analizi sonucu elde edilen eğri ve eğri altındaki alan gösterildi (WB IgM/WB

IgG ile yapılan değerlendirme) .

ROC Eğrisi



Şekil 5: ROC eğrisi ve eğri altında kalan alan (WB IgM/IgG ile yapılan değerlendirme)

Tablo 15: EIA S/Co değerleri için ROC analizi ile elde edilen duyarlılık ve özgülük sonuçları

EIA	Duyarlılık	1- Özgülük	EIA	Duyarlılık	1-Özgülük
,0000	1,000	1,000	2,2300	,985	,420
1,0100	1,000	,991	2,3500	,985	,411
1,0300	1,000	,982	2,3900	,985	,402
1,0500	1,000	,964	2,4300	,985	,393
1,0650	1,000	,946	2,4750	,985	,384
1,0750	1,000	,929	2,5000	,969	,384
1,0850	1,000	,911	2,5150	,969	,375
1,0950	1,000	,902	2,5300	,969	,366
1,1050	1,000	,884	2,5500	,969	,357
1,1150	1,000	,866	2,6000	,969	,348
1,1250	1,000	,857	2,6550	,969	,339
1,1350	1,000	,839	2,7350	,969	,330
1,1500	1,000	,830	2,8150	,969	,321
1,1650	1,000	,813	2,8350	,969	,313
1,1850	1,000	,804	2,8450	,969	,304
1,2050	1,000	,795	2,8800	,969	,295
1,2150	1,000	,786	2,9350	,969	,286
1,2300	1,000	,777	3,0200	,969	,277
1,2450	1,000	,768	3,0850	,954	,277
1,2650	1,000	,759	3,0950	,954	,268
1,2900	1,000	,741	3,1150	,954	,259
1,3100	1,000	,732	3,1850	,954	,250
1,3250	1,000	,714	3,2900	,954	,241
1,3500	1,000	,705	3,6100	,954	,232
1,3850	1,000	,688	3,8850	,954	,223
1,4150	1,000	,679	4,0300	,954	,214
1,4350	1,000	,661	4,1800	,954	,205
1,4450	1,000	,652	4,2450	,954	,196
1,4550	1,000	,643	4,5200	,954	,188
1,4800	1,000	,634	4,7700	,954	,179
1,5250	1,000	,616	4,9850	,954	,170
1,5550	1,000	,598	5,2200	,954	,161
1,5750	1,000	,589	5,2950	,954	,152
1,6000	1,000	,571	5,3900	,954	,134
1,6350	1,000	,563	5,5150	,954	,125
1,6700	1,000	,554	5,6200	,954	,116
1,6950	1,000	,536	5,9350	,954	,107
1,7150	1,000	,527	6,6200	,954	,089
1,7250	1,000	,518	7,0900	,954	,080
1,7450	,985	,518	7,1900	,954	,071
1,7700	,985	,509	7,4700	,938	,071
1,8000	,985	,500	8,0050	,923	,071
1,8550	,985	,482	8,8500	,908	,071
1,9050	,985	,473	9,4150	,892	,071
1,9600	,985	,464	9,5450	,877	,071
2,0150	,985	,455	9,7300	,862	,063
2,0450	,985	,438	10,3200	,846	,063
2,1000	,985	,429	11,1850	,831	,063

Tablo 15'in devamı

EIA	Duyarlılık	1- Özgüllük	EIA	Duyarlılık	1- Özgüllük
12,1850	,831	,054	28,4700	,154	,000
13,0450	,815	,045	29,1150	,138	,000
13,6800	,815	,036	30,0750	,123	,000
14,3650	,785	,036	31,0550	,108	,000
14,8400	,785	,027	32,2750	,092	,000
15,1100	,785	,018	33,3250	,077	,000
15,2400	,769	,018	33,5200	,062	,000
15,3200	,754	,018	35,8550	,046	,000
15,6300	,738	,018	39,6750	,031	,000
15,9800	,723	,018	42,2200	,015	,000
16,5150	,708	,018	44,1200	,000	,000
17,0850	,692	,018			
17,2700	,677	,018			
17,7700	,662	,018			
18,5000	,646	,018			
18,9100	,631	,018			
19,8000	,615	,018			
20,6350	,615	,009			
20,9500	,600	,009			
21,5050	,600	,000			
22,0100	,585	,000			
22,2700	,569	,000			
22,4850	,554	,000			
22,7800	,538	,000			
22,9650	,523	,000			
23,0850	,508	,000			
23,2100	,492	,000			
23,5650	,477	,000			
24,2150	,462	,000			
24,7750	,446	,000			
25,1750	,431	,000			
25,5900	,415	,000			
25,8100	,400	,000			
25,9200	,385	,000			
26,0100	,369	,000			
26,1100	,354	,000			
26,2150	,338	,000			
26,2750	,323	,000			
26,4700	,308	,000			
26,6300	,292	,000			
26,6500	,277	,000			
26,7850	,262	,000			
26,9450	,246	,000			
26,9900	,231	,000			
27,2050	,215	,000			
27,5100	,200	,000			
27,7750	,185	,000			
27,9750	,169	,000			

6.5. İndeks S/Co Değerine Göre WB IgM/IgG Testinin Değerlendirilmesi

ROC analizi ile bulunan 7.19 S/Co indeks değeri sınır kabul edildiğinde, toplam 177 serum örneğinin 107'sinin (% 60.5) bu sınırın altında, 70'ininse (% 39.5) bu sınıra eşit veya üstünde S/Co değerine sahip olduğu görüldü. WB IgM+IgG sonuçlarının saptanan indeks S/Co değeri için oluşturulan 2 gruba göre dağılımları Tablo 16'da gösterildi.

Tablo 16: WB IgM+IgG sonuçlarının EIA ≥ 7.19 ve < 7.19 S/Co gruplarına göre dağılımı (Sütun yüzdeleri esas alınmıştır)

EIA S/Co	WB IgM+G		Toplam Sayı/ (%)
	Pozitif Sayı/ (%)	Negatif+“borderline” Sayı/ (%)	
≥ 7.19	62 (95.4)	8 (% 7.1)	70 (39.5)
< 7.19	3 (4.6)	104 (92.9)	107 (60.5)
Toplam	65 (100.0)	112 (100.0)	177 (100.0)

6.6. İndeks S/Co Değerine Göre RPR Testinin Değerlendirilmesi

EIA yöntemi ile pozitif bulunan 177 serum örneği ile yapılan RPR çalışmalarında 138 (% 78) örnek negatif, 39 (% 22) örnek pozitif bulundu. RPR test sonuçları çalışmada belirlenen indeks S/Co değeri (7.19) dikkate alınarak 2 grup altında Tablo 17'de gösterildi. EIA S/Co değeri indeks değerinin altında kalan örneklerin % 93.5'i RPR negatif bulundu. İndeks değere eşit veya üstünde EIA S/Co değerleri olan örneklerde ise RPR % 54.3 oranında negatif ve % 45.7 oranında pozitif olarak saptandı. Tüm pozitif RPR sonuçları değerlendirildiğinde pozitif bulunan toplam 39 serum örneğinin sadece 7'si (% 18) “ < 7.19 ” grubunda yer almaktadır. Geriye kalan 32 (% 82) pozitif örneğin “ ≥ 7.19 ” grubunda olduğu görüldü. Pozitif RPR örneklerin dilüsyonu ile yapılan çalışma sonuçlarına göre, en düşük 1/128 dilüsyonda pozitiflik görüldü. RPR dilüsyonlu çalışma sonuçları için, $\geq 1/4$ dilüsyonda pozitif olan 20 serum örneğinin 1'i dışında tümünün “ ≥ 7.19 ” S/Co değerine sahip olduğu ve referans testle doğrulandığı görüldü. $\geq 1/8$ dilüsyonda pozitif olan

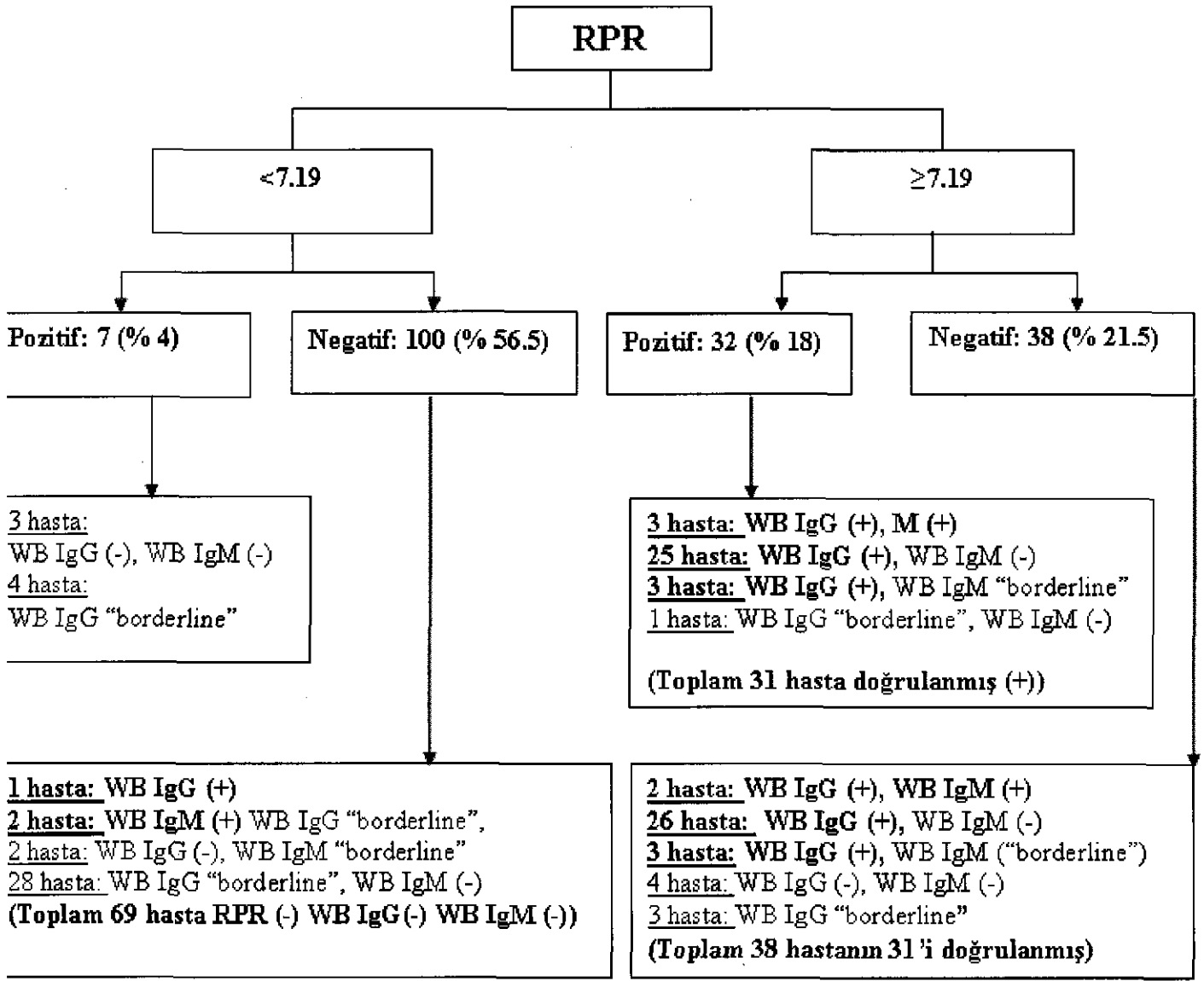
serumların ise tamamının “ ≥ 7.19 ” S/Co değerli grupta yer aldığı ve tamamının referans testimizle doğrulandığı saptandı.

Tablo 17: RPR sonuçlarının EIA ≥ 7.19 ve < 7.19 S/Co gruplarına göre dağılımı (Sütun yüzdeleri esas alınmıştır).

RPR	EIA		TOPLAM
	< 7.19 Sayı/ (%)	≥ 7.19 Sayı/ (%)	
Negatif	100 (93.5)	38 (54.3)	138 (78)
1/1 Pozitif	3 (2.8)	6 (8.6)	9 (5.1)
1/2 Pozitif	3 (2.8)	7 (10)	10 (5.6)
1/4 Pozitif	1 (0.9)	7 (10)	8 (4.5)
1/8 Pozitif	0 (0)	4 (5.7)	4 (2.3)
1/16 Pozitif	0 (0)	2 (2.9)	2 (1.1)
1/32 Pozitif	0 (0)	4 (5.7)	4 (2.3)
1/64 Pozitif	0 (0)	1 (1.4)	1 (0.6)
1/128 Pozitif	0 (0)	1 (1.4)	1 (0.6)
TOPLAM	107 (100.0)	70 (100.0)	177 (100.0)

RPR sonuçlarının WB IgG ve WB IgM sonuçları ile karşılaştırılması Şekil 6'de özetlendi. Bu sonuçlara göre, RPR pozitif ve " < 7.19 " grubu içinde yer alan örneklerin hiçbiri WB testleri ile doğrulanmadı. Ancak bu grup içinde yer alan 4 serum örneğinde WB IgG testi "borderline" bulundu. Yine aynı grupta RPR negatif bulunan örneklerden biri WB IgG, ikisi WB IgM pozitif bulundu. Kalan örneklerin 28'inde WB IgG, 2'sinde WB IgM "borderline" olarak saptandı. Bu gruptaki 69 örnekteyse RPR ve her iki WB testi negatif bulundu.

EIA S/Co değeri " ≥ 7.19 " grubunda yer alan örneklerin 32'si RPR ile pozitif bulundu. Pozitif bulunan bu örneklerden biri dışında tümü WB IgG ve/veya WB IgM testleri ile doğrulandı. Doğrulanmayan örnekte ise WB IgG testi "borderline" WB IgM testi negatif bulundu. RPR testi ile pozitif bulunan serumlardan yalnızca 3 hastanın WB IgM sonucu pozitif saptandı. RPR testi ile negatif bulunan 38 serum örneğinin 31'i ise, WB testleri ile doğrulandı. Bu bulgulara göre, " ≥ 7.19 " grubu içinde WB testleri ile doğrulanan 31 örneğin RPR testi negatif sonuç verdi.



Şekil 6: RPR sonuçlarının WB IgM ve WB IgG sonuçları ile karşılaştırılması

6.7. Antijen bölgelerine göre WB IgM ve IgG Test Sonuçları:

Çalışmada referans yöntem olarak kabul edilen WB yöntemi ile pozitif veya “borderline” bulunan örnekler için antijen bölgeleri değerlendirildi. Çalışmaya alınan 177 örneğin hiçbirinde WB IgM ve IgG testlerinde nonspesifik antijen olarak bulundurulmuş p22 antijen bölgesinde pozitifliğe rastlanmadı. Referans yöntemle doğrulanmış pozitif örneklerin ve “borderline” örneklerin antijen bölgeleri Tablo 18, 19, 20, 21 ‘de gösterildi.

Sonuçlar incelendiğinde WB IgG pozitif örneklerin % 69.8’inde TpN15, TpN17, TmpA ve TpN47 antijenlerinin dördünün de pozitif olduğu görüldü. Ayrıca, pozitif örneklerde en sık TpN47 antijenine karşı antikor pozitifliği saptandı. WB IgG “borderline” sonuçları arasında tek bant pozitifliği en fazla TpN47 bandında saptandı. Ancak “Architect ©Sifiliz TP” testinde yalnızca TpN15, TpN17 ve TpN47 bantlarına karşı antikor araştırılmaktadır. Bu nedenle, çalışmanın bir kısıtlılığı olarak tek başına TmpA bant pozitiflik oranı değerlendirilemedi. Ayrıca 4 örnekte birden fazla antijene karşı WB IgG ile zayıf antikor yanıtı saptandı.

Toplam 7 örnekte WB IgM testi pozitif sonuç verdi. Bunlardan 3’ünde tek bant pozitifliği diğerlerinde birden fazla bant pozitifliği görüldü. WB IgM testinde ise TpN15, TpN17, TpN47 bant pozitifliğinin eşit oranda olduğu saptandı. Ancak WB IgM “borderline” sonuçları arasında en fazla TpN17 bandında zayıf reaksiyon saptandı.

Tablo 18: WB IgG testi pozitif antijen bölgeleri

WB IgG Pozitif Örneklerin Antijen bölgeleri	Sayı	%
Pozitif TpN15, 17, 47, TmpA	44	69.8
Pozitif p TpN15, 17, 47	7	11.1
Pozitif p TpN15, 47	6	9.5
Pozitif TpN17, 47, TmpA	2	3.2
Pozitif TpN47, TmpA	1	1.6
Pozitif TpN15, 17	1	1.6
Pozitif p TpN15, 17, TmpA	1	1.6
Pozitif TpN17, TmpA	1	1.6
Toplam	63	100.0

Tablo 19: WB IgG testi “borderline” antijen bölgeleri

WB IgG “Borderline” Örneklerin Antijen Bölgeleri	Sayı	%
“Borderline” TpN47	25	69.4
“Borderline” TpN15	5	13.9
“Borderline” TpN17	2	5.5
“Borderline” TpN15, 17, TmpA	1	2.8
“Borderline” TpN15, 17	1	2.8
“Borderline” TpN15, 47	1	2.8
“Borderline” TpN17, TmpA	1	2.8
Toplam	36	100.0

Tablo 20: WB IgM testi pozitif antijen bölgeleri

WB IgM Pozitif Örneklerin Antijen bölgeleri	Sayı	%
Pozitif TpN17	2	29
Pozitif TpN17, TmpA	1	14
Pozitif TpN47, TmpA	2	29
Pozitif TpN17, 47, TmpA	1	14
Pozitif TpN47	1	14
Toplam	7	100.0

Tablo 21: WB IgM testi “borderline” antijen bölgeleri

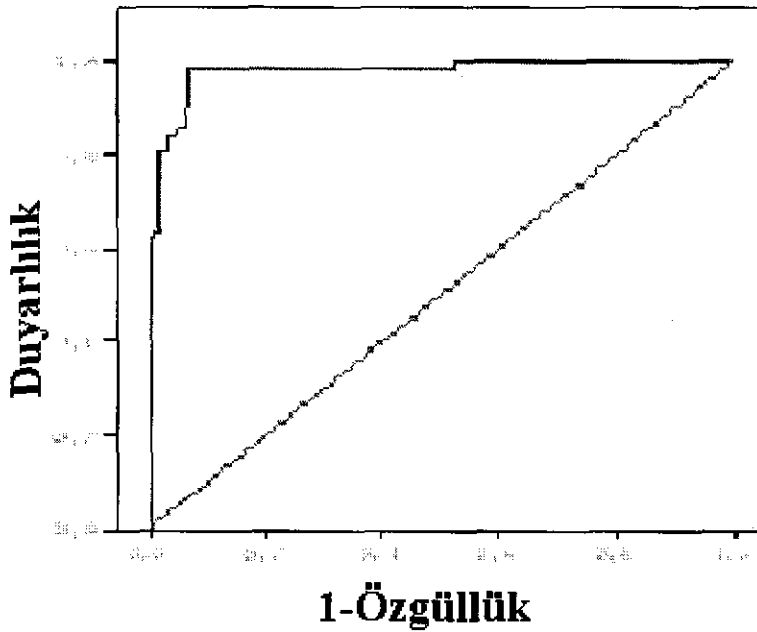
WB IgM “Borderline” Örneklerin Antijen Bölgeleri	Sayı	%
“Borderline” TpN17	5	62.5
“Borderline” TpN47	2	25
“Borderline” TpN47, TmpA	1	12.5
Toplam	8	100.0

6.8. Tek başına WB IgG testinin değerlendirilmesi:

Bu çalışmada, indeks değer belirlenirken WB IgG ve WB IgM sonuçları birlikte değerlendirildi. Ancak yalnızca 7 örnekte WB IgM testi pozitif bulundu. Bu nedenle, indeks değer belirlenmesinde WB IgM testinin etkisinin az olabileceği düşünüldü. Bu hipotezi değerlendirebilmek için yalnızca WB IgG testi pozitif olan hastalarla ROC analizi yeniden yapıldı.

Tek başına WB IgG sonuçlarına göre yapılan ROC analizinde Tablo 22' de gösterildiği gibi duyarlılığın ve özgüllüğün en yüksek olduğu S/Co değeri: 7.19 olarak saptandı. Bu değerde duyarlılık % 98.4, özgüllük % 93.0 olarak bulundu. Eğri altında kalan alanın ise 0.978 olduğu görüldü (% 95 güven aralığında 0.958–0.998). Bu değer "1"e yakın bir değer olduğu için yöntemin tanısal yeterliliği anlamlı bulundu. Şekil 7' da ROC analizi sonucu elde edilen eğri ve eğri altındaki alan gösterildi. Aynı zamanda tek başına WB IgG testine göre yaptığımız ROC analiziyle saptadığımız indeks değer belirlenmesine karşın, duyarlılık, özgüllüğün daha yüksek ve eğri altında kalan alanın ise "1"e daha yakın olduğu görüldü.

ROC Eğrisi



Şekil: 7: ROC eğrisi ve eğri altında kalan alan (WB IgG testi ile yapılan değerlendirme)

Tablo 22: EIA S/Co değerleri için ROC analizi ile elde edilen duyarlılık ve özgüllük sonuçları (WB IgG)

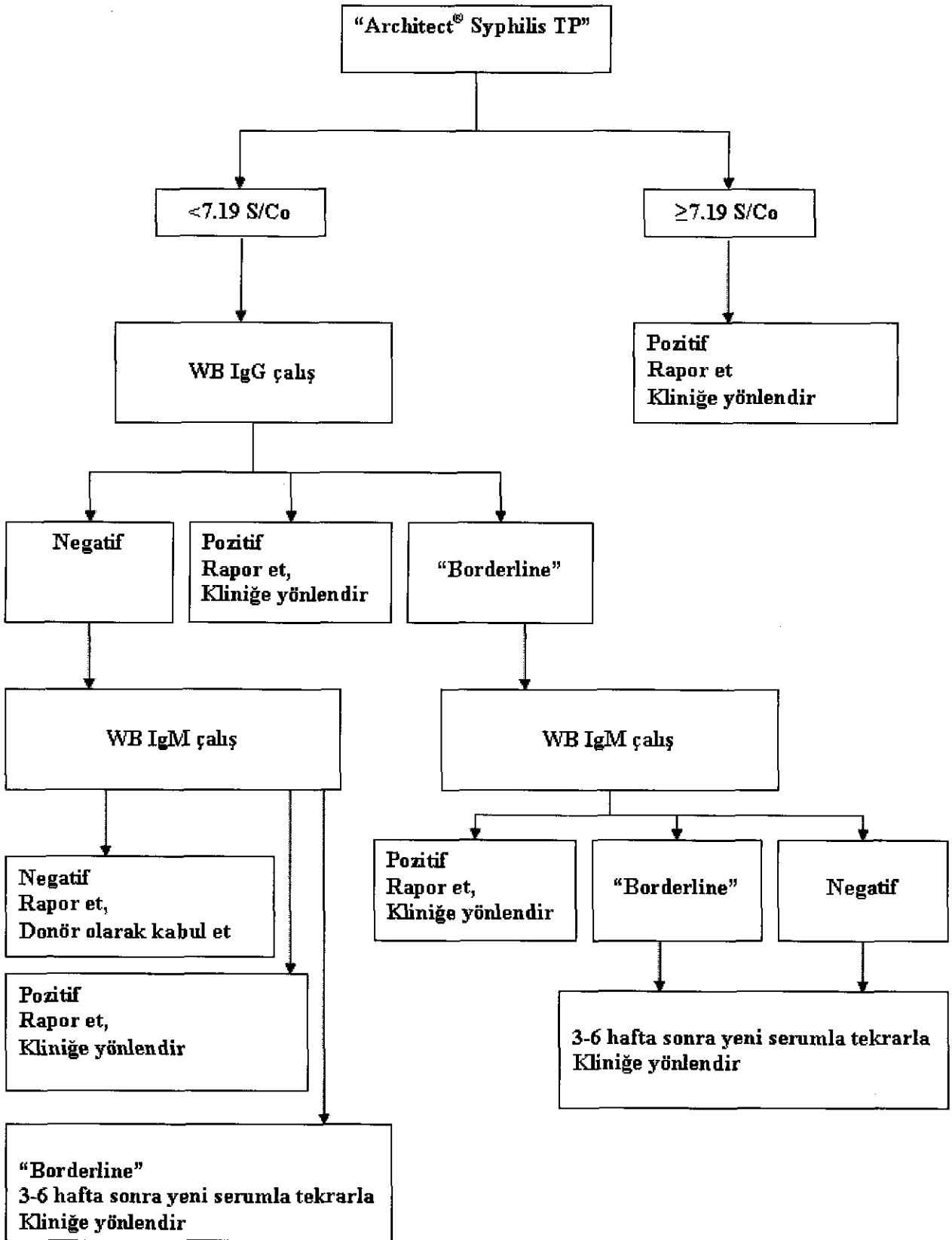
ELISA	Duyarlılık	1- zgllk	ELISA	Duyarlılık	1- zgllk
,0000	1,000	1,000	2,0450	,984	,447
1,0100	1,000	,991	2,1000	,984	,439
1,0300	1,000	,982	2,2300	,984	,430
1,0500	1,000	,965	2,3500	,984	,421
1,0650	1,000	,947	2,3900	,984	,412
1,0750	1,000	,930	2,4300	,984	,404
1,0850	1,000	,912	2,4750	,984	,395
1,0950	1,000	,904	2,5000	,984	,386
1,1050	1,000	,886	2,5150	,984	,377
1,1150	1,000	,868	2,5300	,984	,368
1,1250	1,000	,860	2,5500	,984	,360
1,1350	1,000	,842	2,6000	,984	,351
1,1500	1,000	,833	2,6550	,984	,342
1,1650	1,000	,816	2,7350	,984	,333
1,1850	1,000	,807	2,8150	,984	,325
1,2050	1,000	,798	2,8350	,984	,316
1,2150	1,000	,789	2,8450	,984	,307
1,2300	1,000	,781	2,8800	,984	,298
1,2450	1,000	,772	2,9350	,984	,289
1,2650	1,000	,763	3,0200	,984	,281
1,2900	1,000	,746	3,0850	,984	,272
1,3100	1,000	,737	3,0950	,984	,263
1,3250	1,000	,719	3,1150	,984	,254
1,3500	1,000	,711	3,1850	,984	,246
1,3850	1,000	,693	3,2900	,984	,237
1,4150	1,000	,684	3,6100	,984	,228
1,4350	1,000	,667	3,8850	,984	,219
1,4450	1,000	,658	4,0300	,984	,211
1,4550	1,000	,649	4,1800	,984	,202
1,4800	1,000	,640	4,2450	,984	,193
1,5250	1,000	,623	4,5200	,984	,184
1,5550	1,000	,605	4,7700	,984	,175
1,5750	1,000	,596	4,9850	,984	,167
1,6000	1,000	,579	5,2200	,984	,158
1,6350	1,000	,570	5,2950	,984	,149
1,6700	1,000	,561	5,3900	,984	,132
1,6950	1,000	,544	5,5150	,984	,123
1,7150	1,000	,535	5,6200	,984	,114
1,7250	1,000	,526	5,9350	,984	,105
1,7450	,984	,526	6,6200	,984	,088
1,7700	,984	,518	7,0900	,984	,079
1,8000	,984	,509	7,1900	,984	,070
1,8550	,984	,491	7,4700	,968	,070
1,9050	,984	,482	8,0050	,952	,070
1,9600	,984	,474	8,8500	,937	,070
2,0150	,984	,465	9,4150	,921	,070

Tablo 22'nin devamı

ELISA	Duyarlılık	1- Özgüllük	ELISA	Duyarlılık	1- Özgüllük
9,5450	,905	,070	26,9900	,238	,000
9,7300	,889	,061	27,2050	,222	,000
10,3200	,873	,061	27,5100	,206	,000
11,1850	,857	,061	27,7750	,190	,000
12,1850	,857	,053	27,9750	,175	,000
13,0450	,841	,044	28,4700	,159	,000
13,6800	,841	,035	29,1150	,143	,000
14,3650	,810	,035	30,0750	,127	,000
14,8400	,810	,026	31,0550	,111	,000
15,1100	,810	,018	32,2750	,095	,000
15,2400	,794	,018	33,3250	,079	,000
15,3200	,778	,018	33,5200	,063	,000
15,6300	,762	,018	35,8550	,048	,000
15,9800	,746	,018	39,6750	,032	,000
16,5150	,730	,018	42,2200	,016	,000
17,0850	,714	,018	44,1200	,000	,000
17,2700	,698	,018			
17,7700	,683	,018			
18,5000	,667	,018			
18,9100	,651	,018			
19,8000	,635	,018			
20,6350	,635	,009			
20,9500	,619	,009			
21,5050	,619	,000			
22,0100	,603	,000			
22,2700	,587	,000			
22,4850	,571	,000			
22,7800	,556	,000			
22,9650	,540	,000			
23,0850	,524	,000			
23,2100	,508	,000			
23,5650	,492	,000			
24,2150	,476	,000			
24,7750	,460	,000			
25,1750	,444	,000			
25,5900	,429	,000			
25,8100	,413	,000			
25,9200	,397	,000			
26,0100	,381	,000			
26,1100	,365	,000			
26,2150	,349	,000			
26,2750	,333	,000			
26,4700	,317	,000			
26,6300	,302	,000			
26,6500	,286	,000			
26,7850	,270	,000			
26,9450	,254	,000			

6.9. “Architect® Syphilis TP” Testi İçin Tanı Algoritma Önerisi:

Kan merkezlerinde sifiliz taraması genellikle RPR veya VDRL gibi nontreponemal testlerle yapılmaktadır. Otomasyonla uyumlu EIA testlerinin kullanıma girmesi ile birlikte, sifiliz taramasında bu testleri kullanan kan merkez sayısında bir artış beklenmektedir. Ancak bu testlerle elde edilen sonuçları donörler için yorumlarken yaşanan güçlüklerde tanı algoritmalarına gereksinim duyulmaktadır. Bu amaçla, çalışma sonuçları dikkate alınarak “Architect® Syphilis TP” testi bir tanı algoritması önerildi (şekil 8).



Şekil 8: "Architect® Syphilis TP" testi için öngörülen tanı algoritması

7. TARTIŞMA:

Tedavi amaçlı kan transfüzyonunun yaygın olarak kullanılmaya başlaması ile birlikte farklı türde komplikasyonlarla karşılaşmıştır. Bu komplikasyonların büyük çoğunluğunun önlenabilir ya da tedavi edilebilir olduğu bilinmektedir. Ancak tüm gelişmelere karşın transfüzyon ile bulaşan enfeksiyonlar transfüzyon alanında halen en önemli gündemi oluşturmaya devam etmektedir. Güvenli transfüzyon için verici kanlarının enfeksiyon etkeni içermediğinin doğru ve hızlı sonuç veren testlerle saptanması gerekmektedir (156).

Yapılan araştırmalarda sifiliz enfeksiyonu sıklığında bir artış olduğu bildirilmektedir. (3–6). Seropozitiflikte görülen bu artış özellikle kan merkezleri açısından önemlidir. Sifiliz tanısında kullanılan testler treponemal ve non treponemal olmak üzere iki grup altında değerlendirilmektedir. Son yıllarda treponemal testlerden olan EIA testleri de pek çok tanı laboratuvarında ve kan merkezinde tarama testleri arasında kullanıma girmiştir. Bu testlerin çok sayıda serum örneğini aynı anda çalışabilmesi, kolay uygulanabilmesi, hızlı sonuç vermesi ve değerlendirmenin objektif olarak yapılabilmesi avantajları arasında sayılmaktadır.

EIA testlerinde yaygın olarak rekombinant sifiliz antijenleri kullanılmakta ve *T. pallidum*'a karşı oluşan IgM ve IgG antikorları saptanabilmektedir (109, 129, 144–146).

Primer sifiliz semptomlarının olduğu dönemde, birçok hastada saptanabilir IgM ve IgG antikor yanıtı olduğu gösterilmiştir (97). Ancak bu dönemden önce, enfeksiyonun kazanılmasından 2–4 hafta sonrasına kadar geçen sürede, yalnızca IgM yanıtının saptanabildiği kısa bir pencere dönemi bulunmaktadır. Bu nedenle tek başına IgG yanıtını saptayan testlere göre IgG ve IgM yanıtını birlikte saptayabilen EIA testlerinde duyarlılığının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (97, 126, 157, 158).

Bir laboratuvar testinin özgüllüğü doğrulama testlerine duyulan ihtiyaç, dolayısıyla maliyet ve iş yükü açısından önemlidir. Yaklaşık olarak yılda 20.000 örneğin incelendiği bir laboratuvarında, kullanılan tarama testi için özgüllüğün % 0.5 azalması, ekstra olarak 100 örneğin doğrulanmasını gerektirmektedir. Bu da yaklaşık olarak 1500–3000 £ ek maliyet getirmektedir (157). Bu nedenle, tarama testi olarak seçilen testin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması istenir. Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi (DEUH) Kan Merkezinde 20.07.2006 tarihinden sonra “Architect® Syphilis TP” testi kullanılmaya başlanmıştır. EIA yöntemi ile çalışılan bu test sifilize karşı oluşmuş IgM ve IgG yanıtının

varlığına bakmaktadır. Literatür incelendiğinde testin duyarlılığı ve özgüllüğünün sifilizin tüm evreleri için sırasıyla, % 99.2–100 ve % 98.4–99.1 olduğu bildirilmektedir (142, 159).

Yapılan çalışmalarda, kan merkezlerinde EIA yöntemi ile saptanan sifiliz pozitifliklerinde yalancı pozitiflik olabildiği belirtilmektedir (160, 161). Yalancı pozitiflik kan merkezlerinde kan ve kan ürünü, maliyet, iş gücü ve en önemlisi de donör kaybına neden olmaktadır. Tarama testleri ile pozitifliğin saptanması durumunda ileri inceleme testleri ile pozitifliğin doğrulanması önerilmektedir (15, 16). Ancak bu önerilere karşın birçok kan merkezi alt yapı eksiklikleri, yorumlama zorluğu ve yüksek maliyet nedeniyle, doğrulama testi çalışmadan yalnızca pozitif tarama testi sonucuna göre rapor vermektedir.

CDC, HCV enfeksiyonu tanısında doğrulama testinin uygulanmasına kolaylık getirmek için, tarama testi sonuçlarındaki S/Co değerlerini dikkate alan bir uygulama önermiştir (17). Bu öneride, test indeks S/Co (serum örneği /eşik değeri) değeri, ileri incelemelere geçme kararının verilmesinde yardımcı bir gösterge olarak kullanılmaktadır. İndeks değerinin üstünde kalan örneklerin gerçek pozitif olduğu ve doğrulama testi çalışılmasına gerek olmadığı belirtilmektedir. Bu öneri ile laboratuvarların doğrulama maliyeti azalmakta ve hastaların daha kısa sürede klinisyene ulaşmaları mümkün olmaktadır. Literatürde yapılan incelemede sifiliz için benzer indeks değer bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada “Architect® Syphilis TP” testi için indeks değer belirlenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmada referans yöntem olarak WB yöntemi seçilmiştir. Referans yöntem belirlenmeden önce literatür incelemesi yapılmış ve hangi testin referans test olarak alınması konusunda görüş birliği bulunmadığı görülmüştür (15, 108, 146, 162). Bu çalışmada, düşük EIA S/Co değerli örneklerde yalancı pozitiflikleri saptayabilmek ve gerçek pozitiflerden ayırt edebilmek önemliydi. Referans yönteminde yalancı pozitiflik oranının az olması gerekliydi. WB testinin diğer treponemal testlerden olan FTA-ABS, TPHA, TPI gibi testlere göre yalancı pozitiflik oranlarının çok daha az olması; daha yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermesi; okuma tekniğinin otomasyon sayesinde objektif olması referans yöntem olarak seçilmesinde belirleyici oldu. Yapılan çalışmalarda WB yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %99.2–100 olarak bildirilmektedir (131, 133–135, 137, 140, 159).

Hastanemiz kan merkezinde EIA yöntemi ile sifiliz pozitifliği saptandığında test tekrar edilmekte ve ikinci çalışmada da pozitif bulunan örnekler pozitif olarak rapor edilmektedir. Sifiliz pozitif kişilerden kan alınmamakta ve kişinin adı donör listesinden çıkartılmaktadır. Çalışmada EIA S/Co değerlerine göre yapılan gruplamaya göre örneklerin

% 66'sı düşük S/Co (1.00–9.98) değerine sahiptir. Bu grupta referans yöntemle doğrulanmış örnek sayısı yalnızca 8'dir (% 12.7). EIA S/Co değerleri yükseldikçe doğrulanma oranının da arttığı gözlenmektedir. Tüm örneklerin WB sonuçları değerlendirildiğinde toplam 112 (% 63.3) EIA pozitif serum örneğinin doğrulanmadığı görülmektedir. Bu durum EIA pozitif örneklerin doğrulanması gerektiğini göstermektedir.

Bu çalışmada, EIA sonuçlarımız referans testimiz olan WB testi ile karşılaştırılarak "Architect® Syphilis TP" testi için ROC analizi yapıldı ve indeks değeri olarak "7.19" S/Co değeri saptandı. Bu değer için ROC analizimize göre duyarlılık % 95.4, özgüllük % 92.9 olarak belirlendi. Bulunan indeks değere göre, "Architect® Syphilis TP" testi ile " ≥ 7.19 " S/Co değeri olan örnekler için doğrulama testlerine gerek duyulmayacak ve sonuç pozitif olarak bildirilecektir. Sadece " < 7.19 " S/Co değerleri için doğrulama testleri yapılacaktır. EIA pozitif örneklerin doğrulanması gerektiği düşünüldüğünde, indeks değer uygulaması ile doğrulama testlerinde % 39.5 oranında bir tasarruf sağlanacaktır. İndeks değerinin altında S/Co değerlerine sahip örnekler için doğrulama testi sonucuna göre rapor verilecektir. Bu çalışma sonuçlarına göre, örneklerin 107'si (% 60.5) " < 7.19 " altında S/Co değere sahiptir. Bu örneklerin yalnızca 3 tanesi (% 4.6) doğrulandı, geriye kalan 104 örnekte (% 92.9) EIA'nın yalancı pozitif sonuç verdiği sonucuna varıldı. İndeks değerinin altında S/Co değerlerine sahip örneklerin sonuçlarının doğrulanarak rapor edilmesi ile bu hastaların çok büyük bir kısmının geri kazanımı mümkün görünmektedir.

Ülkemiz de dahil olmak üzere, dünya çapında pek çok laboratuvar ve kan merkezi sifiliz taramasında ucuz ve kolay olması nedeniyle sifiliz taraması için halen RPR testini kullanmaktadır (3, 163–165). Hastanemiz kan merkezinde geriye dönük olarak yapılan 2 yıllık değerlendirmede, 2004–2006 yılları arasındaki sifiliz RPR pozitifliği ortalamasının % 0.056 olduğu bulundu. EIA testinin kullanıldığı 2007–2009 yılları arasında saptanan sifiliz pozitiflik ortalaması ise % 0.51'dir. Her iki dönem arasında sifiliz pozitifliğinde yaklaşık olarak 10 katlık bir artış dikkati çekmektedir. Bu durumun olası bir nedeni sifiliz seroprevalansında bir artış olmasıdır. Ancak aynı yıllar için ülkemiz genelindeki Sağlık Bakanlığı verileri ve İzmir Bölgesinde yapılan istatistikler değerlendirildiğinde böyle bir artışla karşılaşmamıştır (18, 47, 51, 53). Bu nedenle, 10 katlık artışın yöntem farkından kaynaklanabileceğini düşünüldü ve RPR testi tanısal yeterlilik açısından değerlendirildi.

RPR testi, antilipoidal antikorları saptayan, antijen olarak içinde treponema antijeni bulunmayıp, normal organ ekstrelerinin kullanıldığı nontreponemal bir testtir. Nontreponemal testler; hasarlı konak hücrelerinden salınan kardiolipin ve diğer lipitlere karşı oluşan IgM ve IgG antikorlarını saptarlar. Nontreponemal antikor titreleri; aktif

enfeksiyonla korelasyon gösterirler, re-enfeksiyon hakkında bilgi verirler ve kantitatif çalışılabilirliklerinden tedavi takibinde kullanılabilirler. Antilipoidal antikorlar sadece treponema enfeksiyonları sonucunda oluşmaz, aynı zamanda otoimmün hastalıklar, gebelik, doku hasarı, akut ve kronik hastalıklarda da oluşabilir ve bu durumlarda yalancı pozitiflik görülebilir (120). Yalancı negatiflik ise özellikle erken ve geç dönem sifiliz olgularında görülebilmektedir. Sekonder sifilizde yüksek antikor titrelerine sahip hastalarda % 0.4–2 sıklıkta prozon fenomeni yalancı negatifliğe yol açabilmektedir (124, 166).

Ülkemizde nontreponemal testler ile reaktif bulunan donörden en az 12 ay kan alınmaz. Eğer pozitif nontreponemal test sonucu treponemal testlerle doğrulanmıyorsa ve vericide yalancı pozitifliğe yol açabilecek bir durum saptandıysa, doktor vericinin kan vermesine engel bir durumunun olmadığına ilişkin bir rapor düzenleyebilir ve kişiden tekrar kan alınabilir. Sifiliz geçiren ve bu nedenle tedavi olanlardan da, tedavinin bitmesinden sonra sağlıklı kalmak koşuluyla, ancak 12 ay sonra kan alınabilir (15, 16, 167, 168). Nontreponemal testlerle olası yalancı pozitif sonuçlarla sıkça karşılaşıldığı da düşünülürse RPR testinin özellikle de acil kan transfüzyonuna ihtiyaç duyulan kan merkezleri açısından önemli tanı sorunlarına yol açabildiği öngörülebilir (120, 166).

Bu çalışmada, RPR testi ile 177 serum örneğinden yalnızca 39'unda pozitiflik saptandı. Bulunan indeks S/Co değerine göre ise bu pozitifliklerin 7'si (% 18) “<7.19” S/Co, 32'si (% 82) ise “≥7.19” grubunda yer almaktadır. “<7.19” grubunda RPR testinin pozitif olarak saptadığı 7 serum örneğinden hiçbirisi WB testleri ile doğrulanmadı. Ancak 3'ünde TpN47, 1 serum örneğinde ise TpN15 antijen bölgesinde “borderline” sonuç bulundu. Bu 7 serum örneğinde RPR testinin yalancı pozitiflik göstermiş olabileceği düşünüldü.

Nontreponemal testlerdeki antikor titreleri aktif enfeksiyonla korelasyon göstermekte ve re-enfeksiyon hakkında bilgi vermektedir (120, 166). WB IgM testlerinin ise erken enfeksiyonu saptamada duyarlılığının yüksek olduğu bildirilmektedir (157, 169). Bu çalışmada, toplam 4 hastada EIA pozitif, RPR negatif sonuç verirken WB IgM testi pozitif bulundu. RPR testinin bu hastalardaki aktif enfeksiyonu yakalayamadığı düşünüldü.

Literatürde yapılan incelemede nontreponemal testlerle ilgili benzer sonuçlara ulaşan çalışmalara rastlanılmaktadır. Diggory P.'nin VDRL testinin sifiliz tanısındaki yerini araştırdığı bir çalışmada 90 hasta için TPHA testi pozitifken, VDRL testi negatif olarak bulunmuştur. Herhangi bir treponemal enfeksiyon kanıtı olmayan 12 hastada ise TPHA testi negatifken VDRL testi yalancı pozitiflik göstermiştir. VDRL testinin tüm

evreler için yalancı pozitif ve geç evre için de yalancı negatif sonuç verebildiği görülmüştür. Bu çalışmaya göre, VDRL testinin özellikle latent ve geç evre sifilizde başlangıç testi olarak tek başına kullanılması yeterli değildir (136).

RPR testinin birçok laboratuvarında ve kan merkezinde tarama testi olarak kullanılmasına karşın, literatürde tarama testi olarak treponemal testlerle başlanmasını öneren yayınlar da bulunmaktadır (162, 170). Çalışmada elde edilen bulgular bu önerileri destekler niteliktedir. Öncelikle, RPR testi çalışmada WB testi pozitif bulunan verici serumlarının yalnızca 31'inde (% 48) pozitif sonuç vermiştir. Tanı algoritmalarına göre 12 ay boyunca kan vermesi uygun olmayan 34 (% 52) hastada ise negatif bulunmuştur. Ayrıca RPR testi bu çalışmada WB IgM pozitif bulunan 7 örnekten yalnızca 3'ünde pozitif bulunmuştur. Bu nedenle, RPR'nin aktif enfeksiyonu yakaladığı varsayımının gözden geçirilmesi gerekmektedir. Özet olarak, güvenli olmayan transfüzyona yol açabileceği ve yalancı pozitif sonuçları nedeniyle donör kaybına neden olabileceği düşünüldüğünden kan merkezlerinde RPR'nin tarama testi olarak kullanılmasının uygun olmadığı düşünülmüştür.

RPR'nin dilüsyonlu yapılan çalışma sonuçları değerlendirildiğinde $\geq 1/4$ titre değerli 20 serum örneğinin sadece 1'i dışında tümünün EIA S/Co değerlerinin " ≥ 7.19 " olduğu görüldü. Ayrıca, $\geq 1/8$ titrede pozitif olan serumların tamamı " ≥ 7.19 " S/Co değerli grupta yer aldı ve bu serumların tamamı referans test ile doğrulandı. Bu bulgular RPR testinin $\geq 1/8$ titrede yalancı pozitif sonuç göstermediğini düşündürdü. Benzer bir sonuç Cornish N. tarafından da belirtilmiş ve çalışmada, nontreponemal testlerde $< 1/8$ titrelerde yalancı pozitif sonuçlar görülebildiği bildirilmiştir (170).

WB yönteminde *T. pallidum* antijenlerine karşı immun yanıtını araştırmak için birçok antijen bölgesi kullanılmaktadır. Bu polipeptidlerden en az 5'inin (TpN15, TpN17, TpN37, TpN47 ve TmpA) tanısal değeri bulunmaktadır (109, 134). Farklı klinik evrelerde olan hastaların serumlarıyla yapılan WB çalışmalarında ise TpN15, TpN17, TpN47 proteinlerinin immunodominant bölge olduğu konusunda fikir birliği vardır (73, 109, 134, 135). Bu çalışmada kullanılan WB testinde ("EUROIMMUN Anti-*Treponema pallidum* WESTERNBLOT IgM/G") fikir birliğine varılan immunodominant antijen bölgeleri ve TmpA/TpN44,5 (45 kDa) antijen bölgesi bulunmaktadır.

WB IgG sonuçlarımız için 63 (% 35.6) serum örneğinde pozitif ve 36 serum (% 20.3) örneğinde de "borderline" sonuç bulundu. Pozitif bulunan toplam 63 serum içinde yalnızca 9 serum örneğimizde iki antijen bölgesinde pozitiflik görüldü. Bu 9 serum örneğinin de 7 tanesinde TpN15 ve TpN47 bölgeleri pozitif. Pozitif örneklerin % 69.8'inde ise TpN15, TpN17, TmpA ve TpN47 antijenlerinin dördünde pozitif olduğu

görüldü. TpN47 bölgesi 60 serum örneğinde pozitif bulundu ve buna göre de pozitif örneklerde en sık karşılaşılan antijen bölgesi olarak belirlendi. TpN15 ve TpN17 bölgeleri sırasıyla, 59 ve 56 örnekte pozitif bulundu. Bu sonuçlar TpN47 bölgesinin tanıda en önemli antijen bölgesi olduğunu vurgulayan diğer çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulundu (135, 159, 171, 172).

Dang ve ark.'nın çalışmasında; sifiliz tanısı için TpN15, TpN17, TpN47 ve TmpA antijen bölgeleri primer ve sifiliz evreleri için araştırılmıştır. Primer sifiliz için WB IgG testinde en sık TpN47 ve TpN17 antijen bantlarının birlikte pozitifliği, sekonder sifiliz evresi için ise tüm bantlarda birlikte pozitiflik bulunmuştur. Primer ve sekonder sifiliz evreleri beraber değerlendirildiğinde ise en sık TpN47 antijen bölgesinde pozitiflik görülmüştür (172).

Marangoni ve ark.'nın "Architect @syphilis TP" testi ile pozitif buldukları serumlarla yaptıkları retrospektif çalışmada; WB testi ile de TpN15, TpN17, TpN47, TmpA antijen bölgeleri değerlendirilmiştir. WB testi sonuçlarına göre en sık TpN47 bölgesinde pozitiflik görülmüştür. Hiçbir serum örneği için ikiden fazla antijen bölgesinde pozitiflik görülmemiştir (159).

De Lemos ve ark. sifilizin klinik evrelerine göre WB IgG reaktivliğini değerlendirdiği çalışmada; WB testi için TpN15, TpN17, TpN33, TpN34, TpN37, TpN44 ve TpN47 antijen bölgeleri kullanılmıştır. Spesifik olan TpN15, TpN17 ve/veya TpN47 antijenlerinden en az birinin pozitif olması durumunda test pozitif kabul edilmiştir. TpN47 bantının enfeksiyonun tüm evrelerinde bulunduğu ancak primer evrede, latent ve geç evre sifilize göre daha güçlü bir reaksiyon olduğu görülmüştür. TpN17, TpN30 ve TpN37 antijenleri de primer sifiliz evresinde bulunabilmektedir. Latent evrede çeşitli bantların negatifleşmesine rağmen özellikle TpN15, TpN47 antijenlerinin reaktif olarak kaldığı, geç evrede ise TpN15 bantının reaktif olduğu ancak TpN47 bölgesindeki bant yoğunluğunun azaldığı görülmüştür. Testin özgüllüğü % 99.2 olarak bulunmuştur. De Lemos ve ark.'nın çalışmasında, WB IgG testinin sifiliz serolojisinde doğrulama testi olarak ve klinik evrelerin tanımlanmasında da kullanılabilecek bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır (135).

Bu çalışmada, WB IgG testi ile pozitif ve "borderline" örneklerde en az reaktivlik gösteren antijen bölgesinin ise TmpA olduğu görüldü. "Architect® Syphilis TP" testi TpN15, TpN17 ve TpN47 antijen bölgelerine karşı oluşmuş antikor yanıtının varlığını değerlendirmekteydi ve WB testlerinde bulunan TmpA antijen bölgesini içermiyordu. Bu nedenle, pozitif hasta örneklerinde TmpA reaktivliğinin diğer antijen bölgelerine göre daha

nadir saptanması, tarama testinde bu antijen bölgesinin yer almamasından kaynaklanmış olabilir.

Sambri ve ark.'nın çalışmasında ise çalışmamızdan farklı bir sonuç bulunmuştur. TpN15, TpN17, TpN47, TmpA ve TpN37 olarak 5 antijen bölgesini değerlendikleri çalışmada; TmpA rekombinant antijen bölgesinin enfeksiyonun tüm evrelerinde en sık pozitiflik (sekonder ve geç sifiliz evresinde % 100, primer sifilizde % 87.8 ve latent sifiliz evresinde ise % 98.6) gösterdiğini belirtmişlerdir. En az pozitifliğe ise TpN37 (% 41) bölgesinde rastlanmıştır (137).

Bryne ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada; TpN15,5, 17, 30, 33, 35, 38, 40, 47, TmpA antijen bölgeleri araştırılmış ve TpN15, 17, 47 ve TmpA antijen bölgelerinin bulunmasını yeni ve geçirilmiş enfeksiyonun kanıtı olarak kabul edilmiştir (134).

WB IgM değerlendirme kriterlerine göre bir örneğin pozitif kabul edilmesi için tek bant pozitifliği yeterlidir. Bu kritere göre 7 serum örneği WB IgM pozitif bulundu. İki serum örneğinde TpN17 ve 1 serum örneğinde de ise TpN47 antijen bölgesinde tek başına pozitiflik görüldü. Diğer 4 serumdan 2'sinde TpN47, TmpA; 1'inde TpN17, TmpA; son örnekte ise, TpN17, TpN47, TmpA birlikte pozitifliği saptandı. Bu sonuçlara göre, WB IgM için TpN17 ve TpN47 antijen bölgeleri eşit dağılımda bulunurken, pozitif örneklerin hiç birinde TpN15 reaktivliğine rastlanmadı. "Borderline" çıkan örneklerin antijen bölgelerine bakıldığında da TpN15 için durum aynıydı. .

Ancak, TpN15 bölgesinin enfeksiyonun tüm evrelerinde en yüksek duyarlılık ve özgüllüğü gösterdiğini belirten çalışmalara rastlanmaktadır. Meyer ve ark.'nın konjenital sifiliz tanısı için yaptıkları WB IgM çalışmasında 27 konjenital sifiliz tanısı almış infanтта değerlendirme yapmışlardır. 47 kDa (TpN47) ve 15 kDa'luk (TpN15) antijen bölgelerini semptomatik ve asemptomatik konjenital sifilizli hastalarda major immunojen bölgeleri olarak bulmuşlardır (171).

Backhouse ve ark.'nın çalışmasında TpN15, TpN17, TpN47 ve TmpA antijen bölgeleri kullanılmış ve treponemal enfeksiyon pozitifliği bulunan 98 seruma WB IgM ve IgG testlerini uygulamışlardır. 4 serum örneği dışında tüm sonuçlarında 4 antijen bölgesinin birlikte pozitifliği şeklinde bulmuşlardır. Bu sonuç bizim sonuçlarımızla uyumlu bulunmuştur. Tüm bantlarda TpN15, TpN17, TpN47 antijen bölgelerinde % 100 pozitiflik, TmpA bantında ise %96 pozitiflik görülmüştür. Tüm bantlar değerlendirildiğinde TpN15 antijen bölgesinin en yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterdiği ve treponemal enfeksiyonun en iyi göstergesi olan antijen bölgesi olduğu belirtilmiştir (133). TpN15 antijen bölgesi için literatür bilgisi ile bizim sonuçlarımızda bir çelişki

görülmektedir. Bu çelişki nedenini ortaya koyabilmek için değerlendirmenin daha fazla sayıda pozitif WB IgM sonucu ile yapılması uygun olacaktır. Ayrıca Backhouse ve ark. (133) WB testi için IgM ve IgG yanıtını değerlendirilmişlerdir. Pozitif olan bantların sayısında bizim çalışmamızdan farklı olarak IgG ve IgM testleri arasında fark bulunmamıştır. Ancak bu çalışmada WB IgM bant yoğunluklarının, WB IgG bantlarına göre daha az olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da WB IgM bantlarındaki reaktifliğin daha zayıf olduğu görüldü, bu sonuçla Backhouse ve ark.'nın çalışmasında benzer sonuç bulunmaktaydı.

WB IgG testinde % 69'u tek başına TpN47 bantında zayıf pozitiflik ("borderline") şeklinde görülmüştür. Pozitif sonuçlarımızda da en sık aynı antijen bölgesini bulduk. En az görülen antijen bölgesi ise pozitif ve "borderline" sonuçlarda da aynı olan TmpA antijen bölgesi olarak görüldü. WB IgG sonuçlarımız için 36 (% 20.3) serum örneğinde, WB IgM içinse 8 (% 4.5) serum örneğinde "borderline" sonuç bulunmuştur. "Borderline" sonuçlarımızın diğer çalışmalara göre fazla oranda olduğu gördük (134, 159). "Borderline" sonuçlarımızda en sık bulduğumuz TpN47 antijen bölgesindeki zayıf pozitiflikle uyumlu bulunan çalışma sonuçları literatürde de yer almaktadır. Backhouse ve ark. en sık TpN47 antijen bölgesinde zayıf pozitiflik (133), Marangoni ve ark. ise birer serum örneğinde TpN47 ve TpN17 antijen bölgelerine karşı zayıf bir reaksiyon saptamışlardır (159).

WB testlerinin sifiliz tanısı için kullanılmaya başlanmasından bu yana antijen bölgelerinin enfeksiyonun evreleriyle ilişkilerini ve duyarlılıklarını değerlendirmek amacıyla birçok araştırma yapılmıştır. Günümüzde sifiliz tanısında farklı saptama temeline dayanan ve farklı rekombinant antijenleri kullanan çok sayıda EIA testi de geliştirilmiş ve farklı EIA kitlerinin performansları karşılaştırılmıştır. Ancak antijen bölgelerine göre EIA testleri ile karşılaştırma çalışmaları bulunmamaktadır. EIA testlerinde daha çok EIA yöntemleri arası duyarlılık ve özgüllük farkları araştırılmıştır.

Schmidt ve ark.'nın çalışmasında antijen bölgesi, saptama temeli farklı olan ve IgM/IgG ya da her iki antikor yanıtını da saptayabilen 9 EIA kiti, 52 serum örneği ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre sandwich EIA prensibi ile çalışan testlerin duyarlılıkları, Capture ya da yarışmalı EIA yöntemlerine göre daha düşük bulunmuştur. Antijen bölgelerine göre ise duyarlılık en yüksek pürifiye *T. pallidum* lizat antijeni kullanan kitte bulunmuştur. TpN15, TpN17 ve TpN47 rekombinant antijenlerini kullanan "ICE® Syphilis ELISA" (Murex, Dartford, İngiltere) kiti, TpN15, TpN17 antijen bölgelerini kullanan "Bioelisa® Syphilis" (Biokit, Barcelona, İspanya) kitine göre daha yüksek duyarlılık göstermiştir. Her iki kitte de IgM ve IgG yanıtı birlikte

değerlendirilmektedir. Sadece TmpA antijen bölgesini değerlendiren “TmpA® ELISA” (Eurodiagnostica, Apeldoorn, Hollanda) kiti ise en düşük duyarlılığı (% 48.5) göstermiştir (143).

Marangoni ve ark.’nın yaptığı bir çalışmada TpN17 rekombinant antijenini kullanan CLIA (kemilüminesan immuno assay) prensibi ile çalışan “Liaison® Treponema Screen” (DiaSorin, Saluggia, Italy) kitinin performansı değerlendirilmiştir. TpN15 ve TpN17 rekombinant antijenlerini kullanan “EIA®” (Radim, Pomezia, İtalya) testine göre duyarlılığı daha yüksek, özgüllüğü ise aynı (% 99.9) bulunmuştur (140).

Marangoni ve ark.’nın yaptığı diğer çalışmada retrospektif olarak 3 serum paneli için “Enzygnost® Syphilis” (Behring Diagnostics, Almanya) ve “Architect® Syphilis TP” (Abbott Diagnostics, Japonya) testlerinin performansı değerlendirilmiştir. Serum panelleri; klinik ve serolojik olarak sifiliz enfeksiyonu kanıtlanmış 244 serum, biyolojik olarak yalancı pozitiflik gösterebilecek 74 serum ve sadece “Architect® Syphilis TP” testi ile pozitif olarak saptanmış ancak doğrulanmamış 129 serum örneğinden oluşmaktadır. Doğrulama testi olarak WB ve TPHA testleri kullanılmıştır. “Architect® Syphilis TP” biyolojik olarak yalancı pozitiflik gösterebilecek serumlardan sadece 1 örnekte yalancı pozitiflik göstermiştir. Bu çalışmaya göre, “Architect® Syphilis TP” testinin duyarlılığı % 99.2 ve özgüllüğü % 98.4 olarak bulunmuştur (159).

Young ve ark.’nın çalışmasında ise 129 serum örneğinde “Architect® Syphilis TP” nin performansı değerlendirilmiştir (79 primer sifiliz, 29 sekonder sifiliz, 9 erken latent ve 12 latent sifiliz serum örneği). Çalışmada serum örneklerinin “Architect® Syphilis TP” ile bulunan S/Co değerleri de gruplandırılmıştır. S/Co değerlerine göre primer sifiliz bulguları olan toplam 79 serum örneğinin 53’ünde S/Co değeri ≥ 10 , sekonder sifiliz hastalarına ait toplam 29 serum örneğinin ise 23’ünde S/Co değeri ≥ 10 olduğu görülmüştür. “Architect® Syphilis TP” testinin tüm evreler için duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.1 olarak saptanmıştır (142).

Literatürde yapılan incelemelerde sifiliz tanısı için farklı tanı algoritmalarının önerildiği görülmektedir. CDC ve FDA’nın önerileri doğrultusunda treponemal ya da nontreponemal testlerden herhangi biriyle tanı testine başlanabilmektedir (15, 16, 102). FDA’in önerileri doğrultusunda sifiliz tanısı için başlangıç testi olarak nontreponemal bir test kullanıldığında; nontreponemal test sonucu negatif bulunursa; donör, sifiliz enfeksiyonu negatif olarak kabul edilir ve kan alınabilmektedir (15). CDC’nin 2006 yılı cinsel yolla bulaşan hastalıklarla ilgili tedavi raporunda, sifiliz başlangıç taraması için EIA testleri gibi treponemal testleri tercih eden laboratuvarlar için tanı önerisinde

bulunmaktadır. Eğer treponemal test sonucu pozitif bulunursa; nontreponemal testle devam edilerek karar verilmelidir. Nontreponemal test sonucu da negatif bulunursa farklı bir treponemal test yapılmalıdır. İkinci treponemal test reaktif bulunursa klinisyenle birlikte tedaviye karar verilmelidir (102). Ancak bu algoritma önerilerinin hiçbirinde hangi testle başlanması gerektiği ve hangi doğrulama testinin yapılması gerektiği konusunda bir görüş birliği bulunmamaktadır.

Bu nedenlerle, sonuçlarımız ışığında kan bankamızda “Architect® Syphilis TP” testi için bir tanı algoritması önerisi oluşturduk. Bu algoritmayla kan merkezimizde, yüksek oranda rastladığımız düşük S/Co değerli EIA sonuçlarımızı değerlendirmek için ROC analizi ile EIA testimize yönelik bir indeks değeri bulduk. Bu indeks değerimize göre; EIA testimizle pozitif çıkan ve sadece “<7.19” değerli serum örneklerine WB IgG testi yapılmasını öngördük.

Bu algoritmaya göre “<7.19” değerli serum örneklerinde WB IgG testi pozitif saptanırsa bu hastalar pozitif olarak rapor edilip donör olarak kabul edilmeyecektir.

WB IgG testi negatif saptanırsa WB IgM testi yapılacaktır. Çünkü verilerimize göre WB IgG testi ile negatif saptadığımız 2 hastada WB IgM testi “borderline” olarak bulundu ve bu veriye dayanarak WB IgG testi sonucunda negatiflik saptansa da bu hastaların tekrar değerlendirilmesi gerektiği düşünöldü. WB IgM testinde de negatiflik saptanırsa hasta donör olarak kabul edilecektir. WB IgM testi pozitif saptanırsa hasta aktif sifiliz enfeksiyonu olarak kabul edilip klinik değerlendirmesinin yapılabilmesi için yönlendirilecek ve donör listesinden çıkarılacaktır. WB IgM testi “borderline” olarak saptanırsa, WB kiti için üretici firmanın önerisine göre 3–6 hafta sonra yeni serumla tekrar değerlendirilecektir.

WB IgG sonucu “borderline” bulunursa WB IgM testi yapılacaktır. WB IgM testi negatif ya da “borderline” bulunan hastalar 3–6 hafta sonra yeni serumla tekrar değerlendirilecektir ve klinik açıdan da değerlendirme yapılabilmesi için yönlendirilecektir. WB IgM testi pozitif bulunursa hasta aktif sifiliz enfeksiyonu olarak kabul edilecek ve donör listesinden çıkarılacaktır.

Bu çalışmada birçok kısıtlılık bulunmaktadır. Birincisi, bu çalışmada sadece EIA sonuçları pozitif olan serumlar çalışmaya dahil edildiğinden donörlerin sifilize ilgili öyküleri, klinik yorumları, tedavi durumları bilinmiyordu. Bu nedenle, hastalar klinik evrelerine göre gruplandırılmadı. İkinci olarak, çalışmada altın standart olarak sadece WB testi çalışıldı. Farklı yöntem kullanan doğrulama testleri de çalışılabilseydi, “borderline” çıkan sonuçlarla ilgili daha objektif bir yorum yapabilirdi. Üçüncüsü, çalışmada yalnızca

EIA pozitif bulunan örnekler araştırmaya dahil edildi. İndeks değer, seçilmiş olan bu grupta yapılan analize göre belirlendi, negatif örnekler dikkate alınmadı.

Sonuç olarak, sifiliz taramasında kan merkezleri ve tanı laboratuvarlarında halen yaygın olarak kullanılan RPR testinin akut enfeksiyonu yakalamakta yetersiz olduğu görülmüştür. RPR testinin kullanılması durumunda saptanabilecek yanlış negatif sonuçlar nedeniyle, kan vermesi uygun olmayan kişilerden kan transfüzyonu yapılarak güvenli olmayan transfüzyona neden olunacaktır. RPR testinin tarama testi olarak kullanılmasının özellikle kan merkezleri için donör taramasında uygun olmadığı düşünölmektedir.

EIA testimizde saptadığımız indeks S/Co değerine göre “<7.19” S/Co değerinde olup doğrulanmayan serum örnekleri için vericilerin tekrar kazanılması sağlanabilecektir. Böylece kan ve kan ürünü, maliyet, iş gücü ve en önemlisi de donör kaybına engel olunacağı düşünölmektedir. EIA serumlarımız için “≥7.19” S/Co değerli olanlar ise pozitif olarak rapor edilecektir ve bu serumlar için doğrulama testi maliyeti azaltılmış olacaktır.

“Architect[®] Syphilis TP” testi için saptanan indeks S/Co değeri dikkate alınarak bir algoritma önerisi oluşturulmuştur. Bu algoritma önerisinin sifiliz tanısında kullanılan algoritma önerilerine bir katkı sağlayacağı düşünölmektedir.

8. KAYNAKLAR:

1. Peeling RW, Mabey DC. "Syphilis" Nat Rev Microbiol 2004;2(6):448-9.
2. http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/TDR_SDI_06.1_eng.pdf
WHO (World Health Organization) The use of rapid syphilis tests. The Sexually Transmitted Diseases Diagnostics Initiative (SDI) 2006 (Erişim tarihi: 04.05.2009).
3. Bhattacharya P, Chandra PK, Datta S, Banerjee A, et al. Significant increase in HBV, HCV, HIV and syphilis infections among blood donors in West Bengal, Eastern India 2004-2005: Exploratory screening reveals high frequency of occult HBV infection. World J Gastroenterol 2007;13(27):3730-3.
4. Zou S, Notari EP, Fang CT, Stramer SL, et al. Current value of serologic test for syphilis as a surrogate marker for blood-borne viral infections among blood donors in the United States. Transfusion 2009;49(4):655-61.
5. Brant LJ, Bukasa A, Davison KL, Newham J, et al. Increase in recently acquired syphilis infections in English, Welsh and Northern Irish blood donors. Vox Sang 2007;93(1):19-26.
6. <http://www.cdc.gov/std/Syphilis2005/SyphSurvSupp2005Short.pdf>
Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2005 Syphilis (Erişim tarihi: 04.05.2009).
7. <http://www.saglik.gov.tr/extras/istatistikler/temel2003/calismayilligi2003.htm>
(erişim tarihi: 11.09.2008)
8. <http://www.saglik.gov.tr/TR/istatistik/2006/tablo37-38.htm> (erişim tarihi: 11.09.2008)
9. Fitzgerald TJ: Treponema, in Balow A, Hainsler WJ, Hermannn KL, et al (eds): Manual of Clinical Microbiology (ed 5). Washington, DC, ASM, 1991:567-578.
10. <http://www.kan.org.tr/> 1992 T. C. Resmi Gazete Kan ürünleri kanunu (erişim tarihi: 04.06.2008).
11. Castro R, Prieto ES, da Luz Martins Pereira F. Nontreponemal tests in the diagnosis of neurosyphilis: an evaluation of the Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) and the Rapid Plasma Reagin (RPR) tests. J Clin Lab Anal 2008;22(4):257-61.
12. Lautenschlager S. Diagnosis of syphilis: clinical and laboratory problems. J Dtsch Dermatol Ges 2006;4(12):1058-75.
13. Clyne B, Jerrard DA. Syphilis testing. J Emerg Med 2000;18(3):361-7.

14. CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. MMWR recomm rep 1998;47(RR-1):1-111.
15. <http://www.fda.gov/cber/gdlns/syphilis.pdf> FDA (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research), Revised recommendations for donor and product management based on screening tests for syphilis. June 2003 (Erişim tarihi: 04.05.2009).
16. European Parliament and of the Council of 27 January 2003 setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components, and amending Directive 2001/83/EC [Official Journal L 33 of 08.02.2003].
17. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR recomm rep 2003;52 (RR-3): 1-15.
18. İzmir Kızılay kan merkezi istatistikleri 2004-2009 (Yayınlanmamış veridir).
19. Holmes KK, Sparling PF, Mardh P, Lemon SM, et al. Sexually Transmitted Diseases McGraw-Hill, New York 1999;467-514.
20. Mays S, Crane-Kramer G, Bayliss A. Two probable cases of treponemal disease of medieval date from England. Am J Phys Anthropol 2003;120(2):133-43.
21. Murat A. Klinik Dermatoloji ve Veneroloji. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakóltesi klinik ders kitapları, 3. baskı, cilt 14, İstanbul 1981.
22. Dubos R. Mirage of health. Doubleday and Comp New York 1959.
23. Uzluk FN. Genel Tıp Tarihi, Ankara. Ankara Üniv. yayın no: 68;1958.
24. <http://www.saglik.gov.tr> Sıtma ve Frengi ilaçları hakkında kanun 07.06.1935 Sayı:2767, (Erişim tarihi 16.12.2008).
25. Birley H, Duerden B, Hart CA, Curless E, et al. Sexually transmitted diseases: microbiology and management. J Med Microbiol 2002;51(10):793–807.
26. http://www.who.int/hiv/pub/sti/who_hiv_aids_2001.02.pdf WHO (World Health Organization), Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections overview and estimates, Geneva 2001 (Erişim tarihi 05.05.2009).
27. Nakashima AK, Rolfs RT, Flock ML, Kilmarx P, et al. Epidemiology of syphilis in the United States, 1941–1993. Sex Transm Dis 1996;23(1):16–23.

28. Hahn RA, Magder LS, Aral SO, Johnson RE, et al. Race and the prevalence of syphilis seroreactivity in the United States population: a national sero-epidemiologic study. *Am J Public Health* 1989;79(4):467-70.
29. CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Surveillance for gonorrhea and primary and secondary syphilis among adolescents, United States 1981–1991. *MMWR recomm rep* 1993;42(SS-3):1–11.
30. CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Syphilis—United States, 1983. *MMWR recomm rep* 1984;33(30):433–436.
31. Fichtner RR, Aral SO, Blount JH, Zaidi AA, et al. Syphilis in the United States: 1967–1979. *Sex Transm Dis.* 1983;10(2):77-80.
32. Romanowski B. Division of STD Prevention and Control, Syphilis: epidemiology and control. Laboratory Centre for Disease Control, Bureau of HIV/AIDS and STD, Ottawa, Ontario, Canada, *Can J Hum Sex* 1997;6.
33. Kropp RY, Latham-Carmanico C, Steben M, Wong T, et al. What's new in management of sexually transmitted infections? Canadian Guidelines on Sexually Transmitted Infections, 2006 Edition. *Can Fam Physician* 2007;53(10):1739-41.
34. <http://www.hpa.org.uk/> Health Protection Agency (HPA), HIV and other Sexually Transmitted Infections in the UK “Syphilis” 2005 (Erişim tarihi: 10.03.2009).
35. Mak DB, Johnson GH, Plant AJ. A syphilis outbreak in remote Australia: epidemiology and strategies for control. *Epidemiol Infect* 2004;132(5):805-12.
36. Hart G. STD epidemiology in Australia: syphilis and gonorrhoea. *Venerology* 1992;5:115–120.
37. Eurosurveillance, Syphilis surveillance and trends of the syphilis epidemic in Germany since the MID-90s. 2004;9:12.
38. Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, et al. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. *Lancet* 1997;350(9072):210-3.
39. <http://www.saglik.gov.tr/TR/istatistikler/temel2004/index.htm> Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yılı. Yayın No:655, 2004 (Erişim tarihi: 04.05.2009).

40. Akın L. Türkiye’de Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonların Epidemiyolojisi, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2006;26:655-665.
41. Türkiye’de Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar (CYBE) ve HIV/AIDS’in Sürveyans Sistemine İlişkin Durum Analizi Türkiye Üreme Sağlığı Programı İlerleme Raporu III, Şubat 2005 / Ek V.
42. Mollahaliloğlu S, Hülür Ü, Yardım N, Özbay H, ve ark. Türkiye’de sağlığa bakış 2007. T.C Sağlık bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Ankara 2007.
43. <http://www.tusak.saglik.gov.tr/pdf/kitaplar/200801212206080.hedef.pdf> T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Türkiye’de cinsel yolla bulaşan hastalıkların insidans hızları. 2007 (Erişim tarihi: 19.03.2009).
44. Aral SO. Sexual network patterns as determinants of STD rates: paradigm shift in the behavioral epidemiology of STDs made visible. Sex Transm Dis 1999;26(5):262-4.
45. <http://www.saglik.gov.tr/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF7A2395174CFB32E19E71E2320F284E32> Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yılığ 2002.
46. Ağaçfidan A, Badur S, Gerikalma Ö. Syphilis prevalence among unregistered sexworkers in Istanbul, Turkey. Sex Transm Dis 1993;(4);236-237.
47. Adısen E, Oztas M, Gurer MA. 1994-2006 yılları arasında izlediğimiz sifilizli hastaların demografik bulguları. Türkderm 2008;42:9-12.
48. Ulutürk R, Fincancı M. Kan donörlerinde sifiliz tarama testinin dokuz yıllık sonuçlarının değerlendirilmesi. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Klimik 2007 (Poster no: 11-004).
49. Uzun C. Kan donörlerinde HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve RPR sonuçlarının değerlendirilmesi. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Klimik 2007 (Poster no: 11-006).
50. Temiz H, Gül K. Kan Vericilerinin HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV ve VDRL test sonuçlarının değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 2008; 22 (2): 79-82.

51. Dilek İ, Demir C, Bay A, Akdeniz H, ve ark. Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and VDRL in blood donors in Eastern Turkey. *Turk J Hematol* 2007;24:4-7.
52. Koçak N, Budak E, Avan S. Türk Kızılayı Isparta Kızılay Kan istasyonunda alınan bağış kanlarında HBV, HCV, HIV ve sifiliz seroprevalansı. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. *Klimik* 2007 (Poster no: 11-022).
53. Ocak S, Duran N, Savaş L, Önlü Y, ve ark. Hatay bölgesindeki kan donörlerinde HBV, HCV, HIV ve VDRL seropozitifliği. *Viral Hepatit Dergisi* 2005;10:49-53.
54. Aktan L, Aktan E, Gürsoy M. 1993–1995 yılları arasında izlenen 116 sifiliz olgusunun değerlendirilmesi. *Deri Hast Frengi Arş.* 1996;30:133–6.
55. Apaydın R, Bilen N, Gül U, Bahadır S. Trabzon'da 1992–1996 yılları arasında izlenen 82 sifilizli olgunun değerlendirilmesi. *T Klin Dermatol* 1999;9:126–9.
56. Derviş E, Sönmezoğlu M, Ersoy L, Karaoğlu A. 1993–1998 yılları arasında saptadığımız sifilizli olguların değerlendirilmesi. *Türkderm* 2000;34:104-6.
57. Antal GM, Lukehart SA, Meheus AZ. The endemic treponematoses, *Microb Infect* 2002;4:83-94.
58. Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(1):29-49.
59. Singh AE, Romanowski B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(2):187-209.
60. Salazar JC, Hazlett KR, Adolf JD. The immune response to infection with *Treponema pallidum*, the stealth pathogen. *Microbes Infect* 2002;4:1133-40.
61. Norris SJ. Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles. *Treponema Pallidum* Polypeptide Research Group. *Microbiol Mol Biol Rev* 1993;57(3):750-779.
62. Walker EM, Zampighi GA, Blanco DR, Miller JN, et al. Demonstration of rare protein in the outer membrane of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* by freeze-fracture analysis. *J Bacteriol.* 1989 September; 171(9): 5005-5011.
63. Radolf JD, Norgard MV, Schulz WW. Outer membrane ultrastructure explains the limited antigenicity of virulent *Treponema pallidum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2051–2055.

64. Cox DL, Moeckli RA, Fieldsteel AH. Cultivation of pathogenic *Treponema* in tissue cultures of Sf1Ep cells. *In Vitro* 1984;20:879–883.
65. Fitzgerald TJ, Johnson RC, Sykes JA and Miller JN. Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells: effects of oxygen, reducing agents, serum supplements and different cell types. *Infect. Immun* 1997;15:444-452.
66. Fraser CM, Norris SJ, Weinstock GM, White O, et al. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *Science* 1998;281(5375):324-5.
67. Adams MW, Jenney FE Jr, Clay MD, Johnson MK. Superoxide reductase: fact or fiction? *J Biol Inorg Chem* 2002;7(6):647-52.
68. Lysko PG, Cox CD. Terminal electron transport in *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 1977;16(3):885-90.
69. Lysko PG, Cox CD. Respiration and oxidative phosphorylation in *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 1978;21(2):462-73.
70. http://wishart.biology.ualberta.ca/BacMap/graphs_cgview.html
(Erişim tarihi:09.03.2009).
71. Centurion-Lara A, LaFond RE, Hevner K, Godornes C, et al. Gene conversion: a mechanism for generation of heterogeneity in the tprK gene of *Treponema pallidum* during infection. *Mol Microbiol* 2004;52(6):1579-96.
72. Centurion-Lara A, Castro C, Barrett L, Cameron C, et al. *Treponema pallidum* major sheath protein homologue Tpr K is a target of opsonic antibody and the protective immune response. *J Exp Med* 1999;189(4):647-56.
73. Norris SJ, Alderete JF, Axelsen NH, Bailey MJ, et al. Identity of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* polypeptides: correlation of sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis results from different laboratories. *Electrophoresis* 1987;8:77–92.
74. Isaacs RD, Hanke JH, Guzman-Verduzco LM, Newport G, et al. Molecular cloning and DNA sequence analysis of the 37-kilodalton endoflagellar sheath protein gene of *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 1989;57(11):3403-11.
75. Norris SJ, Charon NW, Cook RG, Fuentes MD, et al. Antigenic relatedness and N-terminal sequence homology define two classes of periplasmic flagellar proteins of

Treponema pallidum subsp. *pallidum* and *Treponema phagedenis*. J Bacteriol 1988;170(9):4072-82.

76. Champion CI, Miller JN, Lovett MA, Blanco DR. Cloning, sequencing, and expression of two class B endoflagellar genes of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* encoding the 34.5- and 31.0-kilodalton proteins. Infect Immun 1990;58(6):1697-704.

77. Blanco DR, Walker EM, Haake DA, Champion CI, et al. Complement activation limits the rate of in vitro treponemicidal activity and correlates with antibody-mediated aggregation of *Treponema pallidum* rare outer membrane protein. J Immunol 1990;144(5):1914-21.

78. Radolf JD, Norgard MV, Brandt ME, Isaacs RD, et al. Lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum* activate cachectin/tumor necrosis factor synthesis. Analysis using a CAT reporter construct. J Immunol 1991;147(6):1968-74.

79. Lien E, Sellati TJ, Yoshimura A, Flo TH, et al. Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. J Biol Chem 1999;274(47):33419-25.

80. Blanco DR, Miller JN, Lovett MA. Surface antigens of the syphilis spirochete and their potential as virulence determinants. Emerg Infect Dis 1997;3(1):11-20.

81. Fitzgerald TJ, Repesh LA, Blanco DR, Miller JN. Attachment of *Treponema pallidum* to fibronectin, laminin, collagen IV, and collagen I, and blockage of attachment by immune rabbit IgG. Br J Vener Dis 1984;60(6):357-63.

82. Blanco DR, Champion CI, Dooley A, Cox DL, et al. A monoclonal antibody that conveys in vitro killing and partial protection in experimental syphilis binds a phosphorylcholine surface epitope of *Treponema pallidum*. Infect Immun 2005;73(5):3083-95.

83. Brinkman MB, Mc Gill MA, Pettersson J, Rogers A, et al. A novel *Treponema pallidum* antigen, TP0136, is an outer membrane protein that binds human fibronectin. Infect Immun 2008;76(5):1848-57.

84. Cameron CE. Identification of a *Treponema pallidum* laminin-binding protein. Infect Immun 2003;71(5):2525-33.

85. Lee KH, Choi HJ, Lee MG, Lee JB. Virulent *Treponema pallidum* 47 kDa antigen regulates the expression of cell adhesion molecules and binding of T-lymphocytes to cultured human dermal microvascular endothelial cells. *Yonsei Med J* 2000;41(5):623-33.
86. Fitzgerald TJ. Pathogenesis and immunology of *Treponema pallidum*. *Annu Rev Microbiol* 1981;35:29-54.
87. Lukehart SA. Activation of macrophages by products of lymphocytes from normal and syphilitic rabbits. *Infect Immun* 1982;37(1):64-9.
88. Lukehart SA, Baker-Zander SA, Sell S. Characterization of lymphocyte responsiveness in early experimental syphilis. I. In vitro response to mitogens and *Treponema pallidum* antigens. *J Immunol* 1980;124(1):454-60.
89. Borenstein LA, Ganz T, Sell S, Lehrer RI, et al. Contribution of rabbit leukocyte defensins to the host response in experimental syphilis. *Infect Immun* 1991;59(4):1368-77.
90. Cox DL, Sun Y, Liu H, Lehrer RI, et al. WM. Susceptibility of *Treponema pallidum* to host-derived antimicrobial peptides. *Peptides* 2003;24(11):1741-6.
91. Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science* 1999;285(5428):732-6.
92. Sellati TJ, Bouis DA, Kitchens RL, Darveau RP, et al. *Treponema pallidum* and *Borrelia burgdorferi* lipoproteins and synthetic lipopeptides activate monocytic cells via a CD14-dependent pathway distinct from that used by lipopolysaccharide. *J Immunol* 1998;160(11):5455-64.
93. Reis e Sousa C, Sher A, Kaye P. The role of dendritic cells in the induction and regulation of immunity to microbial infection. *Curr Opin Immunol* 1999;11(4):392-9.
94. Akins DR, Purcell BK, Mitra MM, Norgard MV, et al. Lipid modification of the 17-kilodalton membrane immunogen of *Treponema pallidum* determines macrophage activation as well as amphiphilicity. *Infect Immun* 1993;61(4):1202-10.
95. Salazar JC, Rathi A, Michael NL, Radolf JD, et al. Assessment of the kinetics of *Treponema pallidum* dissemination into blood and tissues in experimental syphilis by real-time quantitative PCR. *Infect Immun* 2007;75(6):2954-8.

96. van Voorhis WC, Barrett LK, Nasio JM, Plummer FA, et al. Lesions of primary and secondary syphilis contain activated cytolytic T cells. *Infect Immun* 1996;64(3):1048–50.
97. Baker-Zander SA, Hook EW 3rd, Bonin P, Handsfield HH, et al. Antigens of *Treponema pallidum* recognized by IgG and IgM antibodies during syphilis in humans. *J Infect Dis* 1985;151(2):264-72.
98. Lukehart SA, Baker-Zander SA, Sell S. Characterization of the humoral immune response of the rabbit to antigens of *Treponema pallidum* after experimental infection and therapy. *Sex Transm Dis* 1986;13(1):9-15.
99. Morgan CA, Lukehart SA, Van Voorhis WC. Protection against syphilis correlates with specificity of antibodies to the variable regions of *Treponema pallidum* repeat protein K. *Infect Immun* 2003;71(10):5605-12.
100. Larsen SA, Norris SJ, Pope V. *Treponema* and other host-associated spirochetes. In: P. R. Murray (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, 1999. DC. 759–776.
101. Little JW. Syphilis: an update. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100(1):3–9.
102. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2006/rr5511.pdf> CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006;55:11 (Erişim tarihi: 05.06.2009).
103. Kaya C, Yılmaz M, Şatıroğlu H. Cinsel yolla bulaşan hastalıklarda güncel yaklaşımlar (CYBE). *T Klin J Gynecol Obst* 2001;11:1–14.
104. Goldmeier D, Guallar C. Syphilis: an update. *Clin Med* 2003;3:209–11.
105. Lugo A, Sanchez S, Sanchez JL. Congenital syphilis. *Pediatr Dermatol* 2006;23(2):121–3.
106. Olukman Ö, Tumay D, Yendur G, Cangarlır Ş. Asemptomatik konjenital sifiliz: olgu serisi. *Jinekoloj. Obstet. Derg.* 2006; 3(5): 377–379.
107. Woods CR. Syphilis in children: congenital and acquired. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16(4):245–57.
108. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005;16(1):45–51.
109. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995;8(1):1–21.

110. Ito F, Hunter EF, George RW, Pope V, et al. Specific immunofluorescent staining of pathogenic treponemes with a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 1992;30(4):831-8.
111. Brown DL, Frank JE. Diagnosis and management of syphilis. *Am Fam Physician* 2003;68(2):283-90.
112. Cummings MC, Lukehart SA, Marra C, Smith BL, et al. Comparison of methods for the detection of *Treponema pallidum* in lesions of early syphilis. *Sex Transm Dis* 1996;23(5):366-9.
113. Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect* 1999;1(12):1035-49.
114. Hoang MP, High WA, Molberg KH. Secondary syphilis: a histologic and immunohistochemical evaluation. *J Cutan Pathol* 2004;31(9):595-9.
115. Burstain JM, Grimprel E, Lukehart SA, Norgard MV, et al. Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29(1):62-9.
116. Liu H, Rodes B, Chen CY, Steiner B. New tests for syphilis: rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *J Clin Microbiol* 2001;39(5):1941-6.
117. Castro R, Prieto E, Aguas MJ, Manata MJ, et al. Detection of *Treponema pallidum* sp *pallidum* DNA in latent syphilis. *Int J STD AIDS* 2007;18(12):842-5.
118. Buffet M, Grange PA, Gerhardt P, Carlotti A, et al. Diagnosing *Treponema pallidum* in secondary syphilis by PCR and immunohistochemistry. *J Invest Dermatol* 2007;127(10):2345-50.
119. Leslie DE, Azzato F, Karapanagiotidis T, Leydon J, et al. Development of a real-time PCR assay to detect *Treponema pallidum* in clinical specimens and assessment of the assay's performance by comparison with serological testing. *J Clin Microbiol* 2007;45(1):93-6.
120. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, et al. *Manual of Clinical Microbiology*. AM. 9. th ed. 2009.
121. Talwar S, Tutakne MA, Tiwari VD. VDRL titres in early syphilis before and after treatment. *Genitourin Med* 1992;68(2):120-2.
122. Johnson PC, Farnie MA. Testing for syphilis. *Dermatol Clin* 1994;12(1):9-17.
123. Hook EW 3rd, Marra CM. Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992;326(16):1060-9.

124. Taniguchi S, Osato K, Hamada T. The prozone phenomenon in secondary syphilis. *Acta Derm Venereol* 1995;75(2):153–4.
125. Sutton C. Syphilis. current clinical practice: sexually transmitted diseases: a practical guide for primary care Anita L. Nelson, Jo Ann Woodward and Susan Wysocki 2006;205–227.
126. Castro R, Prieto ES, Santo I, Azevedo J, et al. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. *J Clin Microbiol* 2003;41(1):250–3.
127. Pettit DE, Larsen SA, Pope V, Perryman MW, et al. Unheated serum reagin test as a quantitative test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1982;15(2):238–42.
128. Pettit DE, Larsen SA, Harbec PS, Feeley JC, et al. Toluidine red unheated serum test, a nontreponemal test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1983;18(5):1141–5.
129. 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(10):705–13.
130. Pope V, Fears MB, Morrill WE, Castro A, et al. 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(7):2543–5.
131. Marangoni A, Sambri V, Storni E, D'Antuono A, et al. *Treponema pallidum* surface immunofluorescence assay for serologic diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7(3):417–21.
132. Hensel U, Wellensiek HJ, Bhakdi S. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis immunoblotting as a serological tool in the diagnosis of syphilitic infections. *J Clin Microbiol* 1985;21(1):82–7.
133. 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(1):9–14.
134. Byrne RE, Laska S, Bell M, Larson D, et al. Evaluation of a *Treponema pallidum* western immunoblot assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1992;30(1):115–22.
135. 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(2):177–83.

136. Diggory P. Role of the Venereal Disease Research Laboratory test in the detection of syphilis. *Br J Vener Dis* 1983;59(1):8–10.
137. Sambri V, Marangoni A, Eyer C, Reichhuber C, et al. Western immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serologic diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8(3):534–9.
138. de Miranda AP, Sato NS. Profile of anti-Tp47 antibodies in patients with positive serology for syphilis analyzed by Western Blot. *Braz J Infect Dis* 2008;12(2):139–43.
139. Hanff PA, Bishop NH, Miller JN, Lovett MA. Humoral immune response in experimental syphilis to polypeptides of *Treponema pallidum*. *J Immunol* 1983;131(4):1973–7.
140. Marangoni A, Sambri V, Accardo S, Cavrini F, et al. Evaluation of LIAISON Treponema Screen, a novel recombinant antigen-based chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12(10):1231–4.
141. Martin IE, Lau A, Sawatzky P, Tsang RS, et al. Serological diagnosis of syphilis: enzyme-linked immunosorbent assay to measure antibodies to individual recombinant *Treponema pallidum* antigens. *J Immunoassay Immunochem* 2008;29(2):143–51.
142. 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(1):19–23.
143. Schmidt BL, Edjlalipour M, Luger A. Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponema pallidum* in patients with primary syphilis. *J Clin Microbiol* 2000;38(3):1279–82.
144. Nesteroff S. Serology: Syphilis. RCPA Quality Assurance Programs Pty Limited 2004 <http://www.rcpaqap.com.au/serology/news/uploadedfiles/Item12SEROLOGY%20SYPHILIS%20Serge%20Nesteroff.pdf> (Erişim tarihi: 05.05.2009).
145. Woznicová V, Valisová Z. Performance of CAPTIA SelectSyph-G enzyme-linked immunosorbent assay in syphilis testing of a high-risk population: analysis of discordant results. *J Clin Microbiol* 2007;45(6):1794–7.
146. CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Syphilis Testing Algorithms Using Treponemal Tests for Initial Screening --- Four Laboratories, New York City, 2005—2006. *MMWR recomm rep* 2008;57(32):872–875.
147. http://www.who.int/reproductivehealth/publications/mngt_stis/guidelines_mngt_stis.pdf WHO (World Health Organization), Guidelines for the management of sexually transmitted infections Geneva, 2001 (Erişim tarihi: 05.05.2009).

148. Sellati TJ, Wilkinson DA, Sheffield JS, Koup RA, et al. Virulent *Treponema pallidum*, lipoprotein, and synthetic lipopeptides induce CCR5 on human monocytes and enhance their susceptibility to infection by human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2000;181(1):283–93.
149. Tomson FL, Conley PG, Norgard MV, Hagman KE. Assessment of cell-surface exposure and vaccinogenic potentials of *Treponema pallidum* candidate outer membrane proteins. *Microbes Infect* 2007;9(11):1267–75.
150. Theus SA, Harrich DA, Gaynor R, Radolf JD, et al. *Treponema pallidum*, lipoproteins, and synthetic lipoprotein analogues induce human immunodeficiency virus type 1 gene expression in monocytes via NF-kappaB activation. *J Infect Dis* 1998;177(4):941–50.
151. http://www.alomaliye.com/2007/5624_sayili_kanun.htm Resmi Gazete ‘Kan ve kan ürünleri kanunu’ Kanun no: 5624, Madde: 3/c Kabul tarihi: 11/04/07 (Erişim tarihi: 05.05.2009).
152. Saribas S, Temurhan S, Oz V, Aslan M, et al. The comparison of Western blot test with FTA-ABS test as confirmatory tests in syphilis cases: a cross-sectional study in Turkish population. ESCMID 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Copenhagen / Denmark, April 2–5, 2005 Abstract number: 1135_155.
153. Obuchowski NA, Lieber ML, Wians FH Jr. ROC curves in clinical chemistry: uses, misuses, and possible solutions. *Clin Chem*. 2004;50(7):1118-25.
154. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982;143(1):29-36.
155. Linnet K, Brandt E. Assessing diagnostic tests once an optimal cutoff point has been selected. *Clin Chem* 1986;32(7):1341-6.
156. Koçak N. İnfeksiyöz tarama testleri. 1.Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi (2000, Kapadokya) Kongre/Kurs Kitabı. 2000:259–64.
157. Young H. Guidelines for serological testing for syphilis. *Sex Transm Infect* 2000;76(5):403-5.
158. Egglestone SI, Turner AJ. Serological diagnosis of syphilis. PHLS Syphilis Serology Working Group. *Commun Dis Public Health* 2000;3(3):158-62.
159. Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. *J Clin Lab Anal* 2009;23(1):1-6.

160. Lefevre JC, Bertrand MA, Bauriaud R, Lareng MB. False positive reactions occurring with the Captia Syphilis-G EIA, in sera from patients with Lyme disease. *Genitourin Med* 1992;68(2):142.
161. Ross J, Moyes A, Young H, McMillan A. An analysis of false positive reactions occurring with the Captia Syph G EIA. *Genitourin Med* 1991;67(5):408-10.
162. <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/vsop/pdf/vsop44.pdf>
National Public Health Service for Wales. Serological Diagnosis of Syphilis. Standarts Unit, Evaluations and Standards Laboratory, 2007 (Erişim tarihi: 05.05.2009).
163. Singh B, Verma M, Kotru M, Verma K, et al. Prevalence of HIV and VDRL seropositivity in blood donors of Delhi. *Indian J Med Res* 2005;122(3):234-6.
164. Gupta SM, Bala M, Muralidhar S, Ray K. Evaluation of test results of microbiology laboratories of North India for standard tests for syphilis under an external quality assurance scheme. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008.
165. Chander A, Pahwa VK. Status of infectious disease markers among blood donors in a teaching hospital, Bhairahawa, western Nepal. *J Commun Dis* 2003;35(3):188-97.
166. MacDonald N, Wong T. Canadian guidelines on sexually transmitted infections, 2006. *CMAJ* 2007;2:175-176.
167. <http://www.redcross.org> American Red Cross. Blood Eligibility Guidelines (Erişim Tarihi: 14.03.2009).
168. http://www.oabkm.org/tr/form_donor_sorgulama.htm
Türkiye Kızılay Derneği (Erişim tarihi 19.04.09)
169. Müller I, Brade V, Hagedorn HJ, Straube E, et al. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis? Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the German infection serology proficiency testing program. *J Clin Microbiol* 2006;44(4):1335-41.
170. Cornish N. Microbiology Clinical Brief. New reflex testing algorithm for syphilis Screening, Methodist health system Nov 2006.
171. Meyer MP, Eddy T, Baughn RE. Analysis of western blotting (immunoblotting) technique in diagnosis of congenital syphilis. *J Clin Microbiol* 1994;32(3):629-33.
172. Dang Q, Feng J, Lu X, Zhang X, et al. Evaluation of specific antibodies for early diagnosis and management of syphilis. *Int J Dermatol* 2006;45(10):1169-71.

