

Agnieszka Beata Serwin, Peter Karl Kohl¹, Bożena Chodynicka

STULECIE ODCZYNU WASSERMANN – PRZYSZŁOŚĆ SEROLOGICZNEJ DIAGNOSTYKI KIŁY W ŚWIETLE NAJNOWSZYCH BADAŃ

Klinika Dermatologii i Wenerologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: Bożena Chodynicka

¹Klinik für Dermatologie und Venerologie, Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin

Kierownik: Peter Karl Kohl, FRCP

W pracy przedstawiono postępy w serologicznej diagnostyce kiły ze szczególnym uwzględnieniem wiedzy, jaką wniosło poznanie genomu krętka bladego.

Słowa kluczowe: kiła, odczyn Wassermanna, diagnostyka

Key words: syphilis, Wassermann reaction, diagnostics

WSTĘP

W maju 2005 r. mija sto lat od wykrycia krętka bladego – *Treponema pallidum subspecies pallidum* (*T. pallidum*) - czynnika etiologicznego kiły, a w przyszłym roku minie wiek od wprowadzenia przez *Wassermanna*, *Neissera* i *Brucka* pierwszego odczynu serologicznego do diagnostyki zakażenia kiłowego (1,2). Zasadą współczesnej serologicznej diagnostyki kiły, uznawaną przez światowe instytucje opracowujące standardy diagnostyczne i lecznicze, jest stosowanie kombinacji odczynów niekrętkowych i krętkowych (3,4). Do tradycyjnych odczynów niekrętkowych należą odczyny kłaczkujące: Venereal Disease Research Laboratory – VDRL test, rapid plasma reagin – RPR card test, unheated serum reagin –USR test, toluidin red unheated serum test – TRUST, a krętkowych – *Treponema pallidum* haemagglutination assay – TPHA, metoda mikrohemaglutynacyjna – MHA-TP lub zastępująca erytrocyty cząsteczkami żelu jako nośnikiem antygeny – *Treponema pallidum* particle agglutination – TPPA test, fluorescent treponemal antibody – FTA test i jego modyfikacja absorbcyjna – FTA-ABS test, odczyny immunoenzymatyczne (enzymy immunoassay – EIA), odczyn immobilizacji krętków i immunobloting. Zastosowanie poszczególnych odczynów do badań przesiewowych w kile różni się w zaleceniach amerykańskich i europejskich (3,4). Żaden z powyższych, tradycyjnych już odczynów, nie spełnia jednocześnie wszystkich kryteriów idealnego testu diagnostycznego: zapewnia maksymalną czułość, swoistość, powtarzalność, daje jednorazowo jednoznaczny wynik po skutecznym leczeniu (ang. „*test of cure*”), pozwala na wykrywanie oddzielnie przeciwciał klasy IgG

oraz IgM, jest prosty technicznie i szybki, umożliwia automatyzację w celu obiektywizacji otrzymanych wyników oraz jest dostępny ekonomicznie (5). Dążenia do opracowania idealnego odczynu stymulują od stu lat badania nad udoskonaleniem zarówno odczynów niekrętkowych jak i krętkowych.

Celem pracy jest przedstawienie wybranych najnowszych osiągnięć w diagnostyce serologicznej kily, które dokonały się w końcu XX wieku i na początku XXI wieku, a także prób opracowania szczepionki przeciwko kile, ze szczególnym uwzględnieniem możliwości praktycznego zastosowania wiedzy, jaką przyniosły badania materiału genetycznego krętka bladego.

NOWE MODYFIKACJE ODCZYNÓW NIEKRĘTKOWYCH

Nowością w serologicznej diagnostyce kily, wprowadzoną w końcu XX wieku, było zastosowanie antygeny VDRL w odczynie immunoenzymatycznym (EIA-VDRL). Odczyn immunoenzymatyczny wprowadzono do diagnostyki kily w połowie lat siedemdziesiątych XX wieku. Umożliwiły one przede wszystkim automatyzację i komputeryzację procesu diagnostycznego, co pozwoliło na obiektywizację otrzymanych wyników i zbadanie jednocześnie dużej liczby surowic. Jeden z komercyjnie dostępnych odczynów EIA-VDRL – Spirotek Reagin II™ (Organon Teknika, Durham, NC, USA) został zaaprobowany przez Centers for Disease Control and Prevention jako test przesiewowy w kile. Odczyn ten ma wyższą czułość niż odczyny klaczkujące (odpowiednio 93% i 75% w kile pierwszego okresu oraz 100% i 95% w kile utajonej wczesnej) i podobną do nich swoistość (odpowiednio 97% i 98%). Wykonywany jest tylko jakościowo i nie umożliwia oceny skuteczności leczenia. Za pomocą tego odczynu nie można wykryć oddzielnie przeciwciał klasy IgM i IgG (6). Grupy badawcze opracowują kolejne odczyny EIA-VDRL (wg 7).

W 2000 r. przedstawiono syntetyczny antygen (Ag) VDRL, składający się z syntetycznej lecytyny i kardiolipiny, który może zastąpić Ag otrzymywany dotychczas z naturalnych tkanek i stosowany w odczynie VDRL od 1946 roku. Syntetyczny Ag VDRL cechuje się porównywalną swoistością oraz wyższą czułością niż antygen naturalny i jest jednocześnie bardzo stabilny. Czystość Ag syntetycznego wynosi ponad 99% (naturalnej kardiolipiny 52-79%, a lecytyny 60-91%). Wyższą czułość odczynu z syntetycznym Ag VDRL osiągnięto poprawiając stabilność cząsteczki kardiolipiny: nienasycone kwasy tłuszczowe (łatwo ulegające utlenieniu) obecne w kardiolipinie naturalnej zastąpiono czterema 14-węglowymi nasyconymi kwasami tłuszczowymi (8). Nie opublikowano, jak dotąd, badań oceniających przydatność syntetycznego Ag VDRL do diagnostyki kily układu nerwowego.

NOWE MODYFIKACJE ODCZYNÓW KRĘTKOWYCH

Zsekwencjonowanie w 1998 r. pełnego genomu *T. pallidum* stało się kamieniem milowym w badaniach nad immunogennością tej bakterii i zwiększyło nadzieję na poprawę swoistości diagnostyki serologicznej kily oraz na opracowanie szczepionki przeciwko kile (9,10).

Genom *T. pallidum* jest kolistym chromosomem zbudowanym z 1 138 006 par zasad, w którym znajduje się 1041 sekwencji kodujących białka (open reading frames – ORFs). Zgodnie z proponowanym przez *Rileya* systemem klasyfikacji (11), 55% genów (577 ORFs)

ma określoną, swoistą rolę biologiczną, 17% ORFs wykazuje znaczną analogię do genów kodujących białka innych bakterii, ale aż 28% genów *T. pallidum* nie ma, jak dotąd, poznanej funkcji (9,10). Właściwości biologiczne, wirulentne i immunogenne krętka pozostają więc w znacznym stopniu nieznane. Za zjadliwość krętka bladego odpowiada prawdopodobnie grupa 67 genów, które rozmieszczone są z różną gęstością w poszczególnych regionach chromosomu. Szczególną rolę przypisuje się rodzinie 12 spokrewnionych genów (zwanym Tpr), kodujących białka o znacznej homologii z głównymi białkami powierzchniowymi *Treponema denticola* i mających funkcję poryn i adhezyn. Wysunięto, niepotwierdzoną jak dotąd hipotezę, że istnieje możliwość dużej zmienności sekwencji DNA w obrębie tych genów. Kolejną grupę tworzą geny kodujące białka podobne do hemolizyn innych bakterii (np. hemolizyny III *Bacillus cereus* lub hemolizyny *Serpulina hyodysenteriae*). Grupa genów nadzorujących geny zjadliwości krętka jest słabo poznana: prawdopodobnie DNA bakterii zawiera pięć dwuczłonowych układów regulacyjnych o niedużym stopniu podobieństwa do analogicznych układów istniejących w bakteriach o znacznie większym genomie. W *T. pallidum* znajdują się ponadto nieliczne białka o strukturze podobnej do innych typowych białek represorowych i aktywatorowych, które są zaangażowane w regulację funkcji metabolicznych. Poza prawdopodobnym systemem dwuczłonowych układów regulacyjnych, stwierdzono gen homologiczny do genu *mviN*, który odpowiada za regulację zjadliwości takich drobnoustojów, jak *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhimurium* i innych. *T. pallidum* zawiera także sześć genów homologicznych do czynników sigma – genów regulujących polimerazę RNA, obecnych w innych bakteriach, w tym m.in. w *Escherichia (E.) coli*. Z badań tych niewątpliwie wynika, że regulacja zjadliwości *T. pallidum* wymaga więcej mechanizmów niż w przypadku bakterii takich jak *E. coli*. Geny kodujące syntezę lipolisacharydów, substancji o ważnej roli w odpowiedzi gospodarza na zakażenie, a także biorących udział w przyleganiu bakterii do tkanek, są w genomie *T. pallidum* nieliczne (9,10).

W tradycyjnych odczynach krętkowych (np. TPHA, FTA-ABS) wykorzystuje się do przygotowania antygeny całe żywe krętka blade szczepu *Nicholsa*, pasażowane na zwierzętach laboratoryjnych. We współcześnie opracowywanych odczynach wykrywających przeciwciała swoiste dla krętka bladego stosuje się wybrane antygeny *T. pallidum* otrzymywane metodą rekombinacji lub syntetycznie. Produkcja dużej ilości antygenów rekombinowanych w hodowli komórek *E. coli* do celów diagnostycznych lub naukowych nie wymaga zakażenia zwierząt i jest, tym samym, uzasadniona ekonomicznie oraz etycznie. Nie ma jak dotąd pełnej zgody co do tego, które antygeny krętka zapewniają najlepszą swoistość i czułość odczynu serologicznego. W opracowywanych, dostępnych komercyjnie odczynach, jako antygeny znalazły zastosowanie różne lipoproteiny *T. pallidum*, najczęściej TpN44,5 (TnpA), TpN15, TpN17 i TpN47. Lipoproteiny stymulują silną odpowiedź immunologiczną związaną prawdopodobnie z ich zdolnością do aktywowania komórek prezentujących antygen poprzez receptory toll-like 2 (12).

Sądono początkowo, że lipoproteiny powszechnie stosowane w nowoczesnych odczynach serologicznych są białkami błony zewnętrznej krętka. Obecnie wiadomo, że znajdują się one w przestrzeni periplazmatycznej, wiążąc się kowalencyjnie z periplazmatyczną warstwą błony cytoplazmatycznej (13). Topografia lipoprotein powoduje, że mogą być one słabo dostępne dla przeciwciał wytwarzanych w przebiegu zakażenia, a skierowane przeciwko nim przeciwciała są syntetyzowane po fagocytozie i wstępnym niszczeniu kręt-

ków białych w okresie kily wczesnej. Białka ekspozowane na powierzchni bakterii mogą okazać się bardziej przydatne w diagnostyce, ponieważ są najwcześniej rozpoznawane przez układ immunologiczny gospodarza i mogą go stymulować w sposób ciągły. W najnowszych opracowywanych odczynach wykorzystywane są białka, których prawdopodobieństwo ekspozycji w błonie zewnętrznej krętka wynosi 69-92% (13). W świetle tych badań, białka Tp0453, Tp0257 oraz Tp92 (Tp0326), zastosowane jako antygeny w odczynach immunoenzymatycznych, umożliwiają uzyskanie bardzo dobrej czułości (odpowiednio: 100%, 91%, 98%) oraz swoistości (100%, 93% i 97%) w kile wczesnej objawowej oraz utajonej. Zastosowanie białka Tp0453 pozwalało na osiągnięcie odczynu o stuprocentowej czułości i swoistości, dzięki brakowi homologii z białkami innych bakterii. Badane odczyny umożliwiały rozpoznanie kily w najwcześniejszym okresie (gdy odczyn VDRL jest ujemny). Nowe, wymienione białka mogą być dobrymi kandydatami jako antygeny do opracowania diagnostycznych immunoenzymatycznych odczynów komercyjnych.

Na początku 2000 r. przedstawiono nowy odczyn, znany pod komercyjną nazwą INNO-LIA Syphilis™ (Innogenetics N.V., Ghent, Belgia), w którym wykorzystano trzy antygeny krętka uzyskane metodą rekombinacji w komórkach *E. coli* (TpN47, TpN17 i TpN15) oraz syntetyczny peptyd TmpA, umieszczone na pasku testowym (14). Odczyn jest liniową modyfikacją odczynu immunoenzymatycznego (line immunoassay – LIA), a oceny reakcji dokonuje się metodą półilościową: sprawdzając intensywność zabarwienia dla poszczególnych pasków (od 0 do 4) i porównując wynik z kontrolą dodatnią i ujemną. Czułość i swoistość tego odczynu, oceniana w znacznych liczbowo grupach surowic (840 i 531), wyniosła odpowiednio 99,6% i 100% oraz 99,5% i 99,3%; czułość w płynie mózgowo-rdzeniowym – 100% (14, 15). Autorzy zgadzają się, że mimo konieczności inkubacji badanej surowicy (lub płynu mózgowo-rdzeniowego) przez noc, co opóźnia otrzymanie wyniku, INNO-LIA Syphilis™ jest prostym odczynem, który może samodzielnie służyć jako odczyn potwierdzający kilę, zastępując kombinację innych odczynów (TPHA/MHA-Tp, FTA-ABS i odczyn immobilizacji krętków białych), zwłaszcza w sytuacji, gdy istnieje konieczność wiarygodnego rozpoznania zakażenia przy braku danych klinicznych i epidemiologicznych pacjenta. Wadą jednej z cytowanych publikacji (15) może być brak analizy czułości i swoistości odczynu w poszczególnych okresach kily oraz po leczeniu.

Innym nowym i prostym testem, w którym wykorzystano rekombinowane białka TpN15, TpN17 i TpN47 do diagnostyki kily jest PaGIA™ (DiaMed AG, Cressier sur Morrat, Szwajcaria), (16). Zestaw do odczynu składa się z mikroprobówek, które zawierają czerwone polimerowe cząsteczki w żelowym podłożu, opłaszczone wymienionymi antygenami. Po dodaniu badanej surowicy, 5-minutowej inkubacji i 10-minutowym odwirowaniu, wynik odczynu odczytuje się na podstawie aglutynacji cząsteczek: jednolicie czerwona warstwa na powierzchni żelu oznacza wynik dodatni (obecność w badanej surowicy przeciwciał przeciwko stosowanym antygenom), a na dnie – wynik ujemny. W przypadku obecności niedużej ilości przeciwciał w badanej surowicy lub ich słabej swoistości zaglutynowane cząsteczki są rozproszone w całej objętości żelowego podłoża. Czułość odczynu sprawdzono w stosunku do tradycyjnych odczynów skryningowych i potwierdzających kilę (VDRL, TPPA, ICE-Syphilis, FTA-ABS, IgM-Captia, 19S-IgM-FTA-ABS) w surowicach 60 chorych z kilą pierwszego okresu, 27 – kilą drugiego okresu, 32 – kilą utajoną wczesną i 5 – kilą układu nerwowego, uzyskując przeciętną czułość 91,9% (100 % w kile drugiego okresu i kile układu nerwowego). W kile pierwszego okresu czułość PaGIA™ była wyższa

niż odczynu VDRL, identyczna jak odczynu immunoenzymatycznego (ICE-Syphilis™) i tylko nieco niższa niż odczynu TPPA. Czulość w kile utajonej wczesnej nie przewyższała czulości innych odczynów. Swoistość odczynu wyniosła 99,8%; nie uzyskano żadnego dodatniego wyniku z dwudziestoma surowicami osób zakażonych *Borrelia burgdorferi*. Podsumowując, autor uważa, że stosunkowo prosty i szybki odczyn o znakomitej swoistości i czulości, porównywalnej z innymi stosowanymi odczynami, może być dobrą alternatywną metodą serologicznej diagnostyki kily. Niewątpliwie dalszych badań wymaga ocena odczynu pod kątem jego przydatności w diagnostyce kily późnej oraz w kontroli po leczeniu.

Różne laboratoria opracowały dotąd ponad dwadzieścia dostępnych komercyjnie odczynów do szybkiej diagnostyki kily, z wykorzystaniem antygenów rekombinowanych TpN15, TpN17, TpN47 i techniki immunochromatograficznej lub aglutynacyjnej. Testy te nie wymagają skomplikowanej aparatury ani wysoko wykwalifikowanego personelu i umożliwiają uzyskanie wyniku w ciągu około 15 minut. Część tych odczynów jest obecnie przedmiotem dokładnej analizy prowadzonej przez specjalny program Światowej Organizacji Zdrowia pod kątem ich przydatności w badaniach przesiewowych w kierunku kily, głównie w krajach rozwijających się (17).

Nowatorską metodą oceny odpowiedzi immunologicznej w kile jest modyfikacja odczynu EIA (enzyme-linked immunospot assay – ELISPOT™), w której ocenia się liczbę komórek produkujących przeciwciała przeciwko białku Tpp17 (*Tpp17 antibody secreting cells* – ASCs), (18). Opracowany odczyn interpretuje się jako dodatni, gdy stwierdzi się co najmniej 3 Tpp17-ASCs w 10^6 jednojądrowych komórek krwi obwodowej. Czulość odczynu jest porównywalna z czulością odczynu RPR w kile objawowej wczesnej i niższa w kile utajonej. Średnia liczba ASCs u chorych z kilą pierwszego okresu była nieco wyższa niż u chorych z kilą drugiego okresu i utajoną wczesną (odpowiednio 58, 26 i 14 ASCs/ 10^6 jednojądrowych komórek krwi obwodowej). Stwierdzenie ASCs produkujących przeciwciała przeciwko Tpp17 po leczeniu wskazywało jednoznacznie na niepowodzenie leczenia, co potwierdzono badaniem klinicznym oraz tradycyjnymi odczynami serologicznymi. Zaletą odczynu jest fakt, że ASCs pojawiają się już kilka (3-5) dni po stymulacji antygenem i zanikają w ciągu 8-16 dni po jego eliminacji, a także nie przenikają przez łożysko do płodu w wykrywalnych ilościach, dzięki czemu mogą być przydatne do diagnostyki najwcześniejszych okresów zakażenia (przed syntezą przeciwciał IgM), oceny skuteczności leczenia oraz diagnostyki kily wrodzonej. Dotychczas nie podjęto jednak próby opracowania komercyjnego odczynu ELISPOT do diagnostyki kily.

SZCZEPIONKA PRZECIWKO KILE

Próby opracowania szczepionki przeciwko kile nie przyniosły dotychczas pomyślnych rezultatów. Przed poznaniem genomu krętka błędnego w eksperymentalnym szczepieniu królików stosowano różne białka krętka (białko 4D, endofalgelli, Tromp 1 oraz inne – o masie cząsteczkowej od 15 do 47 kDa), nie uzyskując ochrony zwierząt przed reinfekcją (wg 19). Częściowe właściwości immunoprotekcyjne wykazano w stosunku do rekombinowanej fosfodiesterazy glicerofosfodiestrowej (Gpd), będącej lipoproteiną błony zewnętrznej bakterii (19).

Poznanie genomu *T. pallidum* dostarczyło bodźca do badań nad immunoprotekcyjny-

mi właściwościami innych białek krętka, zlokalizowanych w jego błonie zewnętrznej: Tp92, TprK lub jego częścią (ang. „*TprK V region*”), Tp0453, Tp0257 (13,20,21). Choć podstawy teoretyczne tych badań są obiecujące, to opracowanie szczepionki przeciwko kile, czyli identyfikacja białek, które wejdą w jej skład, wymaga wciąż wielu badań. Bariera jest z jednej strony różnorodność (i być może zmienność) antygenowa bakterii, a z drugiej przyczyny ekonomiczne. Diagnostyka kiły, chociaż niedoskonała, jest stosunkowo niedroga, a krętek błady wciąż pozostaje wrażliwy na penicylinę. Ewentualna szczepionka miałaby zatem zastosowanie w populacjach wysokiego ryzyka, w których koszty diagnostyki i leczenia zakażenia krętkiem bładym przewyższają koszty szczepienia (np. w populacjach krajów rozwijających się o wysokim współczynniku zachorowalności na kilę, a zwłaszcza celem prewencji kiły wrodzonej) (22).

PODSUMOWANIE

Stulecie badań przyniosło szereg osiągnięć w zrozumieniu patogenyzy zakażenia krętkiem bładym, odpowiedzi immunologicznej organizmu na zakażenie oraz postępy w jego diagnostyce. W związku z ograniczoną możliwością zastosowania badań identyfikujących czynnik etiologiczny (brak możliwości hodowli krętka na sztucznym podłożu, brak standaryzowanych metod amplifikacji jego materiału genetycznego), tradycyjne odczyny serologiczne pozostają wciąż podstawą rozpoznania choroby. Mają szczególną wartość w diagnostyce bezobjawowych okresów schorzenia, a ponadto pozwalają na ocenę skuteczności leczenia. Współczesne badania nad poprawą diagnostyki serologicznej w kile zmierzają z jednej strony do uproszczenia i obiektywizacji (automatyzacji) stosowanych testów, a z drugiej – do ustalenia jak najbardziej swoistych antygenów, które posłużą w nowo opracowywanych odczynach. Praktyczne zastosowanie najnowszych testów wymaga jednak dalszych badań. Problemem może pozostać rozpoznawanie najwcześniejszych okresów zakażenia, kiły wrodzonej i kiły układu nerwowego, a szczególnie kiły u zakażonych HIV. Szczepienie przeciwko kile pozostaje, jak dotąd, kwestią bliżej nieokreślonej przyszłości.

AB Serwin, PK Kohl, B Chodynicka

THE CENTENARY OF WASSERMANN REACTION – THE FUTURE OF SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF SYPHILIS, UP-TO-DATE STUDIES

SUMMARY

One hundred years after the discovery of the infectious agent of syphilis and implementation of the first serological test for the diagnosis of syphilis, important progress in the evaluation of host immune response against *Treponema (T.) pallidum* infection has been made. The paper focuses on the new modifications of non-treponemal tests (the use of synthetic cardiolipin and lecithin in Venereal Disease Research Laboratory – VDRL test and the application of the VDRL antigen to immunoenzymatic assays) as well as of treponemal tests. Original treponemal antigens are replaced by recombinant and synthetic antigens (TpN44,5 – TmpA, TpN15, TpN17 and TpN47) and by antigens obtained after sequencing of the complete *T. pallidum* genome (Tp0453, Tp0257 and Tp92) in modifications of immunoenzymatic assays. The new diagnostic strategy, namely the examination of

the number of cells producing *T. pallidum* specific antibodies is also presented. Despite the progress achieved in studies on humoral response in syphilis during last years, the practical application of new tests in diagnosis of the infection requires further studies.

PIŚMIENNICTWO

1. Schaudinn F, Hoffmann E. Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochaeten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen. Arbeit – Klein. Gesundheits 1905;22:527.
2. Wassermann A, Neisser A, Bruck C. Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. Dtsch Med Wochenschr 1906;32:745-6.
3. Workowski KA, Levine WC. Syphilis. W: Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;51(No. RR06):1-80.
4. Goh BT, van Voorst Vader PC. European guideline for the management of syphilis. Int J STD AIDS 2001;12 (Suppl. 3):14-26.
5. Van der Sluis JJ. Laboratory techniques in the diagnosis of syphilis: a review. Genitourin Med 1992;68:413-19.
6. White TJ, Fuller SA. Visuwell regain a nontreponemal enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of syphilis. J Clin Microbiol 1989;27:2300-4.
7. Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. Microb Infect 1999;1:1035-49.
8. Castro AR, Morrill WE, Shaw WA, i in. Use of synthetic cardiolipin and lecitin in the antigen used by the venereal disease research laboratory test for serodiagnosis of syphilis. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:658-61.
9. Fraser CM, Norris SJ, Wienstock GM, i in. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. Science 1998;282:757-759.
10. Weinstock GM, Hardham JM, McLeod MP, i in. The genome of *Treponema pallidum*: the new light on the agent of syphilis. FEMS Microbiology Reviews 1998;22:323-32.
11. Riley M. Functions of gene products of *Escherichia coli*. Microbiol Rev 1993; 57:862-952.
12. Aliprantis AOR, Yang RB, Mark MR, i in. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. Science 1999;285:736-39.
13. Van Vooris WC, Barrett LK, Lukehart SA, i in. Serodiagnosis of syphilis: antibodies to recombinant Tp0453, Tp92 and Gpd proteins are sensitive and specific indicators of infection by *Treponema pallidum*. J Clin Microbiol 2003;41:3668-74.
14. Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, i in. Validation of the INNO-LIA Syphilis kit as a confirmatory assay for *Treponema pallidum* antibodies. J Clin Microbiol 2000;38:215-19.
15. Hagedorn H-J, Kraminer-Hagedorn A, De Bosschere K, i in. Evaluation of INNO-LIA Syphilis assay as a confirmatory test for syphilis. J Clin Microbiol 2002; 40:973-8.
16. Schmidt B. Evaluation of a new particle gel immunoassay for determination of antibodies against *Treponema pallidum*. J Clin Microbiol 2004;42:2833-5.
17. Peeling RW, Ye H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. Bull World Health Organ 2004;82:439-46.
18. Tabidze IL, Lee FK, Tambe P, i in. Enzyme-linked immunospot assay for the diagnosis of active *Treponema pallidum* infection during the various stages of syphilis. Sex Trans Dis 1999;26: 426-30.
19. Cameron CE, Lukehart SA, Castro C, i in. Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* Tp92. J Infect Dis 2000;181: 1401-13.

20. Hazlett KR, Sellati TJ, Nguyen TT, i in. The TprK protein of *Treponema pallidum* is periplasmic and is not a target of opsonic antibody or protective immunity. *J Exp Med* 2001;193:1015-26.
21. Morgan CA, Lukehart SA, Van Vooris WC. Protection against syphilis correlated with specificity of antibodies to the variable regions of *Treponema pallidum* repeat protein K. *Infect Immun* 2003;71:5605-12.
22. Saloojee H, Velaphi S, Goga Y, i in. The prevention and management of congenital syphilis: an overview and recommendations. *Bull World Health Organ* 2004;82:424-30.

Otrzymano: 18.03.2005 r.

Adres autorów:

Agnieszka Beata Serwin
Klinika Dermatologii i Wenerologii Akademii Medycznej
ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok
tel. 0-85 740 95 70, fax: 0-85 740 94 06
e-mail: agabser@amb.edu.pl