

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Образцова О.А., Арбузова Н.В., Лагун К.М., Носов Н.Ю.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАСШИРЕННОЙ АНТИГЕННОЙ ПАНЕЛИ В ИФА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)



ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава РФ, Москва, 107076, Россия

*Диагностика сифилиса значительно осложняется преобладанием скрытых форм, характеризующимися бессимптомным течением. Таким образом, серологические методы исследования, включающие в себя нетрепонемные и трепонемные лабораторные тесты, являются наиболее предпочтительными в диагностике данного заболевания, причем трепонемные исследования характеризуются более высокой чувствительностью и специфичностью, выявляя антитела к видоспецифичным (липо)протеинам *Treponema pallidum* ssp. *pallidum*. Применяемые в настоящее время рекомбинантные белки Tr15 (Tr0171), Tr17 (Tr0435), Tr47 (Tr0574) и TmpA (Tr0768) относятся к липопротеинам внутренней цитоплазматической мембраны *Treponema pallidum*, обуславливающим наиболее выраженный иммунный ответ при сифилисе. Тем не менее, чувствительность данного теста может снижаться при исследовании случаев ранних и поздних форм сифилиса. Повышение уровня чувствительности в данном случае возможно при использовании антигенной панели, включающей в себя расширенный перечень рекомбинантных белков *Treponema pallidum*. В настоящем обзоре рассматриваются наиболее перспективные белки протеома *Treponema pallidum*, интенсивность иммунного ответа на которые оказывается дифференцированной при различных формах заболевания. Поиск литературы за последние 20 лет был проведен с использованием баз данных Web of Science, PubMed, а также Российской научной электронной библиотеки eLIBRARY.*

Ключевые слова: обзор; рекомбинантные белки; сифилис; ИФА

Для цитирования: Образцова О.А., Арбузова Н.В., Лагун К.М., Носов Н.Ю. Лабораторная диагностика сифилиса: перспективы применения расширенной антигенной панели в ИФА (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 672-676.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-672-676>

EDN: BJYJXU

Для корреспонденции: Образцова Ольга Анатольевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путём, и дерматозов; e-mail: valeeva19@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 29.07.2024
Принята к печати 17.09.2024
Опубликовано 20.11.2024

Obraztsova O.A., Arbuzova N.V., Lagun K.M., Nosov N.Yu.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF SYPHILIS: PERSPECTIVES OF APPLICATION OF EXTENDED ANTIGEN PANEL IN ELISA (REVIEW OF LITERATURE)

State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology», Russian Ministry of Health, 107076, Moscow, Russia

*Diagnosis of syphilis is significantly complicated by the prevalence of latent forms characterized by an asymptomatic course. Thus, serologic methods of investigation, including nontreponemal and treponemal laboratory tests, are the most preferred in the diagnosis of this disease, with treponemal tests characterized by higher sensitivity and specificity, detecting antibodies to species-specific (lipo)proteins of *Treponema pallidum* ssp. *pallidum*. The currently used recombinant proteins Tr15 (Tr0171), Tr17 (Tr0435), Tr47 (Tr0574) and TmpA (Tr0768) belong to lipoproteins of the inner cytoplasmic membrane of *Treponema pallidum* that are responsible for the most pronounced immune response in syphilis. However, the sensitivity of this test may be reduced in cases of early and late syphilis. Increasing the level of sensitivity in this case is possible with the use of an antigen panel that includes an expanded list of recombinant *Treponema pallidum* proteins. This review considers the most promising proteins of the *Treponema pallidum* proteome, the intensity of the immune response to which is differentiated in various forms of the disease. The literature search for the last 20 years was conducted using Web of Science, PubMed, and the Russian Scientific Electronic Library eLIBRARY databases.*

Key words: review; recombinant proteins; syphilis; ELISA

For citation: Obraztsova O.A., Arbuzova N.V., Lagun K.M., Nosov N.Yu. Laboratory diagnostics of syphilis: perspectives of application of extended antigen panel in elisa (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 672-676 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-672-676>

EDN: BJYJXU

For correspondence: Obraztsova Olga Anatolievna, senior researcher State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology»; e-mail: valeeva19@gmail.com

Information about authors:

Obraztsova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5728-2139>;
Arbuzova N.V., <https://orcid.org/0009-0009-9343-7191>;
Lagun K.M., <https://orcid.org/0009-0004-9700-2455>;

Nosov N. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflicts of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 29.07.2024

Accepted 17.09.2024

Published 20.11.2024

Сифилис, наряду с другими инфекциями, передаваемыми половым путём, относится к группе социально значимых и представляющих опасность для здоровья окружающих заболеваний. Согласно приказу Минздрава Российской Федерации № 87 от 26.03.2001 г., для серологической диагностики сифилиса применяются два вида тестов: нетрепонемные и трепонемные [1].

Нетрепонемные тесты, такие как реакция микропреципитации (РМП) или RPR-тест быстрых плазменных реагинов – определяют антитела к кардиолипину – антигену нетрепонемного происхождения [2]. Нетрепонемные тесты характеризуются низкой стоимостью, но имеют низкую чувствительность при первичном и позднем сифилисе. Появление антител к кардиолипину может быть связано с нарушением тканей не только в результате инфекции, вызываемой бледной трепонемой, но и вследствие иных инфекционных заболеваний, таких как гепатиты, а также многих аутоиммунных заболеваний, что может стать причиной ложноположительных результатов [2-6].

Трепонемные тесты, такие как иммуноферментный анализ (ИФА), реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция иммунофлюоресценции (РИФ) в модификациях РИФаБс и РИФ, реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) – являются серологическими реакциями, выявляющими специфические антигены возбудителя сифилиса *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* [3, 7-8]. Регламентированными серологическими реакциями для контроля эффективности лечения больных сифилисом являются нетрепонемные тесты (РМП, RPR) [9]. Негативация нетрепонемных тестов, а именно четырёхкратное снижение титров антител, определяемых в данных серологических реакциях в течение года после окончания специфической терапии по поводу ранних форм сифилиса, подтверждает её эффективность; стойкое сохранение положительных результатов без тенденции к снижению титров антител служит основанием для диагностики серологической резистентности. Негативация трепонемных тестов (ИФА, РПГА, РИФ) наблюдается исключительно редко.

Метод ИФА широко применяется в диагностике всех форм сифилиса в силу высокой чувствительности и специ-

фичности, а также возможности выявления заболевания при отсутствии клинических проявлений, что является актуальным для скрытой формы сифилиса. Кроме того, данный метод является удобным в применении, сравнительно простым в проведении и недорогостоящим [10-11].

Имуноферментный анализ определяет наличие специфических иммуноглобулинов к основным иммунодоминантным антигенам мембраны *T. pallidum* в сыворотке, плазме крови человека или ликворе [12]. В качестве антигенов в составе коммерческих тест-систем используются рекомбинантные белки – аналоги мембранных липопroteинов *T. pallidum*: Trp15 (Trp0171), Trp17 (Trp0435), Trp47 (Trp0574) и TmpA (Trp44,5, Trp0768). Рекомбинантные антигены сорбируются на твердую фазу – поверхность лунок полистиролового планшета. Антитела в анализируемом образце связываются с антигенами, и комплекс антиген-антитело детектируется конъюгатом антител к иммуноглобулинам человека (IgG и/или IgM) с пероксидазой хрена (непрямой ИФА), либо тех же антигенов *T. pallidum*, конъюгированных с пероксидазой хрена («антигенный сэндвич») [13,14]. Для дифференцированного определения иммуноглобулинов только класса М кроме непрямого метода используется формат «захвата» («capture»): на планшет сорбируются антитела к тяжелой цепи иммуноглобулинов человека (μ-цепь), которые на первой стадии анализа захватывают все человеческие иммуноглобулины класса М из сыворотки. На второй стадии полученный комплекс реагирует с конъюгатом «антигены *T. pallidum* – пероксидаза хрена», в результате чего меченые антигены прикрепляются только к специфическим иммуноглобулинам класса М [2, 15,16].

Используемые иммунодоминантные антигены, обуславливающие формирование выраженного гуморального иммунного ответа при сифилисе, обладают различной чувствительностью при изолированном использовании на разных стадиях сифилиса (табл. 1) [17,18].

Представленные антигены, как правило, используются в разных комбинациях. В табл. 2 представлены тест-системы ИФА для диагностики сифилиса российских производителей, определяемые аналиты, формат ИФА и используемые комбинации антигенов для сорбции (согласно инструкции производителя).

Таблица 1

Чувствительность иммуноферментного анализа при изолированном использовании каждого рекомбинантного антигена при разных стадиях сифилиса.

Стадия заболевания	Показатели чувствительности ИФА при использовании антигена, %			
	Trp15	Trp17	Trp47	TmpA
Первичный сифилис	83,5	83,7	82,7	76,0
Ранний скрытый сифилис	66,7	71,4	64,3	98,0
Вторичный сифилис	84,2	86,2	83,1	100,0
Общая чувствительность, %	83,1	84,4	82,1	99,6

Антигены *T. pallidum*, применяемые в ИФА тест-системах российских производителей

Производитель	Аналит	Формат ИФА	Чувствительность, специфичность	Используемые антигены
ЗАО «Вектор-Бест»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Нет данных
	IgG	непрямой	Нет данных	
	IgM	capture	Нет данных	
ООО НПО «Диагностические системы»	IgG+IgM, IgG	непрямой	99,6-99,7%, 99,8%	Trp17, Trp47, TmpA
	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	99,3%, 99,7%	
	IgM	непрямой	Нет данных	
ЗАО «Эколаб»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	99,54-100%, 99,85%-100%	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA
	IgG	непрямой	99,23%, 99,7%	
	IgM	capture	99,47%, 99,69%	
АО БТК «Биосервис»	IgG	непрямой	Нет данных	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA
ООО «Алкор-Био»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	98,5-100%, 98,5-100%	Trp15, Trp17, Trp47
	IgG	непрямой	97-100%, 92,8-100%	
	IgM	capture	-	
ООО «Хема»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA (в инструкции обозначен как «комплексный белок»)
	IgG	непрямой	100%, 100%	
	IgM	непрямой	100%, 100%	
ООО «Биопалитра»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	Нет данных	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA («комбинации антигенов»)
ЗАО «Медико-биологический союз»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA
	IgG	непрямой	Нет данных	
	IgM	capture	Нет данных	
ООО «Имбиан»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA
	IgG	непрямой	100%, 100%	
	IgM	capture	100%, 100%	
ООО «Фактор-Мед Продакшн»	IgG+IgM	непрямой	100%, 100%	Trpp15, Trpp17, Trpp41, Trpp47
ООО «СКРИНИНГ-М»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Trp17, Trp47, TmpA
ООО НПФ «Литех»	IgG+IgM+IgA	сэндвич двустадийный	Нет данных	Нет данных
ООО «Био-Рад Лаборатории»	IgG+IgM+IgA	сэндвич двустадийный	99,8%, 100%	Trp15, Trp17, Trp47
ООО «Диапроцесс»	IgG+IgM+IgA	сэндвич одностадийный	100%, 100%	Trp15, Trp17, Trp47, TmpA

От комбинации антигенов и соотношения их концентраций напрямую зависит чувствительность и специфичность тест-системы. В целом общая чувствительность и специфичность ИФА (анти-IgG) с антигенами Trp15, Trp17, Trp47 и TmpA близка к 100%. Чувствительность метода варьируется для разных стадий заболевания и для первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса составляет 99,8%, 100% и 90,5% соответственно. Таким образом, используемые в современной серологической диагностике иммунодоминантные антигены Trp15, Trp17, Trp47 и TmpA *T. pallidum* индуцируют выраженный гуморальный иммунный ответ при всех формах сифилиса, в связи с чем основанные на них диагностические тесты ориентированы исключительно на подтверждение самого факта заболевания [19, 20].

Различия показателей информативности ИФА при разных клинических формах и стадиях сифилиса могут быть связаны с различиями в уровне экспрессии отдельных антигенов *T. pallidum* и их доступности для иммунной системы пациента. Все это вызывает не-

обходимость поиска новых специфических антигенов бледной трепонемы, которые обладали бы высокой иммуногенностью и позволяли с высокой достоверностью диагностировать не только факт заболевания, но и его стадию.

В проведенных ранее исследованиях [21] отмечались различия в уровне экспрессии определенных антигенов *T. pallidum* и, соответственно, в их доступности для иммунной системы пациента. Таким образом, можно сделать предположение об усовершенствовании серологической диагностики сифилиса путем расширения применяемого комплекта диагностических антигенов с последующим выявлением антител определенной специфичности, характерных для разных форм данного заболевания и позволяющих с высокой достоверностью устанавливать диагноз сифилиса при разных, в том числе ранних, формах инфекции [22].

Развитие методов молекулярной биологии в области получения рекомбинантных белков предоставило основу для широкомасштабного поиска новых потенциальных антигенов для диагностики сифилитической

инфекции [23, 24]. Технология получения рекомбинантных белков *T. pallidum* предусматривает внедрение генов, отвечающих за синтез определенного белка, в клетку другого хорошо культивируемого в искусственных питательных средах микроорганизма (например: кишечной палочки *E. coli*), последующее выращивание полученного модифицированного микроорганизма, его дезинтеграцию, выделение и очистку рекомбинантного антигена [25, 26].

Результаты многочисленных исследований позволили определить наиболее перспективные видоспецифичные антигены *T. pallidum*, вызывающие наиболее выраженный иммунный ответ у человека. [22]. Наибольший интерес ввиду своей локализации представляют белки наружной мембраны, так как именно они в первую очередь являются мишенями для иммунной системы организма хозяина. Наружная мембрана бледной трепонемы содержит мало белковых молекул, однако у живых клеток *T. pallidum* именно они являются наиболее доступными мишенями для иммунной системы организма хозяина.

Тр0453 – липопротеин наружной мембраны *T. pallidum* с молекулярной массой 31,9 кДа, высокоиммуногенный и не имеющий гомологов среди бактерий других родов. Предполагается, что белок Тр0453 имеет транспортную функцию, осуществляет перенос липидов и гликолипидов через наружную мембрану бактерии. В исследовании Smith В.С. и соавт. [27] чувствительность в группах пациентов с первичным сифилисом составила 96%, в группах с вторичным и ранним скрытым сифилисом – по 100 % соответственно. В группе пациентов с поздним скрытым сифилисом антитела к данному белку не были детектированы.

Как было показано в работах по изучению протеома *T. pallidum*, белки, локализованные в периплазме цитоплазматической мембраны, обладают наибольшей иммуногенностью среди других антигенов. Антиген Тр0277 – С-терминальная периплазматическая протеаза с молекулярной массой 50,3 кДа. В исследовании М.В. Brinkman и соавт. [21] антитела против Тр0277 в 4,3 раза превышали уровень соответствующих антител в группе позднего скрытого сифилиса по сравнению с группой здоровых индивидов.

Антиген Тр0319 (ТррС, PnrA) – мембранный липопротеин *T. pallidum*, транспортный белок в составе АТФ-связывающего комплекса с молекулярной массой около 37,7 кДа. Предположительно, данный липопротеин закорен во внутренней мембране посредством липидной части молекулы. В исследовании М.В. Brinkman [28] антитела против Тр0319 определялись при первичном, вторичном и раннем скрытом сифилисе.

Антиген Тр0684 (MglB-2) – мембранный белок с молекулярной массой 43 кДа, обладающий транспортной АТФ-зависимой функцией и серореактивный при всех формах сифилиса [28].

Антиген Тр0965 – белок цитоплазматической мембраны *T. pallidum* с молекулярной массой 35,4 кДа, который характеризуется как белок с транспортной функцией. Тр0965 обеспечивает надежную серологическую диагностику первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса. В группе здоровых индивидов ложноположительные результаты отсутствовали [29].

Тр1038 – цитоплазматический олигомерный белок.

Чувствительность твёрдофазного ИФА с Тр1038 в качестве антигена составляла 93,3 % для первичного сифилиса и по 100 % для вторичного, скрытого и врождённого сифилиса при 100% специфичности [30].

Тр163 (TroA) – белок в составе АТФ-связывающего транспортного комплекса. В работе М.В. Brinkman и соавт. [22] показано двукратное превышение фоновых значений при исследовании антител к данному антигену в сыворотке крови больных ранним скрытым сифилисом, тогда как при манифестных формах значительного превышения не описано. При этом в скрининге М.А. McGill и соавт. [22] были получены значения серореактивности 3+ для образцов сыворотки больных первичного, вторичного, раннего и позднего скрытого сифилиса.

Тр0971 (Тр34, ТрD) – белок цитоплазматической мембраны *T. pallidum*. В работе М.В. Brinkman и соавт. [28] показано 4-кратное превышение фоновых значений уровня антител к данному антигену в группе больных первичным сифилисом и 8-кратное в группе раннего скрытого сифилиса по сравнению с контрольными образцами здоровых индивидов.

Применение расширенной панели из 12 (4+8) антигенов *T. pallidum* в сочетании с определением уровня антител IgG и IgM, определяет возможность нового подхода к лабораторной дифференциации различных форм сифилиса с высоким уровнем диагностической значимости и широким спектром решаемых задач. Эффективность данного подхода была продемонстрирована и для вероятностной дифференциации форм сифилиса [31-33]. Полученные результаты создают основу для разработки новой диагностической методики в формате иммуночипа, основанного на использовании расширенной панели (4+8) рекомбинантных иммуногенных белков *T. pallidum*.

ЛИТЕРАТУРА (П. П. 3 - 30 СМ. REFERENCES)

1. Катунин Г.Л., Рубцов А.Б. Использование стандартных серологических методов исследования крови для диагностики скрытого позднего сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2016; (3): 69-74.
2. Соколовский Е., Фриго Н., Ротанов С., Савичев А., Доля О., Китаева Н., Халлен А., Унемо М., Домейка М., Баллард Р. Руководство по лабораторной диагностике сифилиса в странах Восточной Европы. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2008; (5): 87-96.
3. Рунина А.В., Катунин Г.Л., Филиппова М.А., Затевалов А.М., Кубанов А.А., Дерябин Д.Г. Иммуночип для серологической диагностики сифилиса с использованием расширенной панели рекомбинантных антигенов *T. pallidum*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018; 165 (6): 726-73.
4. Рунина А. В., Шпилева М. В., Филиппова М. А., Катунин Г.Л., Кубанов А.А. Применение иммуночипа с панелью из 12 диагностических антигенов *T. pallidum* для изучения динамики профиля иммуноглобулинов классов IgG и IgM в сыворотке крови больных сифилисом до и после терапии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (9): 546 - 52.
5. Рунина А.В., Шпилева М.В., Дерябин Д.Г. Иммуночип с расширенной панелью рекомбинантных антигенов *T. pallidum* для совершенствования серологической диагностики сифилиса. *Лабораторная служба*. 2018; 3 (2): 17.

REFERENCES

1. Katunin G.L., Rubtsov A.B. Use of standard serologic blood tests for the diagnosis of latent late syphilis. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2016; (3): 69-74. (in Russian)

2. Sokolovskiy E., Frigo N., Rotanov S., Savichev A., Dolya O., Kitaeva N. et al. Guidelines for laboratory diagnosis of syphilis in eastern Europe. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2008; (5):87-96. (in Russian)
3. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2005; 16 (1): 45-51.
4. Larsen S.A., Steiner B.M., Rudolph A. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clinical microbiology reviews*. 1995; 8 (1): 1-21.
5. Larsen S.A., Pope V., Johnson R.E., Kennedy E. A manual of tests for syphilis. *American Public Health Association. Washington, DC*; 1998:112-37.
6. Seña A. C., White B. L., Sparling P. F. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clinical infectious diseases*. 2010; 51 (6): 700-8.
7. Deacon W.E., Falcone V.H., Harris A. A fluorescent test for treponemal antibodies. *Experimental Biology and Medicine*. 1957; 96 (2): 477-80.
8. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.E. An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS). *Public health reports*. 1964; 79 (5): 410-2.
9. Rathlev T. Hemagglutination tests utilizing antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum*. *The British journal of venereal diseases*. 1965; (77): 65-82.
10. Castro R., Prieto E. S., Santo I., Azevedo J., Exposto F. D. L. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. *Journal of clinical microbiology*. 2003; 41 (1): 250-3.
11. Lefevre J.C., Bertrand M.A., Bauriaud R. Evaluation of the Captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28 (8): 1704-7.
12. Binnicker M.J., Jespersen D.J., Rollins L.O. Treponemal-specific tests for the serodiagnosis of syphilis: A comparative evaluation of seven assays. *Journal of clinical microbiology*. 2011; 49 (4): 1313-7.
13. Sun A.H. Sensitive and specific ELISA coated by TpN15-TpN17-TpN47 fusion protein for detection of antibodies to *Treponema pallidum*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009; 47 (3): 321-6.
14. Young H., Moyes A., Mcmillan A. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. *International journal of STD & AIDS*. 1998; 9 (4): 196-200.
15. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.E. An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS). *Public health reports*. 1964; 79 (5): 410-2.
16. Deacon W.E., Falcone V.H., Harris A. A fluorescent test for treponemal antibodies. *Experimental Biology and Medicine*. 1957; 96 (2): 477-80.
17. Sun A.H. Sensitive and specific ELISA coated by TpN15-TpN17-TpN47 fusion protein for detection of antibodies to *Treponema pallidum*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009; 47 (3): 321-6.
18. Ijsselmuiden O.E., Schouls L.M., Stolz E., Aelbers G.N., Agterberg C.M., Top J., Van Embden J.D. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived *Treponema pallidum* protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and the potential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. *Journal of clinical microbiology*. 1989; 27 (1): 152-7.
19. Park I.U., Tran A., Pereira L., Fakile Y. Sensitivity and Specificity of Treponemal-specific Tests for the Diagnosis of Syphilis. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; (7): 13-20. DOI: 10.1093/cid/ciaa349.
20. Negash M., Wondmagegn T., Geremew D. Comparison of RPR and ELISA with TPHA for the Diagnosis of Syphilis: Implication for Updating Syphilis Point-of-Care Tests in Ethiopia. *Journal of Immunology Research*. 2018; 2978419. DOI: 10.1155/2018/2978419.
21. Brinkman M.B., McGill M.A., Pettersson J., Rogers A., Matějková P., Šmajš D., Palzkill T. A novel *Treponema pallidum* antigen, TP0136, is an outer membrane protein that binds human fibronectin. *Infection and immunity*. 2008; 76 (5): 1848-57.
22. McGill M.A., Mattei P.L., Beachkofsky T.M., Gilson R.T., Wisco O.J. Characterization and serologic analysis of the *Treponema pallidum* proteome. *Infection and immunity*. 2010; 78 (6): 2631-43.
23. McKeivitt M., Brinkman M.B., McLoughlin M., Perez C., Howell J.K., Weinstock G.M., Palzkill T. M. Genome scale identification of *Treponema pallidum* antigens. *Infection and immunity*. 2005; 73 (7): 4445-50.
24. McKeivitt M., Patel K., Smajs D., Marsh M., McLoughlin M., Norris S. J., Palzkill T. Systematic cloning of *Treponema pallidum* open reading frames for protein expression and antigen discovery. *Genome research*. 2003; 13 (7): 1665-74.
25. Stamm, L.V., Bassford Jr,P.J. Cloning and expression of *Treponema pallidum* protein antigens in *Escherichia coli*. *DNA*. 1982; 1 (4): 329-333.
26. Walfield A.M., Hanff P.A., Lovett M.A. Expression of *Treponema pallidum* antigens in *Escherichia coli*. *Science*. 1982; 216 (4545): 522-3.
27. Smith B.C., Simpson Y., Morshed M.G., Cowen L.L., Hof R., Wetherell C., Cameron, C. E. New proteins for a new perspective on syphilis diagnosis. *Journal of clinical microbiology*. 2013; 51 (1): 105-111.
28. Brinkman M.B., McKeivitt M., McLoughlin M., Perez C., Howell J., Weinstock G.M., Palzkill T. Reactivity of antibodies from syphilis patients to a protein array representing the *Treponema pallidum* proteome. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44 (3): 888-91.
29. Long F.Q., Zhang J.P., Shang G.D., Shang S.X., Gong K.L., Wang Q.Q. Seroreactivity and immunogenicity of Tp0965, a hypothetical membrane protein of *Treponema pallidum*. *Chinese medical journal*. 2012; 125 (11): 1920-4.
30. Thumiger A., Polenghi A., Papinutto E., Battistutta R., Montecucco C., Zanotti G.A. Crystal structure of antigen TpFl from *Treponema pallidum*. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2006; 62 (3): 827-30.
31. Runina A.V., Katunin G.L., Filippova M.A., Zatevalov A.M., Kubanov A.A., Deryabin D.G. An immunochip for serologic diagnosis of syphilis using an expanded panel of recombinant T. pallidum antigens. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny*. 2018; 165 (6): 726-73. (in Russian)
32. Runina A.V., Shpilevaya M.V., Filippova M.A., Katunin G.L., Kubanov A.A. Application of immunochip with a panel of 12 diagnostic antigens of T. pallidum to study the dynamics of immunoglobulin profile of IgG and IgM classes in the serum of syphilis patients before and after therapy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (9): 546- 52. (in Russian)
33. Runina A.V., Shpilevaya M.V., Deryabin D.G. Immunochip with an expanded panel of recombinant T. pallidum antigens to improve serologic diagnosis of syphilis. *Laboratornaya sluzhba*. 2018; 3 (2): 117. (in Russian)