ICS 11.020
C 50

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 491—2016

梅毒非特异性抗体检测操作指南

Guideline of test method of non-specific antibodies for treponemal pallidum infection

2016-07-07 发布　　2016-12-15 实施

中华人民共和国卫生和计划生育委员会　　发布

目　　次

前言 …… Ⅲ
1　范围 …… 1
2　规范性引用文件 …… 1
3　术语和定义 …… 1
4　缩略语 …… 1
5　检测原理 …… 1
5.1　原理 …… 1
5.2　方法 …… 2
6　仪器耗材 …… 2
6.1　微量移液器 …… 2
6.2　水平旋转仪 …… 2
6.3　样品采集器 …… 3
6.4　样品容器 …… 3
6.5　反应板 …… 3
6.6　专用抗原滴针 …… 3
7　样品采集和保存 …… 3
7.1　采集处理 …… 3
7.2　样品检查 …… 4
7.3　保存 …… 4
8　试验操作步骤 …… 4
8.1　总述 …… 4
8.2　RPR/TRUST-定性试验 …… 5
8.3　RPR/TRUST-半定量试验 …… 5
8.4　VDRL 试验 …… 5
9　结果描述和表示 …… 7
9.1　定性试验 …… 7
9.2　半定量试验 …… 7
9.3　报告格式 …… 7
10　质量控制 …… 7
10.1　基本要求 …… 7
10.2　对照品 …… 8
10.3　质控品 …… 8
10.4　反应板 …… 8
10.5　专用滴针 …… 9
10.6　结果判定 …… 9
10.7　室内质量控制和室间质量评价 …… 9
11　临床意义 …… 9
11.1　辅助诊断 …… 9

11.2 疗效监测 …… 9
12 局限性 …… 10
12.1 概述 …… 10
12.2 假阳性反应 …… 10
12.3 假阴性反应 …… 10
12.4 前带现象 …… 10
12.5 血清固定 …… 10
12.6 血浆样品 …… 10
附录 A（规范性附录） 抗干扰性能初步评估 …… 11
附录 B（规范性附录） 抗干扰性能评估——验证厂家声明 …… 12
参考文献 …… 13

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：上海市皮肤病医院、上海市临床检验中心、复旦大学附属中山医院、中国疾病预防控制中心性病控制中心、上海市疾病预防控制中心。

本标准起草人：顾伟鸣、杨阳、王庆忠、郭玮、尹跃平、吴磊、薛以乐。

梅毒非特异性抗体检测操作指南

1 范围

本标准规定了梅毒非特异性抗体检测的方法、试验操作步骤、结果描述与表示、质量控制等。

本标准适用于开展梅毒非特异性抗体检测的各类实验室。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

JJG 646—2006 移液器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

血清固定 serofast

少数患者经过足量驱梅治疗，梅毒非特异性抗体维持在相对恒定的低滴度状态。

注1：判断血清固定，应具备3个要素：流行病学病史和临床表现排除复发、重新感染；连续2个随访周期(≥6月)血清抗体维持在±1滴度范围之内的低滴度水平(一般≤1∶8)，即变化趋势方向不明；无实验室的技术性和方法学误差。

注2：个别患者可终生存在血清固定现象。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CSF：脑脊液(cerebrospinal fluid)

RCF：相对离心力(relative centrifugal force)

RPR：快速血浆反应素环状卡片试验(rapid plasma reagin circle card test)

TRUST：甲苯胺红不加热血清试验(toluidine red unheated serum test)

VDRL：性病研究实验室试验(venereal disease research laboratory test)

5 检测原理

5.1 原理

感染梅毒螺旋体后，被损害的宿主细胞及梅毒螺旋体本身释放的类脂质物质，引起宿主产生IgA、IgM和IgG抗类脂质抗体，这种抗体在体外与人工按一定比例配置的含心磷脂、卵磷脂和胆固醇的抗原溶液发生作用，产生絮状凝集现象，不同反应强度的凝集现象与抗体浓度成正相关，在一定程度上反映了梅毒感染的活动状态。

5.2 方法

5.2.1 VDRL

商品化 VDRL 试剂盒包含 VDRL 抗原、VDRL 缓冲液和说明书。

VDRL 抗原是含有心磷脂、卵磷脂和胆固醇的无水乙醇溶液。VDRL 缓冲液含氯化钠、40%甲醛水溶液(中性)溶液、磷酸氢二钠(无水)和磷酸二氢钾的磷酸盐溶液,pH 6.0±0.1。用缓冲液配置的 VDRL 抗原工作液与样品中的抗体发生反应,在显微镜下观察到絮状凝集。

5.2.2 RPR

商品化试剂盒包含抗原、阴阳性反应对照、滴针、反应板和说明书。

是一种改良的 VDRL 试验,将 VDRL 抗原结合到作为示踪物质的炭颗粒上,当抗原与样品中的抗体发生凝集反应,肉眼可以观察到黑色的凝集颗粒。RPR 抗原溶液中,添加氯化胆碱起到化学灭活效果,添加 EDTA 起到稳定试剂性能的作用。

5.2.3 TRUST

商品化试剂盒包含抗原、阴阳性反应对照、滴针、反应板和说明书。

TRUST 的检测原理同 RPR,将 VDRL 抗原结合到作为示踪物质的甲苯胺红染色粒子上,当抗原与样品中的抗体发生凝集反应,肉眼可以观察到红色的凝集颗粒。TRUST 抗原溶液中,含有氯化胆碱和 EDTA 的作用同 RPR。

6 仪器耗材

6.1 微量移液器

6.1.1 基本要求

6.1.1.1 宜使用 50 μL 固定式的微量移液器,吸取血清、血浆和 CSF 样品以及半定量试验中的无菌生理盐水。

6.1.1.2 宜使用微量移液器吸取和滴加抗原,滴加抗原量应符合 6.6.2 和(或)6.6.3 的技术要求。

6.1.2 维护校准

6.1.2.1 应定期对微量移液器进行保养和校准,保存相应记录。

6.1.2.2 可由生产厂商对微量移液器进行校准,并出具报告。

6.1.2.3 可自行制定标准化文件对微量移液器进行比对,最大允许误差应符合 JJG 646—2006。

6.2 水平旋转仪

6.2.1 基本要求

6.2.1.1 水平状态转速符合 100 r/min±2 r/min、或 180 r/min±2 r/min 的要求。

6.2.1.2 时间控制精度符合±1 s/min 的要求。

6.2.1.3 数字化电子控制部件可预设 RPR/TRUST 和 VDRL 试验的固定反应程序。

6.2.1.4 水平样品托盘附有夹槽用于固定反应板,避免在旋转时反应板滑出水平旋转仪。

6.2.1.5 不应使用旋钮式调节装置的水平旋转仪。

6.2.2 维护和校准

6.2.2.1 应定期对水平旋转仪进行保养和校准，保存相应记录。

6.2.2.2 可由生产厂商对水平旋转仪的转速和时间控制进行校准，并出具报告。

6.2.2.3 可自行制定相应的标准化文件，进行日常维护。

6.3 样品采集器

6.3.1 采集血液样品时，宜使用无添加剂或内壁经硅化处理的真空采集器。

6.3.2 含有添加剂（促凝剂、抗凝剂）的真空采集器，使用前应进行抗干扰性能评估（见附录 A 和附录 B）。

6.4 样品容器

6.4.1 宜采用密闭、无菌容器。

6.4.2 CSF 以及分离的血清和血浆样品，可使用玻璃试管、塑料试管、离心管存放。

6.4.3 新鲜全血样品不应直接注入普通塑料试管收集，否则将导致血块收缩不良。

6.5 反应板

6.5.1 VDRL 反应板

6.5.1.1 宜使用专用 VDRL 反应板进行试验，替代反应板应符合 6.5.1.2 和 6.5.1.3 的反应圆圈直径和防溢要求。

6.5.1.2 用于血清样品检测的反应板上有直径 14 mm 的反应圆圈，沿圆圈边缘的胶漆或陶瓷防溢环可防止旋转时液体溢出，反应孔中间透明，便于直接在显微镜下观察。

6.5.1.3 用于 CSF 样品检测的反应板上有直径 16 mm 的反应圆圈，反应孔中间为深度 1.75 mm 凹面，防止旋转时液体溢出。

6.5.2 RPR/TRUST 反应板

6.5.2.1 商品化试剂盒中的反应板上有若干个直径 18 mm 的反应圆圈。

6.5.2.2 沿反应圆圈内侧边缘可呈凹面，防止旋转时液体溢出。

6.6 专用抗原滴针

6.6.1 专用抗原滴针的内外壁宜经硅涂层处理。

6.6.2 用于血清和血浆样品检测时，专用抗原滴针每次滴出的抗原量是 17 μL，或符合 59 滴/mL±1 滴/mL的技术要求。

6.6.3 用于 CSF 样品检测时，专用抗原滴针每次滴出的抗原量是 10 μL，或符合 100 滴/mL±2 滴/mL 的技术要求。

7 样品采集和保存

7.1 采集处理

7.1.1 血清

血清样品适用于 RPR、TRUST、VDRL 的定性试验和半定量试验。采集步骤如下：

a) 用真空采集器（或一次性注射器），抽取 3 mL～5 mL 静脉血液；

b) 待血液凝固、血块收缩后，RCF 1 200 g～1 700 g 离心 15 min；
c) 吸出上层血清，置于合适的容器中保存备用。

7.1.2 血浆

血浆样品适用于 RPR、TRUST 的定性试验。仅限特殊情况下应用(详见 12.6)。采集步骤如下：
a) 用含抗凝剂的真空采集器，抽取 3 mL～5 mL 静脉血液；
b) 当血液升至标示刻度时，立刻轻轻颠倒混匀 8 次～10 次，保证血液与抗凝剂充分混合，没有血液凝块；
c) 静置片刻后，RCF 1 200 g～1 700 g 离心 15 min；
d) 吸出上层血浆，置于合适的容器中保存备用。

7.1.3 CSF

CSF 样品适用于 VDRL 的试验。抽取 CSF 应由具有专业资质人员操作。采集步骤如下：
a) 受检者侧卧于硬质床，两手抱膝紧贴腹部，头向前胸屈曲，使躯干呈弓形，以髂后上棘连线与后正中线的交点为穿刺点，相当于第 3～4 腰椎棘突间隙；
b) 消毒处理后，用 2%利多卡因自皮肤到椎间韧带作局部麻醉；
c) 术者用左手固定穿刺皮肤，右手持穿刺针以垂直背部方向缓缓刺入，针尖稍斜向头部，成人进针深度约 4 cm～6 cm，儿童约 2 cm～4 cm；
d) 当针头穿过韧带与硬脑膜时，有阻力突然消失落空感；
e) 此时可将针芯慢慢抽出，即可见 CSF 流出，分别收集 3 mL～5 mL 于无菌的容器中；
f) 应使用第 1 管 CSF 做微生物培养，第 2 管 CSF 做免疫学和生化检测，第 3 管 CSF 做一般性状和显微镜检查。

7.2 样品检查

原则上不合格样品应予以退回。如属于特殊病例的标本，在与临床医师和护师充分沟通的情况下，可对样品进行初步检测，报告中应注明“样品可能污染，结果仅供参考”。以下样品可干扰检测结果的准确性：
a) 严重溶血和脂血或被其他物品污染的血清、血浆样品；
b) CSF 样品中含有肉眼可见的颗粒物质；
c) CSF 样品肉眼观察呈现粉红色，提示有可能是采集过程中被血液污染(相当于每 1 mL CSF 含有≥3 μL 血液，或含有 4×10^9/L～12×10^9/L 红细胞)。

7.3 保存

7.3.1 血浆或血清样品在 4 h 内检测，可置室温存放；5 个连续工作日内检测，分离样品可置 2 ℃～8 ℃存放；否则应置－20 ℃或更低温度保存。
7.3.2 CSF 样品在 4 h 内检测，可置室温存放；5 个连续工作日内进行检测，样品可置 2 ℃～8 ℃保存，不可冻存。

8 试验操作步骤

8.1 总述

如使用商品化试剂盒，应遵照试剂盒说明书结合所在实验室实际情况编写标准操作程序(SOP)，并经性能验证有效。检测时严格按 SOP 进行操作。

8.2 RPR/TRUST-定性试验

RPR/TRUST 定性试验用于筛查梅毒非特异性抗体。操作步骤如下：

a) 吸取 50 μL 待检血清或血浆样品、对照品、质控品，每个样品置于反应板上的一个圆圈中；

b) 将样品涂布充满整个反应圆圈；

c) 滴加抗原前，试剂瓶沿水平方向旋转，将抗原混匀，用滴针轻缓地反复吹吸数次，直至抗原充分悬浮，吸入滴管；

d) 弃去针管中第 1 滴抗原，从第 2 滴开始向每个样品圈中滴加 1 滴抗原；

e) 滴加抗原后，立刻拿起反应板，倾斜 30°左右旋转数次，让抗原和样品尽快混合；

f) 将卡片置于水平旋转仪上，启动仪器的反应程序(100 r/min，8 min)；

g) 当仪器停止工作后，3 min 之内用肉眼观察结果；

h) 按照 9.1 给出的定性试验反应结果的描述作出判断。

注 1：涂布样品时移液头与卡片的夹角接近 30°，避免移液头划破反应板表面防水涂层。

注 2：本案以专用抗原滴针为例(下同)。混匀抗原悬液时不可剧烈吹吸。保持垂直状态、以自由落体方式滴加抗原。不可使用最后一滴抗原滴加到样品中。针管中的抗原将用尽时，按 8.2c)、8.2d)给出的描述重复操作。

注 3：定性试验呈阳性反应的样品，应将样品连续的倍比稀释后，进行半定量试验。

8.3 RPR/TRUST-半定量试验

RPR/TRUST 半定量试验用于判定梅毒非特异性抗体相对浓度、和(或)排除前带现象。操作步骤如下：

a) 吸取 50 μL 生理盐水，分别加至反应板上数个连续的圆圈中；

b) 吸取 50 μL 待检血清样品(或对照品、或质控品)，与反应板上第 1 个圆圈的生理盐水充分混合，稀释过程中，样品与生理盐水应反复吹吸≥6 次，避免气泡，不可将样品吹出反应圆圈；

c) 吸取第 1 个圆圈中倍比稀释的样品 50 μL，与反应板上第二个圆圈的生理盐水充分混合；

d) 重复吸取前一个圆圈的 50 μL 稀释样品与后一个圆圈中生理盐水混合的操作，至最后一个生理盐水的圆圈充分混合后，吸出 50 μL 的稀释样品，弃用；

e) 从最高稀释度开始往低稀释度方向，逐一将稀释样品均匀地涂满整个圈；

f) 按 8.2c)、8.2d)给出的描述和步骤滴加抗原；

g) 按 8.2e)和 8.2f)给出的描述和步骤启动反应程序的操作；

h) 当仪器停止工作后，3 min 之内用肉眼观察最高稀释度出现 9.1.3 或 9.1.4 反应结果的描述作出判断，以＋或±表示检测结果；

i) 半定量试验应做到最终稀释度。

8.4 VDRL 试验

8.4.1 抗原工作液配制

在试验前应配制 VDRL 抗原的工作液。新鲜配制的抗原工作液检测血清时 8 h 内有效，检测 CSF 时 2 h 内有效。操作步骤如下：

a) 吸取 VDRL 抗原稀释液 0.4 mL，加入容量为 30 mL 的带盖、底部直径 35 mm 的平底玻璃瓶，缓慢倾斜小瓶使 VDRL 抗原缓冲液覆盖整个瓶底；

b) 吸取 VDRL 抗原 0.5 mL，一边平缓地沿水平方向转动玻璃瓶(以 3 r/s 的速度绕 5 cm 的圆周直径旋转)，一边在位于玻璃瓶的上 1/3 处，在 6 s 内连续地将 0.5 mL VDRL 抗原逐滴地流入到抗原缓冲液中；

c) 最后一滴抗原滴出后，再持续转动玻璃瓶 10 s；

d) 吸取抗原稀释液 4.1 mL，沿瓶壁加入(不可直接滴至抗原中)；

e) 盖上瓶盖，10 s 内上下颠倒 30 次，抗原呈均匀悬浮后，即为抗原工作液；

f) 每次试验时平缓地旋转含抗原工作液的小瓶，让抗原均匀悬浮。

8.4.2 VDRL 定性试验-血清样品

VDRL 定性试验用于筛查血清中梅毒非特异性抗体。少数境外患者在初诊时采用 VDRL 试验，入境后进行疗效随访时宜采用 VDRL 进行血清样品的试验。操作步骤如下：

a) 血清样品应灭活处理(56 ℃，30 min)，灭活后的血清样品超过 4 h 检测，应在试验前重新快速灭活处理(56 ℃，10 min)；

b) 吸取 50 μL 血清，在专用反应板上均匀地涂满整个反应圆圈；

c) 按 8.2c)、8.2d)给出的描述和步骤滴加抗原；

d) 将反应板固定在水平旋转仪上，启动仪器的反应程序(180 r/min，4 min)；

e) 当仪器停止工作后，5 min 内在显微镜下观察凝集状态(10 倍目镜，10 倍物镜)；

f) 按照 9.1 给出的定性试验反应结果的描述作出判断。

8.4.3 VDRL 半定量试验-血清样品

半定量试验用于判定血清中梅毒非特异性抗体相对浓度、和(或)排除前带现象。操作步骤如下：

a) 按 8.4.2a)处理血清样品；

b) 按照 8.3a)、8.3b)、8.3c)、8.3d)和 8.3e)给出的步骤稀释样品；

c) 按 8.2c)、8.2d)给出的描述和步骤滴加抗原；

d) 将反应板固定在水平旋转仪上，启动仪器的反应程序(180 r/min，4 min)；

e) 当仪器停止工作后，5 min 之内在显微镜下观察最高稀释度出现 9.1.3 或 9.1.4 反应结果的描述作出判断，以＋或±表示检测结果。

8.4.4 VDRL 定性试验-CSF 样品

VDRL 定性试验用于筛查 CSF 中梅毒非特异性抗体。CSF 样品不需灭活处理。操作步骤如下：

a) 吸取 50 μL CSF，注入专用反应板(CSF)上的反应圆圈；

b) 按 8.2c)、8.2d)给出的描述和步骤滴加抗原；

c) 将反应板固定在水平旋转仪上，启动仪器的反应程序(180 r/min，8 min)；

d) 当仪器停止工作后，5 min 内在显微镜下观察凝集状态(10 倍目镜，10 倍物镜)；

e) 按照 9.1 给出的定性试验反应结果的描述作出判断。

8.4.5 VDRL 半定量试验-CSF 样品

半定量试验用于判定 CSF 中梅毒非特异性抗体相对浓度、和/或排除前带现象。操作步骤如下：

a) 按 8.3a)、8.3b)、8.3c)、8.3d)和 8.3e)给出的步骤稀释样品；

b) 按 8.2c)、8.2d)给出的描述和步骤滴加抗原；

c) 将反应板固定在水平旋转仪上，启动仪器的反应程序(180 r/min，8 min)；

d) 当仪器停止工作后，5 min 之内在显微镜下观察最高稀释度出现 9.1.3 或 9.1.4 反应结果的描述作出判断，以＋或±表示检测结果。

9 结果描述和表示

9.1 定性试验

9.1.1 强阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）显见团块状的絮状凝集物，悬液背景清亮。以“＋＋＋”或“＋＋＋＋”格式表示；

9.1.2 阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）显见比较小的絮状凝集物，悬液背景较清亮。以“＋＋”格式表示；

9.1.3 弱阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）可辨细小散在的絮状凝集物，悬液背景浑浊。以“＋”格式表示；

9.1.4 临界阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）可辨较粗糙的抗原颗粒，悬液背景浑浊。以“±”格式表示；

9.1.5 阴性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）抗原颗粒均匀分布。以“－”或“阴性”格式表示。

9.2 半定量试验

呈现弱阳性反应或临界阳性反应的最高稀释倍数，为半定量试验的滴度。以 1∶X＋或 1∶X±格式表示（其中 X 为稀释倍数值）。

9.3 报告格式

9.3.1 阴性反应的检测报告

应有“试验方法”（如 RPR 或 TRUST 或 VDRL）和“结果表示”两部分组成。

示例：VDRL -（阴性）

注：原始样品定性试验符合 9.1.5 给出的细节。提示：阴性反应。

9.3.2 阳性反应的检测报告

除了试验方法外，还应有“定性”（原倍）和“半定量”（滴度）结果共 3 个部分组成。

示例 1：RPR＋＋＋＋，1∶64＋

示例 2：TRUST－，1∶256＋

注 1：原始样品定性试验符合 9.1.1 给出的细节；半定量试验中，经过连续稀释至 1∶128 符合 9.1.5 给出的细节，而 1∶64 符合 9.1.3 给出的细节。提示：定性试验强阳性反应，无前带现象，呈高滴度状态，半定量试验已经至最终稀释度。

注 2：原始样品定性试验符合 9.1.5 给出的细节；半定量试验中，经过连续稀释至 1∶512 符合 9.1.5 给出的细节，而 1∶256 符合 9.1.3 给出的细节。提示：定性试验有前带现象，呈高滴度状态，半定量试验已经至最终稀释度。

10 质量控制

10.1 基本要求

10.1.1 试验温度

10.1.1.1 试验区域温度宜在 18 ℃～29 ℃之间。

10.1.1.2 所有从低温环境下取出的标本、试剂、对照品、质控品等，应放置在室温至少 30 min 才可以进行试验。

10.1.1.3 过低的环境温度可增加假阳性。

10.1.2 生物安全

本文件涉及传染性生物样品，应注意生物安全防护。

10.1.3 隐私保护

本文件涉及性传播感染，应保护患者信息和试验结果等个人隐私。

10.1.4 技术人员

10.1.4.1 技术人员应有医学检验专业教育背景，上岗前应获得性病实验技术的培训资格证，在岗期间应定期参加专业知识的复训。

10.1.4.2 在岗人员应定期进行能力测试。

10.1.4.3 对缺乏经验的技术人员，可将高滴度的样品进行连续稀释，观察每个反应圆圈中的抗原抗体凝集状态，根据 9.1 给出的细节，掌握辨别弱阳性结果的能力。

10.2 对照品

10.2.1 对照品应随试剂盒保存，不可冻存。

10.2.2 不同试剂盒中的对照品不可混用。

10.2.3 对照品不可作为监测检测质量稳定性的质控品。

10.2.4 应记录每次对照品的检测结果，并保存记录。

10.2.5 每一次试验时，应随待检样品同步检测阳性反应和阴性反应的 2 种对照品。

10.2.6 对照品检测符合预期结果，说明本次检测有效。

10.2.7 对照品检测不符合预期结果，说明本次检测无效，应进行重复检测。

10.2.8 如重复检测仍然不符合预期结果，提示该试剂盒失效，应更换新试剂盒。

10.3 质控品

10.3.1 质控品为已知阳性反应的血清制品。有适当敏感度、明确的指定值(半定量试验时滴度通常为 1∶8)。性状的稳定期应≥1 年。

10.3.2 每一个批次的质控品，至少可满足一年的检测用量，应置于螺口带密封胶圈的冻存管中－20 ℃或更低温度保存。每一支分装保存体积≥500 μL。

10.3.3 连续 5 个工作日内使用的质控品，应置于 2 ℃～8 ℃保存，避免反复冻融。

10.3.4 应记录每次实验时质控品的指定值、批号、生产日期、失效日期、当日检测结果，并保存记录。

10.3.5 每个工作日至少一次，随待检样品、对照品同步检测质控品。

10.3.6 质控品的检测符合预期结果，表明检测系统受控，检测有效。可发送临床样品检测报告。

10.3.7 质控品的检测不符合预期结果，本次检测失控。不可发送临床样品检测报告。查找整个检测系统的试剂、技术和管理等的失控原因。纠正失控后，可发送报告。

10.4 反应板

10.4.1 VDRL 专用反应板重复使用前应洁净处理。

10.4.2 反应板正面是样品的反应区，避免直接接触和污染。

10.4.3 RPR/TRUST 试剂盒打开后，纸质反应板应保存在干燥的室温下，不可置于冰箱保存。

10.4.4 纸质反应板表面覆盖塑料涂层有适当的表面张力。即液体在反应圆圈内既不会自由流动，也不会呈荷叶上露滴状。如发生不能均匀地涂布样品到整个圆圈，应更换反应板。

10.4.5 反应板应整体平坦，储藏和检测时不会凸起或凹陷。

10.5 专用滴针

10.5.1 初次使用的专用滴针，应检查是否符合 6.6.2 和 6.6.3 给出的要求。保存检查记录。

10.5.2 当日检测完成后，宜用蒸馏水或去离子水冲洗针管。不要擦拭针头，这样会磨损硅涂层，可能影响滴加抗原的准确性。

10.5.3 每 6 个月更换专用滴针。

10.6 结果判定

10.6.1 使用纸质反应板替代玻璃片进行 VDRL 试验时，反应结束后吸取反应液置载玻片上，覆上盖玻片，在显微镜下观察。

10.6.2 应在明亮的光线下，肉眼观察 RPR/TRUST 结果。不可使用显微镜观察。

10.6.3 少数样品在检测后发现反应圆圈的周边均匀悬浮着细小颗粒凝集，而中心部位呈现阴性反应。可手持反应板倾斜 30°，轻轻地转动数次，可帮助识别临界阳性反应的结果。

10.6.4 临床诊断提示早期梅毒/或疑似早期梅毒病例的样品，即使定性试验呈阴性反应，也应将样品稀释到 1∶16 进行半定量试验。通过半定量试验来排除前带现象。

10.6.5 当判断为前带现象时，应进一步稀释样品进行检测，报告最终滴度。有前带现象的患者，免疫应答系统机制更容易发生贾-赫氏反应(Jarisch-Herxheimer reaction)，检测报告中应包含前带现象的信息(按 9.3.2 给出的规定)，有利于临床医生采取适当措施来降低诊疗风险。

10.6.6 当无前带现象时，报告中应注明已经过 1∶16 稀释，呈阴性反应。

10.7 室内质量控制和室间质量评价

10.7.1 应开展梅毒血清学的室内质控。

10.7.2 应每年至少 2 次参加由专业管理机构组织的室室间质量评价活动。

10.7.3 定性试验的检测结果与预期值一致，为合格。半定量试验的检测结果≤±1 滴度预期值的范围，为合格。

11 临床意义

11.1 辅助诊断

11.1.1 梅毒螺旋体感染后，人体会产生抗类脂质物质的抗体。梅毒非特异性抗体检测呈阳性反应，与活动性梅毒有关，是判断“现症感染”的指标。应结合梅毒特异性抗体检测结果可确诊梅毒。

11.1.2 超过 10 %的静脉药瘾者的滴度＞1∶8，部分早期梅毒和潜伏梅毒的滴度＜1∶8。低滴度值不可用于排除假阳性反应。

11.1.3 VDRL 是唯一诊断神经梅毒的标准方法，对 CSF 有较高的特异性。呈阳性反应的患者，可结合流行病资料和临床表现诊断神经梅毒。

11.1.4 VDRL/RPR/TRUST 有如下结果，可作为判断先天梅毒的参考依据：

—— 新生儿的血清、CSF 中梅毒非特异性抗体水平高于同期母亲 2 个滴度；

—— 新生儿 CSF-VDRL 呈阳性反应；

—— 出生后 3 个月内，与初期的血清、CSF 中梅毒非特异性抗体水平增加 2 个滴度。

11.2 疗效监测

11.2.1 对监测治疗效果的病例，应采用与初次检测相同的方法和试剂。

11.2.2 应掌握初诊时患者的定性和半定量试验的基础数据，将每次随访的定性和半定量试验结果，分别与前一次和/或初诊时的滴度水平进行动态的比较，给予临床最佳解释。

11.2.3 在连续的疗效监测过程中，抗体滴度水平和变化趋势有着不同的临床意义：

—— 抗体下降≥2 个滴度（例：从 1∶64 下降至 1∶16，4 倍），判断治疗有效。

—— 抗体下降≥2 个滴度，并且连续 2 个监测周期的定性试验呈阴性反应，判断治愈。

—— 抗体滴度下降＜2 个稀释度，或上升＜2 个稀释度，在排除重新感染和实验室技术性误差的情况下，继续随访监测。

—— 抗体上升≥2 个滴度（例：从 1∶16 上升至 1∶64，4 倍），或定性试验从阴性反应转变成阳性反应，应结合流行病学史和临床体征，可判断复发、或再感染、或治疗失败。

12 局限性

12.1 概述

虽然 VDRL、RPR、TRUST 的检测原理基本相同，但因采用的抗原原料和生产工艺的不同，各种方法和试剂之间可能存在一定范围的敏感性和特异性的系统性差异。任何 2 种方法的定性和半定量结果，相互间不可直接比较。当采用梅毒非特异性抗体作梅毒筛查用途时，应选择敏感性高的方法或试剂。

12.2 假阳性反应

12.2.1 个别品牌真空采血管中含有的添加剂成分，可干扰检测结果引起假阳性反应。

12.2.2 与梅毒感染无关的其他因素，如急性和慢性疾病、自然组织损伤等，梅毒非特异性抗体试验也可呈阳性反应。常见的疾病因素有系统性红斑狼疮、麻风病、疟疾、传染性单核细胞增多症、病毒性肝炎、肿瘤、其他螺旋体疾病等可引起假阳性反应。常见的生理性因素有孕妇、老年人群可发生假阳性反应。

12.3 假阴性反应

12.3.1 感染梅毒螺旋体后，机体免疫应答需要一定过程，抗类脂质的抗体浓度尚处于实验方法的检测限之下，称为窗口期。可发生假阴性反应。

12.3.2 少数早期梅毒和神经梅毒以及部分晚期梅毒，可发生定性试验假阴性反应。

12.4 前带现象

部分早期梅毒（1%～2%二期梅毒、0.5%～1%一期梅毒）的样品可出现前带现象。

12.5 血清固定

部分晚期潜伏梅毒、少数其他病程的样品可发生血清固定现象。

12.6 血浆样品

12.6.1 血浆中的抗体浓度显著高于血清，同一个患者血清与血浆的检测结果不可直接比较。

12.6.2 用血浆进行检测时，应在样品类型中注明“血浆”。

12.6.3 血浆样品不可做 VDRL 试验。

12.6.4 仅在特殊情况下，用 RPR/TRUST 检测血浆样品。如：血库、无离心机的实验室、无法获得血清样品的状况。

附 录 A
（规范性附录）
抗干扰性能初步评估

A.1 干扰物质可能来自内源或外源物质。常见的异常标本（例如溶血、黄疸及脂血）、标本处理过程中的添加物（例如抗凝剂、促凝剂）、采集及处理过程中接触标本的物质（例如标本收集容器及塞子）。

A.2 向真空采集器生产商，了解添加剂的成分及其对检验项目的抗干扰性能。主要添加剂成分不明确的真空采集器，应谨慎选择。

A.3 向梅毒非特异性抗体检测的试剂盒生产商，了解对常见干扰物质的抗干扰性能。

A.4 从国家和地区质量控制管理部门，获得试剂盒、真空采集器抗干扰试验的质量评估信息。

附 录 B
（规范性附录）
抗干扰性能评估——验证厂家声明

B.1 基本要求

B.1.1 应使用新鲜样品进行抗干扰性能评估。

B.1.2 应选择具有溯源性的干扰物质标准物质，进行抗干扰性能评估。包括：游离型胆红素（Bil.F）、结合型胆红素（Bil.C）、溶血素（Hb）和乳糜微粒（CM）。

B.2 验证真空采集器的抗干扰能力

B.2.1 选择 10 例健康人和 10 例不同病程的梅毒病例。梅毒病例应包含 3 份临界水平、3 份低滴度、4 份高滴度的样品。

B.2.2 使用 1 种无添加剂的洁净玻璃管作对照。

B.2.3 拟选真空采集器和对照管同时采集一个受检者静脉血，分离血清或血浆。

B.2.4 分别进行梅毒非特异性抗体检测的定性和半定量试验。

B.2.5 比较检测结果差异情况，判断真空采集器的抗干扰能力。

B.3 验证试剂的抗干扰能力

B.3.1 选择被评估试剂。

B.3.2 样品选择符合 B.2.1 规定。

B.3.3 静脉抽血，分离血清或者血浆备用。

B.3.4 干扰物质的标准物质复溶后，按照最高生理浓度水平，与待检的血清或血浆样品混合。

B.3.5 对添加干扰物质前后的血清或血浆样品，分别进行定性和半定量试验。

B.3.6 比较同一个受检者，添加干扰物质前后的样品，检测结果的差异情况。

B.3.7 综合判断该试剂抗干扰物质的能力。

B.4 判断标准

B.4.1 以对照管的检测结果为标准，含添加剂的真空采集器的样品，梅毒非特异性抗体的定性试验无相反的结果；半定量试验的结果≤±1 滴度。判断真空采集器具有抗干扰能力。

B.4.2 以不加干扰物质的原始样品的结果为标准，含干扰物质的血清或血浆的样品，梅毒非特异性抗体的定性试验无相反的结果；半定量试验的结果≤±1 滴度。判断该试剂具有抗干扰能力。

参 考 文 献

[1] 顾伟鸣，杨阳，吴磊，等.梅毒血清学试剂性能评估方案的优化及应用.医学检验，2014 29(11)：1169-1174

[2] 杨阳，吴磊，顾伟鸣，等.梅毒非特异性类脂质反应素抗体试验标准操作程序的建立及应用评价.中华皮肤科杂志，2011，44(5)：336-338

[3] 杨阳，顾伟鸣，金月兰，等.上海市梅毒血清学实验室室间质量评价.检验医学，2009，24(12)：922-926

[4] 顾伟鸣，杨阳，金月兰，等.梅毒血清学检测质量亟需提高.中华皮肤科杂志，2009，42(5)：50-51

[5] 王治国，王薇，李娅，等.临床检验方法确认与性能验证.北京：人民卫生出版社，2009：340-348

[6] 顾伟鸣，赵根明，杨阳，等.先天梅毒患儿的血清学随访.中华传染病杂志，2007，25(2)：117-119

[7] 尹跃平.性传播疾病实验室诊断指南.上海：上海科学技术出版社，2007：7-8

[8] 王千秋，张国成.性传播疾病临床诊断指南.上海：上海科学技术出版社，2007：2-16

[9] 体外诊断试剂注册管理办法(试行).国食药监械[2007]229 号

[10] Gu Wei-Ming，Yang Yang，Wu Lei，et al.Comparing the Performance Characteristics of CSF-TRUST and CSF-VDRL for Syphilis：A Cross-sectional Study.BMJ Open.2013.3(2)：1-5

[11] Gu Wei-Ming，Yang Yang，Qinzhong Wang，et al.Comparing performance of traditional non-treponemal tests on syphilis and non-syphilis serum samples.International Journal of STD & AIDS.2013，24(12)：919-25

[12] Alexander S.H.，Khalil G.G.The performance of cerebrospinal fluid treponemal-specific antibody tests in neurosyphilis：A systematic review.Sexually Transmitted Diseases.2012，39(4)：291-297

[13] Tom Wong，editor.Section 3-laboratory diagnosis of sexually transmitted infections in canadian guidelines on sexually transmitted infections.Revised：January 2010，syphilis

[14] Workowski K.A.，Bauer H.，Bachman L.，et al.Sexually transmitted diseases treatment guidelines，2010.Morbidity and mortality weekly report.Recommendations and reports.2010，59(RR-12)：1-110

[15] Castro R.，Prieto E.S.，da Luz Martins Pereira F..Nontreponemal tests in the diagnosis of neurosyphilis：An evaluation of the Venereal Disease Research Laboratory(VDRL)and the Rapid Plasma Reagin(RPR)Tests.Journal of Clinical Laboratory Analysis.2008，22(4)：257-261

[16] Patrick R.M，Ellen J.B.，James H.J.，Marie L.L.，Michael A.P.editors.Chapter：Treponema and Other Human Host-Associated Spirochetes.Manual of clinical microbiology，9th edition，Washington D.C.American society for microbiology.2007：987-1003

[17] Larsen S.A.，Steiner B.M.，Rudolph A.H..Laboratory Diagnosis and Interpretation of tests for Syphilis.Clinical microbiology reviews.1995，8(1)：1-21

[18] Geusau A.，Kittler H.，Hein U.，et al.Biological false-positive tests comprise a high proportion of Venereal Disease Research Laboratory reactions in an analysis of 300，000 sera.International Journal of STD & AIDS.2005，16(11)：722-726