

# Sifilisi Hastalarda Spesifik IgM ve IgG Antikorlarının Tedavinin İzlenmesindeki Önemi ve Tanıda Kullanılan Diğer Yöntemlerle Karşılaştırılması

Ali Ağaçfidan<sup>1</sup>, Güzin Özarmağan<sup>2</sup>, Selim Badur<sup>1</sup>, Yıldız Yeğenoğlu<sup>2</sup>, Enver Tali Çetin<sup>1</sup>

**Özet:** Çalışmamızda 111 hastanın serumları sifilis serolojisi yönünden araştırılmıştır. Tanıda spesifik antikorların araştırılmasında enzyim-bağlı immünosorbent assay (ELISA) testine başvurulmuştur. Ayrıca Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) testi, rapid plazma reagin (RPR), Kolmer kompleman birleşmesi (Kolmer), *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA), *Treponema pallidum* membran protein A (TmPA)-ELISA tanıda kullanılan diğer testleri oluşturmuştur. Spesifik IgM antikorları, geç latent olgular dışında klinik olarak sifilis tanısı konan tedavi öncesi tüm olgularda saptanmıştır. Bu antikorlar tedavi sonrası geçen süreye bağlı olarak kaybolmuştur. Ayrıca diğer testlerle saptanabilen antikor titrasyonunda da tedavi sonrası düşüş görülmüştür. Spesifik IgG antikorları, tedavi öncesi primer sifilisi altı olgu dışında, sifilis tanısı konan tüm hastalarda belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Sifilis serolojisi, *Treponema pallidum*.

**Summary:** The significance of specific IgM and IgG antibodies in monitoring syphilis patients in comparison with the other methods used for serodiagnosis. In this study the sera of 111 patients were examined for serodiagnosis of syphilis. For specific antibody identification, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed in comparison with the following techniques: Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test, rapid plasma reagin (RPR) test, complement fixation test (Kolmer), *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) and *Treponema pallidum* membran protein A (TmPA) ELISA. Except for syphilis patients diagnosed in late latent stage prior to treatment, specific IgM antibodies were detected in all syphilis cases. The reactivity of specific IgM antibodies disappeared depending upon the period of treatment. Furthermore the reactivity detected by other tests also diminished and disappeared after treatment. In all syphilis patients, specific IgG antibodies were detected, except for six patients with primary syphilis prior to treatment.

**Key Words:** Serodiagnosis of syphilis. *Treponema pallidum*.

## Giriş

Sifilisin serolojik tanısında, bugün birçok laboratuvarıda non-spesifik birer test olan VDRL ya da RPR ve spesifik bir test olan TPHA birlikte kullanılarak değerlendirilmektedir. Bazı laboratuvarlarda ise, alınan sonuçlar fluoresan treponemal absorpsiyon testi (FTA-ABS) ile doğrulanmaktadır. Ancak bu testlerin aktif sifilisin tanısında, tedavinin izlenmesinde, konjenital ve nörosifilis olgularının belirlenmesinde yetersiz kalması nedeniyle, tanıda spesifik IgM ve IgG antikorlarını ayrı ayrı belirleyen testler son yıllarda önem kazanmıştır (1-7).

Spesifik IgM ve IgG antikorlarının sifilisin tanısındaki rolü ve antibiyotik tedavisinden sonraki durumu, ayrıca tanıda başvurulan diğer yöntemlerle ilişkisi, çalışmamızın amacını teşkil etmiştir.

## Yöntemler

İstanbul Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'nda klinik olarak sifilis yönünden araştırılan 111 olgu çalışmamızda yer almıştır. Çalışma kapsamına alınan hastalar üç grupta toplanmıştır. Birinci grupta klinik olarak sifilis tanısı konan ve tedaviye alınan 71 hasta yer almıştır. Hastalara tedavi amacıyla benzatin penisilin G, allerjisi olanlara eritromisin veya tetrasiklin uygulanmıştır. Bu hastaların 25'ini primer, 33'ünü sekonder, yedisini erken latent, beşini geç latent, birini konjenital sifilisi olgular oluşturmuştur. Bu gruptaki hastaların tedavi öncesi ve tedavinin izlenmesi

amacıyla tedaviden sonraki serumları belirli periyotlar halinde incelenerek antikor titrasyonunda görülen değişim değerlendirilmiştir. Ayrıca primer ve sekonder sifilis semptomu gösteren hastaların lezyonlarından hazırlanan preparasyonlarda *T. pallidum* spiroketi aranmıştır. 20 hasta bulunan ikinci grup ise sifilis geçirmiş, tedavisi tamamlanmış ve üzerinden en az bir yıl geçmiş olguları içermiştir. Ayrıca serolojik testleri yalnızca pozitif sonuç veren, ancak klinik bulgu saptanmayan 20 olgu, çalışmamızın üçüncü grubunu oluşturmuştur.

Tüm hasta gruplarına serolojik tanı amacıyla Kolmer kompleman birleşmesi testi; Biotrol firmasından temin edilen VDRL, RPR ve TPHA, Mercia-Diagnostics firmasından temin edilen ELISA testleri (Captia Syphilis-M ve Captia Syphilis-G) ayrıca Euro-Diagnostics firmasından sağlanan TmPA-ELISA testi uygulanmıştır. TPHA testinde oluşan pozitiflik, hasta serumları 1/80 ve 1/160 oranında sulandırılarak belirlenmiştir. VDRL ve Kolmer testinde oluşan pozitiflik +++++, +++, ++, +, RPR ve TPHA testinde ise kuvvetli pozitif (KP), pozitif (P), hafif pozitif (HP) olarak değerlendirilmiştir. Captia Syphilis-M, Captia Syphilis-G ve TmPA-ELISA testlerinden alınan sonuçlar ise kalitatif olarak saptanmıştır.

## Sonuçlar

Klinik olarak sifilis tanısı konan ve tedavi uygulanmadan önceki serumları incelenen olgularda geç latent sifililer hariç, tümünde spesifik IgM antikorları saptanmıştır. Spesifik IgG antikorları ise tedavi öncesi primer sifilisi altı olgu dışında, klinik durumu sifilise uyan hastaların tamamında belirlenmiştir. Hastalar arasında en sık ve en fazla immün yanıt, sekonder sifilislilerde görülmüştür. Tedavi öncesi hasta grubunda diğer testlerle saptanabilen antikor titreleri oldukça

(1) İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Çapa-İstanbul

(2) İstanbul Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Çapa-İstanbul

yüksek bulunurken, tedavi sonrası düşüş görülmüştür. Ayrıca spesifik IgM antikorları, geçen süreye bağlı olarak kaybolmuştur (Tablo 1,2). Bu hasta grubu içinde primer ve sekonder sifilise ait deri ve mukozal belirtileri olan hastaların lezyonlarından hazırlanan preparasyonlarda *T. pallidum* spiroketi aranmış; primer sifilisi hastaların % 75'inde, sekonder sifilisi hastaların % 97'sinde pozitif sonuç alınmıştır.

Sifilis geçirmiş, tedavisi tamamlanmış ve üzerinden en az bir yıl geçmiş olguların serolojik sonuçları oldukça düşük titrede pozitif bulunmuştur. Ayrıca bu hastaların tamamında spesifik IgM araştırması negatif sonuç vermiştir.

Yalancı pozitiflik olarak belirlenen olgularda ise Kolmer kompleman birleşmesi, VDRL, RPR ve TPHA testleri, çeşitli oranlarda pozitif bulunmuştur. Ancak bu hastaların tümünde TmpA-ELISA testi ve muayene öncesi kullanılmış ve kullanılmakta olan antibiyotikler, antibakteriyel, antiseptik ajanlar yönünden sorgulanmamıştır. *T. pallidum*'a karşı spesifik IgM ve IgG antikorları araştırması negatif sonuç vermiştir.

### İrdeleme

Spesifik IgM ve IgG antikorlarının araştırılmasında ELISA, FTA-ABS ve solid faz hemadsorbsiyon (SPHA) testleri kullanılmaktadır. Ancak oldukça duyarlı, özgül ve pratik olması nedeniyle bugün birçok laboratuvarında ELISA testi tercih edilmektedir (1,3,7-10). Ayrıca spesifik IgM antikorlarının belirlenmesinde katı fazın anti-human IgM ile kaplı olması, romatoid faktör ve spesifik IgG'den kaynaklanan yalancı pozitif ve negatif sonuçların ortaya çıkmasına engel olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda spesifik IgM antikorlarının belirlenmesinde kullanılan ELISA testinde, anti-IgM ile kaplı mikropaklar tercih edilmiştir.

Çalışmamızda primer sifilisi hastaların tamamında IgM antikorları belirlenmiş, buna karşılık olguların % 24'ünde spesifik IgG saptanamamıştır. Diğer testlerin pozitif olması ve hastaların klinik belirtilerinin sifilise uygunluk göstermesi nedeniyle spesifik IgG saptanamaması, hastalığın başlangıcı olarak değerlendirilmiştir. Lefevie ve arkadaşları (12), aynı tanı yöntemi ile yaptıkları çalışmada primer sifilisi 17 olgunun üçünde spesifik IgG belirleyememişlerdir.

Sekonder sifilisi hastalarda non-spesifik ve spesifik testlerin tamamı pozitif sonuç vermiştir. Değişik test gruplarında, antikor titrasyonu sonuçlarına bakıldığında elde edilen sonuçlar bu dönemde oldukça yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalar IgM ve IgG antikor sentezinin sekonder dönemde en yüksek olduğunu göstermiştir (6,13).

Spiroket aranması, erken sifilisin kesin tanısında oldukça önemli bir kriterdir. Ancak çeşitli nedenlerle (lezyonun eskimesi, bilinçsiz antibiyotik ve antibakteriyel krem kullanımı vs) saptanamaması, hastalık etkeninin *T. pallidum* olmadığını göstermez. Çalışmamızda da spiroket aranan primer sifilisi hastaların % 25'inde, sekonder sifilisi hastaların % 3'ünde negatif sonuç vermiştir. Bu nedenle tanıda, serolojik yöntemlere başvurmak son derece önem taşımaktadır.

Latent sifilisi hastalardan erken latent sifilis tanısı konan yedi olgunun serolojik tanı sonuçlarına bakıldığında, TmpA-ELISA testi dışında (3 olgu) tüm testlerde pozitif sonuç alınmıştır. Geç latent sifilisi hastalarda ise ELISA testi ile IgM antikorları hiçbir hastada gösterilememiştir. Yapılan çalışmalarda IgM ile aynı spesifitede olan yüksek titredeki IgG antikorlarının IgM antikor sentezini bloke etmesi ve ortaya çıkan IgM negatifliğinin yalancı olabileceğinden söz edilmiştir (6). Lefevie ve arkadaşları (12), geç latent tanılı 33 olgunun hiçbirinde aynı tanı yöntemi ile spesifik IgM antikorları saptayamamışlardır. Buna karşın 19S IgM FTA-ABS testi ile bir olguda pozitiflik belirlemişlerdir. Ayrıca çalışmamızda geç latent tanılı olguların tamamının TmpA-ELISA testinin negatif olması diğer serolojik testlerin gerekliliğini ortaya koymuştur.

Çalışma kapsamında bulunan konjenital sifilis tanılı tek olgunun, serolojik reaksiyonları, tedavi öncesi oldukça yüksek titrede pozitif bulunmuştur. Yapılan araştırma sonucu bebeğin annesinin erken latent sifilisi olduğu saptanmıştır. Ancak tedavi edilmiş olgularda dahi plasentadan geçen IgG antikorları, bebekte uygulanan testlerin pozitif olmasına ve tanının yanlış değerlendirilmesine neden olmaktadır (4,6). Bu nedenle spesifik IgM antikorlarının bebekte belirlenmesi, hastalığın kesin tanısında oldukça önemli rol oynamıştır.

Tedavinin izlenmesi amacıyla kontrole gelen hastaların serolojik titrasyon sonuçlarına bakıldığında, geçen süreye

Tablo 1. Sifilis Tanısında Kullanılan Testlerden Alınan Pozitif Sonuçlar

Klinik Durum	Olgu	VDRL			RPR		Kolmer				TPHA			ELISA							
		+	+	+	KP	P	HP	+	+	+	+	1/80	1/160	HP	IgM	IgG	TmpA				
		+	+	+				+	+	+		KP	P	HP							
		+	+					+	+	+											
		+	+					+	+												
		+						+													
A. Tedavisiz olgular																					
Primer	25	18	2	2	1	17	4	3	4	4	8	4	2	11	9	1	9	10	25	19	10
Sekonder	33	32	0	1	0	26	7	0	14	12	6	1	13	18	2	9	19	5	33	33	33
Erken latent	7	6	1	0	0	5	2	0	0	2	5	0	3	4	0	2	4	1	7	7	4
Geç latent	5	3	2	0	0	3	2	0	0	1	1	0	1	4	0	1	3	1	0	5	0
Konjenital	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0		NS			NS		1	1	1
B. Tedavili olgular	20	2	2	9	4	1	8	8	0	0	2	0	1	13	6	1	7	12	0	20	2
C. Yalancı pozitiflik belirlenen olgular	20	4	0	0	3	4	0	3	2	1	2	0	0	3	13	0	3	7	0	0	0

NS: Non-spesifik reaksiyon

Tablo 2. Tedavisi İzlenen Hastaların Serolojik Değerlendirilmesi

Olgu	Tedavi Geçen süre		VDRL	RPR	Kolmer	TPHA		IgM	ELISA	
						1/80	1/160		IgG	TmpA
1 P	Eritromisin 4 ay	TÖ TS	+++ -	KP -	++ -	- -	- HP	+	+	-
2 P	Tetrasiklin 4 ay	TÖ TS	+++ ++	KP HP	+++ ++	HP HP	HP HP	+	+	+
3 P	Penisilin 5 ay	TÖ TS	+++ ++	KP P	+++ -	KP HP	KP HP	+	+	+
4 P	Penisilin 2 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	+++ +++	HP P	HP P	+	+	+
5 P	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ -	KP KP	- -	P KP	HP KP	+	+	-
6 P	Penisilin 8 ay	TÖ TS	+++ -	KP -	+	HP P	HP P	+	-	-
7 P	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ +	KP KP	+++ +	HP P	HP P	+	+	-
8 P	Penisilin 1 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	++ ++	P P	P P	+	+	+
9 S	Penisilin 6 ay	TÖ TS	+++ ++	KP HP	+++ +	P HP	P HP	+	+	+
10 S	Penisilin 7 ay	TÖ TS	+++ +++	KP HP	+++ +++	KP P	KP P	+	+	+
11 S	Penisilin 3 ay	TÖ TS	+++ ++	P P	+++ +	KP KP	P KP	+	+	+
12 S	Eritromisin 6 ay	TÖ TS	+++ ++	P HP	+++ -	KP P	KP P	+	+	-
13 S	Penisilin 3 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	+++ ++	P KP	P KP	+	+	+
14 S	Penisilin 1.5 ay	TÖ TS	+++ ++	KP P	+++ -	KP KP	P KP	+	+	+
15 S	Penisilin 20 gün	TÖ TS	++ +	P HP	+++ ++	P KP	HP KP	+	+	+
16 S	Penisilin 3.5 ay	TÖ TS	+++ +++	KP P	++ -	P KP	P KP	+	+	+
17 S	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ ++	KP P	+++ ++	P HP	HP HP	+	+	+
18 S	Eritromisin 11 ay	TÖ TS	+++ +++	KP P	+++ -	KP P	P P	+	+	+
19 S	Penisilin 1 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	+	KP P	KP P	+	+	+
20 EL	Penisilin 5 ay	TÖ TS	+++ +++	P KP	++ -	KP KP	P KP	+	+	+
21 EL	Eritromisin 8 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	++ ++	P P	HP P	+	+	+
22 EL	Penisilin 2 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	+++ +	P P	P HP	+	+	+
23 EL	Penisilin 2 ay	TÖ TS	+++ +++	KP KP	++ +	P P	P P	+	+	+
24 GL	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ ++	KP HP	- -	P P	P HP	-	+	-
25 GL	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ ++	KP P	++ -	P P	P HP	-	+	-
26 GL	Penisilin 3 ay	TÖ TS	+++ +	KP HP	- -	P HP	HP HP	-	+	-
27 GL	Penisilin 4 ay	TÖ TS	+++ ++	KP HP	+++ -	KP P	KP P	-	+	-
28 K	Penisilin 3 ay	TÖ TS	+++ +	KP HP	+++ -	NS -	NS -	+	+	+

P: Primer sifilis; S: Sekonder sifilis; EL: Erken latent sifilis; GL: Geç latent sifilis; K: Konjenital sifilis; TÖ: Tedavi öncesi; TS: Tedavi sonrası.

bağlı olarak spesifik IgM antikorlarının kaybolduğu, ayrıca diğer testlerde saptanabilen antikor titrelerinde de düşüş gö-

rüldüğü belirlenmiştir. Ancak bazı olgularda tedavi sonrası IgM antikorları kaybolmamıştır. IgM pozitifliğine penisilin

aktivitesine dirençli virulan treponemaların neden olabileceği vurgulanmıştır (6). Ayrıca yeterli tedavi sonucu IgM antikor düzeyinin kaybolması için 12-24 ay gibi bir sürenin geçebileceği de gösterilmiştir (13-16). IgM pozitifliği olan olguların tedavilerinin üzerinden en fazla sekiz ay geçmiştir. Bu nedenle, dirençli suşların olabileceğini söylemek erken olabilir. Ancak sekonder sifilislili bir olguda birbuçuk ay gibi kısa sürede kaybolan IgM pozitifliğini de göz önünde tutmak gerekir.

Tedavi görmüş ve üzerinden en az bir yıl geçmiş hastaların serolojik reaksiyonlarına bakıldığında; gerek spesifik, gerekse non-spesifik testlerde, muhtelif oranlarda pozitiflik saptanmıştır. Ancak hiçbirinde *T. pallidum*'a karşı spesifik IgM saptanamaması ve klinik belirtilerin bulunmaması, uygulanan tedavinin başarılı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmamızda, tedavi görmüş tüm hastalarda iki olgu dışında Tmpa-ELISA testi negatif bulunmuştur. Tmpa-ELISA testinin tedavinin izlenmesinde oldukça önemli rol oynadığı ve tedavi sonrası FTA-ABS, TPHA gibi testlerin uzun süre pozitif kaldığı halde, TmpA-ELISA'nın negatifleştiği bildirilmiştir (17).

Çalışma kapsamına alınan 20 hastanın yapılan tarama testlerinin muhtelif oranlarda pozitif sonuç vermesi, ancak hastalarda klinik bir bulgu bulunamaması, sonuçların yalnızca pozitif olabileceğini düşündürmüştür. Aynı hasta grubunda yapılan araştırma sonucu, olguların hiçbirinde spesifik IgM ve IgG antikorları saptanamamıştır. Ayrıca TmpA-ELISA testi tüm hastalarda negatif bulunmuştur. Yalancı pozitif sonuç verdiğini düşündüğümüz TPHA testi, spesifik bir test olmakla birlikte, çok ender de olsa non-spesifik testlerde olduğu gibi, yalancı pozitifliğe neden olabilir. Ancak non-spesifik testlerde alınan yalancı pozitiflik oranı spesifik testlere göre oldukça yüksektir (1,3).

Sonuç olarak, non-spesifik testler VDRL ya da RPR ve spesifik bir test olan TPHA tarama amacıyla, serolojik tanıda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca bu testlerle antikor titrasyonunda görülün değişim değerlendirilerek elde edilen sonuçlar, tedavinin gerekliliği ve uygulanan tedavinin başarısı hakkında fikir verebilir. Ancak tanıda spesifik IgM ve IgG antikorlarını ayrı ayrı belirleyen testlerin kullanılmasında, tedavinin yönlendirilmesinde oldukça önem taşımaktadır.

### Kaynaklar

1. Isaacs RD, Radolf JD. Molecular approaches to improved syphilis serodiagnosis. *Serodiagn Immunother Infect Dis* 1989; 3: 299-306.
2. Müller F, Moskopidits M. Evaluation of an enzyme immunoassay for IgM antibodies to *Treponema pallidum* in syphilis in *mun. Br J Vener Dis* 1984; 60: 288-92.
3. Borobio MV. Current problems in syphilis serology. *Serodiagn Immunother* 1987; 1: 393-400.
4. Pedersen NS, Sheller JP, Rainam AV, Hıra SK: Enzyme linked immunosorbent assays for detection of immunoglobulin M to nontreponemal and treponemal antigens for the diagnosis of congenital syphilis. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1835-40.
5. Lee BJ, Farshy CE, Hunter EF, Hambie EA, Wobig GH, Larsen SA. Detection of immunoglobulin M in cerebrospinal fluid from syphilis patients by enzyme linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 736-40.
6. Müller F. Specific immunoglobulin M and G antibodies in the rapid diagnosis of human treponemal infections. *Diagn Immunol* 1986; 4: 1-9.
7. Paris-Hamelin A, Vaisman A, Fustec-Ibarboure S, Loupy G. Recherche et dosage des IgM treponemiques par une methode immuno-enzymologique (ELISA): Comparaison avec le FTA-Abs-IgM et le SPHA modifié. Document WHO/VDT/RES/83.371.
8. Eichmann A, Gütling M, Meyer JC. The SPHA test in the diagnosis of syphilis results in various stages of untreated syphilis. *Eur J Sex Transm Dis* 1986; 3: 95-8.
9. Chen J, Lin TM, Schubert CM, Halbert SP. Treponemal antibody-adsorbent enzyme immunoassay for syphilis. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 876-80.
10. Farshy CE, Hunter EF, Larsen SA, Cemy EH. Double-conjugate enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulins G and M against *Treponema pallidum*. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 1109-13.
11. Ijsselmuiden OE, Sluis JJ, Mulder A, Stolz E, Botton KP. An IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay to detect IgM antibodies to treponemes in patients with syphilis. *Genitourin Med* 1989; 65: 79-83.
12. Lefevre JC, Bertrand MA, Bauriaud R. Evaluation of the Captia enzyme linked immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1704-7.
13. O'Neill P, Nicol CS. IgM class antitreponemal antibody in treated and untreated syphilis. *Br J Vener Dis* 1972; 48: 460-3.
14. Müller F, Wolleman G. Analysis of specific immunoglobulin M immune response to *Treponema pallidum* before and after penicillin treatment of human syphilis. *Eur J Sex Transm Dis* 1985; 2: 67-72.
15. Merlin S, Andre J, Alacoque B, Paris-Hamelin A. Importance of IgM antibodies in 116 patients with various stages of syphilis. *Genitourin Med* 1985; 61: 82-7.
16. Baker-Zander SA, Roddy RE, Handsfield HH, Lukehart SA. IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sex Transm Dis* 1986; 13: 214-20.
17. Ijsselmuiden OE, Schouls LM, Stolz E, Aelbers GNM, Agterberg CM, Top J, Emden JDA. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived *Treponema pallidum* protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and potential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 152-7.