

IMMUUNGLOBULINEN EN THYMOLTROEBELING BIJ VROEGE SYFILIS

enkele aspecten van de interactie tussen *Treponema pallidum* en mens

(With a summary in English)

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT
TE ROTTERDAM, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNI-
FICUS PROF. DR. P.W. KLEIN EN VOLGENS BESLUIT
VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN. DE OPENBARE
VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP WOENSDAG
11 JUNI 1975 DES NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

HENK EWALD MENKE

GEBOREN TE PARAMARIBO

DRUKKERIJ ELINKWIJK – UTRECHT

PROMOTOR : PROF. DR. C.H. BEEK

COREFERENTEN : PROF. DR. M. FRENKEL
DR. H.G. VAN EIJK

Aan mijn ouders

Aan Early, Jack, Nathalie en Fleur

Voorwoord

Dit onderzoek werd voor het grootste deel verricht in het Research Laboratorium (hoofd Drs.J.J. van der Sluis) van de afdeling Dermatologie (hoofd Prof.Dr.C.H.Beek) van de Medische Faculteit, Erasmus Universiteit, Rotterdam.

Het proefschrift is tot stand gekomen door samenwerking met velen, die ik zeer erkentelijk ben voor hun waardevolle hulp:

Professor Beek en Dr.H.Neumann hebben door hun visie de grondslag gelegd voor het onderzoek.

Jaap van der Sluis en Nico de Jong, met wie ik op bijzonder aangename en nuttige wijze heb mogen samenwerken hebben met eindeloos geduld mijn manuscript kritisch doorgelezen, daarna diepgaand met mij besproken en zodoende een essentiële bijdrage geleverd aan de uiteindelijke inhoud van het proefschrift.

Ernst Stolz, met wie ik steeds zeer prettig heb samengewerkt, heeft vele praktische adviezen gegeven.

De heer R. van Strik verleende medewerking bij de statistische bewerking.

John Bänffer en Joop van de Merwe hebben een deel van het manuscript doorgelezen en nuttige commentaren geleverd.

Prof.Dr.M.Frenkel en Dr.H.G. van Eijk hebben na lezing van het manuscript belangrijke adviezen gegeven.

Veel werk is verricht door Mieke van de Berg, Jansje Termaat en Marijke Boer (laboratoriumwerk), Jurn Kerckamp en Hille Bruning (statistiek), Johan van der Stek (tekeningen) en Irene Dewaerheijt en Magda de Ridder (typewerk).

Het verplegend personeel, met name Betty Alfons, ben ik veel dank verschuldigd.

Ten slotte, maar niet in de laatste plaats, wil ik mijn ouders, die het mij mogelijk maakten te studeren, dank betuigen.

Met Early, Jack, Nathalie en Fleur, die mij vaak hebben moeten missen, heb ik veel goed te maken.

Voorwoord

Inleiding

Hoofdstuk 1	<u>Algemene beschouwingen met betrekking tot de interactie tussen Treponema pallidum en mens</u>	1
1.1.	Het beloop van syfilis	1
1.1.1.	Algemene beschouwing	1
1.1.2.	Het primaire stadium	2
1.1.3.	Het secundaire stadium	4
1.1.4.	Late orgaansyfilis	5
1.1.5.	Latente syfilis	5
1.1.6.	Congenitale syfilis	5
1.1.7	Het begrip vroege syfilis	6
1.2.	Principes van diagnostiek en therapie van syfilis	7
1.2.1.	Diagnostiek	7
1.2.2.	Therapie	7
1.2.2.1.	Algemene beschouwing	7
1.2.2.2.	De treponemacide penicilline-koncentratie	8
1.2.2.3.	Duur van de penicillinaemie	8
1.2.2.4.	Verscheidenheid aan behandelingswijzen	9
1.2.2.5.	Andere antibiotika	10
1.3.	De interactie tussen Treponema pallidum en mens	10
1.3.1	Struktuur en antigene karakter van Treponema pallidum	10
1.3.1.1.	Struktuur	10
1.3.1.2.	Antigeen karakter	12
1.3.2.	Afweer tegen Treponema pallidum	13
1.3.2.1.	Algemene beschouwing	13
1.3.2.2.	De aspecifieke afweer tegen Treponema pallidum	14
1.3.2.3.	De specifieke afweer tegen Treponema pallidum	15
1.3.2.3.1.	De cellulaire response	15
1.3.2.3.2.	De antilichaamsynthese	18
Hoofdstuk 2	<u>Probleemstelling eigen onderzoek</u>	22
Hoofdstuk 3	<u>Methoden met betrekking tot de gebruikte diagnostiek, therapie en statistiek</u>	24

	blz	
3.1.	Diagnostiek	24
3.2.	Therapie	26
3.3.	Statistiek	26
Hoofdstuk 4	<u>Immuunglobulinen bij vroege syfilis</u>	30
4.1.	Inleiding	30
4.2.	Materiaal en methoden	31
4.2.1.	Kontrolepersonen en patienten	31
4.2.2.	Diagnostiek en therapie	32
4.2.3.	Immuunglobulinebepaling	32
4.2.4.	Statistiek	33
4.3.	Resultaten	33
4.3.1.	Immuunglobulinegehalte bij onbehandelde syfilispatienten	33
4.3.2.	Korrelaties	34
4.3.3.	Immuunglobulinegehalte bij behandelde syfilispatienten	37
4.4.	Diskussie	37
Hoofdstuk 5	<u>De thymoltroebeling bij vroege syfilis</u>	49
5.1.	Inleiding	49
5.2.	Materiaal en methoden	49
5.2.1.	Kontrolepersonen en patienten	49
5.2.2.	Diagnostiek en therapie	50
5.2.3.	Uitvoering van de thymoltroebelingstest	50
5.2.4.	Statistische bewerking	51
5.3.	Resultaten	51
5.3.1.	De thymoltroebeling bij onbehandelde syfilispatienten	51
5.4.	Diskussie	53
Hoofdstuk 6	<u>De relatie tussen immuunglobulinen en de thymoltroebeling bij patienten met vroege syfilis</u>	60
6.1.	Inleiding	60
6.2.	Materiaal en methoden	61
6.2.1.	Kontrolepersonen en patienten	61
6.2.2.	Diagnostiek	62
6.2.3.	Uitvoering van de thymoltroebelingstest	62

	b1z	
6.2.4.	Bepaling van het immuoglobulinegehalte in het serum	62
6.2.5.	Bepaling van het gehalte aan totaal lipiden	62
6.2.6.	Bepaling van het gehalte aan basisch IgG in het serum	62
6.2.6.1.	Totaal eiwit-gehalte	63
6.2.6.2.	Papier elektroforese	63
6.2.6.3.	Agargel elektroforese	63
6.2.6.4.	Berekening van het basisch IgG-gehalte	64
6.3.	Resultaten	66
6.4.	Diskussie	67
Hoofdstuk 7	<u>Preferente synthese van basisch IgG bij patienten met vroege syfilis</u>	81
7.1.	Inleiding	81
7.2.	Materiaal en methoden	81
7.3.	Resultaten	81
7.3.1.	De korrelatie tussen het basisch IgG en totaal IgG-gehalte	82
7.3.2.	De procentuele toename in het gehalte aan basisch en totaal IgG	82
7.3.3.	Het effect van antitreponemale therapie op het basisch IgG-gehalte	84
7.4.	Diskussie	86
Hoofdstuk 8	<u>De invloed van een infectie met Treponema pallidum op de lever</u>	92
8.1.	Inleiding	92
8.2.	Materiaal en methoden	94
8.2.1.	Patienten	94
8.2.2.	Laboratoriumonderzoek	94
8.3.	Resultaten	95
8.3.1.	Patienten bij wie geen hepatitis B-antigeen of antili-chaam werd aangetoond	95
8.3.2.	Patient met hepatitis B-antigeen in het serum	96
8.4.	Diskussie	96
Samenvatting en konklusies		100
Summary and conclusions		103
Literatuur		105
Curriculum vitae		

HOOFDSTUK I Algemene beschouwing met betrekking tot de interactie tussen
Treponema pallidum en mens

Venerische syfilis, kortweg syfilis, is een chronische infectieziekte, die meestal door geslachtsverkeer wordt overgedragen en wordt veroorzaakt door Treponema pallidum.

Treponema pallidum, door Schaudinn en Hoffmann (1905) geïdentificeerd als de verwekker van syfilis, is een micro-organisme uit het geslacht Treponema. Dit geslacht behoort tot de familie der Treponemataceae uit de orde der Spirochaetales (Breed et al., 1957).

1.1.

Het beloop van syfilis

1.1.1.

Algemene beschouwing

De besmetting met syfilis vindt meestal plaats door inoculatie van Treponema pallidum in huid of slijmvlies. Hoewel er in het algemeen wordt aangenomen, dat deze inoculatie plaatsvindt in een huid- of slijmvliesdefekt, zouden virulente treponemen door een intact slijmvlies heen het organisme kunnen binnendringen (Michael, 1929; Mahoney en Bryant, 1933).

Zoals blijkt uit de resultaten van experimenteel onderzoek, vindt er vanuit de porte d'entree een zeer snelle uitzaaiing van treponemen door het lichaam plaats. Raiziss en Severac (1937) toonden aan, dat reeds binnen 5 minuten na inoculatie van Treponemata pallida in de testes van konijnen deze micro-organismen in het bloed van de proefdieren te vinden zijn. Door andere onderzoekers kon worden aangetoond, dat de treponemen reeds 5 tot 30 minuten na subcutane inoculatie of inoculatie in een door scarifikatie veroorzaakte huidlesie van caviae en konijnen de regionale lymfklieren van deze proefdieren bereikt hadden (Kolle en Evers, 1926; Bessemans en Potter, 1933 en 1934; Tani et al., 1935).

Hoewel bij het ekstrapoleren van de resultaten van het syfilisonderzoek bij proefdieren naar de mens voorzichtigheid geboden is, wordt algemeen aangenomen dat ook bij de mens de ziekte binnen 1 of 2 uur na de besmetting geen lokale aandoening meer is (Stokes, 1941).

Tijdens het beloop van een Treponema pallidum-infectie van de mens kan syfilis zich in een aantal klinische stadia manifesteren, die echter niet altijd scherp van elkaar zijn te scheiden, omdat de ziekte als resultaat van de interactie tussen mens en micro-organisme min of meer geleidelijk van de

ene fase in de andere overgaat.

Het beloop van syfilis is schematisch weergegeven in de gedeeltelijk aan Willcox (1964) ontleende figuur 1.1.

Indien de ziekte het klassieke beloop vertoont, wordt de besmetting na een inkubatietijd, die meestal twee tot vier weken duurt, gevolgd door achtereenvolgens het primaire stadium, het secundaire stadium en het tertiaire stadium of stadium van de late orgaan syfilis. Het primaire en secundaire stadium kunnen gescheiden worden door een kortdurende symptoomloze of latente periode. Het secundaire stadium en de late orgaan syfilis worden meestal gescheiden door een lange, soms jaren durende latentie.

Syfilis kan bij de individuele patient echter een beloop hebben, dat afwijkt van het klassieke patroon. Ieder stadium van de ziekte kan worden "overgeslagen" en vanuit ieder stadium kan een later stadium, een levenslange latentie of zelfs een "spontane genezing" optreden.

Er moet verder worden opgemerkt, dat het toedienen van geneesmiddelen met een antitreponemale werking, ter bestrijding van andere ziekten dan syfilis, het verdere beloop van een bestaande infectie met Treponema pallidum kan verstoren.

1.1.2.

Het primaire stadium

Het primaire stadium manifesteert zich als primair kompleks, dat uit een primair affekt en een regionale lymfadenopathie bestaat.

Het primair affekt, dat vaak op de genitaliën is gelokaliseerd, ontstaat op de plek van de primaire inoculatie van treponemata (Magnuson et al., 1956). Een typische lesie kan worden beschreven als een onpijnlijke, solitaire, erosieve of ulceruze efflorescentie met een harde bodem. Niet zelden echter worden zogenaamde atypische lesies waargenomen (Notowicz en Menke, 1973; Notowicz et al., 1975).

Histologisch wordt er in een vroeg stadium van het primair affekt een infiltraat van polymorfkernige leucocyten gevonden, dat spoedig wordt vervangen door een perilymfatisch infiltraat van plasmacellen en lymfocyten. Later wordt een obliteratedieve endolymfangitis waargenomen en dergelijke obliteratedieve veranderingen kunnen ook worden gezien in de arteriolen en venen. De epidermis kan een acanthose vertonen en in de dermis is er oedeem en later fibrose. In oude lesies wordt soms het beeld van een tuberculoïde reactie waargenomen.

Er kunnen intercellulair talrijke treponemata worden aangetoond (zilverkleuring) rond de lymfvaten en capillairen en in oudere lesies in de venen

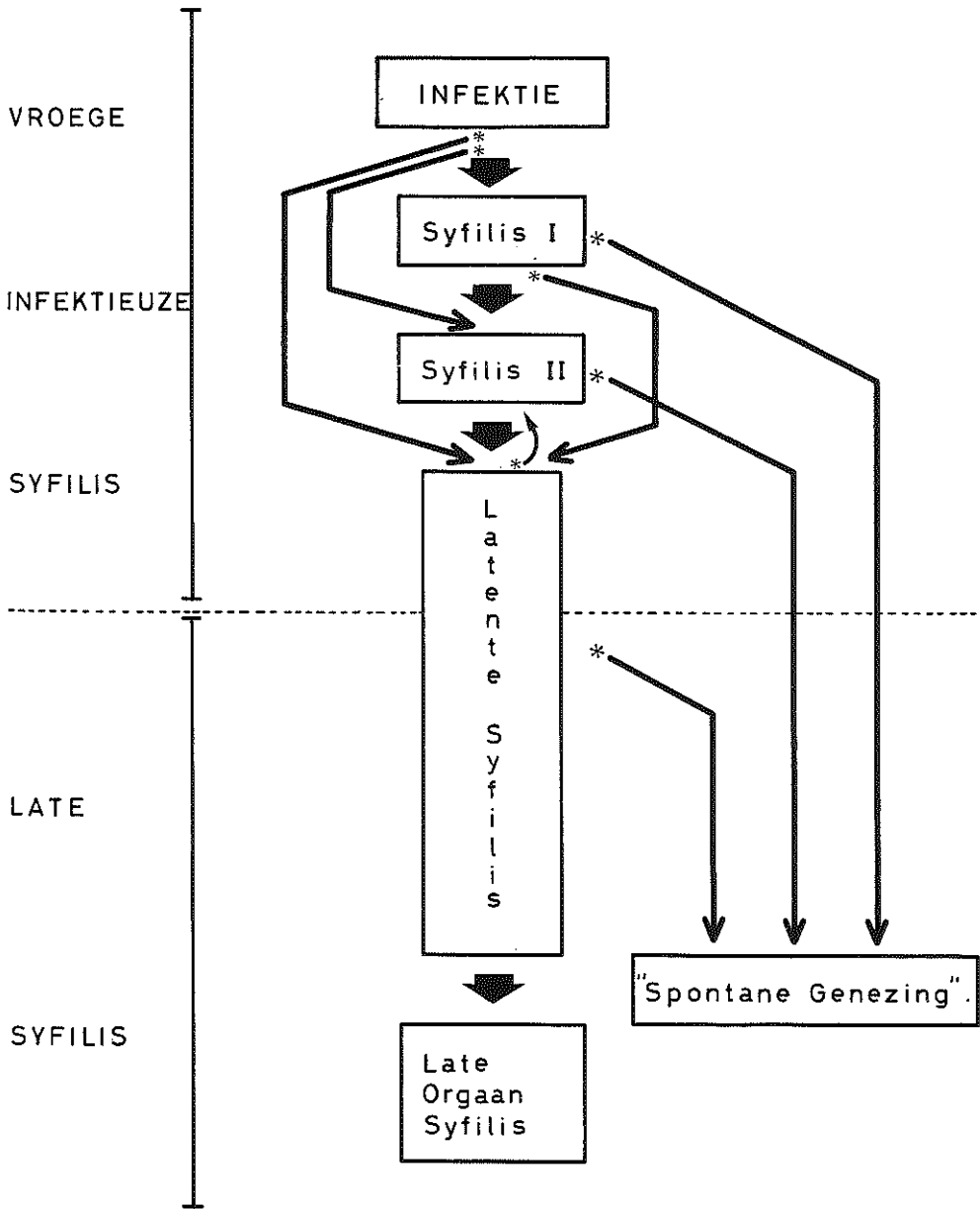


FIG. 1.1 Het beloop van Syfilis .

en in de epidermis aan de rand van het ulcus (Lever, 1967; Montgomery, 1967).

Met behulp van de elektronenmicroscopie is het gelukt Treponema pallidum inter- en intra-cellulair aan te tonen (Azar et al., 1970; zie verder 1.3.2.2.).

1.1.3.

Het secundaire stadium

Gemiddeld zes tot twaalf weken, soms echter een langere tijd na het verschijnen van het primair affekt, wordt het secundaire stadium bereikt, dat gekenmerkt wordt door klinische symptomen aan huid en slijmvliezen. Daarnaast wordt meestal een gegeneraliseerde lymfadenopathie gevonden. Ook andere organen kunnen in het tweede stadium aangetast worden, hetgeen gepaard kan gaan met klinisch manifeste verschijnselen.

Het hoofdsymptoom van het secundaire stadium is echter het syfilitische exantheem, dat handpalmen en voetzolen bijna nooit vrijlaat en niet jeukt. Het exantheem is in het algemeen maculeus van aard, maar ook andere vormen van exantheem, zoals papuleuze, pustuleuze en erythematosquameuze, kunnen voorkomen. Rond de genitaliën en periaanaal worden vaak zogenaamde condylomata lata en op de slijmvliezen van mondholte en genitalia zogenaamde "plaques muqueuses" gezien. De symptomen verdwijnen spontaan na enkele weken tot maanden. Soms kunnen echter tijdens de eerste twee jaar na besmetting nog spontane recidieven van het tweede stadium worden waargenomen.

Het histologisch beeld van de lesies kan evenals het klinisch beeld sterk variëren (Jeerapaet en Ackerman, 1973). Bij het vaak voorkomende maculeuze exantheem worden slechts geringe histologische veranderingen gevonden, n.l. zwelling van het endotheel van de oppervlakkige dermale capillairen, die omgeven zijn door een gering infiltraat, bestaande uit lymfocyten en plasmacellen. Bij andere typen exantheem wordt vaak een uitgebreider zogenaamd manchetvormig infiltraat rond de vaten aangetroffen, dat vooral uit plasmacellen bestaat. Bij folliculaire en lichenoïde syfilitische exanthemen kan het beeld van een tuberculoïde reactie worden waargenomen (Lever, 1967; Montgomery, 1967).

In de histologische preparaten (zilverkleuring) van de huidlesies kunnen soms treponemen intercellulair worden aangetroffen.

Met behulp van de elektronenmicroscopie zijn in de syfilitische huidlesies treponemata intracellulair in verschillende celtypen aangetoond (Metz en Metz, 1972; zie ook 1.3.2.2.).

1.1.4.

Late orgaansyfilis

In het stadium van de late orgaansyfilis kan het ziekteproces in ieder orgaan gelokaliseerd zijn, de huid inbegrepen. De cardiovasculaire en neurosyfilis zijn echter de meest voorkomende vormen van late orgaansyfilis.

Wat de tertiaire lesies van de huid betreft worden klinisch en histologisch twee vormen onderscheiden, n.l. het gumma en de nodulaire vorm.

Een gumma is een ten gevolge van de Treponema pallidum-infektie optredend granuloom met uitgebreide necrose in het centrum. In de buurt van de necrose worden talrijke epitheloïde cellen en reuscellen, vooral van het "vreemd lichaam"-type, aangetroffen. Het ontstekingsinfiltraat bestaat uit histiocyten, lymfocyten en plasmacellen. De granulomateuze ontsteking is gelokaliseerd in dermis en subcutis. Bij de nodulaire tertiaire syfilis is het granulomateuze proces beperkt tot de dermis. Er zijn gewoonlijk weinig epitheloïde cellen en reuscellen. De necrose is meestal beperkt of afwezig.

Bij tertiaire syfilislesies van de overige organen worden er eveneens twee histologische typen onderscheiden, n.l. het gumma en de diffuse ontsteking van het interstitium. Bij deze laatste vorm wordt een ophoping van lymfocyten en plasmacellen rond de kleine vaten gevonden. Necrose is gewoonlijk afwezig. Geleidelijk aan wordt het parenchym vervangen door bindweefsel (Lever, 1967; Montgomery, 1967).

In de lesies van late orgaansyfilis kunnen, hoewel dat vaak niet eenvoudig is, treponemata worden aangetoond.

Elektronenmicroscopische onderzoeken van late syfilislesies zijn ons niet bekend.

1.1.5.

Latente syfilis

Bij de latente syfilis worden bij het onderzoek geen klinisch waarneembare afwijkingen gevonden.

1.1.6.

Congenitale syfilis

Naast de door seksueel verkeer overgedragen syfilis kennen wij een aangeboren vorm van deze ziekte. Een zwangere die aan syfilis lijdt kan haar ongeboren kind via de navelstreng met Treponema pallidum besmetten. Deze besmetting kan optreden ongeacht het stadium van de syfilis van de zwangere.

Het beloop van aangeboren syfilis is in principe te vergelijken met

dat van de niet-congenitale vorm van deze ziekte. Bij congenitale syfilis wordt echter het primaire stadium "overgeslagen", omdat de treponemen niet in huid of slijmvlies worden geïnoculeerd, maar direkt via de navelstreng in het bloed van de foetus komen. Dit kan vergeleken worden met de besmetting, die kan plaatsvinden door middel van bloedtransfusie, waarbij bloed, afkomstig van een donor die aan vroege syfilis lijdt, wordt gebruikt (Greither en Klein, 1949). Het klinisch beeld van de congenitale syfilis van de pasgeborene en de transfusiesyfilis vertonen overeenkomst met het secundaire stadium van de ziekte.

1.1.7.

Het begrip vroege syfilis

In verband met de besmettelijkheid worden tijdens het natuurlijk be-
loop van syfilis twee perioden onderscheiden, namelijk de vroege infectieuze sy-
filis en de late, niet infectieuze syfilis.

Primair, secundair en vroeg latent stadium vormen samen de vroege in-
fectieuze syfilis of kortweg vroege syfilis. Tot het vroeg latente stadium wor-
den alle latente fasen van de ziekte in de eerste twee jaar na de besmetting ge-
rekend, te weten: de latente periode, die soms optreedt tussen primair en secun-
dair stadium en een deel van de latente periode, die na het secundaire stadium
optreedt.

Laat latente periode en late orgaansyfilis vormen samen de late syfi-
lis.

De grens tussen vroege en late syfilis wordt gewoonlijk gelegd op een
tijdstip van twee jaar na de besmetting (Thomas, 1949; Idsoe et al., 1954; Flu-
ker, 1972). In Engeland wordt echter vroege syfilis gedefiniëerd als een infectie,
die niet ouder is dan 1 jaar (Willcox, 1964). Deze afwijkende opvatting is waar-
schijnlijk gebaseerd op een andere visie met betrekking tot de periode gedurende
welke de ziekte besmettelijk zou zijn.

Het infectieuze karakter van vroege syfilis hangt samen met het aantal
Treponemata pallida, dat na de besmetting in het lichaam van de patient aanwezig
is en met de plaats in het lichaam waar deze micro-organismen zich ophouden.
Er zijn ons geen exakte gegevens over veranderingen in aantal treponemata tijdens
het beloop van syfilis bekend. Op grond van histologische, bacteriologische en
epidemiologische gegevens kan echter worden verondersteld, dat het aantal trepo-
nemen na besmetting toeneemt tot aan het secundaire stadium en daarna weer af-
neemt. Deze veronderstelling vindt enige steun in de resultaten van eksperimen-
teel onderzoek bij konijnen (Collart, 1971).

1.2.

Principes van diagnostiek en therapie van syfilis

1.2.1.

Diagnostiek

Het stellen van de diagnose syfilis en het vaststellen van het stadium van de ziekte steunt op een combinatie van resultaten van het klinisch onderzoek, het in het laboratorium verrichte onderzoek en het epidemiologisch onderzoek.

Bij het klinisch onderzoek is kennis van de stadia, die tijdens het beloop van deze ziekte kunnen optreden (zie 1.1.) vereist. Dit onderzoek wordt, voorzover het vroege syfilis betreft, verricht door de dermato-venereoloog. Bij de diagnostiek van late syfilis is de medewerking van andere orgaanspecialisten onmisbaar.

Het laboratoriumonderzoek valt uiteen in:

- a. Onderzoek, gericht op het aantonen van de ziekteverwekker. Treponemata pallida, afkomstig uit het ontstekingsexsudaat van syfilislesies kunnen na zilverkleuring worden aangetoond met behulp van de gewone lichtmicroscopie (Levaditi en Manouélian, 1906; Ito, 1969), de donkerveld microscopie (Landsteiner en Mucha, 1906; Coles, 1909), de fase contrast microscopie (Poetschke en Kaiser, 1953) en de fluorescentie microscopie (Edwards, 1962; Yobs et al., 1964b; Wilkinson en Cowell, 1971).
- b. Onderzoek gericht op het aantonen van bepaalde antilichamen, die als gevolg van besmetting met Treponema pallidum in het lichaam van de patient worden gevormd (zie 1.3.2.3.2.).
- c. Speciale onderzoekingen, zoals het histologisch onderzoek (zie 1.1.2. tot en met 1.1.4.).

Het epidemiologisch onderzoek kan belangrijke informatie over de infectiositeit van de patient verschaffen en daardoor een bijdrage leveren met betrekking tot de klassifikatie van de aandoening. Bij verdenking op congenitale syfilis zal het onderzoek van de moeder voor de diagnostiek essentiële informatie kunnen verschaffen.

1.2.2.

Therapie

1.2.2.1.

Algemene beschouwing

Penicilline werd in 1943 voor het eerst gebruikt bij de behandeling van syfilis (Mahoney et al., 1943) en is nog steeds het middel van eerste keus bij de behandeling van alle stadia van de ziekte (Idsoe et al., 1972).

Bij de behandeling van syfilispatienten met penicilline wordt uitgegaan van het principe, dat een treponemacide penicillineconcentratie in het serum van de patient gedurende een veelvoud van de generatietijd van Treponema pallidum gehandhaafd moet worden.

1.2.2.2.

De treponemacide penicilline-koncentratie

Volgens Magnuson (1952) is in vitro 0.0025E penicilline/ml voldoende om 50% van de aanwezige treponemen binnen 16 uur te immobiliseren. Om een bactericide effect in vivo te bereiken, moet de penicilline concentratie in het serum twee tot vijf maal hoger zijn dan de concentratie die nodig is om het organisme in vitro te doden, omdat een belangrijk gedeelte van de hoeveelheid vrije penicilline gebonden is aan serumeiwitten en derhalve niet beschikbaar is voor diffusie naar de weefsels (Eagle et al., 1950; Knudsen, 1964).

Luger (1971) is van mening, dat bij de mens - om risico's te vermijden - een veelvoud van de eksperimenteel gevonden minimum treponemacide penicillinespiegel vereist is. Hij vindt op arbitraire gronden, in navolging van anderen (Graciansky et al., 1952; Vandow en Sobel, 1956) een serumspiegel van 0.03E/ml een verantwoorde therapeutische concentratie. Hierdoor zou bij iedereen, ondanks individuele variaties in bijvoorbeeld eiwitbinding, weefselpenetratie en uitscheiding, een treponemacide penicillinespiegel in de weefsels gewaarborgd zijn.

1.2.2.3.

Duur van de penicillinaemie

Aangezien penicilline de celwandsynthese van bacteriecellen remt (Park en Strominger, 1957) en zodoende haar aangrijpingspunt heeft op de delende treponeem (Luger, 1970, 1971), moet de effectieve penicillinespiegel in het serum van de patient gedurende een veelvoud van de generatietijd (het tijdsinterval tussen twee delingen in) van Treponema pallidum gehandhaafd worden.

Op grond van berekeningen, gebaseerd op de snelheid van toename van het aantal treponemata korte tijd na besmetting van konijnen met deze micro-organismen, menen Magnuson et al. (1948) en Cumberland et al. (1949), dat de gemiddelde generatietijd van Treponema pallidum in konijntestikels 30-33 uur bedraagt. In het algemeen wordt er bij beschouwingen over de duur van de penicilline-therapie van syfilispatienten van uitgegaan, dat Treponema pallidum zich

ook in de mens iedere 30-33 uur deelt (Luger, 1971). Collart (1970) wijst er evenwel op, dat het helemaal niet zeker is, dat de generatietijd van Treponema pallidum in humaan weefsel gelijk is aan die in het konijn, aangezien de fysiologische omstandigheden in deze gastheren niet gelijk zijn. Dat in verschillende gastheren de delingsfrequentie inderdaad kan verschillen, blijkt uit onderzoeken van Rosahn en Rowe (1950), die vonden dat de generatietijd van Treponema pallidum bij de - overigens altijd latent blijvende - syfilis-infectie van de muis niet minder dan 24 dagen bedraagt.

Collart (1970) wijst er verder op, dat de berekeningen van Magnuson et al. (1948) en Cumberland et al. (1949) betrekking hebben op een recente Treponema pallidum-infectie van het konijn en dat waarschijnlijk ten onrechte door velen worden gemeend dat de gevonden generatietijd van 30-33 uur gedurende het hele beloop van de ziekte zou gelden. Volgens Collart et al. (1974) is het aantal treponemata dat na besmetting van konijnen bepaalde delen van het lichaam, in het bijzonder de liquor cerebrospinalis en het glasvocht van het oog, binnendringt gering en delen de micro-organismen zich daar bijzonder langzaam, waardoor zij "ongevoelig" zouden zijn voor penicilline. Deze treponemen bleken, gezien het resultaat van proefdierinoculaties, hun vitaliteit niet verloren te hebben.

Door verschillende onderzoekers zijn in weefsels van syfilispatienten, met name lymfklieren (Collart et al., 1964; Yobs et al., 1964b, 1968) liquor cerebrospinalis en glasvocht van het oog (Smith et al., 1968a, 1968b) virulente Treponemata pallida aangetroffen, ondanks "adekwate" penicillinetherapie. Het is mogelijk dat deze micro-organismen konden overleven, doordat zij zich bijzonder langzaam vermenigvuldigen. Een tweede faktor bij het persisteren is echter, dat met name in het glasvocht van het oog en in de liquor cerebrospinalis, door slechte doorbloeding, geen treponemacide penicillinespiegel bereikt kon worden.

1.2.2.4.

Verscheidenheid aan behandelingswijzen

Mondiaal bestaat er een grote verscheidenheid aan behandelingswijzen van syfilispatienten met penicilline. De therapieën verschillen met name in de tijd gedurende welke de penicillinespiegel gehandhaafd wordt.

Als uitersten kunnen genoemd worden, enerzijds de door de Wereld Gezondheids Organisatie aanbevolen, vermoedelijk mede op epidemiologische principes gebaseerde therapie, die bestaat uit één of twee injecties van een langwerkend penicilline-preparaat (WHO, 1953), anderzijds de uitgebreide behandeling,

die in sommige Europese landen wordt gegeven, waarbij de patient in een periode van enkele maanden tientallen miljoenen eenheden penicilline krijgt toegedient (Walter en Heilmeyer, 1956; Leyh, 1972; Greuer, 1973).

Men zou kunnen denken dat de langdurige therapieën ingegeven zijn door de onduidelijkheid (zie paragraaf 1.2.2.3.) rond de generatietijd van Treponema pallidum, of door de angst voor de eventuele konsekwenties van persisterende virulente treponemen. In de praktijk moet de oorzaak van deze behandelingswijze echter vooral gezocht worden in de onduidelijkheid rond de betekenis van het, ondanks therapie, positief blijven van serologische testen, waarmee antitreponemale antilichamen worden aangetoond. Hierbij moet opgemerkt worden dat het niet uitgesloten is, dat het persisteren van Treponema pallidum, de langzame deling van dit micro-organisme en het ondanks de therapie vaak niet verdwijnen van treponemale antilichamen met elkaar in causaal verband staan.

1.2.2.5.

Andere antibiotika

Bij contraïndikatie van het gebruik van penicilline wordt bij de behandeling meestal gebruik gemaakt van tetracyclinen of erythromycine, omdat deze middelen een geringere toxiciteit voor de mens vertonen dan de alternatieve antibiotika (Luger, 1968).

1.3.

De interactie tussen Treponema pallidum en mens

De interactie tussen Treponema pallidum en de mens heeft vele aspecten. In het kader van dit proefschrift zal in de volgende paragrafen een kort overzicht worden gegeven van de aspecifieke en specifieke afweer van de mens tegen Treponema pallidum. Aangezien de aard van de afweerreacties mede bepaald worden door de aard van het causale micro-organisme, zullen eerst de structuur en het antigene karakter van Treponema pallidum worden besproken.

1.3.1.

Structuur en antigene karakter van Treponema pallidum

1.3.1.1.

Structuur

Treponema pallidum is een slank, spiraalvormig micro-organisme met regelmatige windingen en spits toelopende uiteinden. Volgens Swain (1955), die bij zijn onderzoek gebruik maakte van de elektronenmicroscop, is de lengte van het

organisme 6-15 μm , de dikte 0.09 - 0.18 μm en de "golflengte" van de spiralen 1.15 μm . De "amplitude" is 0.2 - 0.7 μm (Wiegand et al., 1972).

Met behulp van elektronenmicroscopie is aangetoond dat Treponema pallidum bestaat uit een protoplasmacylinder, die omgeven wordt door een drietal membranen, van binnen naar buiten respectievelijk de celmembraan, de celwand en de "outer envelope" (Jackson en Black, 1971a; Wiegand et al., 1972; Johnson et al., 1973).

In het protoplasma bevinden zich verschillende structuren, zoals filamenteuze gebieden, die lijken op de filamenteuze kerngebieden in bacteriën en op ribosomen lijkende partikels.

Tegen de binnenzijde van de celmembraan gelegen lopen in de lengterichting van het organisme een aantal z.g. diepe fibrillen, die een rol zouden spelen bij het handhaven van de structurele integriteit en de elasticiteit van protoplasmacylinder en celmembraan en mogelijk ook bij de beweging van Treponema pallidum.

Aan ieder uiteinde van Treponema pallidum ontspringen vanuit subterminaal in het protoplasma gelegen basale granulae een aantal z.g. oppervlakkige fibrillen of axiale filamenten, die celmembraan en celwand penetreren, tussen celwand en "outer envelope" komen te liggen en zich in lengterichting om de celwand heen winden. Zij zouden wat structuur en functie betreft overeenkomen met flagellae van bacteriën (Hougen, 1971; Jackson en Black, 1971b).

Virulente Treponemata pallida worden omgeven door mucoïd materiaal (Turner en Hollander, 1957; Ovcinnikov en Delektorsky, 1969), dat mogelijk van bijzonder belang is bij de relatie tussen treponeem en mens. Volgens Turner en Hollander (1957) is deze slijmige substantie hyaluronzuur of een aanverwant produkt, aangezien het door hyaluronidase kan worden afgebroken. Het slijm zou volgens deze auteurs door de treponemen zelf worden geproduceerd.

Christiansen (1963) echter veronderstelt dat het slijmkapsel afkomstig is van de gastheer. Dit kapsel zou volgens de hypothese van deze auteur het micro-organisme beschermen tegen de afweermechanismen van de gastheer. De waarnemingen dat treponemata, die net uit gastheerweefsel afkomstig zijn - en nog een intacte slijmlaag zouden bezitten - niet fluoresceren bij uitvoering van de FTA abs test (Wiegand et al., 1972; Kiraly, 1973) pleit voor deze beschermende functie van de slijmlaag. Ook het feit dat immobilisatie van Treponema pallidum door specifieke antilichamen en komplement pas plaats vindt na een inkubatie van 18 uur (Seldeen, 1953), zou verklaard kunnen worden door de aanwezigheid van een slijmkapsel dat de treponemen beschermt, en dat door de inkubatie verdwijnt. Hetzelfde geldt voor de waarneming, dat immobilisatie van Treponema pallidum

wordt versnelt door toevoeging van lysozyme, een enzym dat de hydrolyse van 1-4 glycoside bindingen van zure mucopolysacchariden bevordert (Metzger et al., 1961; Kent en de Weerdt, 1963). Volgens Müller et al. (1973) zou echter het effect van lysozyme berusten op een immobilisatie van Treponema pallidum door dit enzym, welke pas na beschadiging van oppervlakkige lagen van het micro-organisme door een voorafgaande komplement afhankelijke, immunologische reactie kan plaatsvinden.

1.3.1.2.

Antigeen karakter

Het onderzoek naar de antigene structuur van Treponema pallidum wordt ernstig bemoeilijkt door het feit dat pathogene treponemen, die alleen in levende organismen te kweken zijn, niet of nauwelijks te zuiveren zijn van weefselbestanddelen van de gastheer. Bovendien zijn de micro-organismen door de "in vivo" kweekmethode slechts in relatief geringe hoeveelheden voor onderzoek beschikbaar.

Er is daardoor veel onderzoek verricht naar de antigene structuur van aan Treponema pallidum verwante apathogene treponemen, die wel in vitro gekweekt kunnen worden, in het bijzonder de Reiter treponeem (de Bruyn, 1961; Wallace en Harris, 1967). Deze onderzoekingen hadden meestal primair tot doel antigenen te isoleren, die gebruikt konden worden bij de syfilisdiagnostiek.

De ingewikkelde structuur van Treponema pallidum rechtvaardigt de veronderstelling, dat dit micro-organisme een groot aantal verschillende antigene determinanten bevat. Vanuit theoretisch standpunt bekeken kan verondersteld worden dat:

- a. De intacte treponeem als antigeen fungeert; vooral oppervlakkig gelegen structuren van het micro-organisme zijn hierbij belangrijk.
- b. Bij het te gronde gaan van Treponema pallidum vele antigenen zullen vrijkomen; hierbij kan onderscheid worden gemaakt tussen antigenen afkomstig van de omhullende structuren en antigenen afkomstig uit de protoplasmacylinder.

In dit verband kan worden opgemerkt dat er, voor zover kon worden nagegaan, weinig onderzoek is verricht naar het voorkomen van door Treponema pallidum geproduceerde toxinen, welke producten tevens antigene eigenschappen zouden kunnen hebben. Heyman et al. (1952) waren niet in staat endotoxinen aan te tonen in Treponema pallidum. Er wordt desondanks door Bryceson (1970) verondersteld, dat bij de pathogenese van de Jarisch-Herxheimer reactie - de met koorts gepaard gaande

akute reactie, die kort na het begin van de behandeling van syfilispatienten met een treponemacide middel kan optreden - endotoxinen, die vrijkomen uit gedode treponemen, een rol spelen.

Ondanks de reeds genoemde moeilijkheden met betrekking tot de zuiverheid van de preparaten heeft men toch geprobeerd inzicht te krijgen in het antigene karakter van Treponema pallidum. De verrichte onderzoeken duiden erop, dat pathogene Treponemata pallida in principe dezelfde antigene componenten bevatten als die, welke men eerder in de Reiter treponemem had aangetoond, te weten:

1. eiwitten (Deacon en Hunter, 1962; Kiraly, 1968)
2. lipoïden (Vaczi et al., 1966)
3. polysacchariden (Miller et al., 1966a, 1967, 1969)
4. lipopolysacchariden (Miller et al., 1966b)

Over de lokalisatie van deze antigene componenten in het micro-organisme is helaas weinig bekend. Jackson en Zey (1973) suggereren, dat er in de omhullende structuren van Treponema pallidum lipopolysacchariden aanwezig zijn.

1.3.2.

Afweer tegen Treponema pallidum

1.3.2.1.

Algemene beschouwing

Bij de natuurlijke verdediging van het menselijk organisme tegen binnendringende, lichaamsvreemde stoffen en organismen kan onderscheid worden gemaakt tussen de aspecifieke en de specifieke of immunologische afweer.

Tot de aspecifieke afweer kunnen de mechanische barriërefunctie van de huid en slijmvliezen worden gerekend; voorts de fagocytose (Stossel, 1974) en het effect van een aantal humorale factoren, respectievelijk systemen, waaronder het lysozyme (Finch et al., 1974), het properdine systeem (Pillemer et al., 1954) en het komplement systeem (Ruddy et al., 1972).

Bij beschouwingen over de specifieke of immunologische afweer wordt onderscheid gemaakt tussen enerzijds de afweer via cellen (cellulaire response) en anderzijds de afweer via door cellen gesynthetiseerde antilichamen.

Onderzoek verricht op proefdieren heeft duidelijk gemaakt dat er tot de lymfocyten twee populaties van cellen behoren, die een belangrijke rol spelen bij het tot stand komen van de immunologische reacties (Greaves et al., 1973)

1. De B (= "bursa equivalent" afhankelijke of thymus onafhankelijke) lymfocyten, die zich tot de immuunglobulinensynthetiserende plasmacellen dif-

ferentiëren

2. De T (= thymus afhankelijke) lymfocyten, die vooral van belang zijn bij de cellulaire response. T lymfocyten spelen tevens een rol bij de anti-lichaamsynthese, waarbij zij een zogenaamde "helper"-functie hebben ten opzichte van de B lymfocyten. Door verschillende onderzoekers is evenwel aangetoond dat de B lymfocyten zonder hulp van T lymfocyten door z.g. thymusafhankelijke antigenen en door B-cel mitogenen tot antilichaam productie kunnen worden gestimuleerd (Andersson et al., 1972).

Op grond van klinisch onderzoek wordt aangenomen, dat het concept van de T en B lymfocyten ook voor de mens geldt (Good et al., 1971). In hoeverre het T helperfunctie model voor de mens opgaat is niet duidelijk.

1.3.2.2.

De aspecifieke afweer tegen *Treponema pallidum*

Met betrekking tot de rol van het komplementsysteem en het properdine systeem bij de aspecifieke afweer tegen *Treponema pallidum* is geen fundamenteel onderzoek verricht. Wat betreft onderzoekingen naar de effecten van lysozyme op *Treponema pallidum* in vitro, kan worden verwezen naar paragraaf 1.3.1.1. In hoeverre de beschreven effecten van lysozyme op het treponeem in vivo een rol spelen is niet bekend. Wat betreft de barriere-functie van de huid wordt verwezen naar de in paragraaf 1.1.1. gemaakte opmerking over de penetratie van *Treponema pallidum*.

Door middel van elektronenmicroscopisch onderzoek van primaire (Azar et al., 1970) en secundaire (Metz en Metz, 1972) syfilislesies bij de mens en van eksperimenteel veroorzaakte syfilitische orchitis bij het konijn, (Ovcinnikov en Delektorsky, 1971a en 1971b; Sykes en Miller, 1971; Lauderdale en Goldman, 1972), kan *Treponema pallidum* in cellen, die gewoonlijk actief betrokken zijn bij fagocytose, zoals polymorfkernige leucocyten, macrophagen en monocyten, als ook in epidermiscellen, endotheelcellen, plasmacellen, lymfocyten, spermatoocyten en cellen van Leydig worden aangetoond.

Aangezien de treponemen zowel in fagosomen als vrij liggend in het cytoplasma werden waargenomen zijn vermoedelijk zowel fagocytose als actieve penetratie van treponemen door de celmembraan heen verantwoordelijk voor de intracellulaire lokalisatie van deze micro-organismen. Musher et al. (1972) konden met behulp van in vitro eksperimenten aantonen, dat konijnen-macrophagen in staat zijn actief *Treponema pallidum* (Nichols apathogeen) te phagocyteren. In polymorfkernige leucocyten, macrophagen en monocyten werden

treponemen in verschillende stadia van desintegratie gezien (Lauderdale en Goldman, 1972; Metz et Metz, 1972), wat ervoor pleit, dat de - vermoedelijke - fagocytose gevolgd kan worden door lysis. In andere cellen evenwel, bij voorbeeld fibroblasten en plasmacellen, werden treponemen in intakte vorm waargenomen.

Hoewel daar tot nu toe nogonvoldoende bewijs voor is, suggereren bovenstaande bevindingen toch, dat Treponema pallidum in de gastheer zou kunnen overleven (zie ook paragraaf 1.2.2.3.), door zich intracellulair op te houden. Hierdoor zou het micro-organisme beschermd zijn tegen de afweermechanismen van de gastheer en tegen het effect van de therapie (Sykes en Miller, 1971; Lauderdale en Goldman, 1972). Spector (1974) is van mening, dat het chronische beloop van syfilis - net zoals dat bij andere chronische granulomateuze ziekten als lepra en tuberculose het geval zou zijn - samenhangt met de intracellulaire aanwezigheid van Treponema pallidum.

1.3.2.3.

De specifieke afweer tegen Treponema pallidum

1.3.2.3.1.

De cellulaire response

Met betrekking tot de cellulaire immunologische response op besmetting met Treponema pallidum zijn er 3 lijnen van onderzoek te onderscheiden.

a. Stimulatie van lymfocyten in vitro

Levene et al. (1969) toonden aan, dat de phytohaemagglutinine (PHA)-response van lymfocyten van patienten met primaire en secundaire syfilis vermindert is en dat er in plasma van patienten met secundaire syfilis een faktor aanwezig is, die de PHA response van lymfocyten van gezonden vermindert. Deze auteurs veronderstellen dat deze faktor een treponemaal produkt of een tegen lymfocyten gerichte auto-antistof is.

Musher et al. (1974) zeggen op grond van hun experimenten de bevindingen van Levene et al. niet te kunnen bevestigen, maar er moet worden opgemerkt dat de door hun gebruikte methodieken niet vergelijkbaar zijn met die van Levene et al.

b. Overgevoelighedsreacties van het vertraagde type

Bij de luotest wordt er een zo goed mogelijk van gastheerweefsel gezuiverd ekstrakt van virulente Treponemata pallida intracutaan ingespoten. Op grond van het verloop van de huidreactie die kan optreden in de tijd en de his-

tologische kenmerken van deze reactie (Hadida et al., 1964; Laird en Thorburn, 1966) is het zeer waarschijnlijk, dat wij bij de luotest te maken hebben met een overgevoeligheidsreactie van het vertraagde type (McCluskey en Leber, 1974).

Uit een aantal onderzoekingen (Csonka, 1950; Kiraly en Racz, 1960; Huriez et al., 1961; Laird en Thorburn, 1966), blijkt dat patienten met vroege syfilis bijna altijd een negatieve luotest vertonen, terwijl er bij patienten met late syfilis vaak een overgevoeligheidsreactie van het vertraagde type wordt gevonden. Niet syfilitici vertonen vrijwel altijd een negatieve luotest. Genoemde onderzoekers - met uitzondering van Laird en Thorburn (1966) - vonden in meer dan de helft van de gevallen van latente syfilis een positieve luotest. Bij late orgaansyfilis vonden de auteurs zeer frekwent een positieve reactie, behalve bij patienten met dementia paralytica - een bepaalde vorm van late neurosyfilis - die bijna altijd een negatieve luotest vertoonden. Bij patienten met dementia paralytica worden - in tegenstelling tot patienten met andere vormen van late syfilis - net als bij patienten met vroege syfilis, grote aantallen treponemen in het lichaam van de patient gevonden en zijn de titers van de serologische syfilisreacties hoog (Stokes et al., 1941; Barniske, 1957).

Het feit dat bij de meeste patienten met late syfilis een positieve luotest gevonden wordt, bewijst dat er voor het gebruikte treponemale antigeen inderdaad een sensibilisatie kan optreden. Het wekt evenwel verwondering, dat bij patienten met vroege syfilis - patienten met secundaire syfilis hebben een infectie met een gemiddelde ouderdom van 12 weken (zie tabel 3.1) - deze sensibilisatie niet kan worden aangetoond. Men is geneigd om het meestal negatief uitvallen van de luotest bij vroege syfilis toe te schrijven aan onvermogen van het immuunapparaat om haar rol bij het effectueren van de overgevoeligheidsreactie van het vertraagde type ten opzichte van treponemaal antigeen te vervullen. Wright and Grimble (1974) spreken in dit verband van een onderdrukking van de cellulaire immunologische response.

Volgens Wright en Grimble (1974), die het resultaat van intracutane injectie van 5 niet syfilitische antigenen, te weten candida, trichophyton, bof, tuberculine en varidase bij patienten met vroege syfilis bestudeerden, kon bij iedere patiente met ten minste 1 van de 5 antigenen een positieve reactie van het vertraagde type worden opgewekt. Het resultaat van injectie van deze antigenen bij een groep controlepersonen wordt helaas niet vermeld. Op grond van de resultaten van de luotest en de intracutane testen met niet treponemale antigenen zijn de auteurs van mening, dat er bij vroege syfilis sprake is van een partiële onderdrukking - nl. ten opzichte van treponemale antigenen - van de cellulaire immunologische response.

Petrozzi et al. (1974) beschreven een patiente met maligne secundaire syfilis - een ernstige "variant" van het tweede stadium van de ziekte - die een negatieve reactie vertoonde op intracutane injectie van PPD, tuberculine, bof antigeen, candida en histoplasmine; de patient had in zijn jeugd de bof doorge- maakt.

De bevindingen suggereren dat er bij deze patient sprake was van een meer alge- mene onderdrukking - in tegenstelling tot een partiële onderdrukking (Wright en Grimble, 1974) - van overgevoelighedsreacties van het vertraagde type.

Parent en Smythe (1973) vonden dat geen van de 10 pasgeborenen met congenitale syfilis, in tegenstelling tot 5 van de 8 gezonde pasgeborenen, gesen- sibiliseerd konden worden met de obligate sensibilisator dinitrochlorobenzeen (DNCB). Ook deze waarneming pleit voor een meer algemene onderdrukking van de o- vergevoelighedsreacties van het vertraagde type, althans bij vroeg congenitale syfilis.

Over de oorzaak van de waargenomen onderdrukking van de overgevoelig- hedsreacties van het vertraagde type kan op dit moment alleen maar gespekuleerd worden (Wright en Grimble, 1974). De door Levene et al. (1969) gevonden faktor (zie punt a.), die de response van lymfocyten op stimulatie met PHA remt, zou een mogelijke oorzaak kunnen zijn.

c. Histologisch onderzoek van lymfoïde organen

Een depletie van lymfocyten werd waargenomen in de paracorticale ge- bieden van lymfklieren van patienten met vroege syfilis (Levene et al., 1971; Turner en Wright, 1973). Vergelijkbaar hiermee is de bevinding van deple- tie van lymfocyten rond de periarteriële gebieden in de milt van kinderen, die overleden waren aan congenitale syfilis. (Levene et al., 1971) De genoemde gebieden in lymfklieren en milt zijn thymusafhankelijke gebieden, waar- in zich onder normale omstandigheden voornamelijk T lymfocyten bevinden (Parrot en de Sousa, 1971).

Bovenstaande 3 lijnen van onderzoek suggereren, dat er bij patienten met vroege syfilis sprake is van een stoornis op het niveau van de T lymfocyt. De stoornis manifesteert zich als een onderdrukking van een aantal ekspressie- vormen van de cellulaire immunologische response.

Wij hebben er reeds op gewezen, dat over de oorzaak van de onderdruk- king geen zekerheid bestaat. Ook is het niet duidelijk of er sprake is van een verlaging van het totaal aantal T lymfocyten dan wel een normaal aantal met een onderdrukte functie.

De aanwezigheid van grote aantallen treponemen in het lichaam van de patient en de progressie van vroege syfilis worden in verband gebracht met de onderdrukking van de cellulaire immunologische response (Wright en Grimble, 1974).

1.3.2.3.2.

De antilichaamsynthese

Volgens Cooper et al. (1946) en Benditt en Walker (1948), die sera van respectievelijk 28 en 32 syfilispatienten onderzochten, is het gehalte aan gamma globulinen in sera van patienten met seronegatief primaire, seropositief primaire en secundaire syfilis in respectievelijk 42%, 35% en 68% van de gevallen verhoogd.

Er is in de afgelopen jaren een beperkt aantal onderzoeken verricht naar veranderingen in het gehalte van immuunglobulinen in sera van syfilispatienten. Voor een bespreking hiervan wordt verwezen naar Hoofdstuk 4.

Wij hebben onze kennis van antilichamen, die worden aangemaakt na besmetting met Treponema pallidum voor een belangrijk deel te danken aan de ontwikkeling van een aantal serologische testen, bedoeld voor de diagnostiek. Bij de nu volgende bespreking van de antilichamen die in het serum van syfilispatienten kunnen worden gevonden, komen eerst de antilichamen aan de orde, die met behulp van de meest gangbare serologische syfilisreacties kunnen worden aangetoond. Deze antilichamen worden onderverdeeld in 2 groepen, te weten:

- a. de antilipoidale antilichamen en
- b. de antitreponemale antilichamen.

a. Antilipoidale antilichamen

Deze kunnen worden aangetoond met behulp van komplementbindingsreacties, zoals de reactie van Wassermann (Wassermann et al., 1906; Kolmer, 1929) en met uitvlokkingsreacties, zoals de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) reactie (Harris, 1946). Bij deze reacties wordt het cardioline (Pangborn, 1941) als antigeen gebruikt. De herkomst van het antigeen waartegen de antilipoidale antilichamen door de syfilispatient worden aangemaakt is echter nog steeds onzeker.

Er bestaan hierover reeds lang twee opvattingen:

1. de antilichamen zijn gericht tegen cardioline, dat als gevolg van de treponemale infectie uit het weefsel van de gastheer vrijkomt (Sachs et al., 1925).
2. de antilichamen worden aangemaakt tegen cardioline dat vrijkomt uit Treponema pallida, na het te gronde gaan van deze micro-organismen (Klopstock, 1926a en b; Beck, 1939).

Antilipoidale antilichamen zijn niet specifiek voor syfilis. Zij kunnen voorkomen in het serum van personen die nimmer besmet zijn geweest met pathogene treponemata. In deze gevallen spreekt men van biologisch vals positieve antilipoidale syfilisreacties. Deze kunnen vooral worden gevonden bij personen die lijden aan auto-immuunziekten en infectieziekten (Moore en Mohr; 1952; Catterall, 1972).

De antilichamen in sera van syfilispatienten, die met behulp van de Wassermann- en de VDRL-reaktie kunnen worden aangetoond, komen zowel in de IgM als IgG klasse voor (Aho, 1967). Bij patienten met biologisch vals positieve reakties worden deze antilichamen meestal gevonden in de IgM klasse (Aho, 1968; Tringali et al., 1969).

b. Antitreponemale antilichamen

1. Antilichamen die worden aangetoond met behulp van de Treponema pallidum immobilisatie (TPI) reaktie

Bij deze reaktie (Nelson en Mayer, 1949) worden levende Treponemata pallida gebruikt, die in aanwezigheid van komplement geïmmobiliseerd worden door specifieke antilichamen, de zogenaamde immobilisinen.

Omdat een vals positieve TPI reaktie zo goed als nooit voorkomt, wordt aan de immobiliserende antilichamen een hoge graad van specificiteit toegerekend (Miller et al., 1954; Wilkinson, 1954; Wheeler et al., 1954; Zellmann, 1954).

Volgens Julian et al. (1969) worden de immobiliserende antilichamen hoofdzakelijk gevonden in de 7 S immuunglobulinen.

2. Antilichamen die worden aangetoond met behulp van de komplementbindingsreaktie met het Reiter antigeen (RPCF)

Bij deze reaktie (D'Allessandro et al., 1950, 1953; Cannefax en Garson, 1957) wordt een lipopolysaccharide eiwitkomplex, afkomstig uit de Reiter-treponem als antigeen gebruikt; de eiwitkomponent van dit complex is verantwoordelijk voor de reaktie met serum van syfilispatienten (de Bruyn, 1961). De antilichamen die met deze reaktie worden aangetoond zijn gericht tegen eiwitcomponenten uit Treponema pallidum, die antigene determinanten gemeenschappelijk hebben met het Reiter eiwit. Vals positieve uitslagen komen bij de Reiter reaktie zelden voor (Bekker, 1966; Förström, 1969).

3. Antilichamen die worden aangetoond met behulp van de fluorescerende treponemale antilichaam absorbtie (FTA abs) test

Bij deze reaktie (Hunter, 1964a; Hunter et al., 1964b) wordt het pa-

tientenserum alvorens dit te brengen op een objektglaasje waarop Treponemata pallida zijn gefixeerd geabsorbeerd met Sorbent of een sonicaat van Reiter-treponemen, met de bedoeling antistoffen die zijn gericht tegen treponemaal groepsantigeen uit het serum te verwijderen (Deacon en Hunter, 1962). Met behulp van antihumaan immuunglobuline, gekonjugeerd met een fluorescerende stof, zoals het fluoresceïne isothiocyanaat (FITC) kan daarna een eventuele binding van antitreponemale antilichamen aan treponemata met de fluorescentie microscoop worden aangetoond. Tegen welke antigenen van Treponema pallidum de met deze reactie aangetoonde antilichamen worden aangemaakt is niet bekend.

FTA abs antilichamen komen ook voor in sera van niet syfilitici (Bradford et al., 1967; Cohen et al., 1969; Buchanan et al., 1970). Door Kraus et al. (1970, 1971) is een atypische, niet homogene, zogenaamde "beading" fluorescentie van treponemen waargenomen, bij uitvoering van de FTA abs test met serum van patiënten die lijden aan systeem lupus erythematoses.

FTA abs antilichamen worden gevonden zowel in de IgA, IgM als IgG klasse van immuunglobulinen (Kiraly et al., 1968; Julian et al., 1969).

In het serum van syfilispatiënten kunnen verschillende antilichamen worden aangetoond die specifiek reageren met auto-antigenen en derhalve als auto-antilichamen beschouwd kunnen worden (Wright en Doniach, 1971). Naast de zojuist genoemde tegen cardioline gerichte antilichamen kunnen in sera van syfilispatiënten auto-antilichamen worden aangetoond die reageren met hersenweefsel (Witebsky, 1929; Dupouey et al., 1970), mitochondriale bestanddelen (Wright et al., 1970; André et al., 1973), erythrocyten (Schlesinger, 1955) en immuunglobulinen (Mustakallio et al., 1967; Perrot et al., 1971).

Uit het bovenstaande blijkt dat het antilichaamsynthetiserende deel van het immuunsysteem na besmetting met Treponema pallidum overgaat tot synthese van een aantal antilichamen, die zijn gericht tegen verschillende antigenen. De rol van deze antilichamen bij de afweer van het organisme tegen Treponema pallidum is echter onduidelijk. Ondanks de produktie van deze antilichamen is er sprake van progressie van de ziekte.

Door middel van experimenteel onderzoek is getracht informatie te verkrijgen over de rol van antilichamen bij de afweer tegen Treponema pallidum. Toediening van antitreponemaal hyperimmuun-serum aan konijnen bleek bescherming te geven tegen Treponema pallidum, in die zin, dat na besmetting van deze proefdieren met virulente micro-organismen de syfilislesies later ontstonden en minder heftig verliepen dan bij de kontroledieren (Perine et al., 1973; Turner et al., 1973; Sepetjian et al., 1973). Er moet echter worden opgemerkt, dat er gebruik gemaakt is van zeer grote hoeveelheden hyperimmuunserum. Bovendien is

niet uitgesloten dat andere humorale factoren dan immuunglobulinen, zoals lymfokinen verantwoordelijk zijn geweest voor het waargenomen effect (Schell et al., 1974).

Samenvatting

Samenvattend kan gesteld worden, dat wij bij syfilis te maken hebben met een chronische, in fasen verlopende, granulomateuze infectieziekte, die veroorzaakt wordt door Treponema pallidum.

Onze kennis over Treponema pallidum is door het ontbreken van een in vitro kweekmethode beperkt.

Hoewel de kennis van de reactie van het menselijk organisme op besmetting met Treponema pallidum eveneens beperkt is, tekent zich met betrekking tot de immunologische of specifieke afweer het beeld af, dat wij enerzijds te maken hebben met een stimulatie van het antilichaamvormend apparaat, waarbij er een diversiteit aan antilichamen wordt gesynthetiseerd; anderzijds zijn er waarnemingen die duiden op een gestoorde (onderdrukte?) cellulaire immunologische response. De totale afweerreactie is blijkbaar in vele gevallen niet in staat de infectie te bedwingen.

Voortgezette, gedetailleerde studie van zowel het causale micro-organisme als van de cellulaire en humorale aspecten van specifieke en aspecifieke afweerreactie van de mens op besmetting met Treponema pallidum zijn noodzakelijk om een beter inzicht te krijgen in de pathogenese van de ziekte.

HOOFDSTUK 2 Probleemstelling eigen onderzoek

Er werd bij een voorgaand onderzoek, verricht op de afdeling Dermatologie van de Medische Faculteit (Erasmus Universiteit) opgemerkt, dat de thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis vaak verhoogd was (Beek en Neumann, 1971).

Volgens verschillende auteurs zou er een relatie bestaan tussen het IgM- en IgG-gehalte en de hoogte van de thymoltroebeling van sera. Wat betreft de 7 S gamma globulinen werd gesuggereerd, dat speciaal de basische frakties de troebelingsreactie zouden kunnen versterken (zie 6.1.).

Wij besloten een onderzoek te doen naar de immuuglobuline-spiegels bij onbehandelde en behandelde patienten met vroege syfilis.

Verder werd getracht om via een analyse van de relatie tussen thymoltroebeling en IgG-gehalte bij patienten met vroege syfilis nieuwe informatie te verkrijgen met betrekking tot de IgG synthese ten gevolge van een infectie met Treponema pallidum.

Aangezien het resultaat van de thymoltroebelingstest verhoogd kan uitvallen bij patienten met leverafwijkingen, werd ten slotte bij een aantal patienten met vroege syfilis een onderzoek gedaan naar het voorkomen van afwijkingen in het resultaat van een aantal levertesten. Het doel hiervan was een bijdrage te leveren aan de discussie over de problematiek van de leveraantasting bij patienten met vroege syfilis (Sherlock, 1971).

Naar aanleiding van voorgaande beschouwing werden de 5 volgende vragen geformuleerd:

1. welke veranderingen vinden er tijdens het beloop van vroege syfilis plaats in het serumgehalte van het IgA, IgM en IgG en wat is de invloed van de toegepaste therapie op het gehalte van deze immuuglobulinen? (Hoofdstuk 4);
2. welke veranderingen vinden er tijdens het beloop van vroege syfilis plaats in het resultaat van de thymoltroebelingstest en wat is de invloed van de therapie hierop? (Hoofdstuk 5);
3. is er bij patienten met vroege syfilis een relatie tussen het serumgehalte aan IgA, IgM, IgG en basisch IgG enerzijds en de hoogte van de thymoltroebeling van het serum anderzijds? (Hoofdstuk 6);
4. is er bij patienten met vroege syfilis voorkeur voor de synthese van basisch IgG? (Hoofdstuk 7);

5. komen er bij patienten met vroege syfilis leverfunctiestoornissen voor?
(Hoofdstuk 8).

HOOFDSTUK 3 Methoden met betrekking tot de gebruikte diagnostiek, therapie en statistiek

In dit hoofdstuk zullen de bij het eigen onderzoek gebruikte diagnostische criteria en de toegepaste therapie worden besproken. Tevens zullen de gebruikte statistische toetsen worden toegelicht.

3.1.

Diagnostiek

De diagnose syfilis werd alleen gesteld, indien Treponema pallidum kon worden aangetoond en/of indien de Treponema pallidum-immobilisatie-reaktie positief uitviel.

Het aantonen van Treponema pallidum gebeurde met behulp van donkerveld microscopie in het routine laboratorium van de afdeling Dermatologie, Academisch Ziekenhuis Rotterdam.

Bij iedere syfilispatient werden de volgende 4 serologische syfilis-reakties verricht:

1. Treponema pallidum-immobilisatie-reaktie (TPI-reaktie);
2. Komplement bindingsreaktie met het Reiter antigeen (RPCF-reaktie);
3. Wassermann-Kolmer -reaktie (Wa-reaktie);
4. Venereal Disease Research Laboratory reaction (VDRL-reaktie).

De Wa- en de RPCF-reaktie werden uitgetitreerd. Het serologisch onderzoek vond plaats op de afdeling voor Treponema onderzoek (Dr. J.H. Bekker en Dr. J. Veldkamp) van het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid (RIV) te Bilthoven.

De bij dit onderzoek betrokken patienten, die allen leden aan vroege infectieuze syfilis, werden onderverdeeld in 5 groepen, die korrespondeerden met de 5 volgende stadia van de ziekte:

1. Seronegatief primair stadium;
2. Serowisselend primair stadium;
3. Seropositief primair stadium;
4. Secundair stadium;
5. Vroeg latent stadium.

Het vaststellen van het stadium van de ziekte vond plaats op de dag waarop met de therapie werd begonnen. Er werd daarbij gebruik gemaakt van de volgende diagnostische criteria:

Primair stadium

Deze diagnose werd gesteld indien wij als eerste uiting van een besmetting met Treponema pallidum bij de patient een gelokaliseerde huid- en/of slijmvlieslesie vonden, met of zonder duidelijke regionale lymfklierzwellling. In de lesie en/of lymfklier werd Treponema pallidum aangetoond.

Op grond van het resultaat van het serologisch onderzoek werden patienten in het primaire stadium van de ziekte onderverdeeld in 3 groepen, overeenkomend met de volgende stadia:

a. Seronegatief primair stadium

Hierbij waren alle 4 verrichte serologische syfilisreacties negatief;

b. Serowisselend primair stadium

Hierbij waren 1 of meer reacties dubieus en/of positief, maar nooit vielen alle 4 tegelijk positief uit;

c. Seropositief primair stadium

Hierbij vielen alle 4 reacties positief uit.

Secundair stadium

Deze diagnose werd gesteld, indien wij bij een syfilispatient typische, meestal gegeneraliseerde afwijkingen van huid- en/of slijmvliezen vonden, met of zonder gegeneraliseerde lymfadenopathie. In de lesies kon soms met behulp van donkerveld microscopie Treponema pallidum worden aangetoond, terwijl op grond van het histologisch onderzoek aannemelijk kon worden gemaakt, dat deze lesies geen onderdeel vormden van een gegeneraliseerde huidziekte van een andere genese. Alle serologische syfilisreacties vielen sterk positief uit.

Vroeg latent stadium

Deze diagnose werd gesteld, indien wij te maken hadden met een syfilispatient bij wie geen klinisch waarneembare afwijkingen werden gevonden en die blijkens anamnestiche gegevens en/of de resultaten van het epidemiologisch onderzoek leed aan een syfilisinfektie, die niet ouder was dan 2 jaar. Alle syfilisreacties vielen positief uit.

Om een indruk te krijgen over de duur van de infektie van patienten uit dit onderzoek, werd de gemiddelde tijd, gelegen tussen het tijdstip van besmetting en het moment waarop de diagnose gesteld werd, bepaald. Dit geschiedde aan de hand van gegevens, verkregen uit de anamnese en die welke verkregen werden uit de resultaten van het epidemiologisch onderzoek.

De resultaten van deze berekening zijn weergegeven in tabel 3.1. Uit de in deze tabel vermelde gegevens blijkt, dat de gemiddelde infectieduur het kortst is bij patienten die lijden aan het seronegatieve primaire stadium van syfilis en het langst bij diegenen die lijden aan het vroeg latente stadium van de ziekte. Het blijkt tevens dat de standaard-deviatie toeneemt met de gemiddelde ouderdom van de infectie.

Hoewel een berekening van de infectieduur, gebaseerd op informatie, verkregen uit de anamnese en het epidemiologisch onderzoek steeds met enige voorzichtigheid beschouwd dient te worden, komen de gegevens uit tabel 3.1. overeen met hetgeen in de literatuur wordt vermeld (Willcox, 1964).

3.2.

Therapie

Alle patienten werden poliklinisch behandeld met penicilline volgens een ten tijde van dit onderzoek op onze afdeling gangbare behandelingswijze. Deze therapie werd toegepast in het kader van een onderzoek naar het effect van een langdurige penicillinebehandeling op de serologische syfilisreacties (Tio, 1974).

Volgens deze behandelingswijze werden patienten met de diagnose seropositieve primaire syfilis, secundaire syfilis en vroeg latente syfilis behandeld met drie penicillinekuren van 6 weken elk, met rustperiodes van eveneens 6 weken tussen de kuren. De eerste kuur bestond uit dagelijks intramusculaire toediening van 1.2×10^6 E Bicilline (R) (Procaine-penicilline G en Natrium-penicilline G 3:1), gedurende de eerste 2 weken; daarna volgde 3 x per week, n.l. op maandag, woensdag en vrijdag i.m. toediening van 1.2×10^6 E Penidural D.F. (R) (Benzathine-penicilline-G, Procaine-penicilline-G en Kalium-penicilline-G 2:1:1), gedurende 4 weken. Totaal werd tijdens de eerste kuur 31.2×10^6 E penicilline toegediend. Tijdens de tweede en derde penicillinekuur, die ieder uit 14.4×10^6 E bestonden, werd 2 x per week, n.l. op maandag en donderdag of op dinsdag en vrijdag 1.2×10^6 E Penidural DF (R) i.m. toegediend.

Patienten die leden aan serowisselende primaire syfilis werden behandeld met twee penicillinekuren, overeenkomend met de zojuist beschreven eerste en tweede kuur.

Patienten die leden aan seronegatieve primaire syfilis werden behandeld met slechts één penicillinekuur, overeenkomstig de reeds beschreven eerste kuur.

3.3.

Statistiek

De statistische bewerking van de resultaten van het onderzoek heeft voor het grootste deel betrekking op de volgende variabelen: IgA, IgM, IgG, basisch IgG en thymoltroebeling. Deze variabelen werden bepaald in sera van gezonden en in sera van syfilispatienten in de 5 volgende stadia van de ziekte (zie paragraaf 3.1.):

Syfilis I seronegatief, Syfilis I serowisselend, Syfilis I seropositief, Syfilis II en vroeg latente Syfilis.

Bij de frekwentiedistributie van het IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van gezonden hebben wij niet te maken met een normale verdeling, maar met een log normale verdeling (Claman en Merrill, 1964; Allensmith et al., 1967; Russchen, 1969; Buckley en Dorsey, 1970; Veys en Wieme, 1973). Hobbs (1971) wijst erop, dat slechts weinig auteurs zich bij de statistische bewerking van hun gegevens rekenschap hebben gegeven van de log normale verdeling van de immuunglobulinen.

Wat betreft de frekwentiedistributie van het IgA, IgM en IgG in sera van syfilispatienten zijn geen onderzoeken gedaan, hoewel Delhanty en Catterall (1969) hun statistische bewerkingen uitvoeren op de logaritme van het immuunglobulinegehalte. Ook wat betreft de frekwentiedistributie van het basisch IgG en de thymoltroebeling van sera van gezonden en syfilispatienten zijn geen onderzoeken verricht. Er werd daarom door ons onderzoek gedaan naar de frekwentie-verdeling van de genoemde variabelen bij gezonden, de 5 groepen patienten met vroege syfilis afzonderlijk en alle patienten met vroege syfilis als één geheel. Wij maakten hierbij gebruik van de z.g. rankitanalyse (v.Strik, 1960), waarbij de gevonden waarden, zowel op logaritmische schaal als op arithmetische schaal gerangschikt in opklimmende grootte, grafisch werden uitgezet tegen de bijbehorende rankits (de gemiddeld verwachte rangnummers op standaard normale schaal, gemiddelde = 0 en S.D. = 1).

De door ons gevonden verdeling van de waarden van de verschillende variabelen komt op de logaritmische schaal dichter bij een normale verdeling dan op de arithmetische schaal.

Met behulp van Bartlett's toets (de Jonge, 1964) werd de homogeniteit van de varianties van de verschillende variabelen voor de groep gezonden en de 5 groepen syfilispatienten onderzocht. In het algemeen werden er op de logaritmische schaal, in tegenstelling tot de arithmetische schaal, bij hantering van een α van 0.05, geen statistisch significante verschillen tussen de varianties gevonden.

Op grond van het bovenstaande besloten wij om bij de statistische bewerking van onze resultaten gebruik te maken van toetsen voor normale verdeling,

toegepast op de logaritmie van het resultaat van de bepaling van de verschillende variabelen. Bij onderzoek naar de statistische significantie van verschillen tussen gemiddelden werd gebruik gemaakt van Student's t toets. Statistische analyse van de leeftijdsverdeling van groepen patienten en controlepersonen werd eveneens met Student's t toets verricht.

Bij het korrelatie-onderzoek werd de gewone korrelatie koëfficient (Pearson) gebruikt.

Bij het toetsen van de significantie werd steeds een onbetrouwbaarheidsdrempel α van 0.05 gehanteerd.

Tabel 3.1.

Gemiddelde tijd, verstreken tussen het moment van de besmetting en het stellen van de diagnose van de verschillende stadia van vroege syfilis.

Stadium van de ziekte	weken	S.D.
Syfilis I seroneg. (n = 19)	3.0	1.1
Syfilis I serowiss. (n = 19)	3.9	1.1
Syfilis I seropos. (n = 6)	5.9	1.4
Syfilis II (n = 16)	12.4	4.3
Vroeg latente Syfilis (n = 9)	34.3	16.5

4.1.

Inleiding

Veranderingen die optreden in het gehalte van de immuunglobulinen IgA, IgM en IgG in sera van patienten met vroege syfilis zijn door enkele auteurs beschreven.

Laurell et al. (1968), die gebruik maakten van een modifikatie van Oudins enkelvoudige diffusietechniek (Bachmann en Laurell, 1963) vonden bij onderzoek van 8 onbehandelde patienten met vroege syfilis in alle gevallen een duidelijke verhoging van het IgM- en in de meeste gevallen een matige verhoging van het IgA- en IgG-gehalte in het serum.

Delhanty en Catterall (1969) die sera van 41 patienten met primaire en secundaire syfilis met behulp van de radiale immunodiffusietechniek (Mancini et al., 1965) onderzochten, vonden dat het IgM- en IgG-gehalte tijdens beide stadia van de ziekte statistisch significant verhoogd uitvielen, terwijl het IgG-gehalte alleen tijdens het secundaire stadium statistisch significant verhoogd bleek te zijn.

Heitmann (1972) die eveneens van de radiale immunodiffusietechniek gebruik maakte, konkludeert uit onderzoek van 5 patienten met primo-secundaire syfilis en 20 patienten met secundaire syfilis, dat er reeds in een vroeg stadium van de ziekte sprake is van een toename van het IgM-gehalte. In het secundaire stadium werd een toename van het IgG-gehalte gevonden, terwijl in dit stadium het IgM-gehalte lager was dan in het voorgaande stadium. De gemiddelde waarde van het IgA-gehalte bleek bij patienten die leden aan secundaire syfilis niet te verschillen van dat van patienten met primo-secundaire syfilis

Over het effect van de antitreponemale therapie op de immuunglobuline-niveau's van sera van syfilispatienten is nog minder bekend dan over de immuunglobulinespiegels bij onbehandelde patienten.

Van genoemde auteurs zijn Laurell et al. de enigen die informatie geven over het immuunglobulinegehalte in sera van behandelde patienten. Zij vonden bij onderzoek van 10 sera van patienten met behandelde, klinisch genezen syfilis - 5 van deze sera waren afkomstig van patienten met behandelde late syfilis - in alle gevallen een normaal IgM- en IgA-gehalte. Het IgG-gehalte was in 2 gevallen verhoogd. Helaas geven zij geen informatie over de exakte diagnose, de aard van de toegediende therapie en het tijdstip van bloedafname en behandeling.

Het doel van het in dit hoofdstuk beschreven onderzoek is na te gaan, welke veranderingen er tijdens het doormaken van vroege infectieuze syfilis op-

treden in het gehalte van de immuunglobulinen IgA, IgM en IgG in serum. Hierdoor zou een algemene indruk kunnen worden verkregen over de synthese van immuunglobulinen. Daarnaast zal de invloed van de door ons toegepaste therapie op de immuunglobulinespiegels worden onderzocht.

De immuunglobulinespiegels in het serum kunnen door verschillende factoren beïnvloed worden, e.g. ras en milieu (Lichtman et al, 1967), leeftijd (Buckley en Dorsey, 1970), geslacht (Butterworth et al., 1967) en ziekte (Hobbs, 1970). Om de invloed van één faktor, in casu besmetting met Treponema pallidum, op de immuunglobulinespiegels te kunnen bestuderen, hebben wij getracht de invloed van de andere factoren zo volledig mogelijk uit te sluiten. Hiertoe werden alleen blanke manlijke controlepersonen en patienten van vergelijkbare leeftijd bij het onderzoek betrokken.

4.2.

Materiaal en methoden

4.2.1.

Kontrolepersonen en patienten

Bij het onderzoek waren 16 controlepersonen en 57 patienten betrokken.

De controlepersonen waren blanke mannen, werkzaam bij de Koninklijke Marine, in leeftijd variërend van 20 tot 44 jaar, met een gemiddelde van 31 jaar. Uit de anamnese bleek dat zij nooit aan een geslachtsziekte hadden geleden en recent niet ziek waren geweest. Bij algemeen lichamelijk onderzoek werd bij hen geen ziekte gekonstateerd, terwijl routine bloedonderzoek (bepaling van haemoglobinegehalte, leucocytenaantal en differentiatie, alsmede bezinkingssnelheid van de erythrocyten) en routine urine-onderzoek (onderzoek naar het voorkomen van eiwit, glucose, bilirubine, urobiline en sedimentsafwijkingen) normaal uitvielen. De VDRL-, Wa-, RPCF- en TPI-reaktie vielen allen negatief uit.

De groep van patienten bestond uit blanke mannen, die in leeftijd varieerden van 15 tot 50 jaar met een gemiddelde van 28 jaar. Er werd bij de patienten behalve syfilis geen andere ziekten gekonstateerd. Er werd geen statistisch significant verschil gevonden tussen de gemiddelde leeftijd van de patienten in de verschillende stadia van syfilis onderling en evenmin tussen de groepen patienten en de controlepersonen ($p > 0.1$).

De 57 patienten waren als volgt verdeeld over de stadia van vroege syfilis:

seronegatief primair stadium	: 15;
serowisselend primair stadium	: 12;

seronegatief primair stadium	:	9;
secundair stadium	:	15;
vroeg latent stadium	:	6.

4.2.2.

Diagnostiek en therapie

Diagnostiek en therapie vonden plaats zoals is beschreven in de paragrafen 3.1. en 3.2.

4.2.3.

Immuunglobulinebepaling

Serum van controlepersonen en patiënten werd verkregen door het via venapunctie afgenomen bloed na stolling bij kamertemperatuur te centrifugeren. Bij alle patiënten geschiedde dit voor het begin van de behandeling en bij diegenen van wie ook na therapie de immuunglobulinespiegels bepaald konden worden, tevens aan het eind van de 1e penicillinekuur en aan het begin en eind van de eventueel volgende penicillinekuren.

Het IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van controlepersonen en patiënten werd bepaald volgens de enkelvoudige radiale immunodiffusietechniek (Mancini et al., 1965). De bepaling geschiedde op Partigen immunodiffusieplaten (Behringwerke A.G.; Marburg-Lahn, West-Duitsland).

Bij de bepaling van het gehalte van een bepaald immuunglobuline werd steeds gebruik gemaakt van 3 standaarden humaan serum (Nordic, Tilburg), waarvan de verhouding tussen de concentraties van dit immuunglobuline bekend was en van eigen referentieserum, dat bestond uit een mengsel van sera van 50 donoren van de bloedtransfusiedienst te Rotterdam. Het immuunglobulinegehalte van dit referentieserum (g/l) was van te voren bepaald aan de hand van een standaard afkomstig van het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst (Amsterdam). Het immuunglobulinegehalte van het referentieserum, uitgedrukt in internationale eenheden (I.E./ml), werd bepaald aan de hand van een WHO standaard serum (batch 67/97). In de volgende tabel staat het immuunglobulinegehalte van het referentieserum:

IgA	3.23	g/l	(127.5 I.E./ml);
IgM	1.01	g/l	(122.2 I.E./ml);
IgG	10.02	g/l	(209 I.E./ml).

Op een Partigenplaat werden 8 antigeenreservoirs gevuld met 2 λ van de te onderzoeken serumverduunning.

In de overige reservoirs werden de 3 standaarden (Nordic) voor het desbetreffende immuunglobuline en het referentieserum gebracht. Na 96 uur diffusie bij kamertemperatuur werden de diameters van de precipitatieringen gemeten met behulp van een loupe met schaalverdeling.

Vervolgens werd een standaardlijn opgesteld door de kwadraten van de diameter van de precipitatie van de 3 standaarden uit te zetten tegen de relatieve concentraties van deze standaarden. De relatieve concentratie van het immuunglobulinegehalte van een te onderzoeken serummonster werd aan de hand van de standaardlijn bepaald door interpolatie van de bijbehorende diameter van de precipitatie.

De absolute waarde van het immuunglobulinegehalte werd berekend door de relatieve waarde te vermenigvuldigen met het quotiënt absolute waarde referentieserum/relatieve waarde referentieserum, waarna de verdunningsfaktor in rekening werd gebracht. Het gehalte van ieder immuunglobuline in het serum werd in duplo bepaald op verschillende platen. Van de verkregen uitkomsten werd de gemiddelde waarde berekend en dit werd beschouwd als het immuunglobulinegehalte van het serum.

Indien de immuunglobulineconcentratie van een bepaald serum buiten het meetgebied van de ijklijn viel, werd de bepaling opnieuw gedaan in een andere verdunning.

4.2.4.

Statistiek

De statistische bewerking van de resultaten vond plaats zoals is beschreven in paragraaf 3.3.

4.3.

Resultaten

4.3.1.

Immuunglobulinegehalte bij onbehandelde syfilispatienten

De resultaten van de afzonderlijke bepalingen van het IgA-, IgM- en IgG-gehalte van sera van controlepersonen en onbehandelde syfilispatienten staan gerangschikt in de tabellen 4.1. tot en met 4.6. In de tabellen 4.3 tot en met 4.6 is tevens het resultaat van de 4 verrichte syfilisreacties (zie paragraaf 3.1.) weergegeven.

Gemiddelde waarden, standaarddeviaties en standaardfouten van het gemiddelde IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van gezonden en syfilispatienten

in de verschillende stadia van vroege syfilis staan vermeld in de tabellen 4.7, 4.8 en 4.9.

Uit de in genoemde tabellen en figuren gepresenteerde resultaten blijkt dat de gemiddelde waarde van het gehalte van de 3 immuunglobulinen in het serum van alle 5 onderzochte groepen patienten hoger is dan dat van de controlepersonen.

Voor het IgA (figuur 4.1 en tabel 4.7) bleek de verhoging in het serowisselend primaire, seropositief primaire en secundaire stadium statistisch significant te zijn.

De IgM verhoging (figuur 4.2 en tabel 4.8) was in alle onderzochte stadia, met uitzondering van het serowisselend primaire, statistisch significant. Er kan echter niet gesproken worden van een tijdelijke statistisch significante daling van het IgM-gehalte na het seronegatief primaire stadium, aangezien het verschil in IgM-gehalte tussen patienten in het seronegatief primaire en serowisselend primaire stadium statistisch niet significant is ($0.30 < p < 0.40$; dubbelzijdig getoetst).

De toename van het IgG-gehalte (figuur 4.3 en tabel 4.9) bleek in alle onderzochte stadia, met uitzondering van het vroeg latente, statistisch significant te zijn.

Met betrekking tot de verschillen in immuunglobulinegehalte in sera van patienten in de opeenvolgende stadia van vroege syfilis werd er alleen een statistisch significant verschil gevonden in het IgA-gehalte tussen het seropositief primaire en secundaire stadium ($0.025 < p < 0.05$; dubbelzijdig getoetst) en in het IgG-gehalte tussen het secundaire en het vroeg latente stadium ($0.005 < p < 0.01$; dubbelzijdig getoetst).

In figuur 4.4 hebben wij getracht het verloop van de immunoglobulinespiegels tijdens de progressie van vroege syfilis weer te geven. Hierbij zijn de gemiddelde waarden (geometrisch gemiddelde) van de immuunglobulinespiegels uitgedrukt als het percentage van hun normaalwaarden (zie tabel 4.10).

4.3.2.

Korrelaties

In de tabellen 4.11 en 4.12 zijn de korrelatie koëfficiënten voor het gehalte van de 3 immuunglobulinen in het serum van gezonden en onbehandelde syfilispatienten weergegeven. In de groep van gezonden werd er een statistisch significante positieve korrelatie gevonden tussen het IgA- en IgG-gehalte en tevens tussen het IgM- en IgG-gehalte. In het serum van syfilispatienten bleek er alleen een korrelatie te bestaan tussen het IgA- en IgG-gehalte. In de andere

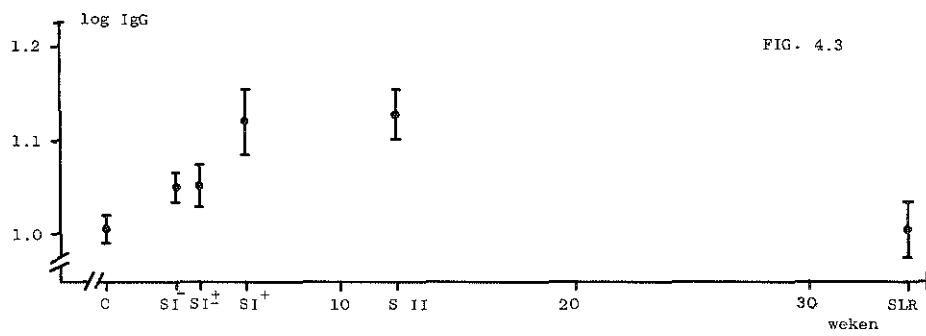
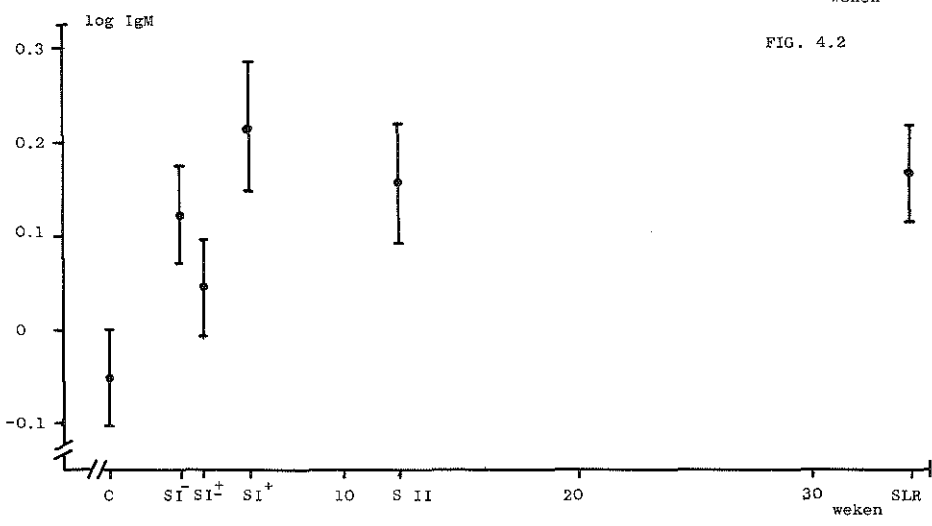
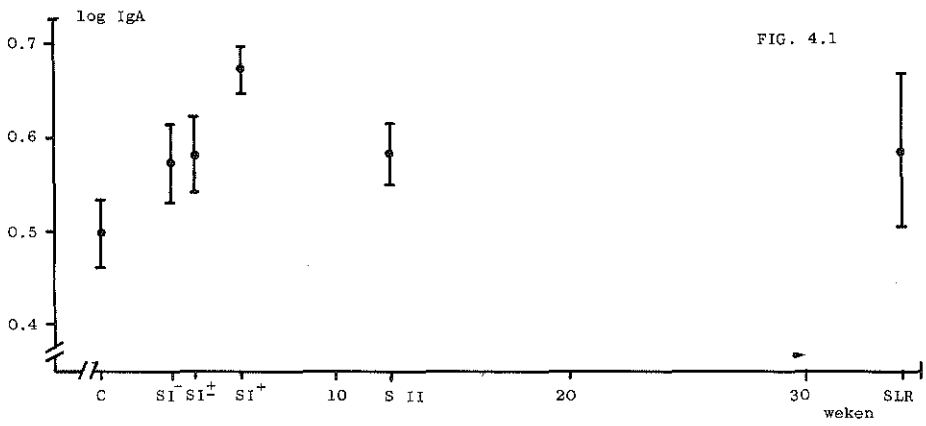


Fig. 4.1, 4.2, en 4.3 : Rekenkundige gemiddelden en standaardfouten van gemiddelden van IgA, IgM, en IgG gehalte, weergegeven op logaritmische schaal (y-as), in sera van controlepersonen en syfilispatienten in de verschillende stadia van de ziekte (x-as)

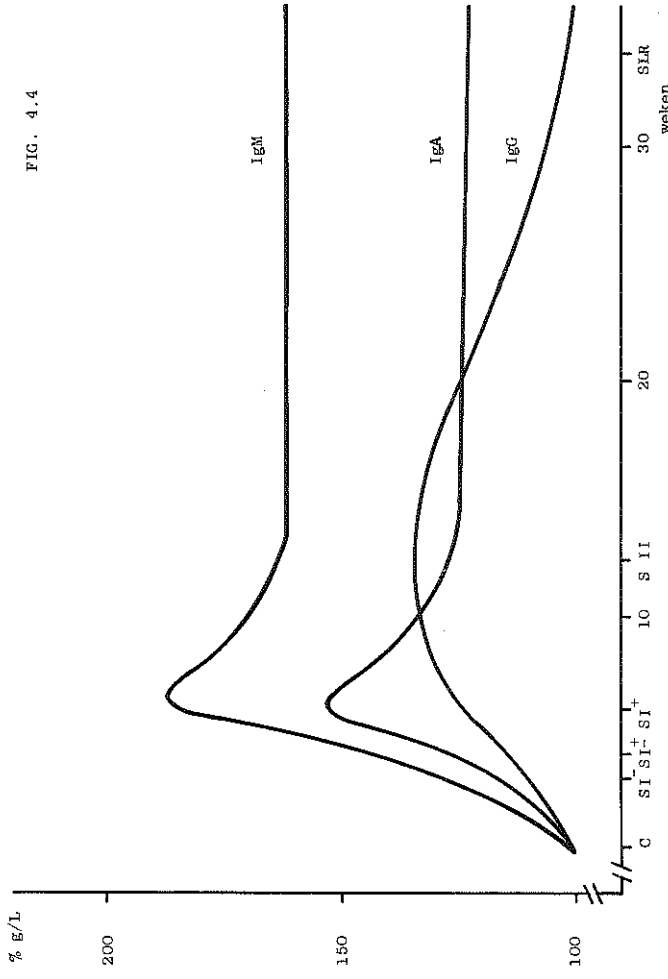


FIG. 4.4

Fig. 4.4 : Verloop van immunoglobulinespiegels bij vroege syfilis geconstrueerd aan de hand van metingen van het immunoglobulinegehalte tijdens verschillende stadia van de ziekte.
 x - - as : tijd in weken, resp. syfilisstadia
 y - - as : gemiddelde waarde van het immunoglobulinegehalte in het serum van syfilispatienten uitgedrukt als percentage van de gemiddelde waarde van het gehalte van het betreffende immunoglobuline in sera van de controlepersonen.

stadia van vroege syfilis werden er, evenmin als bij beschouwing van alle patienten met vroege syfilis als één groep, statistisch significante korrelaties gevonden tussen de immuunglobulineniveau's.

In tabel 4.13 zijn de korrelatie koëfficiënten voor de immuunglobulinespiegels en de titers van de Wassermann-Kolmer reactie en Reiter komplement bindingsreactie van sera van patienten met vroege syfilis weergegeven. Er werden geen statistisch significante korrelaties gevonden. Ook in de verschillende stadia van vroege syfilis afzonderlijk werd er geen statistisch significante korrelatie gevonden tussen de immuunglobulinespiegels en de titers van de syfilisreacties.

4.3.3.

Immuunglobulinegehalte bij behandelde syfilispatienten

Wij konden bij 20 patienten de immuunglobulinespiegels tijdens en na therapie bepalen.

In de tabellen 4.14 tot en met 4.17 zijn de gemiddelde waarden, de standaard deviaties en de standaardfouten van het gemiddelde van het IgA-, IgM- en IgG-gehalte in sera van syfilispatienten aan het begin en eind en tevens 6 weken na het eind van de 1e penicillinekuur weergegeven.

Met uitzondering van het IgA-gehalte in sera van patienten met serowisselend primaire syfilis bleken de immuunglobulinespiegels vanaf het einde van de 1e penicillinekuur niet statistisch significant te verschillen van de controlewaarden.

4.4.

Diskussie

De toename van het IgA-gehalte in het serum, tijdens het beloop van vroege syfilis, blijkt relatief kortdurend te zijn. Het gehalte van dit immuunglobuline in het serum bereikt in het seropositief primaire stadium een maximale waarde en vertoont daarna een sterke daling.

Delhanty en Catterall (1969) vonden dat het IgA-gehalte alleen tijdens het secundaire stadium van de ziekte statistisch significant verhoogd was ten opzichte van de controlegroep. Het verschil tussen onze bevindingen en die van genoemde auteurs hangt vermoedelijk samen met verschillen in gebruikte diagnostische criteria. Onze patienten met een seropositief primaire syfilis, bij wie 4 syfilisreacties positief uitvielen, bevinden zich in een verdere fase van de immunologische response dan de patienten met seropositief primaire syfilis uit het onderzoek van Delhanty en Catterall, aangezien deze auteurs slechts gebruik

maakten van de VDRL-reaktie.

Het gehalte aan IgM in het serum blijkt reeds in het seronegatief primaire stadium statistisch significant verhoogd te zijn. Het IgM-gehalte is in dit stadium procentueel sterker verhoogd dan het IgA- en IgG-gehalte. Het ontbreken van een significante korrelatie tussen het IgM-gehalte en het gehalte van de 2 andere immuunglobulinen (tabel 4.11 en 4.12) bij patienten in het seronegatief primaire stadium - in tegenstelling tot de bevinding bij gezonden (Buckley en Dorsey, 1971) - zou kunnen samenhangen met de procentueel sterkere toename van het IgM-gehalte. Het IgM-gehalte bereikt een maximale waarde in het seropositief primaire stadium. Ook Laurell et al. vonden bij alle door hen onderzochte patienten met primaire en secundaire syfilis een sterke verhoging van het IgM. Het blijkt dat in het vroeg latente stadium het IgM-gehalte nog steeds significant hoger is dan de normaalwaarde. Dit wordt door andere auteurs niet vermeld, aangezien zij patienten met vroeg latente syfilis niet als aparte groep hebben onderzocht. Uit onderzoek (Laurell et al., 1968) van 7 patienten met late syfilis - 3 leden aan latente syfilis, 3 aan cerebrospinale syfilis en 1 aan cardiovasculaire syfilis - bleek, dat ook in dit stadium van de ziekte het IgM-gehalte in het serum verhoogd is. Bij 3 van de 4 patienten met late orgaan-syfilis was alleen het IgM-gehalte verhoogd.

Het IgG-gehalte is reeds tijdens het seronegatief primaire stadium statistisch significant verhoogd en neemt toe tot aan het secundaire stadium. Tijdens het vroeg latente stadium blijkt het IgG-gehalte niet meer significant van dat van de controlegroep te verschillen.

Uit het feit, dat de immuunglobulinespiegels van patienten in bepaalde stadia van vroege syfilis significant hoger zijn dan de controlewaarden, kan worden gekonkludeerd, dat de infectie met *Treponema pallidum* leidt tot toename van de bestudeerde immuunglobulinespiegels.

De afname van de immuunglobulinespiegels na penicillinetherapie - hetgeen verklaard kan worden door een snelle eliminatie van *treponema* antigenen na het begin van de therapie (zie voor werkingsmechanisme van penicilline op *Treponema pallidum* paragraaf 1.2.2.) - kan beschouwd worden als een additief bewijs, dat de gevonden toename in het immuunglobulinegehalte in sera van syfilispatienten inderdaad samenhangt met de *Treponema pallidum*-infectie.

Dat de door *Treponema pallidum* geïnduceerde immuunglobulinesynthese door de therapie echter niet geheel tot staan is gebracht, blijkt uit het feit dat zelfs 6 maanden na het einde van de laatste penicillinekuur in een aantal gevallen in het serum van de patient met behulp van anti-treponemale testen antilichamen kunnen worden aangetoond (eigen waarneming). Deze antilichaamsynthese

zou verklaard kunnen worden door het persisteren van Treponema pallidum in het lichaam van de patient (zie paragraaf 1.2.2.3.). Een alternatieve verklaring is evenwel, dat het immuunapparaat van de patient gestimuleerd wordt door kruis-reagerende antigenen afkomstig uit niet pathogene treponemen.

Uit ons onderzoek blijkt, dat syfilispatienten een hyperimmuunglobulinaemie ontwikkelen.

De toename van de immuunglobulinespiegels is te verklaren door stimulatie van het immuunapparaat door verschillende uit Treponema pallidum afkomstige antigenen.

Greenwood (1974) suggereert dat het ontstaan van een hyperimmuunglobulinaemie tijdens een infectieziekte, gepaard met een afwijkende immuunglobulinesynthese, zoals de synthese van auto-antilichamen, mede veroorzaakt zou kunnen worden door het effect van een B-cel mitogeen (zie paragraaf 1.3.2.1.).

Tot de B-cel mitogenen behoren verbindingen met repeterend voorkomende haptenen op het molecuul, zoals bakteriële lipopolysacchariden. Aangezien dergelijke verbindingen mogelijk ook aanwezig zijn in Treponema pallidum (zie paragraaf 1.3.1.2.) lijkt de bovengenoemde suggestie ook voor syfilis niet onaanneemelijk. In hoeverre de immunresponse van de mens op een Treponema pallidum-infectie bepaald wordt door een B-cel mitogeen vergt nader onderzoek.

Samenvatting

De IgA-, IgM- en IgG-niveau's in het serum veranderen na besmetting met Treponema pallidum volgens een bepaald patroon.

Het IgA-gehalte is relatief kortdurend verhoogd. Het gehalte aan dit immuunglobuline bereikt een maximum tijdens het seropositief primaire stadium.

Het IgM-gehalte bereikt ook een maximale waarde tijdens het seropositief primaire stadium. De toename van het IgM-gehalte is relatief sterker en houdt langer aan dan de IgA en IgG toename.

Het IgG-gehalte neemt na besmetting geleidelijk toe tot aan het secundaire stadium. In het vroeg latente stadium valt de IgG-spiegel wederom in het gebied van de normaalwaarden.

Na 6 weken penicilline-therapie vallen de immuunglobulinespiegels meestal weer in het gebied van de normaalwaarden.

De wijze waarop de hyperimmuunglobulinaemie tot stand zou kunnen komen werd besproken.

Tabel 4.1.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum van 16 gezonde mannen.

Kontroles	Leeftijd	IgA	IgM	IgG
1710	24	4.30	1.12	9.95
2240	31	3.40	1.45	8.57
2272	43	2.80	1.15	9.80
2275	31	3.22	1.00	11.10
2276	21	2.70	0.86	9.53
2277	23	1.63	0.28	7.10
2278	20	6.34	0.84	11.18
2311	20	2.33	2.13	11.10
2787	43	2.11	0.38	0.42
2788	33	2.88	0.80	11.22
2789	34	3.60	1.06	11.60
4738	34	4.10	1.11	10.55
4739	44	2.14	0.43	8.35
4740	26	2.66	1.30	10.55
4790	34	4.05	1.00	10.65
4791	30	4.13	1.09	12.35

Tabel 4.2.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum van 15 manlijke patienten met seronegatief primaire syfilis.

Patienten	Leeftijd	IgA	IgM	IgG
0475	38	5.58	1.24	14.80
0574	50	8.02	0.40	11.45
1329	21	1.79	1.75	7.60
1403	22	2.72	1.48	11.65
1448	21	3.25	2.26	11.65
1462	24	2.38	0.65	9.10
2114	22	4.85	1.11	10.90
3049	16	3.90	1.20	11.00
4648	48	5.62	0.96	11.45
4718	19	3.90	2.26	13.60
4814	26	3.31	1.85	11.45
4889	33	4.09	2.08	10.40
4925	15	5.62	1.37	12.10
5502	32	2.87	1.21	11.20
7690	26	2.98	2.15	11.60

Tabel 4.3.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum en het resultaat van serologische syfilisreacties van 12 manlijke patienten met serowisselend primaire syfilis. (Van de Wa- en de RPCF-reactie is de reciproke waarde van de titer opgegeven).

Patienten	Leeftijd	IgA	IgM	IgG	Wa	VDRL	RPCF	TPI
0244	35	4.65	1.35	8.20	neg.	neg.	4	neg.
0930	18	3.90	1.22	10.55	16	pos.	neg.	neg.
2915	23	3.67	0.54	9.45	neg.	pos.	2	neg.
2936	41	4.04	1.53	14.10	neg.	pos.	neg.	neg.
3486	19	1.94	1.08	11.60	16	pos.	8	neg.
3543	27	4.44	2.54	9.45	neg.	neg.	neg.	dub.
4055	41	4.23	1.60	10.40	neg.	neg.	8	dub.
4778	43	4.52	1.13	15.10	neg.	dub.	neg.	dub.
5017	26	4.25	0.82	11.15	32	pos.	4	dub.
5461	10	6.09	1.14	13.30	neg.	neg.	8	neg.
5833	23	2.19	0.71	12.40	1	neg.	1	neg.
7677	21	4.21	0.87	10.46	neg.	neg.	1	neg.

Tabel 4.4.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum en het resultaat van serologische syfilisreacties van 9 manlijke patienten met seropositieve primaire syfilis. (Van de Wa- en de RPCF-reactie is de reciproke waarde van de titer opgegeven).

Patienten	Leeftijd	IgA	IgM	IgG	Wa	VDRL	RPCF	TPI
0458	37	5.56	1.20	13.00	64	pos.	128	pos.
2626	46	5.80	3.72	14.45	128	pos.	64	pos.
2981	20	4.77	1.09	14.50	64	pos.	64	pos.
3012	22	3.15	2.33	20.30	32	pos.	16	pos.
3542	24	4.80	3.40	13.95	16	pos.	2	pos.
4081	19	5.08	0.96	15.20	128	pos.	64	pos.
4370	34	5.48	1.74	11.35	128	pos.	32	pos.
7069	24	4.15	1.34	10.60	32	pos.	1	pos.
7283	29	4.78	1.15	8.60	32	pos.	32	pos.

Tabel 4.5.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum en het resultaat van serologische syfilisreacties van 15 manlijke patienten met secundaire syfilis. (Van de Wa- en de RPCF-reactie is de reciproke waarde van de titer opgegeven).

Patienten	Leeftijd	IgA	IgM	IgG	Wa	VDRL	RPCF	TPI
0251	32	4.98	0.73	11.50	128	pos.	4	pos.
0589	18	3.50	1.85	18.15	256	pos.	16	pos.
0604	29	5.20	0.93	17.60	32	pos.	32	pos.
0612	28	3.18	2.21	11.60	256	pos.	32	pos.
0728	28	3.40	2.67	9.15	64	pos.	128	pos.
1117	28	3.34	0.45	14.26	128	pos.	32	pos.
1909	22	2.49	0.61	11.65	256	pos.	128	pos.
2473	36	4.10	1.73	14.60	512	pos.	128	pos.
2701	24	5.20	2.69	16.15	512	pos.	128	pos.
3279	23	4.48	1.36	11.10	512	pos.	128	pos.
3407	37	3.71	1.95	13.20	512	pos.	128	pos.
3518	26	2.88	1.39	8.75	64	pos.	8	pos.
4091	17	2.57	1.40	21.10	512	pos.	128	pos.
4650	26	7.66	2.75	13.65	64	pos.	64	pos.
8042	32	3.35	1.77	14.55	512	pos.	128	pos.

Tabel 4.6.

Immuunglobulinegehalte (in g/l) in het serum en het resultaat van serologische syfilisreacties van 6 manlijke patienten met vroeg latente syfilis. (Van de Wa- en de RPCF-reactie is de reciproke waarde van de titer opgegeven).

Patienten	Leeftijd	IgA	IgM	IgG	Wa	VDRL	RPCF	TPI
0433	35	4.02	1.16	8.10	8	dub.	8	pos.
1197	43	1.68	2.08	9.30	32	pos.	32	pos.
1690	34	5.70	1.22	12.75	16	dub.	4	pos.
1836	24	3.37	1.04	9.10	28	pos.	128	pos.
2031	24	7.20	1.79	12.50	512	pos.	128	pos.
8148	26	3.72	1.88	9.90	64	pos.	16	pos.

Tabel 4.7. IgA gehalte in het serum van gezonden en syfilispatienten.

n, \bar{X} , SD, SF en G: respectievelijk aantal onderzochte personen, rekenkundig gemiddelde, standaard deviatie, standaard fout van het gemiddelde en geometrisch gemiddelde.

De overschrijdingskans p heeft betrekking op het verschil tussen de gemiddelde waarden van het IgA gehalte in het serum van patienten en gezonden (enkelzijdig getoetst).

logIgA: de logarithme van het IgA gehalte (g/l) in het serum.

	n	\bar{X} logIgA	SD logIgA	SF logIgA	G(g/l)	G \pm 2SD(g/l)	p
C	16	0.4915	0.1469	0.0360	3.10	1.58 - 6.10	-
SI ⁻	15	0.5771	0.1700	0.0435	3.78	1.73 - 8.26	0.05 - 0.10
SI ⁺	12	0.5853	0.1374	0.0387	3.85	2.04 - 7.25	0.025 - 0.05
SI ⁺	9	0.6786	0.0800	0.0264	4.78	3.30 - 6.89	< 0.0005
SII	15	0.5825	0.1311	0.0331	3.82	2.09 - 6.99	0.025 - 0.05
SLR	6	0.5903	0.2170	0.0883	3.89	1.43 - 10.58	0.15 - 0.20

Tabel 4.8. IgM gehalte in het serum van gezonden en syfilispatienten.

Zie bovenschrijft tabel 4.7.

	n	\bar{X} logIgM	SD logIgM	SF logIgM	G(g/l)	G \pm 2SD(g/l)	p
C	16	-0.473	0.2244	0.0556	0.90	0.32 - 2.52	-
SI ⁻	15	0.1249	0.2109	0.0538	1.33	0.50 - 3.52	0.0125- 0.025
SI ⁺	12	0.0492	0.1774	0.0509	1.12	0.49 - 2.53	0.10 - 0.15
SI ⁺	9	0.2218	0.2193	0.0728	1.67	0.61 - 4.57	0.01 - 0.0125
SII	15	0.1584	0.2420	0.0624	1.44	0.47 - 4.39	0.01 - 0.0125
SLR	6	0.1688	0.1268	0.0509	1.47	0.82 - 2.64	0.025 - 0.005

Tabel 4.9. IgG gehalte in het serum van gezonden en syfilispatienten.

Zie bovenschrijft tabel 4.7.

	n	\bar{X} logIgG	SD logIgG	SF logIgG	G(g/l)	G \pm 2SD(g/l)	p
C	16	1.0042	0.0601	0.0141	10.10	7.36 - 13.36	-
SI ⁻	15	1.0496	0.0655	0.0141	11.21	8.29 - 15.16	0.0125- 0.025
SI ⁺	12	1.0484	0.0768	0.0200	11.18	7.85 - 15.92	0.025 - 0.05
SI ⁺	9	1.1204	0.1058	0.0346	13.19	8.11 - 21.48	0.0005-0.0025
SII	15	1.1276	0.1067	0.0264	13.41	8.21 - 21.93	< 0.0005
SLR	6	1.0056	0.0787	0.0316	10.13	7.05 - 14.55	0.475 - 0.4875

Tabel 4.10.

IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van syfilispatienten uitgedrukt als percentage van het geometrisch gemiddelde van de respektievelijke waarden van de controlepersonen.

	IgA%	IgM%	IgG%
C	100	100	100
SI ⁻	122	149	111
SI ⁺	124	125	111
SI	154	186	131
SII	123	160	133
SLR	126	164	100

Tabel 4.11.

Korrelatie koëfficiënten r (Pearson) voor het gehalte van immuunglobulinen in het serum van gezonden en onbehandelde syfilispatienten.

	immuunglobulinen	r	p
gezonden (n = 16)	logIgA - logIgM	0.4838	0.05 - 0.1
	logIgA - logIgG	0.6284	0.001 - 0.01
	logIgG - logIgM	0.6258	0.001 - 0.01
patienten met vroege syfilis (n = 57)	logIgA - logIgM	0.0134	> 0.1
	logIgA - logIgG	0.2232	0.05 - 0.1
	logIgG - logIgM	0.1370	> 0.1

Tabel 4.12.

Korrelatie-coëfficiënten r (Pearson) voor het gehalte van immunoglobulinen in het serum van patienten in de verschillende stadia van onbehandelde vroege syfilis.

		r	P
SI ⁻ (n = 15)	logIgA - logIgM	-0.4366	> 0.1
	logIgA - logIgG	0.6111	0.01 - 0.05
	logIgG - logIgM	0.1125	> 0.1
SI ⁺ (n = 12)	logIgA - logIgM	0.3321	> 0.1
	logIgA - logIgG	-0.0527	> 0.1
	logIgG - logIgM	-0.0701	> 0.1
SI ⁺ (n = 9)	logIgA - logIgM	-0.0363	> 0.1
	logIgA - logIgG	-0.3987	> 0.1
	logIgG - logIgM	0.3474	> 0.1
SII (n = 15)	logIgA - logIgM	0.2825	> 0.1
	logIgA - logIgG	0.1107	> 0.1
	logIgG - logIgM	-0.0097	> 0.1
SLR (n = 6)	logIgA - logIgM	-0.2881	> 0.1
	logIgA - logIgG	0.6522	> 0.1
	logIgG - logIgM	0.1992	> 0.1

Tabel 4.13.

Korrelatie-coëfficiënten r (Pearson) voor de titers van de RPCF- en de Wa-reaktie en het gehalte van de immunoglobulinen. (RPCF: n = 38)
(Wa : n = 34)

		r	P
logRPCF - logIgA		-0.0793	> 0.1
logRPCF - logIgM		-0.2755	0.05 - 0.1
logRPCF - logIgG		-0.2910	0.05 - 0.1
logWa - logIgA		-0.1970	> 0.1
logWa - logIgM		-0.2206	> 0.1
logWa - logIgG		-0.3136	0.05 - 0.1

Tabel 4.14

IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van patiënten met seronegatief primaire syfilis vóór en tijdens de therapie.

n, \bar{X} , SD, SF en G: respectievelijk aantal onderzochte personen, rekenkundig gemiddelde, standaard deviatie, standaard fout van het gemiddelde en geometrisch gemiddelde.

De overschrijdingskans p heeft betrekking op het verschil in gemiddelde waarde tussen patiënten en gezonden. * = enkelzijdig getoetst; ** = dubbelzijdig getoetst. B, E en 6W: respectievelijk begin eerste penicillinekuur, eind 1e penicillinekuur en 6 weken na het eind van de kuur.

logIg: logaritme van het immuunglobulinegehalte (g/l).

	n	\bar{X} logIg	SD logIg	SF logIg	G(g/l)	G + 2SD(g/l)		p
IgA								
C	16	0.4915	0.1469	0.0360	3.10	1.58 - 6.10		-
B	6	0.6561	0.1949	0.0793	4.53	1.84 - 11.12	0.025	- 0.05*
E	6	0.6381	0.2393	0.0974	4.35	1.44 - 13.08	0.10	- 0.20**
6W	6	0.5935	0.2142	0.0871	3.92	1.46 - 10.52	0.20	- 0.30**
IgM								
C	16	-0.0473	-0.2244	0.0556	0.90	0.32 - 2.52		-
B	6	0.0038	0.2580	0.1053	1.01	0.31 - 3.31	0.30	- 0.35*
E	6	0.2023	0.4137	0.1688	1.59	0.24 - 10.71	0.10	- 0.20**
6W	6	0.0787	0.4888	0.1994	1.20	0.13 - 11.39	0.50	- 0.60**
IgG								
C	16	1.0042	0.0608	0.0141	10.10	7.63 - 13.36		-
B	6	1.0621	0.0678	0.0264	11.54	8.44 - 15.77	0.0125	- 0.025*
E	6	1.0588	0.1090	0.0435	11.45	6.93 - 18.92	0.20	- 0.30**
6W	6	0.9905	0.0800	0.0316	9.78	6.77 - 14.14	0.60	- 0.70**

Tabel 4.15.

IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van patienten met serowisselend primaire syfilis vóór en tijdens de therapie. Zie bovenschrijft tabel 4.14.

	n	\bar{X} logIg	SD logIg	SF logIg	G(g/l)	G + 2SD(g/l)	p
IgA							
C	16	0.4915	0.1469	0.0360	3.10	1.58 - 6.10	
B	5	0.6445	0.0141	0.0000	4.41	4.13 - 4.71	< 0.0005*
E	5	0.6282	0.0458	0.0200	4.24	3.44 - 5.25	0.001 - 0.005**
6W	5	0.6691	0.0663	0.0202	4.67	3.44 - 6.33	< 0.001**
IgM							
C	16	-0.0473	0.2244	0.0556	0.90	0.32 - 2.52	-
B	5	0.0883	0.1972	0.0877	1.23	0.49 - 3.04	0.10 - 0.15*
E	5	-0.0101	0.2231	0.0994	0.98	0.35 - 2.73	0.70 - 0.80**
6W	5	-0.0323	0.2397	0.1072	0.93	0.31 - 2.80	0.90 - 0.95**
IgG							
C	16	1.0042	0.0608	0.0141	10.10	7.36 - 13.36	-
B	5	1.0270	0.0984	0.0435	10.64	6.77 - 16.74	0.30 - 0.35*
E	5	1.0433	0.1330	0.0591	11.05	5.99 - 20.39	0.50 - 0.60**
6W	5	1.0324	0.0591	0.0264	10.78	8.21 - 14.15	0.90 - 0.95**

Tabel 4.16.

IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van patienten met seropositief primaire syfilis.
Zie bovenschrijft tabel 4.14.

	n	\bar{X} logIg	SD logIg	SF logIg	G(g/l)	G + 2SD(g/l)	p
IgA							
C	16	0.4915	0.1469	0.0360	3.10	1.58 - 6.10	-
B	6	0.6788	0.0943	0.0374	4.77	3.09 - 7.37	0.0005- 0.0025*
E	6	0.5892	0.1148	0.0469	3.88	2.29 - 6.59	0.10 - 0.20**
6W	6	0.5757	0.1330	0.0538	3.76	2.04 - 6.94	0.10 - 0.20**
IgM							
C	16	-0.0473	0.2244	0.0556	0.90	0.32 - 2.52	-
B	6	0.2652	0.2570	0.1048	1.84	0.56 - 6.01	0.005 - 0.01*
E	6	0.1094	0.2709	0.1104	1.29	0.37 - 4.48	0.20 - 0.30**
6W	6	0.0071	0.3588	0.1462	1.02	0.19 - 5.31	0.70 - 0.80**
IgG							
C	16	1.0042	0.0608	0.0141	10.10	7.63 - 13.36	-
B	6	1.1403	0.1204	0.0489	13.81	7.93 - 24.05	0.005 - 0.01*
E	6	1.0409	0.1135	0.0458	13.83	6.52 - 18.53	0.40 - 0.50**
6W	6	1.0361	0.0921	0.0374	10.87	7.11 - 16.61	0.40 - 0.50**

Tabel 4.17.

IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum van patienten met secundaire syfilis.
Zie bovenschrijft tabel 4.14.

	n	\bar{X} logIg	SD logIg	SF logIg	G(g/l)	G + 2SD(g/l)		p
IgA								
C	16	0.4915	0.1496	0.0360	3.10	1.58 - 6.10		-
B	3	0.5427	0.1568	0.0905	3.49	1.69 - 7.18	0.30	- 0.35*
E	3	0.4600	0.1438	0.0830	2.83	1.49 - 5.59	0.70	- 0.80**
6W	3	0.4131	0.0916	0.0529	2.59	1.70 - 3.95	0.20	- 0.30**
IgM								
C	16	-0.0473	0.2244	0.0556	0.90	0.32 - 2.52		-
B	3	0.6401	0.6261	0.3615	4.37	0.24 - 78.03	0.025	- 0.05*
E	3	0.1687	0.1746	0.1004	1.48	0.66 - 3.30	0.05	- 0.10**
6W	3	0.1372	0.2293	0.1322	1.37	0.48 - 3.94	0.20	- 0.30**
IgG								
C	16	1.0042	0.0608	0.0141	10.10	7.63 - 13.36		-
B	3	1.5990	0.1296	0.0748	15.81	8.71 - 28.72	0.005	- 0.01*
E	3	1.0630	0.1288	0.0741	11.56	6.39 - 20.92	0.40	- 0.50**
6W	3	1.0499	0.1288	0.0741	11.22	6.20 - 20.30	0.50	- 0.60**

5.1.

*Sepsis?*Inleiding

De thymoltroebelingstest is een eenvoudig uit te voeren reactie (zie paragraaf 5.2.3.), die werd geïntroduceerd als een algemene indikator van hepatitis (McLagan, 1944). Het werd echter spoedig duidelijk dat deze empirische test niet alleen bij leverziekten vaak verhoogd was, maar ook bij een aantal andere aandoeningen (Stillerman, 1948; Reinhold, 1960). De ziekten welke gepaard gaan met een verhoogde thymoltroebeling vallen meestal in één van de volgende groepen:

- 1) paraproteïnaemieën
- 2) auto-immuunziekten en
- 3) infectieziekten, (McLagan, 1974).

De schakel tussen de zojuist genoemde groepen ziekten en het verhoogd uitvallen van de thymoltroebeling wordt gevormd door de veranderde samenstelling van het serum, in het bijzonder wat betreft eiwitgehalte. Voor een verdere bespreking van de serumfactoren die een rol spelen bij de thymoltroebeling wordt verwezen naar Hoofdstuk 6.

De thymoltroebeling van sera van syfilispatienten is vaak verhoogd. Dit is beschreven door verschillende auteurs (Wewalka, 1950; de Graciansky en Har-douin, 1952; Huriez et al., 1953) en werd ook waargenomen in het research laboratorium van de afdeling dermatologie van de medische faculteit (Rotterdam), waar deze reactie in het kader van een onderzoek naar veranderingen in het eiwitgehalte in sera van syfilispatienten als screeningsreactie werd gebruikt (Beek en Neumann, 1971).

In dit hoofdstuk zullen wij de veranderingen die optreden in de uitslag van de troebelingsreactie tijdens het beloop van vroege syfilis en de invloed van de therapie hierop beschrijven.

5.2.

Materiaal en methoden

5.2.1.

Kontrolepersonen en patienten

Bij het onderzoek waren 25 controlepersonen (9 vrouwen en 16 mannen) en 117 patienten betrokken. Tot de groep patienten behoorden 16 vrouwen.

De leeftijden van de controlepersonen, die werkzaam waren bij de Koninklijke Marine, varieerden van 18 tot 48 jaar, met een gemiddelde van 30 jaar.

De controlepersonen voldeden aan de in paragraaf 4.2.1. omschreven criteria.

De leeftijden van de patienten varieerden van 16 tot 58 jaar, met een gemiddelde van 29 jaar. De verdeling van de patienten over de verschillende stadia van vroege syfilis was als volgt:

seronegatief primair stadium	:	29
serowisselend primair stadium	:	24
seropositief primair stadium	:	13
secundair stadium	:	32
vroeg latent stadium	:	19

Wij vonden geen statistisch significant verschil tussen de gemiddelde leeftijden van de patienten in de verschillende stadia van syfilis onderling en evenmin tussen de gemiddelde leeftijden van de groepen patienten en de controlepersonen ($p > 0.40$; dubbelzijdig getoetst).

5.2.2.

Diagnostiek en therapie

Diagnostiek en therapie vonden plaats zoals is beschreven in paragraaf 3.1. en 3.2.

5.2.3.

Uitvoering van de thymoltroebelingstest

Serum van controlepersonen en onbehandelde patienten werd verkregen door het via venapunctie afgenomen bloed, na stolling bij kamertemperatuur, te centrifugeren. Daar de thymoltroebeling verhoogd kan uitvallen door stijging van het vetgehalte van het serum na het nuttigen van een maaltijd (Krebs en Scharenberg, 1963), werd het bloed 's morgens voor het nuttigen van de eerste maaltijd afgenomen. Van de patienten werd - voor zover dat mogelijk was - tevens aan het begin en eind van iedere kuur bloed afgenomen.

De thymoltroebelingstest werd verricht op de dag van bloedafname, door toevoeging van 0.1 ml te onderzoeken serum aan 6 ml thymolreagens, pH 7.55 - 7.60 (Baker, Deventer). Nadat het mengsel 30 minuten bij kamertemperatuur had gestaan, werd de troebeling gemeten met behulp van een Vitatron fotometer bij 637 nm. Er werd een ijklijn opgesteld door de gevonden extinkties van 5 formaline standaarden (Baker, Deventer) in een grafiek uit te zetten tegen de bijbehorende troebelingseenheden (Walther, 1957). De sterkte van de troebeling van het te onderzoeken serum werd bepaald aan de hand van de ijklijn, door interpolatie van de gevonden extinktie. De troebeling werd uitgedrukt in eenheden Shank-

Hoagland (1946). De thymoltroebeling van ieder serum werd in duplo bepaald, van de verkregen uitkomsten werd de gemiddelde waarde berekend en deze werd beschouwd als de thymoltroebeling van het serum.

5.2.4.

Statistische bewerking

De statistische bewerking vond plaats zoals beschreven is in paragraaf 3.3.

5.3.

Resultaten

5.3.1.

De thymoltroebeling bij onbehandelde syfilispatienten

In de tabellen 5.1 tot en met 5.6 worden de afzonderlijke resultaten van de bepaling van de thymoltroebeling van sera van gezonden en onbehandelde syfilispatienten vermeld. De gemiddelde waarden, de standaard deviaties en de standaardfouten van de gemiddelden van de thymoltroebeling van sera van controlepersonen en syfilispatienten in de verschillende stadia zijn weergegeven in tabel 5.7. De gemiddelde waarden en de standaardfouten van deze gemiddelden zijn tevens grafisch weergegeven in figuur 5.1.

De gemiddelde waarden van de thymoltroebeling van sera van patienten in de verschillende syfilisstadia blijken in alle gevallen, met uitzondering van het seronegatief primair stadium, statistisch significant verhoogd te zijn (tabel 5.7 en figuur 5.1.)

Bij het vergelijken van de gemiddelde waarden van de thymoltroebeling van sera van patienten in de op elkaar volgende stadia van vroege syfilis, werd alleen een statistisch significant verschil gevonden tussen het seropositief primaire en secundaire stadium ($0.025 < p < 0.05$; dubbelzijdig getoetst) en tussen het secundaire en het vroeg latente stadium ($0.01 < p < 0.02$; dubbelzijdig getoetst).

5.3.2.

De thymoltroebeling bij behandelde syfilispatienten

Het effect van de antisifilitische therapie op de thymoltroebeling kon worden bestudeerd aan de hand van 34 patienten die gedurende de hele behandeling gevolgd konden worden.

In tabel 5.8 zijn gemiddelde waarden, standaard deviaties en standaardfouten van de gemiddelde waarden van de thymoltroebeling van sera van patienten

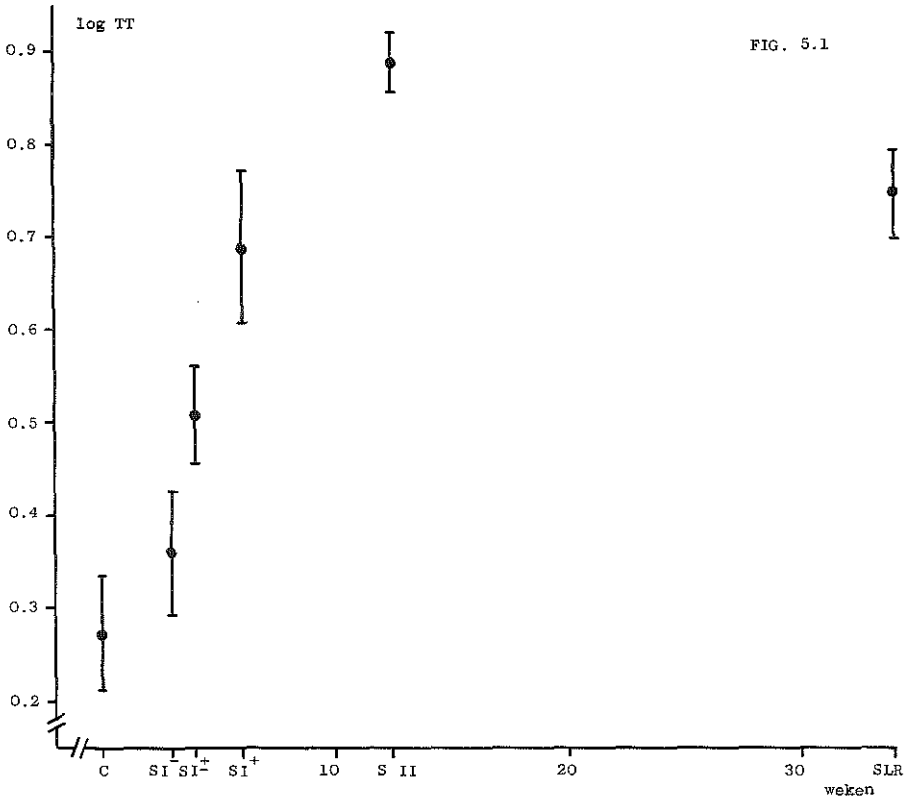


Fig. 5.1 : De thymoltroebeling tijdens het beloop van vroege syfilis. Van ieder stadium is het rekenkundig gemiddelde en de standaardfout van het gemiddelde van de logaritme van de thymoltroebeling weergegeven.
 x - as : tijd in weken, resp. syfilisstadia.
 y - as : logaritme van de thymoltroebeling.

in verschillende stadia van vroege syfilis, aan begin en eind van de eerste penicillinekuur en 6 weken na het eind van deze kuur weergegeven; van patienten met secundaire syfilis zijn de genoemde variabelen aan begin en eind van alle 3 penicillinekuren weergegeven.

Het blijkt dat behandeling met penicilline een daling van de thymoltroebeling tot gevolg heeft. De thymoltroebeling van sera van patienten in het serowisselend primaire, seropositief primaire en vroeg latente stadium verschilt na de eerste penicillinekuur niet meer statistisch significant van die van de controlegroep.

De thymoltroebeling van sera van patienten met secundaire syfilis vertoont tijdens de therapie een daling tot aan het einde van de 2e penicillinekuur. Het blijkt verder, dat tot aan het einde van de 3e penicillinekuur de gemiddelde waarde van de troebelingstest significant hoger is dan de controlewaarde.

Vermindering van de sterkte van een aan het begin van de behandeling verhoogde thymoltroebeling bleef uit bij 4 patienten, die gedurende de gehele behandeling konden worden gevolgd. In alle 4 gevallen was er gedurende de therapie sprake van een klinische genezing van de syfilis, terwijl er ook een daling in de titers van de serologische syfilisreacties konden worden waargenomen. Bij één van deze patienten werd de diagnose virus hepatitis B gesteld, terwijl een andere aan rheumatoïde arthritis bleek te lijden. Bij de 2 overige patienten werd geen andere ziekte gevonden.

5.4.

Diskussie

De thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis loopt na besmetting op tot aan het secundaire stadium van de ziekte en neemt daarna spontaan weer af. Er is sprake van een grote spreiding in de thymoltroebeling van sera van gezonden en patienten in ieder stadium van de ziekte (zie tabel 5.7).

Behandeling van syfilispatienten met penicilline heeft in het algemeen een daling van de thymoltroebeling tot gevolg. Bij twee van de patienten bij wie deze daling uitbleef konden wij een andere ziekte vaststellen, nl. rheumatoïde arthritis, respectievelijk virus hepatitis B, die hiervoor verantwoordelijk geacht kan worden (Reinhold, 1960). Deze waarneming suggereert, dat het - ondanks anti-treponemale behandeling - verhoogd blijven van de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten een gevolg kan zijn van het bestaan van een andere ziekte naast de syfilis. Het is evenwel niet uitgesloten, dat in bepaalde gevallen de Treponema pallidum-infectie zelf verantwoordelijk geacht moet worden voor het - ondanks therapie - verhoogd blijven van de thymoltroebeling, aangezien bij 2

van de syfilispatienten, die geen daling in het resultaat van de troebelingsreaktie vertoonden, geen andere ziekte kon worden gevonden.

De verhoogde thymoltroebeling van sera van syfilispatienten was voor ons de aanleiding tot het verrichten van het in Hoofdstuk 6 beschreven onderzoek, dat betrekking heeft op de relatie tussen immuunglobulinen en thymoltroebeling bij syfilispatienten en het in Hoofdstuk 8 beschreven leveronderzoek.

Samenvatting

De thymoltroebeling van sera van 117 patienten in verschillende stadia van vroege syfilis werd vergeleken met de thymoltroebeling van sera van 25 gezonde personen.

Na besmetting met *Treponema pallidum* neemt de thymoltroebeling van het serum toe tot aan het secundaire stadium van de ziekte; daarna vindt er een spontane vermindering in de sterkte van de troebeling plaats.

Penicillinetherapie leidt in het algemeen binnen 6 weken tot een normalisering van de thymoltroebeling.

Tabel 5.1.

Thymoltroebeling (TT) van sera van 25 gezonde personen (uitgedrukt in eenheden Shank-Hoagland).

Kontrole persoon	gesl.	leeft.	TT
1710	M	24	4.1
2240	M	31	3.9
2272	M	43	1.8
2275	M	31	2.9
2276	M	21	2.4
2277	M	23	0.2
2278	M	20	1.9
2311	M	20	3.3
2777	V	33	0.9
2778	V	40	1.2
2779	V	25	4.4
2780	V	44	1.2
2781	V	48	2.1
2782	V	26	1.1
2783	V	19	2.3
2784	V	18	1.7
2785	V	19	0.9
2787	M	43	0.6
2788	M	33	2.0
2789	M	34	2.6
4738	M	34	4.3
4739	M	44	1.4
4740	M	26	2.3
4790	M	34	6.7
4791	M	30	2.1

Tabel 5.2.

Thymoltroebeling (TT) van sera (in eenheden Shank-Hoagland) van 29 patienten met seronegatief primaire syfilis.

patient	gesl.	leeft.	TT
0475	M	38	3.1
0574	M	60	1.1
0576	M	33	5.1
0714	M	35	7.0
1093	M	40	0.8
1329	M	21	2.9
1403	M	22	33
1448	M	21	3.7
1462	M	24	0.8
1477	M	26	4.4
1898	M	24	2.5
2035	M	20	6.0
2114	M	22	1.6
2254	M	20	3.2
2607	M	34	0.8
2755	M	29	1.1
3049	M	16	1.4
3274	M	37	1.6
4648	M	58	2.7
4718	M	19	4.8
4814	M	26	1.3
4889	M	33	7.2
4925	M	15	3.3
5502	M	32	2.9
5805	M	37	3.4
5960	M	25	1.0
6032	M	20	0.6
7690	M	26	2.9
8141	M	27	2.5

Tabel 5.3.

Thymoltroebeling (TT) van sera (in eenheden Shank-Hoagland) van 24 patienten met serowisselend primaire syfilis.

Patient	gesl.	leeft.	TT
0244	M	35	3.9
0540	M	33	5.1
0701	M	21	3.1
0909	M	27	4.5
0930	M	18	2.2
1109	M	33	7.4
1746	M	28	7.9
1819	M	29	4.0
2511	M	19	4.0
2915	M	23	0.6
2936	M	41	4.5
3361	M	37	8.0
3486	M	19	3.5
3543	M	27	2.9
4055	M	41	1.9
4713	M	36	2.3
4778	M	43	4.1
5017	M	26	2.0
5461	M	41	5.3
5507	M	25	1.8
5833	M	23	1.6
5956	M	29	5.3
7677	M	21	1.3
8513	M	23	3.5

Tabel 5.4.

Thymoltroebeling (TT) van sera (in eenheden Shank-Hoagland) van 13 patienten met seropositief primaire syfilis.

Patient	gesl.	leeft.	TT
0485	M	37	6.8
1297	M	23	12.2
1840	M	27	5.0
2626	M	46	14.3
2981	M	20	4.0
3012	M	22	8.3
3542	M	24	4.7
3776	M	45	2.3
4081	M	19	2.7
4370	M	34	6.1
7069	M	24	2.6
7283	M	29	1.5
7384	M	25	7.4

Tabel 5.5.

Thymoltroebeling (TT) van sera (in eenheden Shank-Hoagland) van 32 patienten met secundaire syfilis.

Patient	gesl.	leeft.	TT
0251	M	32	11.0
0415	V	39	12.2
0589	M	18	8.9
0604	M	29	3.5
0612	M	28	9.1
0728	M	28	7.8
1054	V	25	10.9
1117	M	28	3.8
1398	M	31	7.9
1909	M	22	3.4
2473	M	36	4.6
2701	M	24	9.3
3087	V	26	8.3
3167	V	32	12.0
3168	V	39	11.6
3243	V	32	16.0
3279	M	23	11.5
3407	M	37	5.7
3518	M	26	4.3
4091	M	17	13.0
4191	V	16	9.5
4269	V	21	10.2
4271	V	51	3.0
4650	M	26	7.4
4750	V	35	6.8
4769	M	34	8.1
4779	V	41	7.7
5584	M	22	7.9
6443	M	25	4.3
6978	M	30	7.5
7849	V	20	13.5
8042	M	32	9.1

Tabel 5.6.

Thymoltroebeling (TT) van sera (in eenheden Shank-Hoagland) van 19 patienten met vroeg latente syfilis.

Patient	gesl.	leeft.	TT
0030	V	29	11.0
0240	M	24	4.5
0433	M	35	4.8
0618	M	25	5.1
0932	M	26	10.8
1197	M	43	6.8
1564	M	32	5.3
1690	M	34	7.1
1735	V	20	7.2
1836	M	24	1.8
2015	V	29	8.4
2031	M	24	5.6
3042	M	37	4.4
4902	M	24	10.6
4987	M	31	6.0
5443	M	29	3.0
6989	M	25	6.9
8148	M	26	2.8
8160	V	25	4.9

Tabel 5.7. Thymoltroebeling (TT) van het serum van gezonden en syfilispatienten.

n, \bar{X} , SD, SF en G: respektievelijk aantal onderzochte personen, rekenkundig gemiddelde, standaard deviatie, standaard fout van het gemiddelde en geometrisch gemiddelde.

De overschrijdingskans p heeft betrekking op het verschil in gemiddelde waarden van de thymoltroebeling van het serum van patienten en gezonden (eenzijdig getoetst).

logTT: de logaritmie van de thymoltroebeling (eenheden Shank-Hoagland) van het serum.

	n	\bar{X} logTT	SD logTT	SF logTT	G	G + 2SD	p
C	125	0.2739	0.3212	0.0640	1.9	0.4 - 8.2	-
SI ⁻	29	0.3620	0.3054	0.0565	2.3	0.6 - 9.4	0.15 - 0.20
SI ⁻ +	24	0.5090	0.2670	0.0538	3.2	0.9 - 11.0	0.0025 - 0.005
SI ⁺	13	0.6927	0.2900	0.8000	4.9	1.3 - 18.7	< 0.0005
SII	32	0.8888	0.1923	0.0331	7.7	3.2 - 18.8	< 0.0005
SLR	19	0.7479	0.2039	0.0458	5.6	2.2 - 14.3	< 0.0005

Tabel 5.8. Het effect van antitreponemale therapie op de thymolroebling.

B₁, E₁, B₂, E₂, B₃, E₃: begin, respectievelijk eind van de eerste, tweede en derde penicillinekuur.
 6W: 6 weken na het einde van de penicillinekuur
 * enkelzijdig getoetst; ** dubbelzijdig getoetst.
 Zie verder bovenschrijft figuur 5.7.

		n	\bar{X} logTT	SD logTT	SF logTT	G	G + 2SD	p.
C	-	25	0.2739	0.3212	0.0640	1.9	0.4 - 8.2	
SI ⁻	B ₁	9	0.2135	0.2996	0.0994	1.7	0.4 - 6.5	0.30 - 0.35*
	E ₁	9	0.3625	0.2455	0.0818	2.3	0.7 - 7.1	0.30 - 0.40**
	6W	9	0.2098	0.3004	0.1000	1.6	0.4 - 6.5	0.50 - 0.60**
SI ⁺	B ₁	7	0.5219	0.2144	0.0806	3.3	1.2 ± 8.9	0.01 - 0.0125*
	E ₁	7	0.4793	0.2807	0.1058	3.0	0.8 - 11.0	0.10 - 0.20**
	6W	7	0.3713	0.3446	0.1300	2.4	0.5 - 11.5	0.50 - 0.60**
SI ⁺	B ₁	5	0.5996	0.3223	0.1438	4.0	0.9 - 27.6	0.0125 - 0.025*
	E ₁	5	0.3807	0.3882	0.1734	2.4	0.4 - 14.4	0.50 - 0.60**
	6W	5	0.3577	0.4203	0.1878	2.3	0.3 - 15.8	0.60 - 0.70**
SII	B ₁	7	0.9655	0.1734	0.0655	9.2	4.2 - 20.5	0.0005*
	E ₁	7	0.7616	0.1754	0.0663	5.8	2.6 - 13.0	0.0010**
	B ₂	7	0.6417	0.1565	0.0591	4.4	2.1 - 9.0	0.0010**
	E ₂	7	0.5171	0.1410	0.0529	3.3	1.7 - 6.3	0.0050 - 0.010**
	B ₃	7	0.5587	0.1603	0.0600	3.6	1.7 - 7.6	0.0010 - 0.0050**
	E ₃	7	0.6049	0.2532	0.0953	4.0	1.3 - 12.9	0.0050 - 0.010**
SLR	B ₁	6	0.6867	0.1939	0.0787	4.9	2.0 - 11.9	0.0005*
	E ₁	6	0.5325	0.2798	0.1140	3.4	0.9 - 12.4	0.050 - 0.10**
	6W	6	0.4743	0.2310	0.0943	3.0	1.0 - 8.6	0.050 - 0.10**

6.1.

Inleiding

Het mechanisme van de thymoltroebelingstest is nog steeds niet geheel duidelijk, maar uit verschillende onderzoeken is gebleken, dat meerdere serumfactoren belangrijk zijn bij het tot stand komen van de troebeling.

McLagan (1944) wees er op, dat serumlipiden een rol spelen bij het ontstaan van de troebeling. Hij onderzocht de samenstelling van het precipitaat van de reactie en konkludeerde uit zijn bevindingen dat de troebeling tot stand komt door de vorming van een kompleks bestaande uit fosfolipiden, cholesterol, eiwitten - waarschijnlijk gammaglobulinen - en thymol.

Recant et al. (1945) toonden aan, dat na extractie van lipiden uit serum met behulp van ether in de meeste gevallen een verhoogde thymoltroebeling normaliseerde. Omgekeerd had toevoeging van een waterige oplossing van cephaline, ruwe lecithine of cholesterol aan met ether geëxtraheerde sera tot gevolg, dat de thymoltroebeling hoog uitviel.

Volgens Cohen en Thompson (1947) bestaat het precipitaat van de thymoltroebelingsreactie voornamelijk uit componenten, welke na elektroforese worden teruggevonden in het bèta globulinen gebied. Het is echter de vraag of deze componenten identiek zijn aan β globulinen, aangezien de elektroforese werd gedaan na reactie van het serum met thymolreagens. Het is niet uitgesloten dat er door deze reactie een verandering optreedt in de loopsnelheid van de serumcomponenten.

Kunkel en Hoagland (1947) toonden aan, dat naar mate uit het precipitaat van de thymolreactie meer lipiden werden verwijderd het overblijvende eiwit bij elektroforese langzamer migreerde. In één eksperiment was de absolute loopsnelheid van het eiwit $0.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$, hetgeen kenmerkend is voor een uitermate langzaam migrerend gamma globuline.

Mandema (1956) en Franklin (1959) namen waar, dat sera waarin IgG paraproteïnen met een geringe loopsnelheid voorkomen een verhoogde thymoltroebeling vertonen, in tegenstelling tot sera met IgG paraproteïnen met een hoge loopsnelheid.

Franklin (1959) onderzocht de reactie van verschillende, naar loopsnelheid gescheiden frakties van 7 S gammaglobulinen met thymolreagens. Hij vond bij onderzoek van 3 normale en 8 pathologische sera dat op één uitzondering na steeds de meest basische frakties van het gammaglobuline de sterkste reacties gaven met de thymolreagens. Ook bij onderzoek van de reactie van een aantal eiwitten met verschillende iso-elektrische punten bleek, dat meer basische eiwitten

een sterkere reactie gaven dan minder basische. Het is evenwel zo, dat geen van de eiwitten een troebeling gaf bij volledige afwezigheid van lipoproteïnen.

Hartmann et al. (1963) toonden aan dat toevoeging van een toenemende hoeveelheid IgM paraproteïne aan normaal serum een oplopende thymoltroebeling veroorzaakte. Toevoeging van een oplopende hoeveelheid IgG had echter geen effect op de thymoltroebeling, terwijl toevoeging van een konstante hoeveelheid IgM tezamen met een toenemende hoeveelheid IgG wel een oplopende thymoltroebeling te zien gaf. Auteurs konkludeerden dat het IgM een "startereffekt" heeft op de thymoltroebeling en suggereren dat het IgG alleen een rol speelt in aanwezigheid van een bepaalde hoeveelheid IgM.

Het resultaat van de experimenten van Franklin (1959) deed ons veronderstellen dat de verhoogde thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis voor een deel veroorzaakt zou kunnen worden door een toename van het gehalte aan basisch IgG in deze sera. Het testen van deze hypothese biedt ons de mogelijkheid na te gaan in welk deel van de totale microheterogeniteit van het IgG-gebied de toename in het gehalte van dit immuunglobuline, ten gevolge van de infectie met Treponema pallidum, plaatsvindt. Hierover zijn ons uit de literatuur geen gegevens bekend.

Wij besloten te onderzoeken of er bij patienten met vroege syfilis inderdaad een relatie tussen de thymoltroebeling en het basisch IgG bestaat. Aangezien echter de thymoltroebeling mogelijk ook beïnvloed wordt door het IgM (Hartmann et al., 1963) en lipiden (McLagan, 1944; Recant et al., 1945) werd er tevens nagegaan of er bij syfilispatienten een relatie bestaat tussen de thymoltroebeling en deze serumfactoren.

6.2.

Materiaal en methoden

6.2.1.

Kontrolepersonen en patienten

Het onderzoek werd uitgevoerd bij 25 controlepersonen en 43 syfilispatienten.

Algemene gegevens over de 25 controlepersonen staan vermeld in paragraaf 5.2.1.

De leeftijd van de syfilispatienten varieerde van 16 tot 46 jaar met een gemiddelde van 28 jaar. Verdeling van de patienten over de verschillende stadia van vroege syfilis was als volgt:

seronegatief primair stadium : 6
serowisselend primair stadium : 3
seropositief primair stadium : 6
secundair stadium : 19
vroeg latent stadium : 9

Van controlepersonen en onbehandelde patienten werd door middel van venapunctie bloed afgenomen, dat na stolling bij kamertemperatuur werd gecentrifugeerd. Het bloed werd bij alle proefpersonen 's morgens, voor het nuttigen van de 1e maaltijd afgenomen.

6.2.2.

Diagnostiek

Zie paragraaf 3.1.

6.2.3.

Uitvoering van de thymoltroebelingstest

Zie paragraaf 5.2.3.

6.2.4.

Bepaling van het immuunglobulinegehalte in het serum

Zie paragraaf 4.2.3.

6.2.5.

Bepaling van het gehalte aan totaal lipiden

Het totaal lipiden-gehalte in het serum werd bepaald op het Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam, met behulp van de sulfophosphovanilline reactie (Postma en Stroes, 1968).

6.2.6.

Bepaling van het gehalte aan basisch IgG in het serum

De bepaling van het basisch IgG-gehalte werd verricht op de dag van afname van het bloed. In een aantal gevallen werd deze bepaling verricht op serum dat enkele dagen bij -20°C bewaard was.

Het basisch IgG-gehalte werd door ons berekend met behulp van gegevens, die werden verkregen uit:

1. de bepaling van het totaal eiwitgehalte
2. de papier elektroforese
3. de agargel elektroforese

6.2.6.1.

Totaal eiwit-gehalte

Het gehalte aan totaal eiwit in het serum werd bepaald met behulp van de biureet reactie. Van het te onderzoeken serum werd 0.1 ml gemengd met 1.9 ml fysiologisch zout en 8 ml biureet reagens. Na 20 minuten werd de extinktie van de oplossing gemeten met een Vitatron fotometer, bij een golflengte van 532 nm. Er werd gebruik gemaakt van Lab-trol (Dade, Miami, Florida, U.S.A) als standaard.

6.2.6.2.

Papier elektroforese

Papier elektroforese werd uitgevoerd op stroken papier van 50 x 36 mm (20436 MGL. Carl Schleicher en Schüll) in een Veronal-veronal natrium buffer met een pH van 8.6 en een ionensterkte van 0.1. Op iedere strook papier werd 0.02 ml te onderzoeken serum opgebracht. Na een elektroforese van 16 à 17 uur bij een stroomsterkte van 2 mA werden de eiwitten gedurende 45 minuten bij 110°C gefixeerd. Daarna werd 15 minuten lang gekleurd door het papier te leggen in een oplossing van 0.5% azocarmijn B (Chromagesellschaft) in een mengsel van gedestilleerd water, ijsazijn (Merck) en 96% alcohol (10:1:8,9 v/v/v). Vervolgens werd 4 x gedurende 10 minuten de overmaat kleurstof verwijderd in een oplossing van 5% azijnzuur. De gedroogde papierstrook werd dan in een aantal stukken verdeeld, die korresponderen met de verschillende elektroforetische eiwitfrakties. Van ieder stuk werd de kleurstof geëluëerd met 0.1% NaOH-oplossing en de extinktie bepaald in een fotometer bij een golflengte van 532 nm. Uit de verhouding van de gevonden extinkties en totaal eiwitgehalte van het betreffende serum werd het eiwitgehalte van iedere fractie berekend.

6.2.6.3.

Agargel elektroforese

Agargel elektroforese vond plaats op glaasjes met een afmeting van 7.6 x 2.6 x 0.1 cm. Er werd 3 ml van een warme agargel, die bestond uit 0.9% agar (Agar Noble, Difco) opgelost in een Veronal-veronal natrium buffer met een pH van 8.6 en een ionensterkte van 0.05 op de glaasjes gebracht. De volgende dag werd met behulp van een ponsapparaat een groeve in de agarlaag gemaakt, waarin 4 μ l serum werd gebracht. Vervolgens werd een elektroforese uitgevoerd in een elektroforesebak volgens Wieme (1965). Hierbij was het potentiaal verschil 150 Volt en de temperatuur 15°C. Er werd gefixeerd volgens Vreedendaal (1967). Na een nacht drogen werd het preparaat gedurende 30 minuten gekleurd met amido-

zwart 10B (Merck) volgens Uriel en Grabar (1956) en ontkleurd door 4 opeenvolgende spoelingen van 5 minuten met een oplossing van 2% azijnzuur. Na te zijn gedroogd werd het preparaat bedekt met een dun laagje malinol en een dekglas. Insluiting van luchtbellen of stofdeeltjes werd vermeden.

Met behulp van een densitometer (Vitatron) werd de kleurintensiteit van de banden op het elektroforeseglaasje gemeten en geregistreerd op papier (figuur 6.1.). Gelijkzeitig werd het oppervlak onder de verkregen curve door middel van een integrator (Vitatron) gemeten en geregistreerd op het papier.

6.2.6.4.

Berekening van het basisch IgG-gehalte

Het basisch IgG werd door ons gedefinieerd als het IgG dat zich bevindt in één tiende deel van de totale lengte van het agargel elektroforese preparaat, gerekend vanaf het nulpunt (punt D, zie figuur 6.1).

Bij de bepaling van het gehalte aan basisch IgG werd uitgegaan van het principe, dat de relatieve loopsnelheid van een gegeven eiwit, d.w.z. de verhouding tussen de loopsnelheid van dit eiwit en dat van een referentie eiwit, b.v. serum albumine, konstant is, mits de elektroforese steeds onder dezelfde omstandigheden wordt uitgevoerd (Wieme, 1965).

De afstand albumine- β -globuline (Afstand A-B) werd gemeten (zie figuur 6.1). Uit deze afstand werd de afstand van B tot het nulpunt (afstand B-D) berekend door de afstand A-B te vermenigvuldigen met de faktor 48/52. Deze faktor is afgeleid uit de relatieve loopsnelheid van het in het β -globulinegebied migrerende transferrine. Onder de gebruikte omstandigheden is de relatieve loopsnelheid transferrine: relatieve loopsnelheid albumine 48:100 (Neumann, 1971). Punt C ligt op een afstand gelijk aan 0.1 deel van de totale lengte van het elektrofero-gram (D-A) gemeten vanaf punt D. Vanuit punt C werd een loodlijn opgericht. Het eiwit-gehalte in het gearceerde gebied werd als volgt berekend: Het globulinegehalte in het serum, dat wil zeggen totaal eiwit-gehalte (biureet) minus albuminegehalte (papier elektroforese) werd gedeeld door het totaal aantal integraties van het α_1 , α_2 , β en γ gebied. Door het gevonden quotient te vermenigvuldigen met het aantal integraties van het basisch IgG gebied werd het gehalte aan basisch IgG in het serum verkregen. Van ieder serummonster geschiedde de bepaling in duplo op 2 verschillende glaasjes. De gemiddelde waarde van deze 2 bepalingen werd beschouwd als het serumgehalte aan basisch IgG.

Om een indruk te krijgen van de reproduceerbaarheid van onze bepaling van het gehalte aan basisch IgG in het serum werd de variabiliteit van het resultaat van 10 niet gelijktijdig verrichte bepalingen van eenzelfde serummonster

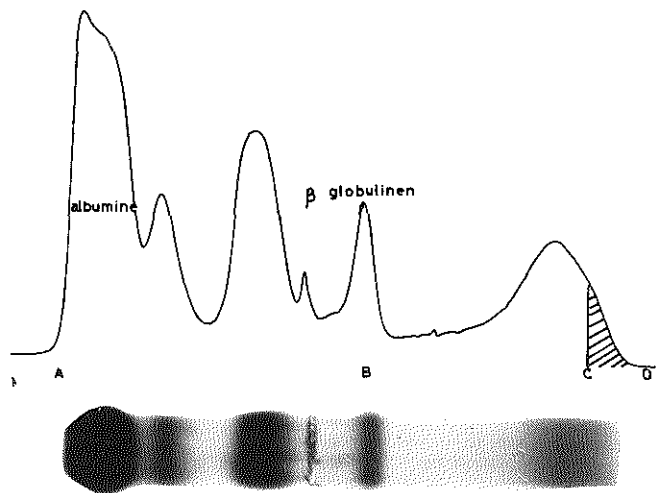


Fig. 6.1 : Electroforesepreparaat (Agargel) met bijbehorende densitometer-curve. (Zie tekst paragraaf 6.2. 6.4)

nagegaan. Het resultaat van deze 10 bepalingen, waarbij gebruik werd gemaakt van serum van controlepersoon 1710, staat vermeld in tabel 6.1.

De gemiddelde waarde (rekenkundig gemiddelde) van de 10 bepalingen bedraagt 1.87 gram/liter. Als maat voor de variabiliteit van het resultaat werd de standaard deviatie berekend. Deze bleek 0.19 gram/liter te zijn. De spreidingsbreedte is 0.60 gram/liter.

6.3.

Resultaten

De resultaten van de bepaling van het gehalte aan basisch IgG in het serum van controlepersonen en patienten in de verschillende stadia van vroege syfilis, staan vermeld in de tabellen 6.2 tot en met 6.7. In deze tabellen is tevens het resultaat van de thymoltroebelingstest en van de bepaling van het IgA-, IgM- en IgG-gehalte vermeld.

In tabel 6.8 zijn de gemiddelde waarden, standaard deviaties en standaard fouten van het gemiddelde van het gehalte aan basisch IgG in het serum van de verschillende onderzochte groepen personen weergegeven. Gemiddelde waarden en standaard fouten van het gemiddelde zijn tevens grafisch weergegeven in figuur 6.2. In figuur 6.2 zijn de waarden van patienten in het seronegatief primaire stadium vanwege het geringe aantal patienten weggelaten.

Het blijkt dat het gehalte aan basisch IgG in het serum na besmetting met Treponema pallidum oploopt tot aan het secundaire stadium van de ziekte en daarna weer afneemt. De verhoging van het basisch IgG-gehalte blijkt ten opzichte van de controlegroep statistisch significant te zijn in het seropositieve primaire en secundaire stadium. Met betrekking tot de verschillen tussen het gehalte aan basisch IgG in het serum van patienten in de opeenvolgende stadia van vroege syfilis werd er een statistisch significant verschil gevonden tussen deze waarden bij patienten in het secundaire stadium en het vroeg latente stadium ($0.025 < p < 0.05$; dubbelzijdig getoetst).

Aan de hand van de in tabellen 6.3 tot en met 6.7 vermelde gegevens werd onderzocht of er een korrelatie bestaat tussen het basisch IgG-gehalte en de uitslag van de thymoltroebelingstest en tevens tussen het gehalte aan IgG, IgA en IgM enerzijds en de thymoltroebeling anderzijds. Het resultaat van de berekening van de korrelatie koëfficiënten is weergegeven in tabel 6.9. Tussen het gehalte aan IgM en thymoltroebeling, IgG en thymoltroebeling en basisch IgG en thymoltroebeling bleek er een positieve korrelatie te bestaan.

Het verschil tussen de korrelatie koëfficiënten voor de thymoltroebeling enerzijds en respectievelijk het basisch IgG en het IgG-gehalte anderzijds,

bleek statistisch niet significant te zijn (toets van Hotelling $0.05 < p < 0.10$).

Het gehalte aan totaal lipiden werd bepaald in sera van patienten met secundaire syfilis, die tevens een verhoogde thymoltroebeling vertoonden. Het resultaat staat vermeld in tabel 6.10. In de meeste gevallen was er sprake van een laag normale waarde van het totaal lipidengehalte. In één geval werd er een verhoogde waarde gevonden.

6.4.

Diskussie

De serumlipiden leveren vermoedelijk geen extra bijdrage aan het tot stand komen van de verhoogde thymoltroebeling van sera van syfilispatienten, gezien de door ons gevonden meestal laag normale waarden van het totaal lipidengehalte (tabel 6.10) in het serum van deze patienten.

De korrelatie tussen het IgA-gehalte en de thymoltroebeling (korrelatie koëfficiënt 0.2841) is statistisch niet significant. Hierdoor lijkt ook een bijdrage van het IgA aan de troebeling van sera van syfilispatienten niet waarschijnlijk.

De positieve korrelatie tussen het IgM-gehalte en de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten suggereert een bijdrage van dit immuunglobuline aan de verhoogde thymoltroebeling. Hierbij moet echter bedacht worden, dat het IgM hoort tot de euglobulinen, die in oplossingen van lage ionensterkte instabiel zijn en zelfs tot precipitatie kunnen komen (Schultze en Heremans, 1966). Aangezien de thymoltroebelingstest wordt uitgevoerd in een buffer van lage ionensterkte is het niet uitgesloten, dat het IgM door het euglobulinekarakter reeds een bijdrage levert aan de thymoltroebeling. Dit blijkt uit de experimenten van McLagan et al. (1974), die werkend met geïsoleerd IgM vonden, dat dit eiwit met alleen de buffer van het thymolreagens reeds een troebeling te zien gaf. Het geïsoleerde IgM gaf met het volledige thymolreagens dezelfde mate van troebeling te zien als met de buffer alleen.

Hartmann et al. (1963) beschreven het startereffekt van het IgM bij de thymoltroebelingsreactie. Het moet niet uitgesloten geacht worden, dat IgM molekulen door hun euglobuline karakter een eiwitfractie vormen, welke relatief gemakkelijk in het mechanisme van de thymoltroebelingsreactie tot precipitatie wordt gebracht en zo een bijdrage leveren aan de troebeling. Hiermee zou de positieve korrelatie tussen het IgM-gehalte en de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten verklaard kunnen worden.

Bij vroege syfilis is er sprake van een toename van het gehalte aan basisch IgG in het serum (zie tabel 6.8 en figuur 6.2). De veranderingen in het

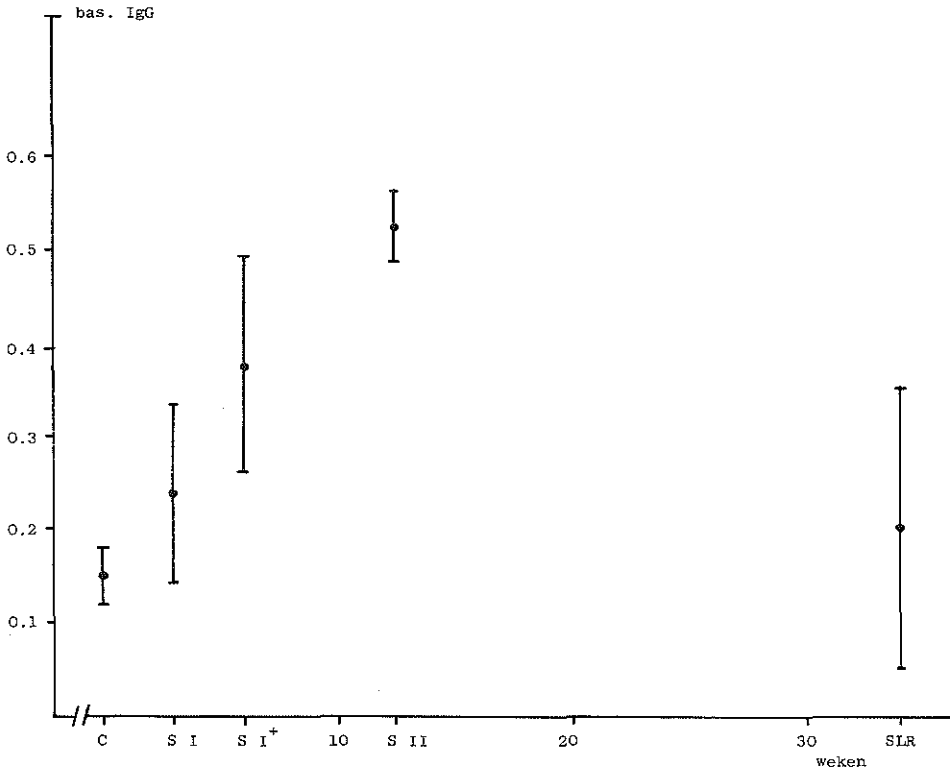


fig 6.2 : Rekenkundig gemiddelde en standaard fout van het gemiddelde van de logaritme van het gehalte aan basisch IgG (g/l) in het serum, tijdens het beloop van vroege syfilis.
 x - as : tijd in weken, resp. stadium van de ziekte
 y - as : logaritme van het gehalte aan basisch IgG

gehalte aan deze fraktie van het IgG tijdens het beloop van vroege syfilis vertonen hetzelfde patroon als de veranderingen in het gehalte aan IgG in het serum (zie figuur 4.3 en 6.2).

Hoewel de korrelatie koëfficiënt voor basisch IgG en thymoltroebeling groter is dan die voor IgG en thymoltroebeling blijkt volgens de toets van Hotelling het verschil tussen deze twee korrelatie koëfficiënten statistisch niet significant te zijn. Hierop wordt in paragraaf 7.4. nog kort ingegaan. De beide positieve korrelaties suggereren dat het IgG, respektievelijk het basisch IgG, een rol spelen bij het ontstaan van de verhoogde thymoltroebeling van sera van syfilispatienten.

Men kan zich afvragen of er zich in het basisch deel (deel C-D, figuur 6.1) van het elektroforese-preparaat ook andere componenten dan IgG bevinden. Deze componenten zouden kunnen zijn: andere serumeiwitten, basische treponemale produkten, immuunglobulinen welke specifiek of aspecifiek gekomplexeerd zijn met treponemale produkten en andere serumeiwitten gekomplexeerd met basisch treponemale produkten.

Andere serumeiwitten dan IgG, waarvan bekend is dat zij migreren naar het basisch deel van het elektroforese-preparaat zijn lysozyme en onder bepaalde omstandigheden het C-reaktieve proteïne (Laurell, 1972). Aangezien er geen calcium in de door ons gebruikte buffer aanwezig is, kan de aanwezigheid van C-reaktieve proteïne in dit deel van het elektroforese-preparaat worden uitgesloten (Kindmark, 1971). Verder konden wij in ponsingen genomen uit dit gebied bij gezonden en syfilispatienten met behulp van de dubbele diffusiemethode volgens Ouchterlony (1958) en de micro-immuuelektroforesemethode (Scheidegger, 1955) geen andere eiwitten aantonen dan IgG.

De aanwezigheid van immuunkomplexen lijkt niet waarschijnlijk, aangezien sera van syfilispatienten blijkens het resultaat van de komplementbindingsreacties (Wassermann-Kolmer en RPCF reactie), slechts zelden antikomplementair zijn (eigen waarneming).

Onze waarneming dat de Jarisch-Herxheimer reactie (zie paragraaf 1.3.1.2.), waarbij er sprake is van het te gronde gaan van grote aantallen treponemen, geen toename veroorzaakt in de extinktie van het basisch deel (gebied C-D, figuur 6.1) van het elektroforese-preparaat, pleit tegen de aanwezigheid in dit gebied van treponemale produkten en met deze produkten gekomplexeerde immuunglobulinen of andere serumeiwitten.

Er is reeds gewezen op de toename van het basisch IgG in sera van patienten met vroege syfilis en de positieve korrelatie die bestaat tussen het gehalte aan basisch IgG in en de thymoltroebeling van deze sera.

De rol van het basisch IgG bij het tot stand komen van de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten kon worden bevestigd met behulp van een aantal model-eksperimenten (v.d.Sluis en Menke, 1975). Bij onderzoek naar het effect van globuline frakties, geïsoleerd uit sera van syfilispatienten met behulp van zône-elektroforese op Pevikon bleek namelijk, dat de meest basische fraktie de sterkste verhoging van de thymoltroebeling van sera van gezonden veroorzaakte. In deze basische fraktie waren geen andere serumeiwitten dan IgG aantoonbaar. Bij onderzoek naar het effect van IgG frakties, die werden verkregen met behulp van een preparatieve iso-elektrofocuseringstechniek op de thymoltroebeling werd gevonden, dat alleen frakties geïsoleerd bij een pH hoger dan 7.6 in staat waren de thymoltroebeling te versterken. Het effect op de troebelingsreactie bleek bovendien groter te zijn naarmate de iso-elektrische punten van de toegevoegde IgG frakties hoger waren. Aangezien de thymoltroebelingstest wordt uitgevoerd in een milieu met een pH van 7.6 kan uit deze experimenten worden gekonkludeerd, dat met betrekking tot de totale microheterogeniteit van het IgG alleen die IgG molekulen welke bij de omstandigheden van de test positief geladen zijn een rol spelen bij het ontstaan van de thymoltroebeling. De resultaten van onze onderzoeken bevestigen de bevindingen van Franklin met betrekking tot het versterkend effect van het basische 7 S globuline op de thymoltroebeling.

De toename van het gehalte aan basisch IgG in het serum van patienten met syfilis bleek niet alleen uit de bepalingen van het gehalte aan basisch IgG in sera van controlepersonen en syfilispatienten (figuur 6.2), maar ook uit de model-eksperimenten (v.d.Sluis en Menke, 1975). IgG geïsoleerd uit serum van patienten met vroege syfilis heeft een sterker effect op de thymoltroebeling dan IgG geïsoleerd uit serum van gezonde personen of behandelde syfilispatienten (figuur 6.3). Aangezien werd aangetoond dat wat betreft het IgG alleen basische molekulen in staat zijn de thymoltroebeling te verhogen, kan uit deze experimenten gekonkludeerd worden, dat er in serum van patienten met primaire en secundaire syfilis sprake is van een toename van het gehalte aan basisch IgG.

Samenvatting

Toename van het basisch IgG gehalte in het serum is een belangrijke faktor bij het ontstaan van de verhoogde thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis.

Het gehalte aan basisch IgG in het serum neemt na besmetting met Treponema pallidum toe tot aan het secundaire stadium van syfilis, om daarna weer af te nemen.

Het gehalte aan basisch IgG vertoont, evenals het totaal IgG-gehalte,

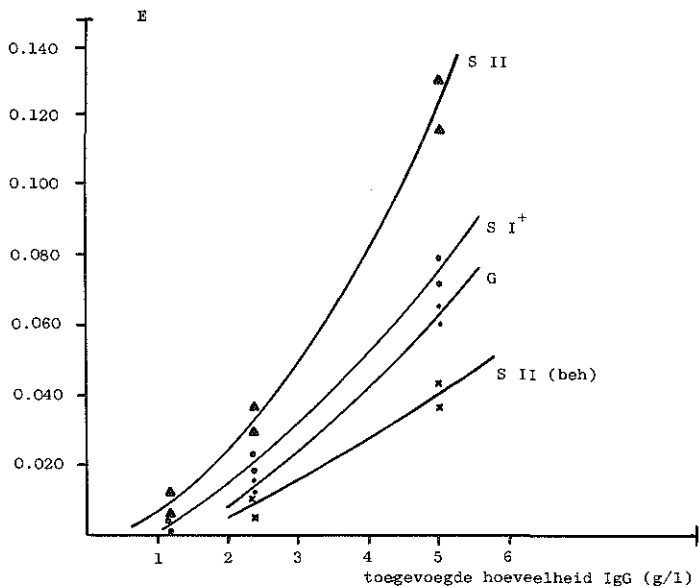


Fig. 6.3 : Toename van de troebeling uitgedrukt als extinctie, na toevoeging van IgG aan normaal serum.

X - as : toegevoegde hoeveelheid uitgedrukt in gram/l

Y - as : de extinctie

S II : IgG geïsoleerd uit serum van lijdende aan secundaire syfilis.

S II (beh.) : IgG geïsoleerd uit serum van behandelde secundaire syfilispatienten.

S I⁺ : IgG geïsoleerd uit serum van lijdende aan seropositieve primaire syfilis.

G : IgG geïsoleerd uit serum van gezonde personen.

(Deze figuur is overgenomen uit een artikel van Van der Sluis en Menke, 1975)

een positieve korrelatie met de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten. De rol van het basisch IgG bij het ontstaan van de verhoogde thymoltroebeling kon worden aangetoond met behulp van model-eksperimenten (v.d.Sluis en Menke, 1975).

De positieve korrelatie tussen het IgM-gehalte en de thymoltroebeling van sera van syfilispatienten hangt vermoedelijk samen met het euglobuline karakter van het IgM, dat in een oplossing van lage ionensterkte instabiel is en gemakkelijk kan precipiteren.

Is dit 10 x zelfde
serum of by
één punt. 10 x
bepaald?

Tabel 6.1.

Resultaat van 10 niet gelijktijdig verrichte bepalingen van het gehalte aan basisch IgG in het serum van controlepersoon 1710.

	Basisch IgG (gram/l)
1 ^o bepaling	1.60
2 ^o bepaling	2.20
3 ^o bepaling	1.65
4 ^o bepaling	2.00
5 ^o bepaling	1.85
6 ^o bepaling	2.00
7 ^o bepaling	1.95
8 ^o bepaling	1.85
9 ^o bepaling	1.90
10 ^o bepaling	1.65
<u>rekenkundig gemiddelde</u>	<u>1.87</u>
<u>standaard deviatie</u>	<u>0.19</u>

Tabel 6.2.

Thymoltroebeling (TT), uitgedrukt in eenheden Shank-Hoagland van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte, uitgedrukt in g/l in het serum van 25 gezonden.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
1710	M	24	4.1	4.30	1.12	9.95	1.80
2240	M	31	3.9	3.40	1.45	8.57	1.70
2272	M	43	1.8	2.80	1.15	9.80	1.80
2275	M	31	2.9	3.22	1.00	11.10	2.10
2276	M	21	2.4	2.70	0.86	9.53	1.50
2277	M	23	0.2	1.63	0.28	7.10	1.80
2278	M	20	1.9	6.43	0.84	11.18	2.80
2311	M	20	3.3	2.33	2.13	11.10	1.00
2777	V	33	0.9	3.34	0.72	12.10	1.00
2778	V	40	1.2	3.85	0.65	12.00	1.20
2779	V	25	4.4	2.99	1.55	9.50	1.60
2780	V	44	1.2	1.91	0.45	8.92	1.20
2781	V	48	2.1	2.50	1.45	9.22	1.00
2782	V	26	1.1	3.14	0.77	11.95	2.30
2783	V	19	2.3	3.99	1.72	12.30	1.90
2784	V	18	1.7	2.37	1.20	9.82	1.40
2785	V	19	0.9	3.00	0.62	9.58	1.50
2787	M	43	0.6	2.11	0.38	9.42	1.30
2788	M	33	2.0	2.88	0.80	11.22	2.10
2789	M	34	2.6	3.60	1.06	11.60	2.00
4738	M	34	4.3	4.10	1.11	10.55	0.60
4739	M	44	1.4	2.14	0.43	8.35	0.90
4740	M	26	2.3	2.66	1.30	10.55	0.80
4790	M	34	6.7	4.05	1.00	10.65	1.40
4791	M	30	2.1	4.13	1.09	12.35	1.00

Tabel 6.3.

Thymoltroebeling (TT) van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte in het serum van 6 patienten met seronegatieve primaire syfilis; zie ook bovenschrijft tabel 6.2.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
0714	M	35	7.0	3.14	1.56	14.00	3.60
1093	M	40	0.8	2.34	0.48	10.40	1.20
2114	M	22	1.6	4.85	1.11	10.90	0.80
2607	M	34	0.8	1.92	0.60	10.85	2.30
3274	M	37	1.6	5.00	0.90	15.60	2.20
4814	M	27	1.3	3.31	1.85	11.45	1.60

Tabel 6.4.

Thymoltroebeling (TT) van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte in het serum van 3 patienten met serowisselende primaire syfilis; zie ook bovenschrijft tabel 6.2.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
0930	M	18	2.2	3.90	1.22	10.55	1.90
3543	M	27	2.9	4.44	2.54	9.45	0.80
8513	M	23	3.5	3.84	1.95	14.38	0.90

Tabel 6.5.

Thymoltroebeling (TT) van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte in het serum van 6 patienten met seropositieve primaire syfilis; zie ook bovenschrijf tabel 6.2.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
0458	M	37	6.8	5.56	1.20	13.00	2.00
2626	M	46	14.3	5.80	3.72	14.45	5.20
2981	M	20	4.0	4.77	1.09	14.10	1.80
3012	M	21	8.3	3.15	2.33	20.30	5.30
3542	M	24	4.7	4.80	3.40	13.95	1.10
4370	M	35	6.1	5.48	1.74	11.35	1.80

Tabel 6.6.

Thymoltröebeling (TT) van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte in het serum van 19 patienten met secundaire syfilis; zie ook bovenschriift tabel 6.2.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
0251	M	32	11.0	4.98	0.73	11.50	2.10
0589	M	18	8.9	3.50	1.85	18.15	3.90
0604	M	29	3.5	5.20	0.93	17.60	3.80
0612	M	28	9.1	3.18	2.21	11.60	2.00
0728	M	28	7.8	3.40	2.67	9.15	2.20
1055	V	25	10.9	4.98	3.56	18.10	4.30
1117	M	28	3.8	3.34	0.45	14.26	3.90
2473	M	36	4.6	4.10	1.73	14.60	4.00
2701	M	24	9.3	5.20	2.69	16.15	3.80
3087	V	26	8.3	4.11	1.88	14.00	3.40
3168	V	39	11.6	3.17	5.98	10.90	1.80
3243	V	32	16.0	5.78	2.57	25.00	6.70
3279	M	23	11.5	4.48	1.36	11.10	2.50
4191	V	16	9.5	4.61	2.20	11.35	2.50
4269	V	21	10.2	2.54	2.98	11.20	3.40
4650	M	26	7.4	7.66	2.75	13.65	2.90
4769	M	34	8.1	4.55	0.70	18.70	6.00
5227	M	23	14.1	5.20	5.00	16.70	4.00
7849	V	20	13.5	4.04	2.07	17.40	5.80

Tabel 6.7.

Thymoltroebeling (TT) van en IgA-, IgM-, IgG- en basisch IgG-gehalte in het serum van 9 patienten met vroeg latente syfilis; zie ook bovenschrijf tabel 6.2.

Patient	gesl.	leeft.	TT	IgA	IgM	IgG	basisch IgG
0030	V	29	31.0	3.58	3.02	15.55	2.80
0864	V	19	1.3	4.90	0.43	9.80	0.80
0932	M	26	10.8	3.20	2.46	21.10	3.80
1690	M	34	7.1	5.70	1.22	12.75	4.00
1735	V	20	7.2	4.37	1.98	15.50	4.50
4987	M	31	6.0	5.05	2.15	13.70	1.70
5443	M	29	3.0	5.04	0.85	21.00	2.00
8148	M	26	2.8	3.72	1.88	9.90	0.20
8160	V	25	4.9	2.47	2.08	12.10	0.70

Tabel 6.8. Basisch IgG-gehalte in het serum van gezonden en syfilispatienten.

n, \bar{X} , SD, SF en G: respektievelijk aantal onderzochte personen, rekenkundig gemiddelde, standaard deviatie, standaard fout van het gemiddelde en geometrisch gemiddelde. De overschrijdingskans p heeft betrekking op het verschil tussen de gemiddelde waarden van het basisch IgG-gehalte in het serum van syfilispatienten en gezonden (enkelzijdig getoetst). log bas IgG: de logaritme van het basisch IgG-gehalte (g/l) in het serum.

	n	\bar{X} log bas IgG	SD log bas IgG	SF log bas IgG	G(g/l)	G \pm 2SD(g/l)	p*
C	25	0.1514	0.1596	0.0316	1.42	0.68 - 2.96	
SI ⁻	6	0.2411	0.2304	0.0938	1.74	0.60 - 5.03	0.15 - 0.20
SI ⁺	3	0.0453	0.2034	0.1174	1.11	0.44 - 2.83	0.15 - 0.20
SI ⁺	6	0.3822	0.2767	0.1126	2.41	0.67 - 8.62	0.025 - 0.05
SII	19	0.5310	0.1634	0.0374	3.40	1.60 - 7.21	<0.0005
SLR	9	0.2069	0.4478	0.1489	1.61	0.20 - 12.66	0.35 - 0.40

Tabel 6.9.

Korrelatie koëfficiënten r (Pearson) voor thymoltroebeling (TT) en IgA-, IgM-, IgG-, respectievelijk basisch IgG-gehalte in het serum van patienten met vroege syfilis.

		r	p
patienten met vroege syfilis (n = 43)	logTT - logIgA	0.2841	0.05 - 0.1
	logTT - logIgM	0.6455	< 0.001
	logTT - logIgG	0.4218	0.001 - 0.01
	logTT - log bas IgG	0.5733	< 0.001

Tabel 6.10.

Thymoltroebeling en totaal lipidengehalte van sera van 8 onbehandelde patienten die leden aan secundaire syfilis.
Normaalwaarden totaal lipiden 5.0 - 8.0 gram/liter.

nr.	gesl.	leeft.	Thymoltroebeling Eenheden Shank-Hoagland	Totaal lipiden gram/liter
0251	M	32	11.0	10.1
0612	M	28	9.1	7.3
0728	M	28	7.8	6.3
1055	V	25	10.9	5.2
3087	V	26	8.3	5.3
3168	V	39	11.6	5.7
4191	V	16	9.5	5.0
4269	V	21	10.2	6.0

HOOFDSTUK 7 Preferente synthese van basisch IgG bij patienten met vroege syfilis

7.1.

Inleiding

Er is bij vroege syfilis sprake van een hyperimmuunglobulinaemie. In Hoofdstuk 4 zijn de veranderingen die tijdens het beloop van vroege syfilis optreden in het IgA-, IgM- en IgG-gehalte in het serum beschreven. Het IgG-gehalte in het serum neemt na besmetting met Treponema pallidum toe tot aan het secundaire stadium; daarna vindt er een daling plaats in het gehalte van dit immuunglobuline (zie figuur 4.3).

Naar aanleiding van de thymoltroebelingstest (Hoofdstuk 5) zijn de veranderingen die optreden in het gehalte aan basisch IgG in het serum van patienten met vroege syfilis bestudeerd (Hoofdstuk 6). Het blijkt dat het gehalte aan basisch IgG in het serum, evenals het gehalte aan IgG (totaal IgG), na besmetting met Treponema pallidum toeneemt tot aan het secundaire stadium van de ziekte en daarna weer afneemt (zie figuur 6.2).

De vraag welke zich nu voordoet is, of de toename in het gehalte aan basisch IgG wordt veroorzaakt door een hyperimmuunglobulinaemie, die wat het IgG betreft diffuus verdeeld is over de totale microheterogeniteit, dan wel wordt veroorzaakt door een synthese van juist meer basisch IgG. Wij zullen trachten in dit hoofdstuk deze vraag te beantwoorden. Hiertoe zullen wij bij gezonde personen en patienten met vroege syfilis de korrelatie tussen het basisch IgG- en IgG-gehalte in serum onderzoeken; verder zal de procentuele toename van het gehalte aan basisch IgG worden vergeleken met de procentuele toename van het gehalte aan IgG; ten slotte zal de invloed van de therapie op de afname van het gehalte aan basisch IgG en IgG in het serum worden bestudeerd. Het IgG-gehalte wordt voor de duidelijkheid in dit hoofdstuk aangeduid als totaal IgG-gehalte.

7.2.

Materiaal en methoden

De relevante gegevens betreffende de bij dit onderzoek betrokken gezonde personen en patienten, alsmede de gebruikte methoden kunnen worden teruggevonden in paragraaf 6.2., respectievelijk de tabellen 6.2 tot en met 6.7.

7.3

Resultaten

De in deze paragraaf gepresenteerde berekeningen werden, behoudens die welke betrekking hebben op het effect van de therapie op het basisch IgG-gehalte, uitgevoerd aan de hand van in paragraaf 6.3. vermelde resultaten.

7.3.1.

De korrelatie tussen het basisch IgG en totaal IgG-gehalte

De korrelatie tussen het basisch IgG en het totaal IgG-gehalte in sera van gezonden en syfilispatienten werd uitgerekend aan de hand van de in de tabellen 6.2 tot en met 6.7 vermelde resultaten van de bepaling van deze twee variabelen.

De korrelatie koëfficiënten staan vermeld in tabel 7.1. Voor gezonden en patienten met secundaire syfilis zijn in de figuren 7.1, respektievelijk 7.2 de 2 variabelen tegen elkaar uitgezet.

Bij de groep patienten met vroege syfilis werd er in tegenstelling tot de groep gezonde personen een statistisch significante positieve korrelatie gevonden tussen het gehalte aan basisch IgG en totaal IgG. De bij patienten in het seronegatief primaire en seropositief primaire stadium van vroege syfilis berekende korrelatie koëfficiënten voor de korrelaties tussen basisch en totaal IgG-gehalte zijn statistisch niet significant.

Bij patienten met secundaire syfilis werd een statistisch significante positieve korrelatie gevonden; bij patienten met vroeg latente syfilis werd een kleinere, maar eveneens statistisch significante korrelatie koëfficiënt gevonden tussen het gehalte aan basisch en totaal IgG.

De verschillen die bestaan tussen de korrelatie koëfficiënten, berekend voor de korrelatie tussen het gehalte aan basisch IgG en het gehalte aan totaal IgG in het serum van gezonden en syfilispatienten suggereren, dat door de besmetting met Treponema pallidum een verandering optreedt in de kwantitatieve relatie tussen het basisch IgG en het totaal IgG-gehalte.

7.3.2.

De procentuele toename in het gehalte aan basisch en totaal IgG

Aan de hand van gegevens uit tabel 6.2 werden de gemiddelde waarden (geometrisch gemiddelde) van het gehalte aan totaal IgG en aan basisch IgG in het serum van de 25 controlepersonen uitgerekend. Het resultaat staat in de volgende tabel:

	<u>geom.gem.</u>
IgG	10.24 g/l
basisch IgG	1.42 g/l

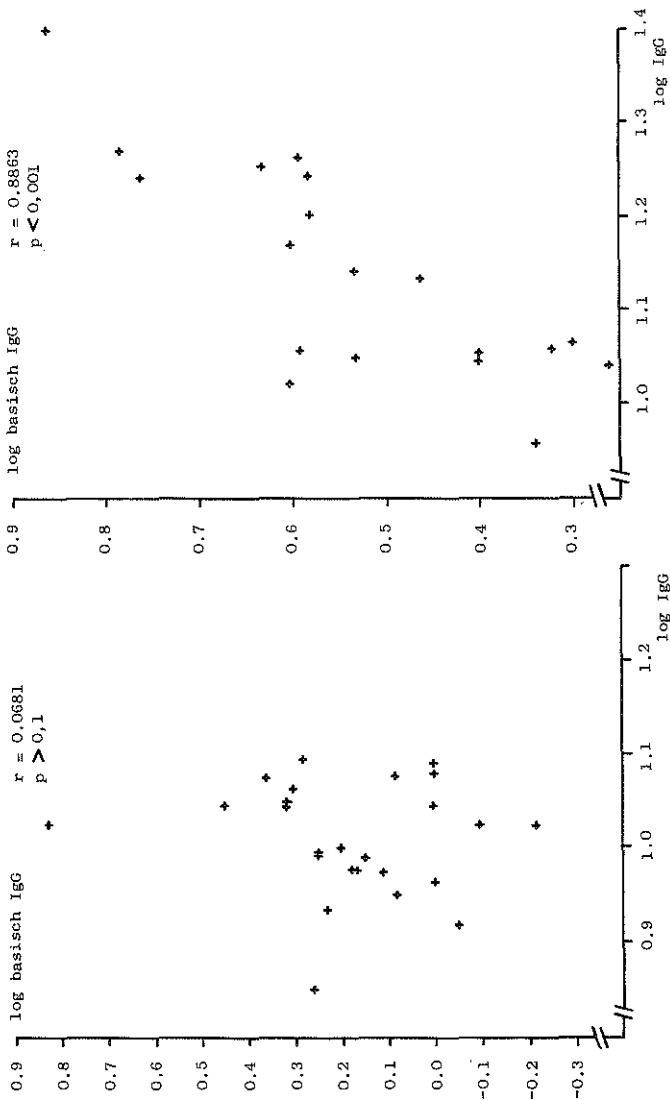


Fig. 7.1 : De logarithme van het gehalte aan basisch IgG uitgezet tegen de logarithme van het gehalte aan IgG in het serum van gezonde personen.
 Fig. 7.2 : De logarithme van het gehalte aan basisch IgG uitgezet tegen de logarithme van het gehalte aan IgG in het serum van patienten met secundaire syfills.

Het gehalte aan totaal IgG en basisch IgG van de 43 patienten met vroege syfilis (zie tabellen 6.3 tot en met 6.7) werd uitgedrukt als percentage van het geometrisch gemiddelde van de respektievelijke bepalingen van de controlepersonen. Er is gebruik gemaakt van de procentuele schaal om een vergelijking tussen het gehalte aan totaal IgG en dat aan basisch IgG, telkens bij de individuele patient, mogelijk te maken. Deze methode werd gebruikt, daar een direkte vergelijking tussen de waarden van totaal IgG en basisch IgG, die door middel van verschillende methoden verkregen zijn, niet toelaatbaar is. In figuur 7.3 is het op deze wijze berekende percentage totaal IgG uitgezet tegen het percentage basisch IgG van de patienten.

Indien bij syfilispatienten de procentuele toename van het totaal IgG-gehalte gelijk zou zijn aan de procentuele toename van het basisch IgG-gehalte, dan zou men verwachten, dat een door de uitgezette punten getrokken lijn een helling van 45° vertoont. (De lijn $y = x$ in figuur 7.3). De aan de hand van onze resultaten uitgezette punten blijken evenwel niet op of rond deze lijn te liggen. De berekening van de regressielijnen (methode van de som van de kleinste kwadraten), leverde voor de regressie van x (totaal IgG) op y (basisch IgG) de formule $x = 47.1 + 0.48 y$ op en voor de regressie van y op x de formule $y = -402 + 4.3 x$. De hoek die de regressielijn van x op y met de y -as maakt is 15° ; de hoek die de regressielijn van y op x met de x -as maakt is 77° . Uit de hellingen van de regressielijnen kan worden gekonkludeerd, dat de procentuele toename van het basisch IgG-gehalte in sera van syfilispatienten sterker is dan de procentuele toename van het totaal IgG-gehalte.

7.3.3.

Het effect van antitreponemale therapie op het basisch IgG-gehalte

Het effect van de therapie op het gehalte aan basisch IgG in het serum van syfilispatienten werd nagegaan bij 10 patienten met secundaire syfilis. In tabel 7.2 is het gehalte aan basisch IgG en totaal IgG in het serum van deze 10 patienten vóór en na de eerste penicillinekuur weergegeven. In tabel 7.3 staan gemiddelde waarden, standaard deviaties en standaardfouten van het gemiddelde van het gehalte aan basisch IgG in het serum van de 10 patienten vóór en na de penicillinekuur vermeld. Er werd geen statistisch significant verschil gevonden tussen de gemiddelde waarden van het gehalte aan basisch IgG in sera van de patienten met secundaire syfilis na de eerste penicillinekuur en het basisch IgG-gehalte in sera van gezonden.

In figuur 7.4 is het effect van de therapie op de verhouding van de percentages basisch IgG en totaal IgG grafisch weergegeven. Van iedere patient

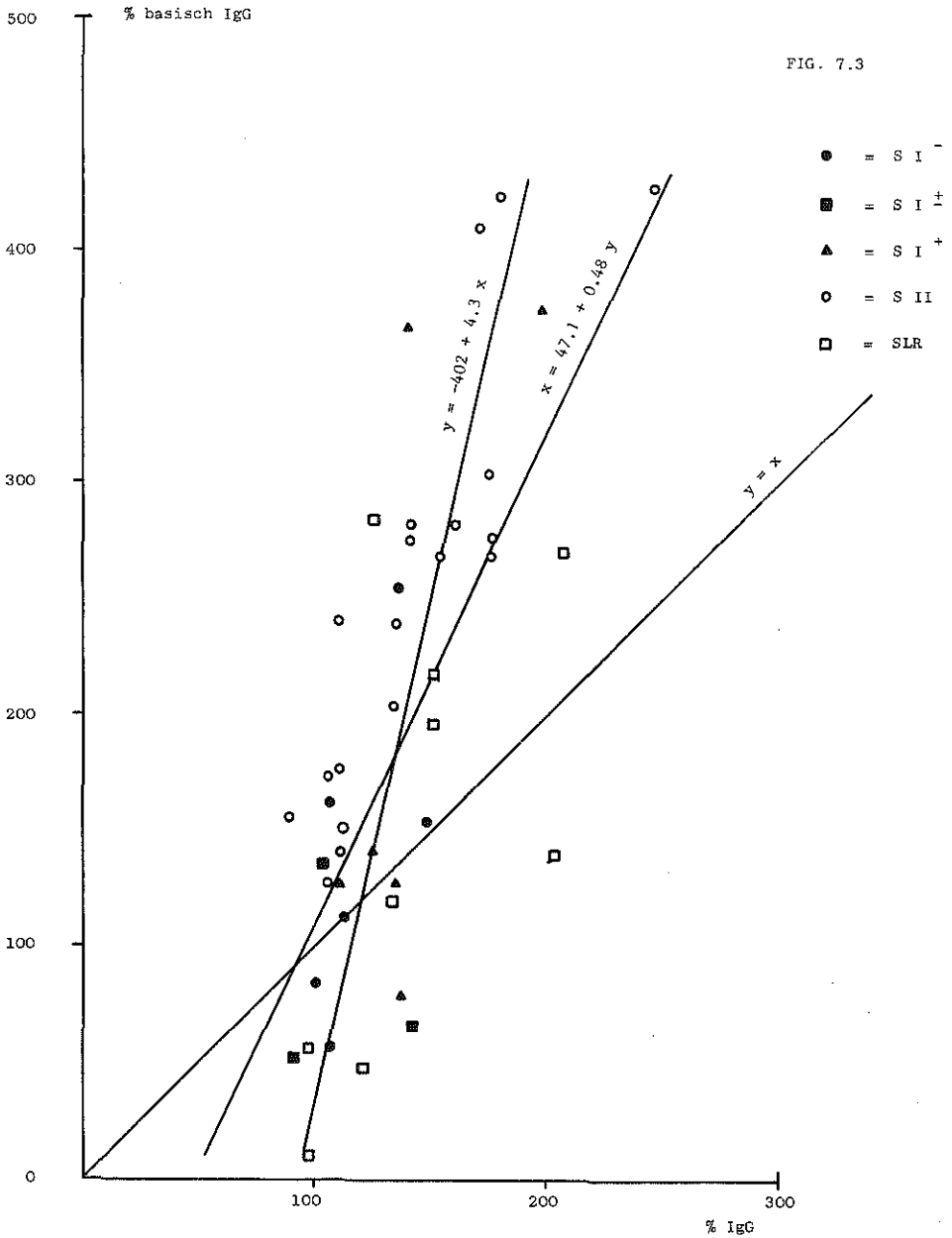


Fig. 7.3 : Het gehalte aan basisch IgG uitgezet tegen het gehalte aan IgG in het serum van patienten met vroege syfilis. Basisch IgG en IgG zijn uitgedrukt als de percentages van de resp. geometrische gemiddelden van de kontrôlepersonen.

is vóór en na de therapie het percentage basisch IgG uitgezet tegen het percentage totaal IgG. Uit de getrokken lijnen kan het effect van de therapie op het percentage basisch IgG en het percentage totaal IgG worden afgelezen.

Aangezien er gebruik is gemaakt van procentuele waarden geven de hellingen van de lijnen geen inzicht in het verband tussen de absolute veranderingen in het gehalte aan totaal IgG en basisch IgG, na antitreponemale therapie. Om het verkrijgen van een inzicht in laatstgenoemd verband mogelijk te maken, is de helling van een aantal hypothetische lijnen berekend, uit veronderstelde absolute veranderingen in het gehalte aan basisch en totaal IgG. Uit deze lijnen werd de lijn met de helling, die het best past bij die van de getrokken lijn, gekozen. De gestippelde lijn uit figuur 7.4 is berekend uit een 2 x zo grote afname in absolute waarde (g/l) van het gehalte aan totaal IgG als aan basisch IgG in het serum. Uit de vrijwel gelijke hellingen van de getrokken lijnen en de gestippelde lijn kan worden gekonkludeerd, dat bij behandeling van patienten met vroege syfilis de afname in het gehalte aan basisch IgG voor ongeveer 50% verantwoordelijk is voor de afname in het gehalte aan totaal IgG in het serum.

7.4.

Diskussie

In Hoofdstuk 6 is reeds beschreven, dat met de toename van het IgG in absolute zin (g/l) ook het basisch IgG (g/l) toeneemt. Uit de ligging van de in figuur 7.3 uitgezette punten blijkt, dat naarmate het totaal IgG-gehalte tijdens de progressie van vroege syfilis groter wordt, het relatieve aandeel van het basisch IgG aan het totaal IgG-gehalte toeneemt. Hieruit kan worden gekonkludeerd, dat er ten gevolge van besmetting met Treponema pallidum in het bijzonder een sterke synthese plaatsvindt van IgG-molekulen in het meest basisch deel van de totale microheterogeniteit van het IgG.

Wat betreft de invloed van de therapie (zie tabel 7.2 en figuur 7.4) blijkt, dat de procentuele afname van het basisch IgG-gehalte veel groter is dan de procentuele afname van het totaal IgG-gehalte. Uit de figuur kan worden afgeleid, dat de afname van het gehalte aan basisch IgG in het serum van de patienten voor ongeveer 50% verantwoordelijk is voor de vermindering van het totaal IgG-gehalte. Hierbij moet worden bedacht, dat bij de controlepersonen het basisch IgG bij benadering slechts 15% van het totaal IgG uitmaakt. In dit kleine deel van het totaal IgG vindt dus een groot gedeelte van de afname in gehalte aan totaal IgG als gevolg van de therapie plaats.

De resultaten van de korrelatieberekeningen, de vergelijking van totaal en basisch IgG-gehalte op procentuele schaal en de invloed van de therapie op

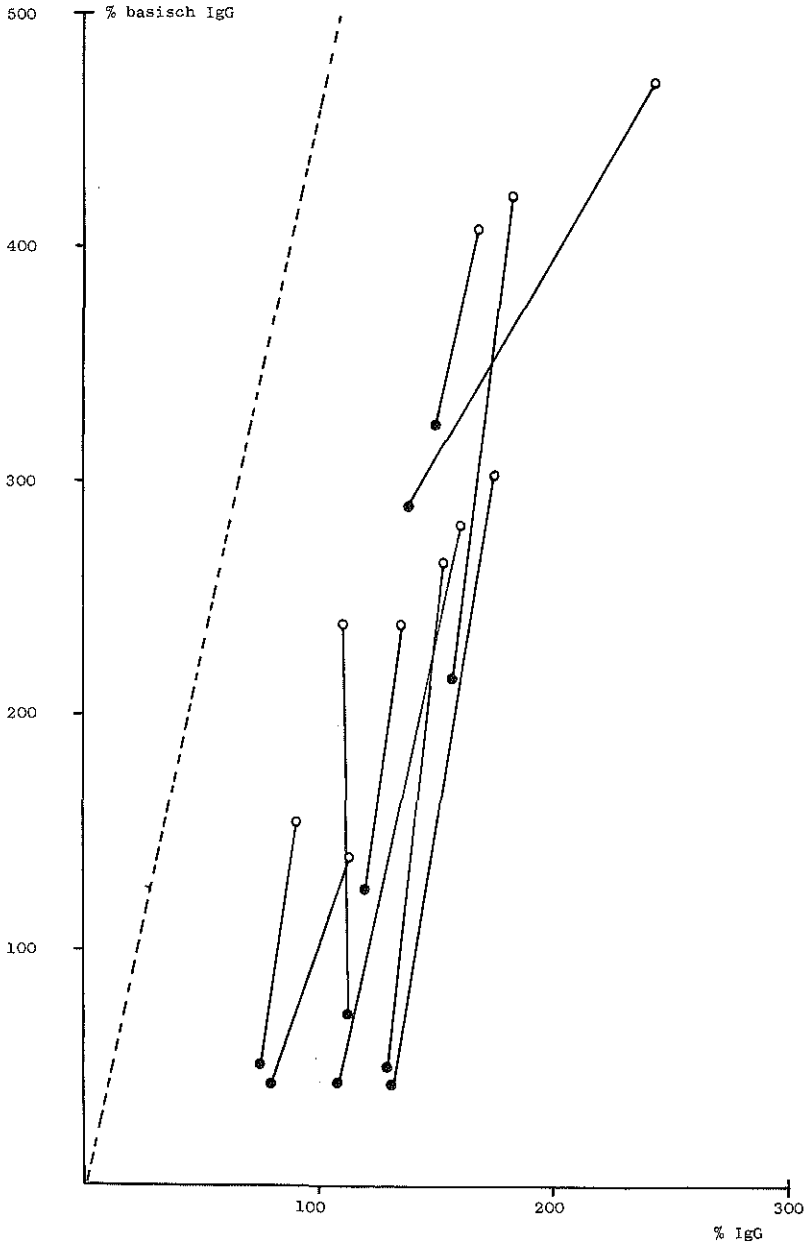


Fig. 7.4 : Het effect van penicilline therapie op basisch IgG en IgG gehalte van patienten met secundaire syfilis.

○ = waarde voor de aanvang van de therapie

● = waarde na 6 weken penicilline

Basisch IgG en IgG gehalte zijn uitgedrukt als de percentages van de resp. geometrische gemiddelden van de kontrôle personen.

totaal en basisch IgG-gehalte, wijzen op een relatief sterkere toename van het basisch- dan van het totaal IgG-gehalte na besmetting met Treponema pallidum. De gekonstateerde toename in het gehalte aan totaal IgG (Hoofdstuk 4) blijkt bij patiënten met vroege syfilis asymmetrisch verdeeld te zijn over de totale microheterogeniteit van dit immuunglobuline.

In paragraaf 6.3. is gewezen op het afwezig zijn van een significant verschil tussen de korrelatie koëfficiënten voor basisch IgG en thymoltroebeling en die voor totaal IgG en thymoltroebeling. Dit is vermoedelijk te wijten aan het grote deel, dat de toename van het basisch IgG uitmaakt van de toename van het totaal IgG-gehalte.

De veranderingen die optreden in zowel het gehalte aan totaal IgG als aan basisch IgG in het serum tijdens het natuurlijke beloop van vroege syfilis (figuur 4.3 en 6.2) vertonen dezelfde tendens als de veranderingen, die naar algemeen wordt aangenomen (zie paragraaf 1.1.7.), optreden in het aantal treponemata pallida in het lichaam van de patiënten. Wij veronderstellen daarom, dat het basisch IgG voor een belangrijk deel bestaat uit antilichamen, die zijn opgewekt ten gevolge van de infectie met Treponema pallidum. Deze veronderstelling wordt gesteund door de scherpe daling in het gehalte aan basisch IgG na behandeling met penicilline. De specificiteit van de in het basisch IgG aanwezige antilichamen vergt nader onderzoek.

In Hoofdstuk 4 noemden wij ter verklaring van de hyperimmuunglobulinaemie bij patiënten met vroege syfilis de stimulatie van het immuunapparaat door verschillende uit Treponema pallidum afkomstige antigenen en het effect van een B-cel mitogeen.

De voorkeur voor synthese van basische IgG molekulen na besmetting met Treponema pallidum, zou kunnen samenhangen met de bevinding, dat er een omgekeerde relatie bestaat tussen de netto elektrische lading van antigenen en die van antilichamen welke tegen deze antigenen zijn gericht. (Sela en Mozes, 1966; Robbins et al., 1967; Benacerraf et al., 1969; Underdown en Goodfriend, 1970). Deze relatie, die ook bij de mens werd gevonden, is aangetoond voor antilichamen van de IgM- en IgG-klasse.

Treponema pallidum beweegt zich in een elektrisch veld in de richting van de anode en heeft derhalve een negatieve oppervlakte lading (Schmale et al., 1970; Kellog, 1973). Uit de bewegingsrichting van het Reiter-eiwit tijdens de counterimmuuelektroforese (Bänffer, 1972) kan worden gekonkludeerd, dat dit antigeen onder fysiologische omstandigheden een negatieve netto lading heeft. Met betrekking tot de netto elektrische lading van andere - slecht gedefiniëerde - treponemale antigenen, is ons niets bekend.

Karnieli et al. (1973) toonden aan, dat bij muizen de antilichaamresponse op positief geladen antigenen partieel geblokkeerd werd door verwijdering van relatief negatief geladen thymocyten. Het is mogelijk dat de basische IgG response van syfilispatienten op soortgelijke wijze samenhangt met een stoornis op cellulair niveau. Het verdient daarom aanbeveling na te gaan in welke mate de lymfocyten van syfilispatienten in staat zijn om te reageren met antilichaam synthese op treponemale en niet treponemale antigenen van verschillende lading.

Samenvatting

De waarneming dat er bij 43 patienten met vroege syfilis in tegenstelling tot 25 gezonden een positieve korrelatie wordt gevonden tussen het gehalte aan basisch en totaal IgG in het serum suggereert, dat de kwantitatieve relatie tussen basische en totaal IgG na besmetting met Treponema pallidum verandert.

De procentuele toename van het gehalte aan basisch IgG is groter dan de procentuele toename van het gehalte aan totaal IgG. Penicillinetherapie veroorzaakt een relatief sterkere afname in het basisch IgG-gehalte dan in het totaal IgG-gehalte.

Uit deze waarnemingen kan worden gekonkludeerd, dat er bij vroege syfilis sprake is van een preferente synthese van basisch IgG. Mogelijke oorzaken hiervan worden besproken.

Tabel 7.1.

Korrelatie koëfficiënten r (Pearson) voor het gehalte aan basisch en totaal IgG in het serum van gezonden (C) en patienten met vroege syfilis (S).

	n	r	p
C	25	0.0681	0.1
Vroege S	43	0.6480	0.001
SI ⁻	6	0.6366	0.1
SI ⁻	3	-	-
SI ⁺	6	0.6388	0.1
SII	19	0.8863	0.001
SLR	9	0.6946	0.01 - 0.05

Tabel 7.2.

Gehalte aan totaal en basisch IgG in het serum van 10 patienten met secundaire syfilis vóór en na de 1e penicillinekuur, uitgedrukt in g/l en tevens als percentage van de respectievelijke gemiddelde waarden van de controlegroep.

patient	gesl.	leeft.	onbehandeld				behandeld (6 weken penicilline)			
			IgG		basisch IgG		IgG		basisch IgG	
			g/l	%	g/l	%	g/l	%	g/l	%
0612	M	28	11.60	11.2	2.00	141.1	8.20	80.0	0.60	42.3
0728	M	28	9.15	89.3	2.20	155.2	8.07	78.8	0.70	49.4
1055	V	25	18.10	176.7	4.30	303.4	13.35	130.3	0.60	042.3
2701	M	24	16.15	157.6	3.80	268.2	13.45	131.3	0.70	49.4
3087	V	26	14.00	136.6	3.40	239.9	12.20	119.1	1.80	127.0
3243	V	32	25.00	244.0	6.70	472.8	14.40	140.6	4.10	289.3
4269	V	21	11.20	109.3	3.40	239.3	11.85	115.7	1.00	070.6
4769	M	34	18.70	182.5	6.00	423.4	16.25	158.6	3.00	211.7
5227	M	23	16.70	163.0	4.00	282.3	11.35	110.8	0.60	42.3
7849	V	20	17.40	169.8	5.80	409.3	15.30	149.3	4.60	324.6

Tabel 7.3. Effekt van penicillinetherapie op het basisch IgG-gehalte in het serum van patienten met secundaire syfilis.

n, \bar{X} , SD, SF en G: respektievelijk aantal patienten, rekenkundig gemiddelde, standaard deviatie, standaard fout van het gemiddelde en geometrisch gemiddelde.

log bas IgG: de logaritme van het gehalte aan basisch IgG (g/l) in het serum.

* enkelzijdig getoetst; ** dubbelzijdig getoetst.

B₁ = begin te penicillinekuur; E₁ = eind te penicillinekuur

	n	\bar{X} log bas IgG	SD log bas IgG	SF log bas IgG	G(g/l)	G + 2SD(g/l)	p
C	25	0.1514	0.1596	0.0316	1.42	0.68 - 2.96	-
SII B ₁	10	0.5889	0.1746	0.0547	3.88	1.74 - 8.67	<0.0005*
SII E ₁	10	0.1032	0.3644	0.1148	1.27	0.24 - 6.79	0.60 - 0.70**

8.1.

Inleiding

Door de waarneming dat de thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis vaak verhoogd uitvalt (Hoofdstuk 5), raakten wij geïnteresseerd in het probleem van de invloed van een Treponema pallidum-infectie op de lever van deze patienten.

Volgens de Graciansky en Hardouin (1953), die een literatuuroverzicht geven van onderzoeken betreffende de lever van onbehandelde patienten met vroege syfilis en tevens het resultaat van eigen onderzoek vermelden, worden er bij deze patienten vaak afwijkingen van de normaalwaarden in het resultaat van de uitgevoerde testen gevonden. Deze konklusie is evenwel gebaseerd op onderzoeksmethoden die thans voor het grootste deel in ongebruik zijn geraakt. Er zijn sedert het artikel van de Graciansky en Hardouin (1953) weinig systematische onderzoeken gepubliceerd, inzake het resultaat van levertesten bij patienten met onbehandelde vroege syfilis.

Spirov et al. (1966) vonden bij onderzoek van 27 patienten met primaire en 20 met secundaire syfilis een lichte verhoging van het SGOT- en het SGPT-gehalte in 21, respectievelijk 13 van de onderzochte patienten. Na behandeling met penicilline verdwenen deze afwijkingen binnen enkele weken en de auteurs zijn van mening, dat de gevonden afwijkingen een gevolg zijn van beschadiging van het leverparenchym door de Treponema pallidum-infectie.

Tio et al. (1971) vonden echter bij onderzoek van 44 patienten met vroege syfilis geen significant verschil tussen patienten en controlegroep, wat betreft het serumgehalte aan transaminasen en alkalische fosfatase.

Van Aerssen (1974) vond bij de 4 door hem beschreven patienten met vroege syfilis in 2 gevallen een verhoging van het alkalische fosfatase-gehalte en SGOT-gehalte en in 3 gevallen een verhoging van het SGPT-gehalte en de thymoltroebeling.

Een klinisch manifeste syfilitische hepatitis komt uiterst zelden voor. Volgens Hahn (1943) zijn de criteria voor het stellen van deze diagnose: het tegelijk aanwezig zijn van geelzucht en infectieuze huid- en slijmvlieslesies van onbehandelde vroege syfilis, een goedaardig beloop en een snelle verbetering na behandeling van de syfilis.

Gebruikmakend van deze criteria vond deze auteur bij een retrospectief onderzoek in het "JohnsHopkins Hospital" onder ongeveer 10.000 patienten die leden aan vroege syfilis slechts 5 gevallen van een klinisch manifeste syfilitische hepatitis.

Er zijn recent verschillende casuïstische mededelingen betreffende patienten met een klinisch manifeste syfilitische hepatitis gepubliceerd (Zellmann et al., 1967; Baker et al., 1971; Lee et al., 1971; Le Clair, 1971; Sobel et al., 1972; Parker, 1972; Sarkany, 1973; Young et al., 1974).

Bij deze aandoening wordt vergeleken met de stijging van het transaminasegehalte vaak een sterke stijging van de alkalische fosfatase-activiteit in het serum gevonden (Lee et al., 1971; Baker et al., 1971; Sobel et al., 1972).

Met betrekking tot de histologische kenmerken van de hepatitis wordt er melding gemaakt van het voorkomen van een periportaal infiltraat, bestaande uit lymfocyten, histiocyten en leucocyten (Baker et al., 1971; Lee et al., 1971) en van necrosehaarden in het leverparenchym (Baker et al., 1971; Sobel et al., 1972; Young et al., 1974). Baker et al. (1971) en Lee et al. (1971) vonden in tegenstelling tot Parker (1972), Sarkany (1973) en Young et al. (1974) geen histologische tekenen van cholestase.

In het "Salvarsan tijdperk" kwam bij patienten met vroege syfilis vaak een virus hepatitis voor. De algemene opvatting was, dat de patienten deze besmetting opliepen doordat zich in de onvoldoende gesteriliseerde injectiespuit waarmee het geneesmiddel werd toegediend het serum hepatitis virus bevond (Salamon et al., 1944).

Door de ontdekking van het hepatitis B (HB)- of Australië-antigeen (Blumberg, et al., 1965; Blumberg et al., 1969), kunnen patienten die lijden aan een HB_sAg positieve hepatitis en asymptomatische dragers van het antigeen thans veel gemakkelijker dan vroeger het geval was worden opgespoord.

Tegenwoordig wordt aangenomen dat besmetting met het HB_sAg niet alleen parenteraal geschiedt. Krugman et al. (1967) en Giles et al. (1969) wezen op de mogelijkheid van orale transmissie van het antigeen, terwijl Almeida et al. (1971) de mogelijkheid van een druppel-infectie opperden.

Daarnaast wordt verondersteld dat het antigeen ook bij geslachtsverkeer kan worden overgedragen (Hersh et al., 1972; Fulford et al., 1973; Heathcote et al., 1973; Henigst, 1973; Jeffries et al., 1973; Morton en Harris, 1974).

In een kommentaar op 2 publikaties betreffende syfilitische hepatitis wijst Sherlock (1971) op de problematiek die het stellen van deze diagnose met zich meebrengt. Zij wijst erop dat een hepatitis bij patienten met vroege syfilis meestal veroorzaakt wordt door een hepatitis veroorzakend virus en dat er onduidelijkheid bestaat met betrekking tot de invloed van een recente Treponema pallidum-infectie zelf op de lever. Sherlock is van mening, dat leverfunctie en -structuur van een groot aantal patienten met vroege syfilis onderzocht moeten worden om te weten te komen in welke mate er sprake is van leveraantasting bij

deze patienten.

Wij besloten om, gezien de gesignaleerde onduidelijkheid met betrekking tot de lever bij patienten met vroege syfilis bij een aantal patienten met secundaire syfilis een aantal leverproeven te verrichten.

8.2.

Materiaal en methoden

8.2.1.

Patienten

Er waren 18 patienten met secundaire syfilis (zie voor diagnostische criteria paragraaf 3.1.), die op elkaar volgend de geslachtsziekten polikliniek van de afdeling Dermatologie (Academisch Ziekenhuis Rotterdam) bezochten, bij het onderzoek betrokken. De patienten, waaronder zich 4 vrouwen bevonden, varieerden in leeftijd van 16 tot 37 jaar met een gemiddelde van 25 jaar. Bij alle patienten vond behalve een algemeen lichamenlijk onderzoek tevens bloed- en urine-onderzoek plaats.

8.2.2.

Laboratoriumonderzoek

Bloedonderzoek

1. Albumine-gehalte (Rodkey, 1965)
2. Glutamaat oxaal-acetaat transaminase gehalte (GOT) (Karmen, 1957)
3. Glutamaat pyruvaat transaminase gehalte (GPT) (Karmen, 1957)
4. Choline-esterase gehalte (Kark, 1951)
5. Alkalische fosfatase gehalte (Neumann en van Vreedendaal, 1967),
6. Totaal bilirubine gehalte en het 1 min. percentage (Wootton, 1964)
7. Broomsulphtaleïne (BSP) retentietest (Wootton, 1964)
8. Thymoltroebelingsstest (zie paragraaf 5.2.3)
9. Hepatitis B antigeen of antilichaam (dubbele diffusie techniek Ouchterlony 1958 en Counterimmuno-elektroforese techniek, Cocke en Howe, 1970).

Met uitzondering van de BSP-retentietest, die bij 9 van de 18 patienten werd uitgevoerd, werden bovenstaande bepalingen bij alle 18 patienten verricht.

De bepalingen 1 t/m 7 vonden plaats in het klinisch chemisch laboratorium van het ziekenhuis Antoniushove te Leidschendam (Hoofd Dr.H.Neumann). Bepaling 8 vond plaats in het research laboratorium van de afdeling Derma-

tologie.

Bepaling 9 vond plaats op de afdeling serologie van het streeklaboratorium voor de Volksgezondheid te Rotterdam (Dr. J. R. J. Bänffer). De normaalwaarden van de verschillende bepalingen zijn aangegeven in tabel 8.1 en zijn afkomstig uit de laboratoria waar de bepalingen plaatsvonden.

Er werd een routine-onderzoek verricht naar het voorkomen van urobiline en albumine (urobilistix, respektievelijk albustix Firma Ames) in de urine.

8.3.

Resultaten

8.3.1.

Patienten bij wie geen hepatitis B-antigeen of antilichaam werd aangetoond

Bij 17 patienten viel de bepaling van het hepatitis B-antigeen en -antilichaam negatief uit (zie tabel 8.1). Deze patienten vertoonden bij het algemeen lichamelijk onderzoek behalve de voor secundaire syfilis typische bevindingen aan huid, slijmvliezen en lymfklieren geen afwijkingen.

Het GPT-gehalte in het serum was bij alle 17 patienten normaal; bij 1 patient (4650) werd een geringe verhoging van het GOT-gehalte gevonden. Deze resultaten wijzen op afwezigheid van verhoogd celverval van leverepitheel bij 16 van de 17 onderzochte patienten.

Het alkalische fosfatasegehalte dat verhoogd kan uitvallen bij intra- of ekstra-hepatische obstructie, was in alle gevallen normaal.

Het totaal bilirubine-gehalte in het serum viel in 14 gevallen normaal uit, terwijl er in drie gevallen (0554, 1909 en 4269) sprake was van een zeer geringe verhoging. In deze 3 gevallen was het serumgehalte aan gekonjugeerde bilirubine (1 minuut percentage) normaal. Hieruit kan worden gekonkludeerd, dat de minimale verhoging bij deze 3 patienten het gevolg is van een verhoging van het vrije bilirubine.

De BSP retentietest die bij 8 van de 17 patienten werd verricht viel in 7 gevallen normaal uit. In één geval (3087) was de test licht afwijkend, hetgeen kan wijzen op een stoornis in de opname- of exkretoire-functie van de lever.

Het albumine-gehalte in het serum viel bij 16 patienten normaal uit, terwijl in 1 geval (6978) een geringe verlaging van het serumgehalte van dit eiwit werd gevonden.

Het serum choline-esterase-gehalte, dat evenals het serum albumine-gehalte beschouwd kan worden als een indikator van de eiwitsynthese in de lever, was bij 13 patienten normaal en bij 4 (2701, 3407, 4269 en 4769) verlaagd.

Het urine-onderzoek op albumine viel bij alle patienten negatief uit. Het resultaat van het onderzoek op urobiline was evenals in alle gevallen normaal.

Bij 3 van de patienten die bij het leveronderzoek afwijkingen vertoonden (3087, 4269 en 6978) kon dit onderzoek na 6 weken penicillinetherapie worden herhaald. In alle gevallen was het resultaat van de tweede bepaling normaal. De testen die bij het eerste onderzoek normaal uitvielen waren ook bij het tweede onderzoek niet afwijkend.

8.3.2.

Patient met hepatitis B-antigeen in het serum

Bij patient 3279 werd bij het lichamelijk onderzoek behalve de voor secundaire syfilis typische afwijkingen een vergrote lever gevonden, die pijnlijk was bij palpatie. In het serum van deze patient kon hepatitis B-antigeen worden aangetoond en het serumgehalte aan transaminasen, 1 minuut percentage en totaal bilirubinegehalte bleken duidelijk verhoogd te zijn. De BSP retentietest was gestoord (zie tabel 8.1). Urine-onderzoek op urobiline was sterk positief. Enkele dagen na het begin van de antitreponemale behandeling werd de patient icterisch. Het bleek dat de verbetering van de hepatitis achter liep op de genezing van de secundaire syfilis. Bij deze patient werd naast de diagnose secundaire syfilis tevens de diagnose virus hepatitis B gesteld. Zes maanden later vielen de bepaling van HBAG negatief en HB antilichaam positief uit. Weer 6 maanden later viel de bepaling van zowel antigeen als antilichaam negatief uit.

8.4.

Diskussie

Van de 17 patienten bij wie geen hepatitis B-antigeen of -antilichaam in het serum kon worden aangetoond vertoonden 8 geen afwijkingen, terwijl er in 9 gevallen solitaire afwijkingen van lichte aard in de levertesten werden gevonden. Het feit dat de afwijkingen verdwenen na antitreponemale therapie suggereert, dat zij samenhangen met de Treponema pallidum-infectie.

Het is de vraag of er aan de gevonden afwijkingen in de uitgevoerde testen pathologische betekenis toegekend moet worden. De meest voorkomende afwijkingen waren de lichte verhoging van het bilirubinegehalte in het serum van 3 patienten en de verlaging van de choline-esterase-aktiviteit in het serum van 4 patienten.

De lichte verhoging van het serumgehalte aan vrije bilirubine in het

serum suggereert een verhoogde afbraak van erythrocyten. De 3 patienten vertoonden een normaal haemoglobinegehalte en een licht verhoogd haptoglobinegehalte. Er kan worden opgemerkt dat bij syfilispatienten het voorkomen van auto-antilichamen gericht tegen erythrocyten is beschreven (paragraaf 1.3.2.3.2.). Het is mogelijk dat er een verband bestaat tussen deze antilichamen en de gevonden geringe verhoging van het bilirubinegehalte. Het is echter niet uitgesloten dat de patienten leden aan de ziekte van Gilbert (Krupp en Chatton, 1974).

De verlaging van de serum choline-esterase-aktiviteit van 4 patienten, alsmede de geringe verlaging van het albuminegehalte in het serum van één patient, suggereren dat er een verminderde eiwitsynthese van de lever van de betreffende patienten bestond.

Het verrichten van een leverbiopsie werd, gezien de geringe afwijkingen van de normaalwaarden in de uitgevoerde testen, op ethische gronden niet verantwoord geacht. De Graciansky en Hardouin (1953), die bij 10 patienten met primaire of secundaire syfilis histologisch onderzoek van de lever deden, vonden in het bijzonder bij patienten met secundaire syfilis geringe morfologische afwijkingen in de zin van een gering peri-portaal lymfocytair infiltraat en een geringe steatose.

De Graciansky en Hardouin (1953) vermeldden niet of er treponemen in de lever van de door hen onderzochte patienten konden worden aangetoond. Van de in paragraaf 8.1. genoemde auteurs die sedert 1967 casuïstische mededelingen betreffende patienten met een syfilitische hepatitis hebben beschreven, lukte het alleen aan Lee et al. (1971) om treponemen in de lever aan te tonen. Dit suggereert dat de zeldzame syfilitische hepatitis niet een gevolg is van aanwezigheid van grote aantallen treponemen in de lever, maar eerder van een reactie van leverweefsel op treponemale produkten. De waarneming dat een bestaande syfilitische hepatitis tijdens een Jarisch-Herxheimer reactie (zie paragraaf 1.3.1.2.) tijdelijk verergerde (Young et al., 1974) geeft steun aan deze opvatting. Ook de licht afwijkende waarden in de levertesten en de histologische veranderingen die soms bij patienten met vroege syfilis gevonden kunnen worden, zouden een gevolg kunnen zijn van een reactie van de lever op treponemale produkten.

Naar aanleiding van de in onze serie van 18 patienten voorkomende patient met HBAG positieve hepatitis werd door ons een retrospectief onderzoek verricht, waarbij bleek, dat er op de polikliniek voor geslachtsziekten van de afdeling Dermatologie (Academisch Ziekenhuis Rotterdam) in de jaren 1971, 1972 en 1973 bij 3 patienten die leden aan vroege syfilis een klinisch manifeste hepatitis werd vastgesteld. In al deze gevallen werd hepatitis B-antigeen in het serum aangetoond. In genoemde periode werd op de genoemde polikliniek bij

250 patienten de diagnose vroege syfilis gesteld.

Het voorkomen van HBAG positieve hepatitis bij syfilispatienten staat zeer waarschijnlijk in verband met de hoge frekwentie van HBAG in het serum van bezoekers van de polikliniek voor geslachtsziekten van de afdeling Dermatologie (Academisch Ziekenhuis Rotterdam). Bänffer (1974) onderzocht sera van 1920 personen die deze polikliniek bezochten. Hij vond het hepatitis B-antigeen in 2.08% en het antilichaam in 3.54% van de onderzochte sera. Bij ongeveer 22.000 donoren van de bloedtransfusiedienst Rotterdam werd het antigeen slechts in 0.044% van de gevallen gevonden. Het antigeen werd dus bijna 50 x zo vaak gevonden in het serum van patienten die de genoemde polikliniek bezochten als bij donoren.

Konkluderend kan worden opgemerkt, dat er met behulp van de gebruikte methoden van onderzoek, behoudens solitaire afwijkingen van lichte aard in een aantal gevallen, geen afwijkingen in het resultaat van de levertesten bij de patienten met secundaire syfilis kon worden vastgesteld.

Onze bevindingen geven tevens steun aan de opvatting, dat besmetting met het hepatitis B virus een veel belangrijker oorzaak is voor het ontstaan van een hepatitis bij patienten met vroege syfilis dan Treponema pallidum zelf.

Samenvatting

Bij onderzoek van 18 patienten met secundaire syfilis werd bij één patient, die een klinisch manifeste hepatitis vertoonde, HBAG in het serum aangetoond.

Bij de overige 17 patienten werden in 8 gevallen geen, en in de overige 9 gevallen geringe, solitaire afwijkingen in de uitgevoerde testen gevonden. Drie patienten vertoonden een geringe verhoging van het vrije bilirubine-gehalte. De verlaging van de choline-esterase-aktiviteit in 4 gevallen kan een aanwijzing zijn voor het bestaan van een verminderd eiwitsynthese.

Mogelijk zijn de geringe afwijkingen in het resultaat van de levertesten, die soms bij patienten met vroege syfilis worden gevonden, uiting van een reactie van de lever op de beschadiging door treponemale produkten.

Tabel 8.1. Resultaten van leverfunctieonderzoek bij 18 patienten met secundaire syfilis.

Opm. Normaalwaarden Alk.Fosf. staan in addendum tabel 8.1.

Patient	Gesl.	Leeft.	HBAg	HB Al	Album. g/l	SGOT I.E.	SGPT I.E.	Chol.est. Δ pH	Alk.fosf. E	Totaal Bilir. mg/100 ml	Bilir. 1 min.% na 45	BSP % min.	TT eenhe- den
0251	M	32	neg.	neg.	45	9	6	0.85	36	0.8	< 20	1	11.0
0554	V	23	neg.	neg.	46	10	9	0.90	24	1.1	< 20		9.1
0589	M	20	neg.	neg.	42.5	11	10	0.90	32	0.6	< 20		8.9
0621	M	28	neg.	neg.	40	10	4	0.88	40	0.6	< 20		9.1
0728	M	28	neg.	neg.	50	13	11	0.85	27	0.63	< 20	5	7.8
1117	M	29	neg.	neg.	48	12	9	0.92	29	0.9	< 20	1	3.8
1909	M	22	neg.	neg.	52	18	12	0.81	40	1.4	< 20		3.4
2473	M	37	neg.	neg.	44.5	10	4	1.0	41	0.7	< 20		4.6
2701	M	25	neg.	neg.	41	12	9	0.56	34	0.45	< 20	2	9.3
3087	V	27	neg.	neg.	48	9	9	1.19	40	0.5	< 20	9	8.3
3279	M	25	pos.	neg.	41	260	250	1.15	44	6.6	< 77	28	11.1
3407	M	37	neg.	neg.	40	11	10	0.58	52	0.6	< 20		5.7
4091	M	18	neg.	neg.	48	13	7	0.92	68	0.5	< 20	0	13.0
4191	V	16	neg.	neg.	42	8	8	0.93	30	0.4	< 20		9.5
4269	V	21	neg.	neg.	44	10	7	0.68	27	1.5	< 20		10.2
4650	M	26	neg.	neg.	43	19	12	0.93	38	0.7	< 20	3	7.4
4769	M	34	neg.	neg.	45	12	6	0.39	32	0.66	< 20		8.2
6978	M	27	neg.	neg.	37	9	10	0.90	26	0.5	< 20	0	13.0
Normaal- waarden			neg.	neg.	40-50	<18	<18	0.80-1.20	zie opm.	1	< 20	5	0.4-8.2

Addendum bij tabel 8.1.

Normaalwaarde Alk.fosf.

<u>vrouwen</u>	16 - 18 jaar	39.1 E	(SD 8.4 E)
	21 - 50 jaar	30.7 E	(SD 10.2 E)
<u>mannen</u>	16 - 18 jaar	69.8 E	(SD 27.0 E)
	21 - 50 jaar	35.3 E	(SD 7.4 E)

Samenvatting en konklusies

In Hoofdstuk 1 wordt een literatuuroverzicht gegeven van klinische en immunologische aspecten van syfilis, een in fasen verlopende chronische granulomateuze infectieziekte, die veroorzaakt wordt door Treponema pallidum. Met betrekking tot de immunologische afweer van de mens op infectie met Treponema pallidum tekent zich het beeld af, dat wij enerzijds te maken hebben met een stimulatie van het antilichaamvormend apparaat, in het bijzonder bij patienten met vroege syfilis, waarbij er een diversiteit aan antilichamen wordt gesynthetiseerd; anderzijds zijn er bevindingen die er op duiden, dat er in bepaalde fasen van de infectie, ook weer in het bijzonder bij patienten met vroege syfilis, sprake is van een gestoorde (onderdrukte?) cellulaire immunologische response.

De waarneming dat bij patienten met syfilis de thymoltroebeling vaak verhoogd is, vormde de aanleiding tot het verrichten van onderzoek. De doelstellingen, geformuleerd in Hoofdstuk 2, zijn:

1. het bestuderen van de immuunglobulinespiegels in het serum van syfilispatienten en van de relatie tussen immuunglobulinen en de thymoltroebeling;
2. het verrichten van een leveronderzoek bij een aantal patienten met vroege syfilis, aangezien de thymoltroebeling vaak verhoogd is bij ziekten die samengaan met leverbeschadiging.

In Hoofdstuk 3 worden de methoden met betrekking tot de gebruikte diagnostiek, therapie en statistiek besproken.

In Hoofdstuk 4 worden de veranderingen die optreden in de immuunglobulinespiegels in het serum - bepaald met behulp van de radiale immunodiffusiemethode - beschreven.

Er is bij vroege syfilis sprake van een hyperimmuunglobulinaemie.

De kortdurende verhoging van het IgA-gehalte bereikt een maximum tijdens het seropositief primaire stadium van syfilis.

De verhoging van het IgM-gehalte bereikt eveneens een maximum tijdens het seropositief primaire stadium; de toename in het gehalte van dit immuunglobuline is relatief sterker en houdt langer aan dan die van het IgA en het IgG. Het IgG-gehalte neemt na besmetting geleidelijk toe tot aan het secundaire stadium, om daarna weer te dalen.

Na zes weken penicilline-therapie blijken de immuunglobulinespiegels in het algemeen te zijn genormaliseerd.

Als mogelijke verklaringen voor de hyperimmuunglobulinaemie worden genoemd:

1. antigene stimulatie van het antilichaamvormend apparaat door vele uit

Treponema pallidum afkomstige antigenen.

2. mitogene stimulatie van B lymfocyten door een B-cel mitogeen.

De thymoltroebeling van sera van patienten met vroege syfilis - Hoofdstuk 5 - is vaak verhoogd; de hoogste waarden worden gevonden bij patienten met secundaire syfilis. Behandeling met penicilline leidt in het algemeen binnen 6 weken tot een normalisering van de thymoltroebeling.

De relatie tussen immuunglobulinen en thymoltroebeling wordt nagegaan in Hoofdstuk 6. De thymoltroebeling blijkt een positieve korrelatie te vertonen met het IgM- en IgG-gehalte in het serum.

Het positief effect van IgM op de thymoltroebeling hangt waarschijnlijk samen met het euglobuline karakter van dit immuunglobuline. Van de totale IgG microheterogeniteit bleek speciaal het basisch IgG een rol te spelen bij het ontstaan van de verhoogde thymoltroebeling.

In Hoofdstuk 7 worden toe- en afname van het gehalte aan basisch en totaal IgG met elkaar vergeleken. Uit de relatief sterkere toename van het gehalte aan basisch IgG dan het gehalte aan totaal IgG tijdens de progressie van vroege syfilis en de eveneens relatief sterkere daling in basisch IgG-gehalte dan in totaal IgG-gehalte na behandeling van de ziekte kan worden gekonkludeerd, dat er bij vroege syfilis sprake is van een preferente synthese van basisch IgG.

Als mogelijke verklaringen voor de basische IgG response worden genoemd:

1. het antilichaamvormend apparaat komt voornamelijk in contact met negatief geladen (zure) antigenen;
2. de antilichaam response op positief geladen antigenen is partieel geblokkeerd door een stoornis op cellulair niveau.

Ten slotte wordt - Hoofdstuk 8 - een leveronderzoek verricht bij 18 patienten met secundaire syfilis.

De zeventien - hepatitis B antigeen negatieve - patienten vertoonden, met betrekking tot de uitgevoerde levertesten geen afwijkingen van de normaalwaarden, of slechts solitaire afwijkingen van geringe aard.

Bij de enige patient, die sterke afwijkingen in de uitkomst van de levertesten en een klinisch manifeste hepatitis vertoonde, werd hepatitis B antigeen in het serum aangetoond.

Bij retrospectief onderzoek bleek, dat zich onder 250 patienten met vroege syfilis die de polikliniek voor geslachtsziekten van de afdeling Dermato-

logie (Academisch Ziekenhuis Rotterdam) bezochten, 3 patienten bevonden met een klinisch manifeste hepatitis, die in alle gevallen werd veroorzaakt door het hepatitis B virus.

Bij bezoekers van zojuist genoemde polikliniek bleek het hepatitis B antigeen ongeveer 50 x zo vaak voor te komen als bij een controlegroep bestaande uit donoren van de bloedtransfusiedienst.

Summary and conclusions

Chapter 1 gives a survey of the literature on the clinical and immunological aspects of syphilis, a chronic granulomatous infectious disease, which is caused by Treponema pallidum. With regard to the immunological response of man to infection with Treponema pallidum, it now appears that on the one hand we have stimulation of the antibody-forming system, in particular in patients with early syphilis, leading to the synthesis of a diversity of antibodies; while on the other hand there are findings that indicate that in certain stages of the infection (and again in particular in the early stages), the cellular immunological response may be disturbed (suppressed?).

The observation that the thymol turbidity is often higher than normal in patients with early syphilis stimulated us to perform the investigation described in this thesis. The aims, formulated in Chapter 2, were:

1. study of the immunoglobulin levels in the serum of syphilis patients and the relation between the different immunoglobulins studied and thymol turbidity;
2. investigation of the liverfunction of a number of syphilis patients (since the thymol turbidity is also found to be raised in many diseases associated with liver damage).

The diagnostic, therapeutic and statistical methods used are discussed in Chapter 3.

The changes occurring in the immunoglobulin levels in the serum (determined with the aid of radial immunodiffusion) are described in Chapter 4. Early syphilis is characterized by hyperimmunoglobulinaemia. The short-lived increase in the IgA-level reaches a maximum during the seropositive primary stage of syphilis.

The increase in IgM content also reaches a maximum during the seropositive primary stage; however, the relative increase in the content of this immunoglobulin is more marked, and lasts longer, than that of IgA and IgG. The IgG content increases gradually after infection, reaching a maximum during the secondary stage and then falling off again.

After six weeks of penicillin therapy, the immunoglobulin levels are generally found to be normal again.

The following possible explanations for the hyperimmunoglobulinaemia are given:

1. stimulation of the antibody-forming system by many antigens from Treponema pallidum.

2. stimulation of B lymphocytes by a B-cell mitogen.

The changes occurring in the result of the thymol turbidity test (TTT) as investigated by us are described in Chapter 5. The TTT is often higher than normal in patients with early syphilis, the highest values being found in patients with secondary syphilis.

Treatment with penicillin generally leads to a return to normal results in the TTT within 6 weeks.

The relation between the immunoglobulins and thymol turbidity in syphilitic patients is investigated in Chapter 6. There is found to be a positive correlation between the thymol turbidity and the IgM and IgG contents of the serum. The positive effect of IgM on the thymol turbidity is probably connected with the euglobulin character of this component. Of the total IgG, in particular the basic fraction was found to play a role in the increase in the thymol turbidity.

The changes in the contents of basic and total IgG during early syphilis are compared in Chapter 7. It may be concluded from the relatively greater increase in the basic IgG level during early syphilis, and the relatively greater drop in basic IgG content after treatment of the disease, that basic IgG is preferentially synthesized during early syphilis.

The following possible explanations for the basic IgG response are given:

1. the antibody-forming system comes mainly into contact with negatively charged (acid) antigens.
2. the antibody response to positively charged antigens is partially blocked by a disturbance at cellular level.

Finally, Chapter 8 describes the result of a number of liver tests carried out on 18 patients with secondary syphilis. 17 (hepatitis B antigen negative) patients showed normal results, or only sporadic deviations from normality, in the liver tests performed.

Hepatitis B antigen was found in the serum of one patient, who also showed pathological results to most of the liver tests and manifest clinical evidence of hepatitis.

A retrospective investigation on about 250 patients with early syphilis who consulted the VD clinic of the department of Dermatology of the University Hospital Rotterdam revealed 3 patients with clinically manifest hepatitis, caused in all cases by the hepatitis B virus.

Among the patients consulting this clinic, hepatitis B antigen was found about 50 times as often as in control group consisting of blood donors.

LITERATUUR

- Aerssen, R.G.L. van (1974) Moeilijkheden bij de diagnose van syfilis. *Ned.T.Geneesk.* 118, 1209-1212.
- Aho, K. (1967) Studies of syphilitic antibodies I. *Brit.J.Vener.Dis.* 43, 259-263.
- Aho, K. (1968) Studies of syphilitic antibodies II. *Brit.J.Vener.Dis.* 44, 49-53.
- Allansmith, M. et al. (1967) Stability of human immunoglobulin levels. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 125, 404-407.
- Almeida, J.D. et al. (1971) Possible airborne spread of serum-hepatitis virus within a haemodialysis unit. *Lancet* ii, 849-850.
- Andersson, J. et al. (1972) Mitogens as probes for immunocyte activation and cellular cooperation. *Transplantation Reviews* 11, 131-177.
- André, D. et al. (1973) Signification des anticorps anti-mitochondries en pathologie hépatiques et au cours de la syphilis. *Pathologie-Biologie* 21, 697-706.
- Azar, H.A. et al. (1970) An electron microscopic study of a syphilitic chancre; engulfment of *Treponema pallidum* by plasma cells. *Arch.Path.* 90, 143-150.
- Bachmann, R. en C.B.Laurell (1963) Electrophoretic and immunologic classification of M components in serum. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 15, suppl. 69, 11-24.
- Baker, A.L. et al. (1971) Liver disease associated with early syphilis. *New Engl.J.Med.* 284, 1422-1423.
- Bänffer, J.R.J. (1972) Demonstration of precipitins against a treponemal antigen by counter-immunoelectrophoresis. *Lancet* i, 996-997.
- Bänffer, J.R.J. (1974) persoonlijke mededeling.
- Barniske, R. (1957) Erfahrungen mit dem Nelson-test an der Hautklinik der Johannes Guttenberg-Universität, Mainz. *Z.Haut. u.Geschl.Kr.* 23, 290-302.
- Beck, A. (1939) The role of the spirochaete in the Wassermann reaction. *J.Hyg.Lond.* 39, 298-310.
- Beek, C.H. en Neumann, H. (1971) persoonlijke mededeling.
- Bekker, J.H. et al. (1966) Performance and use of the Reiter Protein Complement Fixation test (RPCF) test. *Brit.J.Vener.Dis.* 42, 42-43.
- Benacerraf, B. et al. (1969) Relationship between the net electrical charge of antigens and specific antibodies. *Isr.J.Med.Sci.* 5, 171-174.
- Benditt, E.P. and J.A.Walker (1948) Serum proteins in syphilis, electrophoretic study. *Am.J. of Med.* 4, 663-670.
- Bessemans, A. en Fr. de Potter (1933) Rapidité de l'envahissement ganglionnaire par le virus syphilitique chez le lapin. Contamination par syphilomes testiculaires. *Bull.Acad.Méd.* 109, 908-912.
- Bessemans, A. en Fr. de Potter (1934) Rapidité de l'envahissement ganglionnaire par le virus syphilitique chez le lapin. Contamination par syphilomes testiculaires et par ganglions syphilités. *Bull.Acad.Méd.* 112, 132-135.
- Blumberg, B.S. et al. (1965) A new antigen in leukemia sera. *JAMA* 191, 54-546.
- Blumberg, B.S. et al. (1969) Australia antigen and hepatitis. *JAMA* 207, 1895-1896.
- Bradford, L.L. et al. (1967) Fluorescent treponemal absorption and *Treponema pallidum* immobilization tests in syphilitic patients and biologic false-positive reactors. *Amer.J.Clin.Path.* 47, 525-532.

- Breed, R.S. et al. (1957) *Bergey's manual of determinative bacteriology*, seventh edition. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Bruyn, J.H. de (1961) Het antigeen in de serologische diagnostiek van syfilis. Acad. Proefschrift, Utrecht.
- Bryceson, A.D.M. (1970) Immune complexes and the Jarisch-Herxheimer reaction, in: *Immune complex diseases (Symposium Spoleto, 1969)*. Carlo Erba, Milano.
- Buchanan, C.S. et al. (1970) FTA-ABS test in pregnancy; a probable false-positive reaction. *Arch.Derm. (Chicago)* 102, 322-325.
- Buckley, C.E. en F.C.Dorsey (1970) The effect of aging on human serum immunoglobulin concentrations. *J.Immunol.* 105, 964-972.
- Buckley, C.E. en F.C.Dorsey (1971) Serum immunoglobulin levels throughout the life-span of healthy man. *Ann.Int.Med.* 75, 673-682.
- Butterworth, M. et al. (1967) Influence of sex on immunoglobulin levels. *Nature* 214, 1224-1225.
- Cannefax, G.R. en W.Garson (1957) Reiter protein complement fixation test for syphilis. *Publ.Hlth. Rep.* 72, 335-340.
- Catterall, R.D. (1972) Systemic disease and the biological false-positive reaction. *Brit.J.Vener. Dis.* 48, 1-12.
- Christiansen, S. (1963) Protective layer covering pathogenic Treponemata. *Lancet* 1963, i, 423-425.
- Claman, H.N. en D.Merrill (1964) Quantitative measurement of human gamma-2, beta-2A and beta-2M serum immunoglobulins. *J.Lab.Clin.Med.* 64, 685-693.
- Cocke, D.J. en C.Howe (1970) Rapid detection of australia antigen by counterimmunoelectrophoresis. *J.Immunol.* 104, 1031-1034.
- Cohen, G. et al. (1969) Serologic reactivity in consecutive patients admitted to a general hospital; a comparison of the FTA-ABS, VDRL, and automated reagin tests. *Arch.Intern.Med.* 124, 364-367.
- Cohen, P.C. en F.Thompson (1947) The serum protein fraction responsible for the thymol turbidity test. *J.Lab.Clin.Med.* 32, 314-315.
- Coles, A.C. (1909) Spirochaeta pallida; methods of examination and detection, especially by means of the dark ground illumination. *Brit.Med.J.* 1, 1117-1120.
- Collart, P. et al. (1964) Significance of spiral organisms found, after treatment, in late human and experimental syphilis. *Brit.J.Vener.Dis.* 40, 81-89.
- Collart, P. (1970) Le tréponème pale; bacteriologie. *La Revue de Médecin* 11, 1265-1274.
- Collart, P. et al. (1971) Experimental rabbit syphilis. *Brit.J.Vener.Dis.* 47, 389-400.
- Collart, P. et al. (1974) Modified method of filtering cerebrospinal fluid and aqueous humour for the detection of treponemes: Proof of the persistence of their vitality in rabbits. *Brit.J.Vener. Dis.* 50, 251-256.
- Cooper, G.R. et al. (1946) Electrophoretic analysis of syphilitic, biologic false-positive, and normal human sera. *Am.J.Syph.* 30, 555-570.
- Csonka, G.W. (1950) "Luotest", a preliminary evaluation in the diagnosis of late syphilis. *Medicine Illustrated* 4, 389-391.
- Cumberland, M.C. et al. (1949) The rate of multiplication of Treponema pallidum in normal and immune rabbits. *Amer.J.Syph.* 33, 201-212.
- D'Allessandro, G. et al. (1950) The antigens of the cultured Treponema pallidum (Reiter's strain) and the anti-spirochetal antibodies in human syphilis. *J.Vener.Dis.Inform.* 31, 314-315.

- D'Allessandro, G. en L.Dardanoni (1953) Isolation and purification of the protein antigen of the Reiter treponeme. *Amer.J.Syph.* 37, 137-150.
- Deacon, W.E. en E.F.Hunter (1962) Treponemal antigens as related to identification and syphilis serology. *Proc.Soc.Ex.Biol. (N.Y.)* 110, 352-356.
- Delhanty, J.J. en R.D.Catterall (1969) Immunoglobulins in syphilis. *Lancet* ii, 1099-1103.
- Dupouey, P. et al. (1970) Immunochimie communautaire antigénique entre le galactodiglycérade de *Treponema reiteri* et les cœrêbrosides. *C.R.Acad.Sc., Paris* 270, 1541-1544.
- Eagle, H.R. et al. (1950) The effective concentrations of penicillin in vitro and in vivo for streptococci, pneumococci and *Treponema pallidum*. *J.Bacteriol.* 59, 625-643.
- Edwards, E.A. (1962) Detecting *Treponema pallidum* in primary lesions by the fluorescent antibody technique. *Publ.Hlth.Rep.* 77, 427-430.
- Finch, S.C. et al. (1974) Lysozyme in leucopathic states, in: *Lysozyme*. Ed. Osserman, E.F. et al. Acad.Press, New York and London.
- Fluker, J.L. (1972) Syphilis. *Practitioner* 209, 605-613.
- Förström, L. et al. (1969) False-positive reactions to the reiter protein complement fixation (RPCF) test. *Brit.J.Vener.Dis.* 45, 126-128.
- Franklin, E.C. (1959) The role of basic fractions of γ globulin in the flocculation tests. *Clin. Chim.Acta* 4, 259-264.
- Fulford, K.W.M. et al. (1973) Australia antigen and antibody among patients attending a clinic for sexually transmitted diseases, *Lancet* i, 1470-1473.
- Giles, J.P. et al. (1969) Viral hepatitis. *New Engl.J.Med.* 281, 119-122.
- Good, R.A. et al. (1971) Immunodeficiency diseases of man, in: *Progress in Immunology*. Ed. B.Amos, Academic Press, New York.
- Graciansky, P. de et al. (1952) Le traitement de la syphilis récente (primo-secondaire) par trois injections, à une semaine d'intervalle, de penicilline retard. *Bull.Soc.Franc.Derm.Syph.* 59, 318-321.
- Graciansky, P. de en J.Hardouin (1952) Les épreuves hépatique dans la syphilis primo-secondaire. *Bull.Soc.Franc.Dermat.* 59, 155-157.
- Graciansky, P. de en J.P.Hardouin (1953) Le retentissement hépatique de la syphilis primo-secondaire. *Sem.Hôp.Paris* 29, 2904-2911.
- Greaves, M.F. et al. (1973) T and B lymphocytes; origins, properties and roles in immune responses. *Excerpta Medica Amsterdam, American Elsevier Publishing Co., Inc. New York.*
- Greenwood, B.M. (1974) Possible role of a B-cell mitogen in hypergammaglobulinaemia in malaria and trypanosomiasis. *Lancet* ii, 435-436.
- Greither, A. en H.Klein (1949) Syphilis durch Bluttransfusion, Klinik und Pathologie. *Arch.Derm. Syph. (Wien)* 187, 569-585.
- Greuer, W. (1973) *Taschenbuch der Antibiotica-Therapie*. Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien.
- Hadida, E. et al. (1964) Etude histologique des intradermo-réactions aux suspensions de tréponèmes formolés. *Bull.Soc.Franc.Derm.Syph.* 71, 142-149.
- Hahn, R.D. (1943) Syphilis of the liver. *Amer.J.Syph.* 27, 529-561.
- Harris, A. et al. (1946) A microflocculation test for syphilis using cardioliipin antigen. *J.Vener. Dis.Inform.* 27, 169-174.

- Hartmann, L. et al. (1963) The effect of macro globulins in flocculation tests. *Clin.Chim.Acta* 8, 873-883.
- Heathcote, J. et al. (1973) Spread of acute type B hepatitis in London. *Lancet* i, 1468-1470.
- Heitmann, H.J. (1972) Neuere immunbiologische Untersuchungen bei der Syphilis. *Z.Haut-Geschl.Kr.* 47, 433-440.
- Henigst, W. (1973) Sexual transmission of infections associated with hepatitis B antigen. *Lancet* ii, 1395,
- Hersh, T. et al. (1972) Nonparenteral transmission of viral hepatitis B. *New Engl.J.Med.* 285, 1363-1364.
- Heyman, A. et al. (1952) Pathogenesis of the Jarisch-Herxheimer reaction. *Brit.J.Vener.Dis.* 28, 50-60.
- Hobbs, J.R. (1970) Immunoglobulins in some diseases. *Brit.J.Hosp.Med.* 669-680.
- Hobbs, J.R. (1971) Immunoglobulins in clinical chemistry. *Adv.Clin.Chem.* 14, 220-317.
- Hougen, K.H. (1971) Further observation on the ultrastructure of *Treponema pallidum* Nichols. WHO/VDT/RES/71.260.
- Hunter, E.F. (1964a) Nature and control of false-positive reactions in the fluorescent treponemal antibody test. In: Proceedings of the World forum on syphilis and other treponematoses, 1962. US.Department Health, Education and Welfare, 1964. (Public Health Service Publication, nr. 997).
- Hunter, E.F. et al. (1964b) An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS). *Publ.Hlth.Rep. (Wash.)* 79, 410-412.
- Huriez, C. et al. (1953) Les tests de labilité sérique en dermato-vénérologie. A propos de 1.553 réactions de Hanger et de 541 réactions de MacLagan. *Bull.Soc.Franc.Dermat.* 60, 69-73.
- Huriez, C. et al. (1961) Exploration immuno-allergologique dans la syphilis tardive. *Lille Médical* 6, 178-182.
- Idsoe et al. (1954) A decade of reorientation in the treatment of venereal syphilis. *Bull.Wld.Hlth. Org.* 10, 507-561.
- Idsoe, O. et al. (1972) Penicillin in the treatment of syphilis; The experience of three decades. Supplement to vol. 47 of the Bulletin of the World Health Organization.
- Ito, K. et al. (1969) Uber eine zeitsparende Methode zur Anfarbung von *Treponema pallidum* in Geweben. *Hautarzt* 20, 85-88.
- Jackson, S. en S.H.Black (1971a) Ultrastructure of cultivable *Treponemes* (Nichols non-pathogenic *T.pallidum*) following lysis by physical and chemical methods. I: envelope, wall, membrane and fibrils. WHO/VDT/RES/71.236.
- Jackson, S. and S.H.Black (1971b) Ultrastructure of cultivable *treponemes* (Nichols non-pathogenic *T.pallidum*) following lysis by physical and chemical methods. II: Axial filaments.
- Jackson, S. en P.N.Zey (1973) Ultrastructure of lipopolysaccharide isolated from *Treponema pallidum*. *J.Bacteriol.* 114, 838-844.
- Jeerapaet, P. en A.B.Ackerman (1973) Histologic patterns of secondary syphilis. *Arch.Derm.* 107, 373-377.
- Jeffries, D.J. et al. (1973) Australia (hepatitis associated) antigen in patients attending a venereal disease clinic. *Brit.Med.J.* 2, 455-456.
- Jepsen, O.B. et al. (1968) Electron-microscopy of *Treponema pallidum* Nichols. *Acta Path. et Microbiol.Scand.* 74, 241-258.

- Johnson, R.C. et al. (1973) Outer envelope of virulent *Treponema pallidum*. *Infect.Immunity* 8, 291-295.
- Jonge, H. de (1963 en 1964) Inleiding tot de medische statistiek deel I en II, Leiden.
- Julian, A.J. et al. (1969) Early syphilis: immunoglobulins reactive in immunofluorescence and other serologic tests. *J.Immunol.* 102, 1250-1259.
- Kark, R.M. (1951) In: "Liver Disease", Ciba Symposium. Ed. Sheila Sherlock, Churchill, London.
- Karmen, A. (1955) A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxalacetic transaminase in human blood serum. *J.Clin.Inv.* 34, 131-133.
- Karnieli, Y. et al. (1973) The role of thymocytes and bone marrow cells in defining the response to the dinitrophenyl hapten attached to positively and negatively charged synthetic polypeptide carriers. *J.Exp.Med.* 137, 183-195.
- Kellog, S. (1973) persoonlijke mededeling.
- Kent, J.F. en J.B. de Weerd (1963) Enhancement by lysozyme of the sensitivity of *Treponema pallidum* immobilization test. *Brit.J.Vener.Dis.* 39, 37-40.
- Kindmark, C.O. (1971) Identification of C-reactive protein by agarose gel-electrophoresis of human serum or plasma. *Clin.Chim.Acta* 35, 491-492.
- Kiraly, K. en I.Rác (1960) Hautproben mit gereinigter *Treponema pallidum* (TP) Vaccin. *Arch.Klin. Exp.Dermatol.* 209, 583-591.
- Kiraly, K. (1968) Komplementbindungsreaktion mit aus *T.pallidum* angefertigten antigenen (TPKBR). *Hautarzt* 19, 36-42.
- Kiraly, K. et al. (1968) Fluorescent *Treponemal* antibody (FTA) tests with anti IgA, anti IgM and anti IgG conjugates. *Acta Derm.-Vener.* 48, 362.
- Kiraly, K. (1973) Immuno-allergologic aspects of syphilis. WHO/VDT/RES/73.304.
- Klopstock, F. (1926b) Die Entstehung der syphilitischen Blutveränderung und die Eigenschaften eines Spirochätenimmuserums. *Dtsch.Med.Wschr.* 52, 1460-1462.
- Klopstock, F. (1926a) Die Entstehung der syphilitischen Blutveränderung und ihr Nachweis mittels alkoholischen Spirochätenextrakts. *Dtsch.Med.Wschr.* 52, 226-229.
- Knudsen, E.T. (1964) Interpretation of assay values. *Postgrad.Med.J.Suppl.* 40, 14-17.
- Kolle, W. en E.Evers (1926) Experimentelle Studien über Syphilis und Rekurrensspirochätose, IV. *Dtsch.Med.Wschr.* 26, 1075-1076.
- Kolmer, J.A. (1929) Serum diagnosis by complement fixation. Baillière, Tindall and Cox, London.
- Kraus, S.J et al. (1970) Atypical FTA-Abs test fluorescence in lupus erythematosus patients. *JAMA* 211, 2140-2141.
- Kraus, S.J. et al. (1971) Atypical fluorescence in the fluorescent treponemal-antibody-absorbition (FTA-ABS) test related to deoxyribonucleic acid (DNA) antibodies. *J.Immunol.* 106, 1665-1669.
- Krebs, H.J. en P.Scharenberg (1963) Der Thymoltest unter alimentärer Fettbelastung und seine Bedeutung für die Untersuchung von Blutspendern. *Dtsch.Med.Wschr.* 88, 1741-1743.
- Krugman, S. et al. (1967) Infectious hepatitis. *JAMA* 200, 365-373.
- Krupp, M.A. en M.J.Chatton (1974) Current medical diagnosis and treatment. Lange Medical Publications, Los Altos, Calif., U.S.A.
- Kunkel, H.G. en E.L.Noagland (1947) Mechanism and significance of the thymol turbidity test for liver disease. *J.Clin.Invest.* 31, 1060-1071.

- Laird, S.M. en A.L.Thorburn (1966) Assessment of the "Luotest" in late syphilis. *Brit.J.Vener.Dis.* 42, 119-121.
- Landsteiner, K. en V.Mucha (1906) Zur Technik der Spirochaeten Untersuchung. *Wiener Klin.Wschr.* 45, 1349-1350.
- Lauderdale, V. en J.N.Goldman (1972) Serial ultrathin sectioning demonstrating the intracellularity of *Treponema pallidum*; an electron microscopic study. *Brit.J.Vener.Dis.* 48, 87-96.
- Laurell, A. et al. (1968) Serum immunoglobulin levels in syphilis. *Acta Derm.-Vener.* 48, 268-271.
- Laurell, C.B. (1972) Composition and variation of the gel electrophoretic fractions of plasma, cerebrospinal fluid and urine. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 29, 71-82.
- Le Clair, R.A. (1971) Early syphilitic hepatitis, a possible case. *Brit.J.Vener.Dis.* 47, 212.
- Lee, R.V. et al. (1971) Liver disease associated with secondary syphilis. *New Engl.J.Med.* 284, 1423-1425.
- Levaditi, C. en Y Manouélian (1906) Nouvelle méthode rapide pour la coloration des spirochètes sur coupes. *Comptes Rendues Soc.Biol. (Paris)* 60, 134-136.
- Levene, G.M. et al. (1969) Reduced lymphocyte transformation due to a plasma factor in patients with active syphilis. *Lancet* ii, 246-247.
- Levene, G.M. et al. (1971) Cell mediated immunity and lymphocyte transformation in syphilis. *Proc. Roy. Soc.Med.* 64, 426-429.
- Lever, W.F. (1967) *Histopathology of the skin*, London, Pitman Med.Publ., London.
- Leyh, F. (1972) *Geschlechtskrankheiten*. Goldmann, München.
- Lichtman, M.A. et al. (1967) The distribution of serum immunoglobulins, anti IgG globulins ("rheumatoid factors") and anti nuclear antibodies in white and negro subjects in Evans County, Georgia. *Arthritis Rheum.* 10, 204-215.
- Luger, A. (1968) in: *Antibiotic treatment of venereal diseases* (Ed. A.Luger) S.Karger, Basel, New York.
- Luger, A. (1970) Angriffspunkt und Wirksamkeit der antisiphilitischen Penicillinbehandlung I. *Der Hautarzt* 21, 531-539.
- Luger, A. (1971) Angriffspunkt und Wirksamkeit der antisiphilitischen Penicillinbehandlung II. *Der Hautarzt* 22, 1-6.
- Magnuson, H.J. (1952) The use of antibiotics in spirochaetosis, laboratory and general considerations. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 55, 1161-1167.
- Magnuson, H.J. et al. (1948) The minimal infectious inoculum of *spirochaeta pallida* (Nichols strain), and a consideration of its rate of multiplication in vivo. *Amer.J.Syph.* 32, 1-18.
- Magnuson, H.J. et al. (1956) Inoculation syphilis in human volunteers. *Med. (Baltimore)* 35, 33-82.
- Mahoney, E.M. et al. (1943) Penicillin treatment of early syphilis. *J.Vener.Dis.Inform.* 24, 355-357.
- Mahoney, J.F. en K.K.Bryant (1933) Contact infection of rabbits in experimental syphilis. *Amer. J.Syph.* 17, 188-193.
- Mancini, G. et al. (1965) Immunochemical quantitation of antigen by single radial immuno diffusion. *Immunochemistry* 2, 235-254.
- Mandema, E. (1956) Over het multipel myeloom, het solitaire plasmocytom en de macroglobulinaemie. *Acad. Proefschrift*, Groningen.

- McCluskey, R.T. en P.D. Leber (1974) Cell-mediated reactions in vivo, in: Mechanisms of cell-mediated immunity. Ed. McCluskey en Cohen. John Wiley and sons, New York.
- McLagan, N.F. (1944) Thymol turbidity test: a new indicator of liver dysfunction. *Nature* 154, 670-671.
- McLagan, N.F. et al. (1974) A modified thymol turbidity test in hyperglobulinaemia. *Clin.Chim. Acta* 53, 339-349.
- Metz, J. en G.Metz (1972) Elektronenmikroskopischer Nachweis von *Treponema pallidum* in Hauteffloreszenzen der unbehandelten Lues I und II. *Arch.Derm.Forsch.* 243, 241-254.
- Metzger, M. et al. (1961) Influence of lysozyme upon the *Treponema* immobilization reaction. *Amer. J.Hyg.* 73, 236-244.
- Michael, M. (1929) Syphilis und Trauma, in: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, XV/2, Ed. Jadassohn, Springer, Berlin.
- Miller, J.L. et al. (1954) Studies with *Treponema* immobilizing test. *JAMA* 154, 1241-1247.
- Miller, J.N. et al. (1966a) The antigenic structure of *Treponema pallidum*, Nichols strain. *J.Immun.* 96, 450-456.
- Miller, J.N. et al. (1966b) Immunity in experimental syphilis, IV. *J.Bacteriol.* 91, 584-587.
- Miller, J.N. (1967) Immunity in experimental syphilis, V. *J.Immun.* 99, 1012-1016.
- Miller, J.N. et al. (1969) Antigenic structures of *Treponema pallidum*, Nichols strain, II. *J.Bacteriol.* 99, 132-135.
- Montgomery, H. (1967) *Dermatopathology*. Harper and Row, New York.
- Morton, R.S. en J.R.W.Harris (1975) Recent advances in sexually transmitted diseases. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York.
- Moore, J.E. en C.F.Mohr (1952) Biologically false-positive serologic tests for syphilis; type incidence and cause. *JAMA* 150, 467-473.
- Müller, F. et al. (1973) Studies on the action of lysozyme in immune immobilization of *Treponema pallidum* (Nichols strain). *Immunology* 24, 711-719.
- Munteanu, M. von et al. (1971) Über Serumeiweisveränderungen bei Frühsyphilis. *Derm.Mschr.* 157, 579-585.
- Musher, D.M. et al. (1972) In vitro phagocytosis of avirulent *T.pallidum* by rabbit macrophages. *Acta Dermato-Vener.* 52, 349-352.
- Musher, D.M. et al. (1974) In vitro lymphocyte response to *Treponema refringens* in human syphilis. *Infect.Immunity* 9, 654-657.
- Mustakallio, K.K. et al. (1967) Auto-immune phenomena in syphilitic infection; rheumatoid factor and cryoglobulins in different stages of syphilis. *Int.Arch.Allergy* 31, 417-426.
- Nelson, R.A. en M.M.Mayer (1949) Immobilization of *Treponema pallidum* in vitro by antibody produced in syphilitic infection. *J.Exp.Med.* 89, 369-393. (Geciteerd uit Turner en Hollander, 1957).
- Neumann, H. en M. van Vreedendaal (1967) An improved alkaline phosphatase determination with p-nitrophenyl phosphate. *Clin.Chim.Acta* 17, 183-187.
- Neumann, H. (1971) persoonlijke mededeling.
- Notowicz, A. en H.E.Menke (1973) Atypical primary syphilitic lesions on the penis. *Dermatologica* 147, 328-333.
- Notowicz, A. et al. (1975) Solitary papular lesions on the penis in insufficiently treated early syphilis. *Dermatologica* (in press).

- Ouchterlony, O. (1958) Diffusion-in-gel methods for immunological analysis I. Progress in Allergy V, (Ed. P.Kallos) S.Karger A.G., Basel.
- Ovcinnikov, N.M. en V.V.Delektorsky (1969) Further studies of the morphology of *Treponema pallidum* under the electron microscope. Brit.J.Vener.Dis. 45, 87-116.
- Ovcinnikov, N.M. en V.V.Delektorsky (1971a) Current concept of the morphology and biology of *Treponema pallidum*, based on electron microscopy. Brit.J.Vener.Dis. 47, 315-328.
- Ovcinnikov, N.M. en V.V.Delektorsky (1971b) Phagocytosis in syphilis and yaws. WHO/VDT/RES/71.248.
- Pangborn, M.C. (1941) A new serologically active phospholipid from beef heart. Proc.Soc.Exp.Biol. Med. (N.Y.) 48, 484-489.
- Parent, M.A. en P.M.Smythe (1973) Dinitrochlorobenzene sensitization in congenital syphilis. Lancet ii, 1273.
- Park, J.T. en J.L.Strominger (1957) Mode of action of penicillin, biochemical basis for the mechanism of action of penicillin and for its selective toxicity. Science 125, 99-101.
- Parker, J.D.J. (1972) Uncommon complications of early syphilis. Brit.J.Vener.Dis. 48, 32-36.
- Parrott, D.M.V. en M.A.B. de Sousa (1971) Thymus-dependent and thymus-independent populations: origin, migratory patterns and life-span. Clin.Exp.Immunol. 8, 663-684.
- Perine, P.L. et al. (1973) Immunity to syphilis, I. Infect.Immunity 8, 787-790.
- Perrot, H. et al. (1971) Cryoglobuline et facteurs rheumatoïde au course de la syphilis prim^o-secondaire. La Presse Médicale 79. 1059-1060.
- Petrozzi, J.W. et al. (1974) Malignant syphilis, severe variant of secondary syphilis. Arch. Derm. 109, 387-389.
- Pillemer, L. et al. (1954) The properdin system and immunity, I: Demonstration and isolation of a new serum protein, properdin, and its role in immune phenomena. Science 120, 279-285.
- Poetschke, G. en B.Kaiser (1951) Der Nachweis von *Treponema pallidum* mit dem Phasenkontrastmikroskop. Hautarzt 2, 408-410.
- Postma, T en J.A.P. Stroes (1968) Lipid screening in clinical chemistry. Clin.Chim.Acta 22, 569-578.
- Raiziss, G.W. en M.Severac (1937) Rapidity with which *Spirochaeta pallida* invades the blood stream. Arch.Derm. Syph. (Chicago) 35, 1101-1109.
- Recant, L. et al. (1945) Comparison of the cephalin-cholesterol flocculation with the thymol turbidity test. Proc.Soc.Exp.Biol. and Med. 60, 245-247.
- Reinhold, J.G. (1960) Flocculation tests and their application to the studies of liver disease. Adv. Clin.Chem. 3, 83-156.
- Robbins, J.B. et al. (1967) Correlation between net charge of antigens and electrophoretic mobility of immunoglobulin M antibodies. Nature (London) 213, 1013-1014.
- Rodkey, F.L. (1965) Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. Clin.Chem. 11, 478-487.
- Rosahn, P.D. en C.L.Rowe (1950) Experimental mouse syphilis II, minimal infectious number of *Treponema pallidum*. Amer.J.Syph. 34, 40-44.
- Ruddy, S. et al. (1972) The complement system of man, I. New Engl.J.Med. 287, 489-495.
- Ruddy, S. et al. (1972) The complement system of man, II. New Engl.J.Med. 287, 545-549.
- Ruddy, S. et al. (1972) The complement system of man, III. New Engl.J.Med. 287, 592-596.

- Ruddy, S. et al. (1972) The complement system of man, IV. *New Engl.J.Med.* 287, 642-646.
- Russchen, C.J. (1969) Een methode voor kwantitatieve bepaling van immuuglobulinen met enkele klinische toepassingen. *Acad.Proefschrift, Groningen.*
- Sachs, H. et al. (1925) Die Entstehung der syphilitischen Blutveränderung. *Dtsch.Med.Wschr.* 51, 589-592.
- Salaman, M.H. et al. (1944) Prevention of jaundice resulting from anti syphilitic treatment. *Lancet* ii, 7-8.
- Sarkany, I. (1973) Pruritus and cholestatic jaundice due to secondary syphilis. *Proc.Roy.Soc.Med.* 66, 237-238.
- Schaudinn, F. en E.Hoffmann (1905) Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochaeten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen. *Arb.Reichsgesundh.* 22, 527-534.
- Scheidegger, J.J. (1955) Une microméthode de l'immuno-électrophorese. *Int.Arch.Allergy* 7, 103-110.
- Schell, R.F. et al. (1974) Detection of nonspecific resistance to *Listeria monocytogenes* in rabbits infected with *Treponema pallidum*. *Infect.Immun.* 9, 658-662.
- Schlesinger, F.G. (1955) Over luetische koude-haemoglobinurie. *Acad.Proefschrift, Utrecht.*
- Schmale, J.D. et al. (1970) Separation of *Treponema pallidum* from tissue debris through continuous particle electrophoresis. *WHO/VDT/RES/70.190.*
- Schultze, H.E. en J.F.Heremans (1966) Molecular biology of human proteins. Vol. 1, Elsevier publishing company, Amsterdam.
- Sela, M. en E.Mozes (1966) Dependence of the chemical nature of antibodies on the net electrical charge of antigens. *Proc.Nat.Acad.Sci. U.S.A.* 55, 445-452.
- Seldeen, M.J. (1953) The immobilization of *Treponema pallidum* by antibody and complement. Baltimore (Thesis, Johns Hopkins Univ.). Referentie uit Willcox, R.R. & T.Guthe (1966).
- Sepejtjan, M. et al. (1973) Attempt to protect rabbits against experimental syphilis by passive immunization. *Brit.J.Vener.Dis.* 49, 335-337.
- Shank, R.E. en C.L.Hoagland (1946) A modified method for the quantitative determination of thymol turbidity reaction of serum. *J.Biol.Chem.* 162, 133-138.
- Sherlock, S. (1971) The liver in secondary (early) syphilis. *New Engl.J.Med.* 284, 1437-1438.
- Sluis, J.J. van der en H.E.Menke (1975) Role of IgG fractions with high isoëlectric points in the thymol turbidity test in syphilis. *Brit.J.Vener.Dis.* (in press).
- Smith, L.J. et al. (1968a) Treponemes in aqueous humor in late seronegative syphilis. *Tr.Am.Acad. Opth. & Otol.* 72, 63-75.
- Smith, L.J. en C.W.Israel (1968b) Recovery of spirochaetes in the monkey by passive transfer from human late sero-negative syphilis. *Brit.J.Vener.Dis.* 44, 109-115.
- Sobel, H.J. et al. (1972) Liver involvement in early syphilis. *Arch.Path.* 93, 565-568.
- Spector, W.G. (1974) Chronic inflammation, in: The inflammatory proces, vol. III by Zweifach, B.W. et al. Academic Press, New York and London.
- Spirov, G. et al. (1966) Dynamic changes in serum transaminases in patients with syphilis. *Brit. J.Vener.Dis.* 42, 129-131.
- Stillerman, H.B. (1948) The thymol turbidity test in various diseases. *J.Lab.Clin.Med.* 33, 565-572.
- Stokes, J.H. et al. (1941) Modern clinical syphilology, 3rd ed., Saunders, Philadelphia.

- Stossel, Th.P. (1974) Medical Progress: Phagocytosis I. New Engl. J Med. 717-723.
- Stossel, Th.P. (1974) Medical Progress: Phagocytosis II. New Engl.J.Med. 774-780.
- Stossel, Th.P. (1974) Medical Progress: Phagocytosis III. New Engl.J.Med. 833-839.
- Strik, R. van (1960) Uitschieters. Sigma 6, 10-17.
- Swain, R.H.A. (1955) Electron microscopic studies of the morphology of pathogenic spirochaetes. J.Path.Bact. 69, 117-128.
- Sykes, J.A. en J.N.Miller (1971) Intracellular location of Treponema pallidum (Nichols strain) in the rabbit testis. Infection and Immunity 4, 397-314.
- Tani, T. et al. (1935) Ueber die Geschwindigkeit des Eindringens der Syphilisspirochäten in die regionären Lymphdrüsen. Zbl.Bacter. Abt.I 134, 54-55.
- Thomas, E.W. (1949) Syphilis, its course and management. Mac Millan, New York.
- Tio, B.S. et al. (1971) Changes in the serum transaminases in patients with syphilis. Brit.J.Vener. Dis. 47, 263-265.
- Tio, B.S. (1974) The influence of a systematic cure of early syphilis on the TPI test. Dermatology, proceedings of the XIV international congress. Excerpta Medica, Amsterdam.
- Tringali, G.R. et al. (1969) Effect of 2-mercapto-ethanol treatment on anticardiolipin reactivity in sera from syphilitics and false-positive reactors. Brit.J.Vener.Dis. 45, 202-204.
- Turner, T.B. en D.H.Hollander (1957) Biology of the treponematoses. World Health Organization monograph series nr. 35.
- Turner, D.R. en D.J.M.Wright (1973) Lymphadenopathy in early syphilis. J. Path. 110, 305-308.
- Turner, T.B. et al. (1973) Effects of passive immunization on experimental syphilis in the rabbit. Hopkins Med.J. 133, 241-251.
- Underdown, B.J. en L.Goodfriend (1970) Correlation of charge properties of human reaginic antibodies with charge of the corresponding allergens. J.Immunol. 140, 530-533.
- Uriel, J. en P.Grabar (1956) Emploi de colorant dans l'analyse electrophorétique et immuno-electrophorétique en milieu gelifié. Ann.Inst.Past. 90, 427-440.
- Vaczi, L. et al.(1966) Lipid composition of Treponemal strains. WHO/VDT/RES/66.93.
- Vandow, J.E. en N.Sobel (1956) The present status of the diagnosis and treatment of syphilis. N.Y. St.J.Med. 56, 2796-2802.
- Veys, E.M. en R.J.Wieme (1973) Serum IgG, IgM and IgA concentration determined by the "Linear plate" immunodiffusion technique in a normal population. Clin.Chim.Acta 47, 295-306.
- Vreedendaal, M. van (1967) Fixation after gel electrophoresis. Clin.Chim.Acta 15, 359-360.
- Wallace, A.L. en A.Harris (1967) Reiter treponeme. A review of the literature. Suppl. no.2, vol.36. of the bulletin of the W.H.O., Geneve.
- Walter, A.M. en L.Heilmeyer (1956) Antibiotika - Fibel, antibiotika und chemotherapie (1965) Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Walther, J. (1957) Die photometrische Auswertung des Thymoltrübungstests. Aertzl.Forsch. 11, 517-520.
- Wassermann, A. et al. (1906) Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. Dtsch.Med.Wschr. 32, 745-6.
- Wewalka, F. (1950) Die Thymolprobe bei Lues. Wien.Klin.Wschr. 62, 724-725.
- Wheeler, A.H. et al. (1954) Treponemal immobilization and standard test reactions in suspected biologic false-positive serums. Amer.J.Syph. 38, 437-446.

- WHO, Expert Committee on Venereal Infections and Treponematoses, (1953). Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser. 63.
- Wiegand, S.E. et al. (1972) Electron-microscopic anatomy of pathogenic *Treponema pallidum*. J. Invest. Derm. 58, 186-204.
- Wieme, R.J. (1965) Agargel electrophoresis. Elsevier, Amsterdam/London/New York.
- Willcox, R.R. (1964) A textbook of venereal diseases and treponematoses. Heinemann, London.
- Willcox, R.R. en T.Guthe (1966) *Treponema pallidum*, a bibliographical review of the morphology, culture and survival of *T.pallidum* and associated organisms. WHO suppl. to vol. 35 of the Bull.WHO (1966).
- Wilkinson, A.E. (1954) Studies on treponemal immobilization test. Brit.J.Vener.Dis. 30. 144-155.
- Wilkinson, A.E. en L.P.Cowell (1971) Immunofluorescent staining for the detection of *Treponema pallidum* in early syphilitic lesions. Brit.J.Vener.Dis. 47, 252-255.
- Witebsky, E. (1929) Disponibilität und Spezifität alkohollöslicher Strukturen von Organen und Bösartigen Geschwülsten. Z.Immun.Forsch. 62, 53-73.
- Wootton, J.L.P. (1964) Microanalysis in medical biochemistry. Churchill, London.
- Wright, D.J.M. et al. (1970) New antibody in early syphilis. Lancet i, 740-744.
- Wright, D.J.M. en D.Doniach (1971) The significance of cardiolipin immunofluorescence (CLF). Proc. Roy.Soc.Med. 64, 419-422.
- Wright, D.J.M. en A.S.Grimble (1974) Why is the infectious stage of syphilis prolonged? Brit.J. Vener.Dis. 50, 45-49.
- Yobs, A.R. et al. (1968) Further observations on the persistence of *Treponema pallidum* after treatment in rabbits and humans. Brit.J.Vener.Dis. 44, 116-130.
- Yobs, A.R. et al. (1964a) Fluorescent antibody technique in early syphilis. Arch.Path. 77, 220-225.
- Yobs, A.R. et al. (1964b) Treponemal survival in humans after penicillin therapy, a preliminary report. Brit.J.Vener.Dis. 40, 248-253.
- Young, E. et al. (1974) The Jarisch-Herxheimer reaction in syphilitic hepatitis. Am.J.Gastroenterol. 61, 476-478.
- Zellmann, H.E. (1954) Specificity of treponemal immobilization test. Amer.J.Syph. 38, 506-521.
- Zellmann, H.E. et al. (1967) Early syphilitic hepatitis. Lahey Clin.Bull. 16, 255-259.

Curriculum vitae

Henk Ewald Menke, geboren 15 december 1942 te Paramaribo.

1960 diploma HBS-B (Algemene Middelbare School te Paramaribo)
aanvang medische studie aan de Universiteit te Leiden

1966 doctoraal examen geneeskunde (Universiteit Leiden)

1968 arts-diploma (Medische Faculteit Rotterdam)

november 1968 - november 1972 opleiding tot dermatoloog, afdeling Dermatologie
(Hoofd Prof.Dr.C.H.Beek), Medische Faculteit Rotterdam.

oktober 1972 - februari 1974 wetenschappelijk medewerker afdeling Dermatologie
Medische Faculteit Rotterdam (werkzaamheden op de polikliniek voor geslachts-
ziekten).

Sedert februari 1974: chef de clinique, Dermatologie kliniek, Academisch
Ziekenhuis Rotterdam.

Brijs van Bataaf Genootschap?
+

- p.62
- Basisch IgG gedetermineerd c elektro-
phoresis. Dit meet f-glob \neq IgG.
Hoe weet u dat u een fractie v IgG e
niet van het mengsel f-glob bepaald?
Meer u lading of/ en massa?