



Перспективы применения рекомбинантных антигенов *Treponema pallidum* TP0163 И TP0971 в иммуноферментном анализе для обнаружения IgM в сыворотке больных сифилисом: пилотное наблюдательное исследование

Н.В. Арбузова, М.В. Шпилевая✉, Г.Л. Катунин, Н.Ю. Носов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Короленко, д. 6, стр. 3, г. Москва, 119991, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Иммуноферментный анализ на основе рекомбинантных аналогов иммуногенных белков *Treponema pallidum* позволяет осуществлять диагностику сифилиса, определяя антитела иммуноглобулинов G и M классов, при этом обнаружение специфических антител класса M является важным критерием при диагностике ранних стадий сифилиса. Эффективность анализа зависит от антигенов, используемых для обнаружения антитрепонемных антител, и от клинической стадии инфекции. До сих пор нет единого мнения о том, какие антигены имеют наилучшие характеристики для серодиагностики сифилиса, а также отсутствуют тест-системы, позволяющие дифференцировать различные формы инфекции или оценивать эффективность лечения. Это делает актуальным поиск новых антигенов или их сочетаний, определяющих антитела, продукция которых характерна для конкретных клинических форм данного заболевания. **Цель исследования** — оценка диагностического потенциала рекомбинантных белков *Treponema pallidum* TP0163 и TP0971 как кандидатных антигенов для определения антител класса M в сыворотках крови больных с первичным, вторичным, ранним скрытым и поздним скрытым сифилисом методом иммуноферментного анализа. **Методы.** Проведено пилотное наблюдательное исследование с контрольной группой образцов сыворотки крови 10 здоровых доноров и 45 образцов сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом следующих форм сифилиса: первичный ($n = 12$), вторичный ($n = 6$), ранний скрытый ($n = 13$) и поздний скрытый ($n = 14$). Диагноз и классификация заболевания определялись врачом-дерматовенерологом в соответствии с клиническими рекомендациями. Основной показатель исследования — оценка диагностической возможности рекомбинантных белков *Treponema pallidum* TP0163 и TP0971 для определения наличия антител класса M методом иммуноферментного анализа. Обработка полученных данных осуществлялась в программе Microsoft Excel 2017 (Microsoft, США). Статистически значимым считали уровень значимости, для которого $p < 0,05$. **Результаты.** Диагностическая чувствительность определения иммуноглобулина класса M с рекомбинантным антигеном TP0971 составила 91,7, 83,3, 84,6 и 7,7% от количества пациентов в группах первичного, вторичного раннего скрытого и позднего скрытого сифилиса соответственно. По отношению к рекомбинантному антигену TP0163 статистически значимым оказалось определение иммуноглобулинов класса M для вторичного и раннего скрытого сифилиса — диагностическая чувствительность иммуноферментного анализа для определения иммуноглобулинов класса M 66,7 и 53,8% от количества пациентов в каждой из этих групп соответственно. При первичном и позднем скрытом сифилисе антитела класса M к TP0163 не регистрировались. **Заключение.** TP0971 является перспективным антигенным маркером ранних стадий сифилиса. Антиген TP0163 характеризуется низкой диагностической чувствительностью на выявление иммуноглобулинов класса M к *Treponema pallidum*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Treponema pallidum*, рекомбинантные антигены, TP0163, TP0971, иммуноферментный анализ

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Арбузова Н.В., Шпилевая М.В., Катунин Г.Л., Носов Н.Ю. Перспективы применения рекомбинантных антигенов *Treponema pallidum* TP0163 И TP0971 в иммуноферментном анализе для обнаружения IgM в сыворотке больных сифилисом: пилотное наблюдательное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(6):86–95. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-6-86-95>

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ: исследование проведено в рамках выполнения государственного задания федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации № 056-00003-24-02.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ: данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у контактного автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала — сертифицированным специалистом по биостатистике.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki), одобрено Независимым локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Короленко, д. 6, стр. 3, г. Москва, 119991, Россия) протокол № 02 от 28.02.2023.

ВКЛАД АВТОРОВ: Н.В. Арбузова, М.В. Шпилевая, Г.Л. Катунин, Н.Ю. Носов — разработка концепции и дизайна исследования; Н.В. Арбузова, М.В. Шпилевая, Г.Л. Катунин, Н.Ю. Носов — сбор данных; Н.В. Арбузова, М.В. Шпилевая, Н.Ю. Носов — анализ и интерпретация результатов; Н.В. Арбузова, М.В. Шпилевая — обзор литературы, проведение статистического анализа; М.В. Шпилевая — составление черновика рукописи и формирование его окончательного варианта; Н.В. Арбузова, Г.Л. Катунин,

© Арбузова Н.В., Шпилевая М.В., Катунин Г.Л., Носов Н.Ю., 2024

Н. Ю. Носов — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы. ✉ **КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР:** Шпилева Марина Валентиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозов федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Адрес: ул. Короленко, д. 3, стр.6, г. Москва, 107076, Россия. e-mail: aniram1970@list.ru.

Получена: 14.03.2024 / Получена после доработки: 18.10.2024 / Принята к публикации: 19.11.2024

Prospects for the application of recombinant antigens *Treponema pallidum* TP0163 and TP0971 in enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of immunoglobulin M in the serum of syphilis patients: A pilot observational study

Natalia V. Arbuzova, Marina V. Shpilevaya✉, Georgiy L. Katunin, Nikita Yu. Nosov

State Scientific Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Korolenko, 6, bldg 3, Moscow, 119991, Russia

ABSTRACT

Background. The enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant analogues of *Treponema pallidum* immunogenic proteins enables the diagnosis of syphilis by determining immunoglobulin G and immunoglobulin M. The detection of specific immunoglobulin M is considered an important criterion in diagnostics of syphilis at early stages. The efficiency of the assay depends on the antigens used to detect antitreponemal antibodies and the clinical stage of the infection. No consensus exists on which antigens exhibit the best characteristics for serodiagnosis of syphilis, and no test systems can differentiate between various forms of the infection or assess treatment efficacy. This highlights the need for new antigens or combinations thereof that can identify antibodies characteristic of specific clinical forms of the disease. **Objective.** To evaluate the diagnostic potential of recombinant *Treponema pallidum* proteins TP0163 and TP0971 as candidate antigens for detecting immunoglobulin M in serum samples from patients with primary, secondary, early latent, and late latent syphilis using the enzyme-linked immunosorbent assay. **Methods.** A pilot observational study was carried out with a control group of blood serum samples from 10 healthy donors and 45 blood serum samples from patients with a confirmed diagnosis of the following forms of syphilis: primary ($n = 12$), secondary ($n = 6$), early latent ($n = 13$), and late latent ($n = 14$). Diagnosis and classification of the disease were determined by a dermatovenereologist according to clinical guidelines. The primary endpoint of the study was to assess the diagnostic capability of recombinant *Treponema pallidum* proteins TP0163 and TP0971 for detecting immunoglobulin M using enzyme-linked immunosorbent assay. Data processing was carried out by means of Microsoft Excel 2017 (Microsoft, USA). A statistical level was considered statistically significant at $p < 0.05$. **Results.** The diagnostic sensitivity of detection immunoglobulin M with recombinant antigen TP0971 accounted for 91.7%, 83.3%, 84.6%, and 7.7% for patients in the primary, secondary, early latent, and late latent syphilis groups, respectively. For recombinant antigen TP0163, statistically significant detection of immunoglobulin M was observed for secondary and early latent syphilis, with diagnostic sensitivities of 66.7% and 53.8%, respectively. In primary and late latent syphilis, immunoglobulin M to TP0163 were not revealed. **Conclusion.** TP0971 represents a promising antigenic marker for early stages of syphilis. Antigen TP0163 is characterized by low diagnostic sensitivity for detecting immunoglobulin M to *Treponema pallidum*.

KEYWORDS: *Treponema pallidum*, recombinant antigens, Tr0163, Tr0971, enzyme-linked immunosorbent assay

FOR CITATION: Arbuzova N.V., Shpilevaya M.V., Katunin G.L., Nosov N.Yu. Prospects for the application of recombinant antigens *treponema pallidum* tp0163 and tp0971 in enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgM in the serum of syphilis patients: A pilot observational study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2024;31(6):86–95. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-6-86-95>

FUNDING: The study was carried out within the state assignment No. 056-00003-24-02 of State Scientific Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST: The authors declare no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request. The data and statistical methods presented in the paper have been statistically reviewed by the journal editor, a certified biostatistician.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS: The study complies with the standards of the Helsinki Declaration, approved by the Independent Committee for Ethics of State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation (Korolenko str., bldg 3, Moscow, 119991, Russia), Minutes No. 02 of February 28, 2023.

AUTHOR CONTRIBUTIONS: N.V. Arbuzova, M.V. Shpilevaya, G.L. Katunin, N.Yu. Nosov — concept statement and contribution to the scientific layout; N.V. Arbuzova, M.V. Shpilevaya, G.L. Katunin, N.Y. Nosov — data collection; N.V. Arbuzova, M.V. Shpileva, N.Yu. Nosov — analysis and interpretation of the results; N.V. Arbuzova, M.V. Shpileva — literature review, statistical analysis; M.V. Shpilevaya — drafting the manuscript and preparing its final version; N.V. Arbuzova, G.L. Katunin, N.Yu. Nosov — critical review of the manuscript with introduction of valuable intellectual content. All authors approved the final version of the paper before publication and assume responsibility for all aspects of the work, which implies proper study and resolution of issues related to the accuracy and integrity of any part of the work.

✉ **CORRESPONDING AUTHOR:** Marina V. Shpilevaya, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Infections and Dermatoses, State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation. Address: Korolenko, 6, bldg 3, Moscow, 107076, Russia. e-mail: aniram1970@list.ru.

Received: 14.03.2024 / Revised: 18.10.2024 / Accepted: 19.11.2024

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в составе тест-систем для диагностики сифилиса в качестве специфических антигенов используются рекомбинантные аналоги белков Trp15 (Trp0171), Trp17 (Trp0435) и Trp47 (Trp0574) и TmpA (Trp44,5, Trp0768). Иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием данных антигенов позволяет осуществлять диагностику сифилиса, определяя антитела IgG и IgM классов при одновременном исследовании большого числа образцов сыворотки крови, при этом обнаружение специфических антител IgM к *Treponema pallidum* является важным критерием при диагностике ранних стадий сифилиса. Эффективность анализа зависит от антигенов, используемых для обнаружения антитрепонемных антител, и от клинической стадии инфекции [1]. До сих пор нет единого мнения о том, какие антигены имеют наилучшие характеристики для серодиагностики сифилиса, а также отсутствуют тест-системы, позволяющие дифференцировать различные формы инфекции или оценивать эффективность лечения. Это делает актуальным поиск новых антигенов или их сочетаний, определяющих антитела, продукция которых характерна для конкретных клинических форм данного заболевания.

В последние десятилетия выполнен ряд работ по аннотированию генома *T. pallidum* [2–6]. На основе этих работ были получены рекомбинантные белки трепонемы, а также оценена их диагностическая значимость [7–9]. Биоинформатический анализ двух протеомных платформ [2, 3], выполненный в федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России), позволил отобрать девять трепонемных белков, проявляющих серореактивность с образцами сыворотки крови больных сифилисом [10]. Для шести из них — Trp0453, Trp0319, Trp1038, Trp0965, Trp0277 и Trp0684 в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России *de novo* создали генетические экспрессионные системы. Полученные рекомбинантные белки были использованы в качестве антигенов для определения специфических антител в сыворотках крови больных различными формами сифилиса методами иммуноферментного и иммунофлуоресцентного анализов [11–15]. Исследование иммуногенных свойств рекомбинантных белков Trp0163 и Trp0971 является продолжением этих работ.

Белки Trp0163 и Trp0971 локализованы, предположительно, на цитоплазматической мембране *T. pallidum* со стороны периплазматического пространства и за счет высокого содержания в структуре радикалов жирных кислот должны обладать высокой иммуногенностью [2, 3]. Функционально Trp0163 входит в состав АТФ-связывающего транспортного комплекса, а Trp0971 является лактоферрин-связывающим и Zn²⁺ связывающим белком [16, 17]. При изучении иммуногенных свойств белка Trp0163 была отмечена реактивность сыворотки крови у пациентов

с первичным сифилисом [18]. Исследования, выполненные на кроликах, показали, что введение рекомбинантного Trp0971 индуцирует выработку специфических антител IgG [19].

Цель исследования — оценка диагностического потенциала рекомбинантных белков *T. pallidum* Trp0163 и Trp0971 как кандидатных антигенов для определения антител класса IgM в сыворотках крови больных с первичным, вторичным, ранним скрытым и поздним скрытым сифилисом методом иммуноферментного анализа.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено пилотное, основанное на наблюдении, поперечное (cross-sectional), с контрольной группой исследование образцов сыворотки крови 10 здоровых доноров и 45 образцов сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом сифилиса различных форм.

Условия проведения исследования

Забор сыворотки крови проводился в клинической лаборатории ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России. Серологические исследования (иммуноферментный анализ) проводили в отделе лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозов этого же учреждения. Исследовали сыворотки крови, полученные от пациентов центрального региона Российской Федерации, обратившихся в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России в период с сентября 2023 по январь 2024 года.

Критерии соответствия

Критерии включения

Пациенты обоего пола от 18 лет с диагнозами: первичный, вторичный, ранний скрытый и поздний скрытый сифилис, установленными в соответствии с Клиническими рекомендациями «Сифилис» (2020 г.) на основании данных анамнеза, клинических признаков и результатов серологических тестов. Группа контроля состояла из практически здоровых лиц обоего пола от 18 лет. Отсутствие подтвержденной беременности на любом сроке для женщин.

Критерии исключения

Наличие вируса иммунодефицита человека, вирусов гепатита В и С.

Критерии исключения

Беременность, сифилис других форм.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Диагноз и классификация заболевания определялись врачом-дерматовенерологом в соответствии с Клиническими рекомендациями «Сифилис» (2020 г.)¹.

Диагностические критерии для пациентов с первичным сифилисом: развитие первичного аффекта в месте внедрения бледных трепонем, сопровождаемого односторонним или двусторонним регионарным лимфаденитом, реже лимфангитом; обнаружение бледных трепонем в отделяе-

¹ Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов и косметологов». Сифилис. Клинические рекомендации. 2020. Available: <https://www.rodv.ru/upload/iblock/5b9/5b9c17e2879522a324eeaaef81e25731.pdf>

мом первичной сифиломы. Серологические реакции (реакция пассивной гемагглютинации на сифилис (РПГА), ИФА) положительны.

Диагностические критерии для пациентов с вторичным сифилисом: вторичный период сифилиса наступает в среднем через 2–3 месяца после инфицирования и проявляется симметричными высыпаниями на любых участках кожного покрова и/или слизистых оболочках. К проявлениям вторичного периода сифилиса относят также сифилитическую лейкодерму и алопецию — диффузную, мелкоочаговую и смешанную. Возможно сохранение остаточных проявлений первичного сифилиса, а также поражение внутренних органов, опорно-двигательного аппарата и нервной системы. Серологические реакции (реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ), реакция иммунофлюоресценции (РИФ), РПГА, ИФА) положительные. После начала специфического лечения проявление реакции Яриша — Герксгеймера — температурная реакция обострения после начала специфического лечения.

Диагностические критерии для пациентов с ранним скрытым сифилисом (до 2 лет с момента инфицирования): характеризуется отсутствием клинических проявлений сифилиса и высокими титрами антител (от 1:40 до 1:320) в стандартных серологических реакциях — РИБТ, РИФ-абс., ИФА у большинства больных. Диагностику помогают данные объективного осмотра (рубец на месте бывшей первичной сифиломы, увеличение лимфатических узлов), а также появление реакции Яриша — Герксгеймера.

Диагностические критерии для пациентов с поздним скрытым сифилисом: активизация процесса проявляется либо поражением внутренних органов и нервной системы, либо появлением третичных сифилидов — бугорков и гумм. Диагностика основана на данных анамнеза (если больной указывает, что мог заразиться от какого-то источника более 2 лет назад). У всех больных резко-положительные серологические тесты — РИФ, РПГА, ИФА при низких титрах антител в реакции Вассермана (1:20, 1:10, 3+...2+). Определяется патология в спинномозговой жидкости (положительные серологические реакции, скрытый сифилитический менингит)

Подбор участников в группы

Выделены следующие группы исследования: сыворотка крови здоровых доноров ($n = 10$) и 45 образцов сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом сифилиса следующих форм: первичный ($n = 12$), вторичный ($n = 6$), ранний скрытый ($n = 13$) и поздний скрытый ($n = 14$). Диагноз и классификация заболевания определялись врачом-дерматовенерологом в соответствии с клиническими рекомендациями.

Целевые показатели исследования

Основной показатель исследования

Оценивали диагностические возможности рекомбинантных белков *T. pallidum* Tr0163 и Tr0971 для определения наличия антител класса М в сыворотках крови больных с первичным, вторичным, ранним скрытым и поздним скрытым сифилисом методом иммуноферментного анали-

за. Основной показатель исследования — количество пациентов, имеющих антитела класса М к каждому отдельному антигену.

Дополнительные показатели исследования

Настоящим исследованием не предусмотрены.

Методы измерения целевых показателей

Лабораторные методы исследования

Кровь для получения сыворотки забирали в вакуумные пробирки с активатором свертывания и гелем (Rustech, Россия). Не позднее чем через 2 часа после взятия крови пробирки центрифугировали (10 мин; 3000 об/мин; 4 °С). Сыворотку аликвотировали по 0,5 мл и хранили при –20 °С.

Тест Rapid Plasma Reagins — RPR (АО «Эколаб», Россия) проводился для проверки всех образцов сыворотки в соответствии с протоколом производителя.

Для постановки иммуноферментного анализа использовали 96-луночные микропланшеты высокой сорбции (ServiceBio, Китай). Рекомбинантные антигены *T. pallidum* Tr0163 и Tr0971 (Cusabio, Китай) разводили в 0,05 М карбонат-бикарбонатном буфере (рН 9,6) до концентрации 1 мкг/мл каждый, по отдельности добавляли в планшеты по 100 мкл в лунку и инкубировали (температура 23–25 °С, время 18–24 часа), после чего однократно промывали фосфатно-солевым буферным раствором с 0,05 % твина 20 (ФСРт). Свободные сайты связывания блокировали раствором 3% сухого обезжиренного молока с 5% сахарозы в ФСРт по 150 мкл в лунку (температура 23–25 °С, время 1,5 часа), удаляли блокирующий буфер и высушивали планшеты. При тестировании в каждую лунку добавляли по 100 мкл исследуемого образца сыворотки в разведении 1:100 (в ФСРт с 1% сухого обезжиренного молока) и инкубировали (температура 35–37 °С, время 30 мин). Несвязавшиеся антитела удаляли трехкратной промывкой ФСРт. На следующем этапе в каждую лунку добавляли по 100 мкл мышинных антител против IgM человека, конъюгированных с пероксидазой хрена (АО БТК «Биосервис», Россия), и инкубировали (температура 35–37 °С, время 30 мин). В качестве субстрата применяли тетраметилбензидин.

Учет результатов исследования

После проведения инкубации с субстратом и внесения стоп-реагента цвет раствора в лунках приобретал желтую окраску. Оптическую плотность (ОП) раствора измеряли при 450 нм на спектрофотометре Multiskan FC (Thermo scientific, США). Измеренная оптическая плотность находится в прямой зависимости от количества иммуноглобулинов класса М (IgM) в контрольных и исследуемых образцах. Для интерпретации результатов определяли пороговый уровень оптической плотности $ОП_{пор}$ как среднее значение ОП образцов сыворотки крови здоровых индивидов. $ОП_{пор}$ использовали для определения коэффициента позитивности (КП): $КП (условная единица) = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{пор}}$, где $ОП_{образца}$ — ОП любого исследуемого образца сыворотки. В дальнейшем «положительными» считали КП, превышающие 1,1 — значение, рекомендованное для этого анализа.

Образцы сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом сифилиса, классифицированные в ИФА как положительные, обозначали как истинно положительные (ИП); образцы сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом сифилиса, классифицированные в ИФА как отрицательные, обозначали как ложноотрицательные (ЛО); образцы сыворотки крови здоровых доноров, классифицированные в ИФА как положительные, обозначали как ложноположительные (ЛП); образцы сыворотки крови здоровых доноров, классифицированные в ИФА как отрицательные, классифицировали как истинно отрицательные (ИО).

Переменные (предикторы, конфаундеры, модификаторы эффекта)

Искажающим фактором в данном исследовании могут явиться беременность или инфекционные заболевания (ВИЧ, гепатит), провоцирующие ложноположительные реакции. Данные факторы были нивелированы на этапе формирования выборки.

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Статистические методы

Обработка полученных данных осуществлялась в программе Microsoft Excel 2017 (Microsoft, США). Количественные характеристики возраста, коэффициента позитивности (КП) проверяли на нормальность распределения по критериям Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка. Для описательной статистики возраста и уровня активности IgM в сыворотке крови пациентов с разными формами сифилиса использовали среднее значение коэффициента позитивности ± стандартное отклонение ($M \pm SD$). Различия между группами оценивали по критерию Фишера для однофакторного дисперсионного анализа. При попарном сравнении средних значений использовали критерий Стьюдента для независимых групп. Для описательной статистики качественных показателей применяли доли (%), а сравнение проводили с помощью анализа произвольных таблиц сопряженности и использованием критерия Хи-квадрат с поправками по необходимости.

Анализ диагностической ценности рекомбинантных антигенов Tr0163 и Tr0971 *T. pallidum* проводили в соответствии с ГОСТ Р 53022.3-2008 «Требования к качеству клинических лабораторных исследований². Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» — используя коэффициенты позитивности исследованных сывороток крови. Диагностические показатели вычисляли по формулам 1–5:

$$\text{Чувствительность} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛО}} \times 100\%, \quad (1)$$

$$\text{Специфичность} = \frac{\text{ИО}}{\text{ИО} + \text{ЛП}} \times 100\%, \quad (2)$$

$$\text{ППЦ} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛП}} \times 100\%, \quad (3)$$

$$\text{ОПЦ} = \frac{\text{ИО}}{\text{ИО} + \text{ЛО}} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{ДЭ} = \frac{\text{ИП} + \text{ИО}}{\text{ИП} + \text{ЛО} + \text{ИО} + \text{ЛП}} \times 100\% \quad (5)$$

где ППЦ — положительная предсказательная ценность; ОПЦ — отрицательная предсказательная ценность; ДЭ — диагностическая эффективность; ИП — истинно положительные результаты, ЛО — ложноотрицательные результаты, ИО — истинно отрицательные результаты, ЛП — ложноположительные результаты.

Критерий уровня значимости соответствовал $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Формирование выборки (групп) исследования

В выборку включались пациенты с установленными и подтвержденными диагнозами следующих форм сифилиса: первичный, вторичный, ранний скрытый и поздний скрытый. Все пациенты обращались за медицинской помощью в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России. Включение пациентов осуществлялось в порядке их обращения при соответствии критериям включения и отсутствии критериев невключения, без каких-либо дополнительных условий. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке.

Характеристики выборки (групп) исследования

Всего в исследование были включены 45 пациентов с подтвержденным диагнозом сифилиса следующих форм: первичный ($n = 12$), вторичный ($n = 6$), ранний скрытый ($n = 13$) и поздний скрытый ($n = 14$). Пациенты всех групп сопоставимы по возрасту (во всех пяти группах значения возраста по критериям Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка соответствовали нормальному распределению): $32,0 \pm 14,1$ года в группе первичного; $38,5 \pm 18,0$ года в группе вторичного; $37,7 \pm 14,7$ года в группе раннего скрытого и $34,3 \pm 12,7$ года в группе позднего скрытого сифилиса. Контрольная группа здоровых доноров состояла из 10 человек, средний возраст которых был $36,0 \pm 14,1$ года. Из однофакторного дисперсионного анализа для среднего значения возраста значимых различий не выявлено ($p = 0,311$) (табл. 1).

Гендерный состав (доли мужчин и женщин) в сравниваемых группах больных и здоровых пациентов был сопоставим при анализе произвольных таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат ($p = 0,995$) (табл. 1).

Основные результаты исследования

Уровень IgM к рекомбинантным антигенам *T. pallidum* Tr0163 и Tr0971 в сыворотке крови пациентов в каждой обследованной группе, выраженный средними значениями КП, а также количество ИП, ЛП, ЛО и ИО результатов

² ГОСТ Р 53022.3-2008. Национальный стандарт Российской Федерации. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3 Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. Available: <https://docs.cntd.ru/document/1200072565>

представлены в таблице 2. В последней колонке показан уровень значимости различий между группой здоровых доноров и каждой группой пациентов с соответствующей формой сифилиса.

При определении антител класса IgM к Tr0163 в каждой группе пациентов с сифилисом были получены ложноотрицательные результаты. В группах первичного и позднего скрытого сифилиса они составили 100%, а в группах вторичного и раннего скрытого сифилиса — 46,2 и 33,3% каждой из групп соответственно. При определении антител класса IgM к Tr0971 в группе позднего скрытого сифилиса было 93% ложноотрицательных результатов, а в группах первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса 8, 16,7 и 18,2% каждой из групп соответственно. В группе здоровых доноров не отмечено ни одного ложноположительного результата.

Согласно данным эксперимента уровень IgM в ИФА более выражен по отношению к рекомбинантному антигену Tr0971. Результаты КП во всех представленных диагностических группах сифилиса статистически значимо отличаются от КП в группе здоровых. В группах с первичным и вторичным сифилисом при высоких средних значениях КП, равных 5,48 ± 4,63 и 4,37 ± 3,99 соответственно, уровень значимости был $p < 0,01$. В группах с ранним скрытым сифилисом и поздним скрытым сифилисом средние значения КП были равны 3,09 ± 3,46 и 0,67 ± 0,30 соответственно, а уровень значимости был $p < 0,05$.

При определении уровня IgM к рекомбинантному антигену Tr0163 статистически значимыми оказались результаты для вторичного и раннего скрытого сифилиса ($p < 0,01$) при близких средних значениях КП: 1,25 ± 0,58 и 1,30 ± 0,88. При первичном и позднем скрытом сифилисе антитела IgM к Tr0163 не регистрировались.

В таблице 3 представлены диагностические характеристики рекомбинантных антигенов Tr0163 и Tr0971.

Диагностическая чувствительность ИФА IgM с антигеном Tr0971 для первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса составила 91,6, 83,3 и 76,9% соответственно, самый низкий показатель получен для диагностики позднего скрытого сифилиса — 7,1%.

Диагностическая чувствительность ИФА IgM с антигеном Tr0163 для вторичного и раннего скрытого сифилиса составила 66,7 и 46,2% соответственно. Для опреде-



Рис. Блок-схема дизайна проведенного исследования
Примечание: блок-схема выполнена авторами (согласно рекомендациям STROBE). Сокращение: IgM — иммуноглобулин М.
Fig. Schematic diagram of the research design
Note: performed by the authors (according to STROBE recommendations). Abbreviation: IgM — immunoglobulin M.

Таблица 1. Средний возраст ($M \pm SD$) и доля мужчин (%) в группах здоровых и больных пациентов
Table 1. Mean age ($M \pm SD$) and proportion of males (%) in healthy and patient groups

№ группы	Заболевания пациентов	Возраст ($M \pm SD$), лет	Доля мужчин (%)
1	Здоровые (n = 10)	36,0 ± 14,1	80,0
2	Первичный сифилис (n = 12)	32,0 ± 14,1	83,3
3	Вторичный сифилис (n = 6)	38,5 ± 18,0	83,3
4	Ранний скрытый сифилис (n = 13)	37,7 ± 14,7	84,6
5	Поздний скрытый сифилис (n = 14)	34,3 ± 12,7	78,6
	Критерий значимости p	0,311*	0,995#

Примечания: таблица составлена авторами; * значимость по критерию Фишера, # значимость по критерию хи-квадрат.
Notes: the table is compiled by the authors; * by Fisher's exact test, # by Chi-square test.

Таблица 2. Количество истинно положительных, истинно отрицательных, ложноположительных и ложноотрицательных результатов, средние значения коэффициентов позитивности и уровень значимости различий между группами по критерию Стьюдента

Table 2. Number of true positive, true negative, false positive and false negative results, mean values of cutoff indices and significance level between the groups by Student's test

Группы индивидов		Количество результатов				КП ($M \pm SD$), у. е.	Уровень значимости p
№	Характеристика группы	ИП	ИО	ЛП	ЛО		
Тр0163							
1	Здоровые ($n = 10$)	0	10	0	0	$0,44 \pm 0,32$	
2	Первичный сифилис ($n = 12$)	0	0	0	12	$0,54 \pm 0,28$	$p_{1,2} = 0,416^*$
3	Вторичный сифилис ($n = 6$)	4	0	0	2	$1,25 \pm 0,58$	$p_{1,3} = 0,003$
4	Ранний скрытый сифилис ($n = 13$)	7	0	0	6	$1,30 \pm 0,88$	$p_{1,4} = 0,008$
5	Поздний скрытый сифилис ($n = 14$)	1	0	0	13	$0,51 \pm 0,24$	$p_{1,5} = 0,555^*$
Тр0971							
6	Здоровые ($n = 10$)	0	10	0	0	$0,44 \pm 0,32$	
7	Первичный сифилис ($n = 12$)	11	0	0	1	$5,48 \pm 4,63$	$p_{6,7} = 0,003$
8	Вторичный сифилис ($n = 6$)	5	0	0	1	$4,37 \pm 3,99$	$p_{6,8} = 0,006$
9	Ранний скрытый сифилис ($n = 13$)	11	0	0	2	$3,09 \pm 3,46$	$p_{6,9} = 0,025$
10	Поздний скрытый сифилис ($n = 14$)	13	0	0	1	$0,67 \pm 0,30$	$p_{6,10} = 0,032$

Примечания: таблица составлена авторами; * различия статистически незначимы. Сокращения: ИП — истинно положительные результаты; ИО — истинно отрицательные результаты; ЛП — ложноположительные результаты; ЛО — ложноотрицательные результаты.

Notes: the table is compiled by the authors; * differences are statistically insignificant. Abbreviations: ИП — true positive results; ИО — true negative results; ЛП — false positive results; ЛО — false negative results.

Таблица 3. Диагностические параметры рекомбинантных белков Тр0163 и Тр0971 как антигенов для определения антител класса IgM при сифилисе методом иммуноферментного анализа

Table 3. Diagnostic parameters of recombinant proteins Tr0163 and Tr0971 as antigens for the detection of IgM antibodies in syphilis by enzyme-linked immunosorbent assay

Диагностические характеристики общие ($n = 45$)	Тр0163	Тр0971
Чувствительность (%)	26,7	88,9
Специфичность (%)	100	100
Положительная предсказательная ценность (%)	100	100
Отрицательная предсказательная ценность (%)	23,3	66,7
Диагностическая эффективность (%)	40	88,9
Чувствительность при определении		
Первичного сифилиса ($n = 12$) (%)	0	91,6
Вторичного сифилиса ($n = 6$) (%)	66,7	83,3
Раннего скрытого сифилиса ($n = 13$) (%)	46,2	76,9
Позднего скрытого сифилиса ($n = 14$) (%)	0	7,1

Примечания: таблица составлена авторами; параметры определялись в соответствии с ГОСТ Р 53022.3-2008.

Notes: the table is compiled by the authors; parameters were determined in accordance with GOST R 53022.3-2008.

ления IgM при первичном и позднем скрытом сифилисе Тр0163 не представляет диагностической ценности.

Общая диагностическая чувствительность для определения антител класса IgM в перечисленных группах пациентов для Тр0971 оказалась 88,9%, для Тр0163—40%, демонстрируя в обоих случаях высокую специфичность и положительную предсказательную ценность исследования (по 100%).

Для дальнейшей оценки серодиагностического потенциала двух рекомбинантных белков мы использовали коммерческий тест RPR, который обладает высокой чувствительностью и специфичностью при диагностике всех

форм сифилиса. Количество ИП, ИО, ЛП и ЛО результатов теста и его диагностические параметры представлены, соответственно, в таблицах 4 и 5.

Общая чувствительность теста RPR и ИФА IgM с рекомбинантными антигенами Тр0163 и Тр0971 составила 88,9, 26,7 и 88,9% соответственно. Можно отметить высокие значения чувствительности RPR и ИФА с Тр0971 на разных фазах заболевания, исключая поздний скрытый сифилис, где чувствительность RPR была 85,7%, а ИФА 7,1%.

Тест RPR был активен с 83,3% образцами сыворотки крови первичного сифилиса и 85,7% образцами позднего скрытого сифилиса, которые были отрицательны в ИФА

Таблица 4. Количество истинно положительных, истинно отрицательных, ложноположительных и ложноотрицательных результатов теста RPR в исследованных группах

Table 4. Number of true positive, true negative, false positive and false negative results of the rapid plasma reagin test in the studied groups

Характеристика группы	Количество результатов (абс.)			
	ИП	ИО	ЛП	ЛО
Здоровые ($n = 10$)	0	10	0	0
Первичный сифилис ($n = 12$)	10	0	0	2
Вторичный сифилис ($n = 6$)	6	0	0	0
Ранний скрытый сифилис ($n = 13$)	11	0	0	2
Поздний скрытый сифилис ($n = 14$)	12	0	0	2

Примечание: таблица составлена авторами. Сокращения: RPR — антикардиолипиновый тест/микрореакция преципитации; ИП — истинно положительные результаты; ИО — истинно отрицательные результаты; ЛП — ложноположительные результаты; ЛО — ложноотрицательные результаты.

Note: compiled by the authors. Abbreviations: RPR — rapid plasma reagin test; ИП — true positive results; ИО — true negative results; ЛП — false positive results; ЛО — false negative results.

Таблица 5. Диагностические параметры теста RPR в группах пациентов с сифилисом

Table 5. Diagnostic parameters of the rapid plasma reagin test in groups of patients with syphilis

Диагностические характеристики общие ($n = 45$)	(%)
Чувствительность	88,9
Специфичность	100
Чувствительность при определении	
Первичного сифилиса ($n = 12$)	83,3
Вторичного сифилиса ($n = 6$)	100
Раннего скрытого сифилиса ($n = 13$)	91,6
Позднего скрытого сифилиса ($n = 14$)	85,7

Примечание: таблица составлена авторами. Сокращение: RPR — антикардиолипиновый тест/микрореакция преципитации.

Note: compiled by the authors. Abbreviation: RPR — rapid plasma reagin test.

с TP0163. Специфичность теста RPR и ИФА во всех группах составила 100%.

Таким образом, в нашем исследовании ИФА с TP0971 для определения IgM показал чувствительность, по большинству параметров сходную с чувствительностью теста RPR, обычно используемого для лабораторной диагностики сифилиса.

Дополнительные результаты исследования

Значения КП использовали для предварительного анализа изменения уровня IgM по отношению к рекомбинантным антигенам TP0163 и TP0971 в сыворотках крови пациентов с разными формами сифилиса. Группа пациентов с поздней скрытой формой сифилиса в анализе не участвовала, поскольку иммуноглобулины класса М у пациентов с этой формой заболевания не обнаруживались.

К антигену TP0163 антитела класса М с одинаковой активностью продуцируются у пациентов с ранним скрытым и вторичным сифилисом при полном отсутствии активности антительного ответа у пациентов с первичным сифилисом. В целом 7 (22,3%) и 4 (12,9%) образца сывороток пациентов с ранним скрытым и вторичным сифилисом — 11 (35,5%) из 31 были протестированы положительно с помощью IgM-специфических тестов. У двух пациентов с вторичным и шести с ранним скрытым сифилисом ИФА IgM оказался отрицательным.

К антигену TP0971 уровень специфических IgM снижается в ряду первичный — вторичный — ранний скрытый сифилис. В целом положительно с помощью IgM-специфических тестов были протестированы по 11 (по 24,4%) образцов сывороток пациентов с первичным и ранним скрытым сифилисом и 5 (16,1%) образцов с вторичной формой сифилиса — всего 27 (87,2%) из 31. ИФА IgM оказался отрицательным у одного пациента с первичным, одного — с вторичным и у двух — с ранним скрытым сифилисом.

Нам представляется интересным отсутствие ответа IgM к антигену TP0163 в группе пациентов с первичным сифилисом. В соответствии с общими закономерностями для бактериальных инфекций антитела класса М формируются в крови на самых ранних этапах развития инфекции, как это происходит в отношении TP0971. Если оба белка имеют одинаковую локализацию на цитоплазматической мембране *T. pallidum*, то должны индуцировать сходный профиль антительного ответа, что не соответствует нашим результатам.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

На основании приведенных экспериментальных данных можно заключить, что TP0971 является перспективным антигенным маркером ранних стадий сифилиса. Антиген TP0163 характеризуется низкой диагностической чувствительностью на выявление IgM к *T. pallidum*.

Ограничения исследования

Результаты настоящего исследования были получены на небольшой выборке пациентов. Для повышения качества работы требуется увеличение продолжительности исследования и, соответственно, объема выборки.

Интерпретация результатов исследования

Актуальность тестирования новых рекомбинантных белков *T. pallidum* связана с необходимостью повышения чувствительности и общих возможностей существующих тестов для диагностики сифилиса, включая дифференциацию отдельных форм инфекции, рецидива или повторного инфицирования, мониторинга эффективности специфического лечения.

В данной работе мы изучили иммуногенность двух белков *T. Pallidum*, Tr0163 и Tr0971, характеризующихся двумя протеомными платформами [2, 3] как перспективные для серологической диагностики сифилиса, а также оценили диагностическую чувствительность данных антигенов для обнаружения антител класса IgM у больных различными формами сифилиса.

Мы определили, что Tr0971 обладает более выраженной иммуногенностью, при этом наиболее активно IgM обнаруживаются в сыворотке крови у больных на ранних стадиях сифилитической инфекции, что указывает на потенциальную диагностическую ценность Tr0971 для серологической диагностики ранних форм заболевания. На это же указывает высокая чувствительность ИФА с Tr0971, близкая к чувствительности теста RPR.

Tr0163 не подходит для скринингового теста на наличие IgM. Это может быть связано с отсутствием продукции данного белка у больных с первичным и поздним скрытым сифилисом и с низкой его продукцией у больных вторичным и ранним скрытым сифилисом.

В совокупности результаты настоящего исследования подтверждают, что уровень экспрессии белков *T. pallidum* и их доступность для иммунной системы хозяина зависят от клинической формы сифилиса [1], при этом Tr0971 является перспективным антигенным маркером ранних стадий заболевания. Кроме того, это первое описание иммуногенных свойств белков Tr0163 и Tr0971 и их применения для серологической диагностики сифилиса.

Мы не рассматриваем использование рекомбинантных антигенов *T. pallidum* Tr0163 и Tr0971 в ИФА для обнаружения

ружения IgM как отдельный скрининговый тест. В данной работе мы оценили перспективность их применения с целью последующего использования в мультиантигенной тест-системе ИФА в качестве индикаторов ранних стадий сифилиса или мониторинга эффективности лечения.

Дополнительным результатом исследования стало предположение о разной локализации белков Tr0163 и Tr0971 в клетке *T. pallidum*. Предположение основано на разных профилях ответа антител на данные антигены. Иммунный ответ антител класса М на Tr0971 зависит от фазы инфекции и соответствует общим закономерностям развития иммунного ответа при бактериальной инвазии. Большинство иммуногенных липопротеинов спирохет являются периплазматическими [20], в связи с чем и Tr0971 может располагаться в периплазме клетки, хотя существуют и другие мнения относительно его локализации [16, 17]. Выработка антител класса М к белку Tr0163 не зависит от фазы инфекции и в целом отличается низкой экспрессией, что скорее свойственно белкам, связанным с внутренней мембраной клетки-хозяина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дифференциальная диагностика форм сифилиса и оценка эффективности лечения — затруднения, которые нередко возникают в практике врачей-венерологов. В последние десятилетия происходит активный поиск чувствительных и специфических антигенов для серологической диагностики сифилиса, характеризующихся альтернативным характером экспрессии при различных стадиях заболевания или после терапии. В проведенном нами исследовании охарактеризован не изучавшийся ранее гуморальный ответ IgM на два рекомбинантных антигена *T. pallidum* — Tr0163 и Tr0971 у пациентов с первичным, вторичным, ранним скрытым и поздним скрытым сифилисом методом иммуноферментного анализа. Показано, что рекомбинантный белок Tr0971 индуцирует выраженный ответ антител класса М на ранних стадиях сифилитической инфекции, что указывает на целесообразность изучения рекомбинантного антигена Tr0971 для диагностики ранних стадий сифилиса. Рекомбинантный антиген Tr0163 не подходит для скринингового теста на наличие IgM. Результаты данного пилотного исследования носят предварительный характер и способствуют пониманию перспективности дальнейшей работы с данными антигенами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Silva AAO, Lima AA, Vasconcelos LCM, Almeida RA, Freitas NEM, Oliva TA, de Carvalho Ribeiro da Silva MF, Marchini FK, Zanchin NIT, de Siqueira IC, Santos FLN. Evaluating the diagnostic accuracy of TrN17 and TmpA recombinant proteins in syphilis detection: a phase II study. *Front Microbiol.* 2024;15:1348437. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1348437>
- de Sá Queiroz JHF, Dos Santos Barbosa M, Miranda LGO, de Oliveira NR, Dellagostin OA, Marchioro SB, Simionatto S. Tr0684, Tr0750, and Tr0792 Recombinant Proteins as Antigens for the Serodiagnosis of Syphilis. *Indian J Microbiol.* 2022;62(3):419–427. <https://doi.org/10.1007/s12088-022-01017-w>
- McGill MA, Edmondson DG, Carroll JA, Cook RG, Orkiszewski RS, Norris SJ. Characterization and serologic analysis of the *Treponema pallidum* proteome. *Infect Immun.* 2010;78(6):2631–2643. <https://doi.org/10.1128/IAI.00173-10>
- Chen J, Huang J, Liu Z, Xie Y. *Treponema pallidum* outer membrane proteins: current status and prospects. *Pathog Dis.* 2022;80(1):ftac023. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftac023>
- Houston S, Gomez A, Geppert A, Eshghi A, Smith DS, Waugh S, Hardie DB, Goodlett DR, Cameron CE. Deep proteome coverage advances knowledge of *Treponema pallidum* protein expression profiles during infection. *Sci Rep.* 2023;13(1):18259. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45219-8>
- Campo JJ, Romeis E, Oberai A, Pablo JV, Hung C, Teng AA, Shandling AD, Phan A, Haynes AM, Giacani L. A novel pan-proteome array for high-throughput profiling of the humoral response to *Treponema pallidum*. *iScience.* 2024;27(9):110618. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110618>
- Silva AAO, de Oliveira UD, Vasconcelos LCM, Foti L, Leony LM, Daltrio RT, Leitolis A, Lima FWM, Krieger MA, Zanchin NIT, Santos FLN. Performance of *Treponema pallidum* recombinant proteins in the sero-

- logical diagnosis of syphilis. *PLoS One*. 2020;15(6):e0234043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234043>
8. Xu M, Xie Y, Jiang C, Xiao Y, Kuang X, Zhao F, Zeng T, Liu S, Liang M, Li L, Wang C, Wu Y. A novel ELISA using a recombinant outer membrane protein, rTp0663, as the antigen for serological diagnosis of syphilis. *Int J Infect Dis*. 2016;43:51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.12.013>
 9. Busse C, Navid MH, Strubel A, Schnitzler P. Evaluation of a new recombinant antigen-based Virotech *Treponema pallidum* screen ELISA for diagnosis of syphilis. *Clin Lab*. 2013;59(5-6):523–529. <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2012.120519>
 10. Хайруллин Р.Ф., Ротанов С.В., Фриго Н.В., Белоусова А.В. Биоинформатический анализ специфических антигенов *T. pallidum*. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2012;88(5):56–64. <https://doi.org/10.25208/vdv731>
Khairullin RF, Rotanov SV, Frigo NV, Belousova AV. Bioinformatic analysis of *T. pallidum* specific antigens. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2012;88(5):56–64 (In Russ.). <https://doi.org/10.25208/vdv731>
 11. Рунина А.В., Хайруллин Р.Ф., Рог К.В., Семина В.И., Ротанов С.В. Новые рекомбинантные антигены *T. pallidum* TP0453 и TP0319 в диагностике сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014;90(3):72–78. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-3-72-78>
Runina AV, Khairullin RF, Rog KV, Semina VI, Rotanov SV. New recombinant *T. pallidum* antigens TP0453 and TP0319 in the diagnostics of syphilis. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2014;90(3):72–78 (In Russ.). <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-3-72-78>
 12. Рунина А.В., Затевалов А.М., Катунин Г.Л., Дерябин Д.Г., Кубанов А.А. Варьирование иммунного ответа на антигены TP0277, TP 0684, TP 0965 и TP 1038 *Treponema pallidum* при различных формах сифилиса. *Российский иммунологический журнал*. 2017;11(1):70–78. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-3-72-78>
Runina AV, Zatevalov AM, Katunin GL, Deryabin DG, Kubanov AA. Variation of immune response to TP0277, TP 0684, TP 0965 and TP 1038 *Treponema pallidum* antigens in different syphilis stages. *Russian Journal of Immunology*. 2017;11(1):70–78 (In Russ.).
 13. Runina AV, Katunin GL, Filippova MA, Zatevalov AM, Kubanov AA, Deryabin DG. Immunochip for Syphilis Serodiagnostics with the Use of Extended Array of *Treponema pallidum* Recombinant Antigens. *Bull Exp Biol Med*. 2018;165(6):767–771. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4261-0>
 14. Рунина А.В., Рог К.В., Васильев М.М. TP01 — новый потенциальный антиген для серодиагностики скрытых форм сифилитической инфекции. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014;90(6):86–92. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-6-86-92>
Runina AV, Rog KV, Vasilev MM. TP01 — a new potential antigen for serological diagnostics of latent forms of syphilis. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2014;90(6):86–92. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-6-86-92>
 15. Рунина А.В., Старовойтова А.С., Дерябин Д.Г., Кубанов А.А. Рекомбинантный белок TP0965 *Treponema pallidum* как кандидатный антиген для серологической диагностики сифилиса. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016;71(2):109–113. <https://doi.org/10.15690/vramn653>
Runina AV, Starovoitova AS, Deryabin DG, Kubanov AA. Evaluation of the recombinant protein TP0965 of *Treponema pallidum* as candidate antigen for serological diagnosis of syphilis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(2):109–113. <https://doi.org/10.15690/vramn653>
 16. Deka RK, Brautigam CA, Tomson FL, Lumpkins SB, Tomchick DR, Machius M, Norgard MV. Crystal structure of the TP34 (TP0971) lipoprotein of *Treponema pallidum*: implications of its metal-bound state and affinity for human lactoferrin. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5944–5958. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610215200>
 17. Brautigam CA, Deka RK, Ouyang Z, Machius M, Knutsen G, Tomchick DR, Norgard MV. Biophysical and bioinformatic analyses implicate the *Treponema pallidum* TP34 lipoprotein (TP0971) in transition metal homeostasis. *J Bacteriol*. 2012;194(24):6771–6781. <https://doi.org/10.1128/JB.01494-12>
 18. Haynes AM, Konda KA, Romeis E, Siebert J, Vargas SK, Reyes Diaz M, Phan A, Caceres CF, Giacani L, Klausner JD. Evaluation of a minimal array of *Treponema pallidum* antigens as biomarkers for syphilis diagnosis, infection staging, and response to treatment. *Microbiol Spectr*. 2024;12(1):e0346623. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03466-23>
 19. Zhang X, Duan J, Wang Y, Xie B, Zhou J, Zhao S, Yin W, Liu P, Zhao F. Insight into the invasion process and immune-protective evaluation of TP0971, a membrane lipoprotein from *Treponema pallidum*. *Microbiol Spectr*. 2023;11(6):e0004723. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00047-23>
 20. Golden MR, Marra CM, Holmes KK. Update on syphilis: resurgence of an old problem. *JAMA*. 2003;290(11):1510–1514. <https://doi.org/10.1001/jama.290.11.1510>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Арбузова Наталья Владимировна — химик отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозов федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0009-0009-9343-7191>

Шпилева Марина Валентиновна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозов федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-9957-4009>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia V. Arbuzova — Chemist, Department of Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Infections and Dermatoses, State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0009-0009-9343-7191>

Marina V. Shpileva — Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Infections and Dermatoses, State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-9957-4009>

Катунин Георгий Леонидович — кандидат медицинских наук, дерматовенеролог отдела инфекций, передаваемых половым путем, федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-0599-6305>

Носов Никита Юрьевич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозов федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>

Georgiy L. Katunin — Cand. Sci. (Med.), Dermatovenereologist, Department of Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Infections and Dermatoses, State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-0599-6305>

Nikita Yu. Nosov — Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Infections and Dermatoses, State Research Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author