

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 491—2024
代替 WS/T 491—2016

梅毒非特异性抗体检测指南

Guideline of non-treponemal tests for syphilis

2024 - 05 - 09 发布

2024 - 11 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

目 次

前言	II
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 检测原理与方法	2
6 标本采集和处理	2
7 仪器和器材	3
8 实验操作步骤	5
9 结果描述和表示	7
10 质量控制	8
11 临床意义	10
12 局限性	12
附录 A（规范性） 抗干扰性能初步评估	13
附录 B（规范性） 抗干扰性能评估—验证厂家声明	14
附录 C（规范性） 水平旋转仪关键技术参数	15
参考文献	16

前 言

本标准为您推荐性标准。

本标准代替WS/T 491—2016《梅毒非特异性抗体检测操作指南》。与WS/T 491—2016相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 增加了规范性引用文件（见第2章）；
- 增加了术语和定义中“前带现象”和“贾-赫反应”（见3.1和3.2）；
- 增加了水平旋转仪中“固定反应程序”（见7.1.1.3）；
- 增加了实验操作步骤中“脑脊液标本的检测”（见8.3.4和8.3.5）；
- 增加了报告格式概述、质量控制概述（见9.3和10）；
- 增加了临床意义中“检测策略”（见11.1）；
- 增加了附录C水平旋转仪关键技术参数等（见附录C）；
- 更改了标本采集和标本处理的部分条款（见第6章，见2016年版的第7章）；
- 删除了缩略语中转速条款（见2016年版的第4章）。

本标准由国家卫生健康标准委员会临床检验标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由国家卫生健康委医疗管理服务指导中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委员会医政司负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：上海市皮肤病医院、复旦大学附属中山医院、厦门大学附属中山医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院、上海市临床检验中心、四川大学华西医院、中国人民解放军空军军医大学附属第一医院、中国疾病预防控制中心性病控制中心、北京大学第一医院、中国医科大学附属第一医院。

本标准主要起草人：顾伟鸣、郭玮、杨天赐、孙自镛、王庆忠、陶传敏、刘家云、尹跃平、冯珍如、赵敏。

本标准于2016年首次发布，本次为第一次修订。

梅毒非特异性抗体检测指南

1 范围

本标准规定了梅毒非特异性抗体检测的技术要求。
本标准适用于开展梅毒非特异性抗体检测的相关机构。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB/T 22576.1—2018 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分：通用要求

GB/T 22576.5 医学实验室 质量和能力的要求 第5部分：临床免疫学检验领域的要求

WS/T 661 静脉血液标本采集指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准

3.1

前带现象 prozone phenomenon

前带现象是一种抗原-抗体免疫反应现象。患者血清中存在高浓度的抗体时，检测时血清标本中的抗体量显著多于抗原量，抗原抗体量的比例不合适，所形成的免疫复合物反而减少，不出现凝集或者凝集反应减弱的假阴性。当血清稀释后再检测呈现高滴度阳性结果的现象。

注1：部分现症患者的梅毒非特异性抗体检测可发生前带现象。梅毒患者有特征性的临床表现，其血清标本的定性实验可显示阴性反应或弱凝集反应，血清经过梯度倍比稀释后，半定量实验的凝集反应由弱到强，再逐步减弱。

注2：1%~2%二期梅毒、0.5%~1%一期梅毒、少数晚期梅毒患者的梅毒非特异性实验可出现前带现象。

3.2

贾-赫反应 Jarisch-Herxheimer reaction

贾-赫反应指在第一次抗梅毒治疗后24 h内，其症状反应加重。这是由于抗梅毒药物杀灭了梅毒螺旋体，而释放大量异种蛋白及内毒素，被患者吸收后在病损处或体内发生加剧症状的反应。

注：存在前带现象的患者，在首次治疗时更容易发生贾-赫反应。导致医疗风险。

3.3

血清固定 serofast

血清固定指患者经过规范抗梅毒治疗和一定时间的随访，其梅毒非特异性抗体水平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：1. 流行病学病史和临床表现排除复发、再感染；2. 经过抗梅毒治疗后，连续2个随访周期（≥6月），患者血清抗体波动在±1滴度范围之内的低滴度水平（一般滴度≤1:8）。即变化趋势不明显；3. 无实验室的技术性和方法学误差。

注2：晚期梅毒患者的血清固定发生率35.2%至44.4%。个别患者可终生血清固定。

4 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

VDRL: 性病研究实验室实验 (Venereal Disease Research Laboratory test)
 RPR: 快速血浆反应素环状卡片实验 (Rapid Plasma Reagin Circle Card test)
 EDTA: 乙二胺四乙酸 (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)
 TRUST: 甲苯胺红不加热血清实验 (Toluidine Red Unheated Serum test)
 RCF: 相对离心率 (Relative Centrifugal Force)
 CSF: 脑脊液 (Cerebrospinal Fluid)
 r/min: 每分钟转速 (Revolutions Per Minute)
 s/min: 每分钟秒 (Seconds Per Minute)
 SOP: 标准操作程序 (Standard Operating Procedure)

5 检测原理与方法

5.1 原理

宿主感染梅毒螺旋体后, 被损害的宿主细胞及梅毒螺旋体本身释放的类脂物质, 引起宿主产生IgM和IgG等抗类脂质抗体。这类抗体在体外与含心磷脂、卵磷脂和胆固醇的抗原溶液发生反应, 产生絮状凝集现象, 凝集的强弱程度与抗体浓度成正相关, 在一定程度上反映梅毒螺旋体感染宿主的免疫活动状态。

5.2 方法

5.2.1 VDRL

商品化试剂盒包含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(中性)水溶液、磷酸氢二钠和磷酸二氢钾的磷酸盐溶液, pH=6.0±0.1。用缓冲液新鲜配制的VDRL抗原工作液与标本中的抗体发生反应, 在显微镜下可观察到絮状凝集。

5.2.2 RPR

商品化试剂盒包含抗原、阴性对照品、阳性对照品、抗原滴针、反应板和说明书。

RPR是一种改良的VDRL实验, 将VDRL抗原结合到作为示踪物质的炭颗粒上, 当抗原与标本中的抗体发生反应, 产生肉眼可观察到的黑色絮状凝集。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、阴性对照品、阳性对照品、抗原滴针、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料颗粒上, 当抗原与标本中的抗体发生反应, 产生肉眼可观察到的红色絮状凝集。TRUST抗原溶液中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。

6 标本采集和处理

6.1 标本采集器和容器

6.1.1 采集血液标本时, 宜使用无添加剂或内壁经硅化处理的真空采集器。

6.1.2 含有添加剂(促凝剂、抗凝剂)的真空采集器, 应在使用前进行抗干扰性能评估(见本标准附录A和附录B)。

6.1.3 采集新鲜全血标本时, 不应直接注入普通塑料试管, 以免血块收缩不良。

6.1.4 宜使用洁净、带盖(帽/塞)的玻璃试管收集CSF。

6.2 静脉血液采集

6.2.1 静脉血液标本的采集和处理参照 WS/T 661 的要求进行。

6.2.2 非抗凝全血标本在自然凝固、血块充分收缩后，经过低速离心，直接吸取血清进行定性和半定量实验。

6.2.3 抗凝全血标本在充分混匀后经过低速离心，直接吸取血浆进行定性实验。

注：血清和血浆标本采用 RCF 1200 g 至 1700 g 离心 15 分钟。

6.3 CSF 采集

6.3.1 CSF 采集遵从临床诊疗操作规范。

6.3.2 通常每次 CSF 采集分段收集 2~3 管。宜使用第二管 CSF 标本，离心后取上清进行定性和半定量实验。

注：CSF 标本采用 RCF 1200 g 至 1700 g 离心 15 分钟。

6.4 标本验收

原则上不合格标本应予以退回。如标本不可代替，在与临床医师和护师充分沟通的情况下让步检验，报告中应注明“标本不合格，结果仅供参考”。以下标本状态可干扰检测结果的准确性：

- a) 静脉血液标本出现严重溶血或脂血；
- b) CSF 标本出现肉眼可见颗粒物质；
- c) CSF 标本呈现肉眼可辨粉红色，提示标本在采集过程中可能被血液污染（相当于每 1 mL CSF 含有 $\geq 3 \mu\text{L}$ 血液，或含有红细胞 4×10^9 个/L $\sim 12 \times 10^9$ 个/L）。

6.5 标本保存

6.5.1 血清、血浆和 CSF 标本应保存在带盖试管或其他密闭容器中，以防止外源性污染、蒸发和泄漏。

6.5.2 血清和血浆标本在 4 h 内检测可置室温存放；如 8 h 至 48 h 检测应置于 $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存；预计超过 48 h 检测应置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存。标本冻融不宜超过 3 次。

6.5.3 CSF 标本在 4 h 内检测，可置室温存放；5 个连续检测日内进行检测应置 $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。CSF 不应冻存。

注：冻存 CSF 标本用于 VDRL 实验会降低检测敏感性。冻存 CSF 标本用于 RPR/TRUST 实验对结果的影响不明确，需要更多的循证依据。

7 仪器和器材

7.1 水平旋转仪

7.1.1 基本要求

7.1.1.1 水平状态转速精度符合 $100 \pm 2\text{ r/min}$ 或 $180 \pm 2\text{ r/min}$ 。

7.1.1.2 时间控制精度符合 $\pm 1\text{ s/min}$ 的要求。

7.1.1.3 电子控制部件可预设实验的固定反应程序。

常用固定反应程序如下：

- a) VDRL-血清标本的反应程序：转速 $180 \pm 2\text{ r/min}$ ；时间 $4\text{ min} \pm 4\text{ s}$ ；
- b) VDRL-CSF 标本的反应程序：转速 $180 \pm 2\text{ r/min}$ ；时间 $8\text{ min} \pm 8\text{ s}$ ；
- c) RPR/TRUST 反应程序：转速 $100 \pm 2\text{ r/min}$ ；时间 $8\text{ min} \pm 8\text{ s}$ 。

7.1.1.4 水平旋转仪具有数显倒计时和蜂鸣的双重提醒功能。

注1：水平旋转仪技术参数应符合本标准附录C的规范。

注2：不应使用旋钮式调节装置的水平旋转仪。

注3：不应使用微量振荡器/仪代替水平旋转仪。

7.1.2 维护和校准

7.1.2.1 每年至少一次对水平旋转仪进行校准，并做好日常保养和维护，保存相应记录。最大允许误差符合本标准第7.1.1条要求。

7.1.2.2 可自行制定程序化文件进行日常维护和比对，并保存相关记录。

7.2 反应板

7.2.1 RPR/TRUST 反应板

7.2.1.1 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。

7.2.1.2 沿反应圆圈内侧边缘呈凹面，防止旋转时液体溢出。

7.2.2 VDRL 反应板

7.2.2.1 宜使用专用VDRL反应板进行实验。

7.2.2.2 用于血清标本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。

7.2.2.3 用于CSF标本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，反应孔中间透明，便于直接在显微镜下观察。

7.2.2.4 使用纸质反应板代替玻璃板进行VDRL实验时，反应结束后吸取反应液体置载玻片上，覆上盖玻片，在显微镜下观察。

7.3 微量移液器

7.3.1 基本要求

7.3.1.1 梅毒非特异性抗体实验的准确性依赖于抗原滴加量的精度。当试剂盒配套的抗原滴针不符合量值标化要求时，宜使用微量移液器。

7.3.1.2 宜使用50 μ L固定式微量移液器，吸取血清、血浆、CSF和无菌生理盐水。

7.3.1.3 宜使用微量移液器吸取和滴加抗原，滴加抗原量应符合本标准第7.4.2条至第7.4.5条的技术要求。

7.3.1.4 宜使用精准适配微量移液器的聚丙烯材料移液吸头，确保良好的密封性；吸头表面光滑，标本残留少，确保质量一致性和结果的重复性。

7.3.2 维护和校准

7.3.2.1 每年至少一次对微量移液器的使用量程进行校准，并做好日常维护和保养。

7.3.2.2 可由具有资质的实验室人员按照程序化文件对微量移液器进行内部比对，并保存相关记录。

7.4 抗原滴针

7.4.1 可采用经过校准的抗原滴针进行实验。

7.4.2 RPR/TRUST实验用于血清/血浆检测时，滴针的每滴抗原量是17 μ L，或符合 59 ± 1 滴/mL的技术要求。

7.4.3 RPR/TRUST实验用于CSF检测时，滴针的每滴抗原量是10 μ L，或符合 100 ± 2 滴/mL的技术要求。

7.4.4 VDRL 实验用于血清检测时，滴针的每滴抗原量是 17 μL ，或符合 59 ± 1 滴/mL 的技术要求。

7.4.5 VDRL 实验用于 CSF 检测时，滴针的每滴抗原量是 10 μL ，或符合 100 ± 2 滴/mL 的技术要求。

8 实验操作步骤

8.1 概述

应遵照本标准和商品试剂盒说明书，编写 SOP，并验证检测性能有效。检测时严格按 SOP 进行操作。所有实验都应在反应板上做好唯一性标记。

8.2 RPR/TRUST 实验

8.2.1 定性实验-血清/血浆/CSF 标本

RPR/TRUST 定性实验用于梅毒非特异性抗体的检测。操作步骤如下：

- 吸取 50 μL 待检血清/血浆/CSF 标本、对照品或质控物，每个标本置于直径 18 mm 反应板上的一个圆圈内；
- 将标本均匀涂布于整个反应圆圈内；
- 滴加抗原前，轻轻颠倒确保抗原混匀，再用滴针轻缓地吹吸数次，直至抗原充分悬浮，吸入滴管；
- 弃去针管中第一滴抗原，从第二滴开始向每个标本圈中滴加 1 滴抗原（血清和血浆标本加 17 μL 抗原；CSF 标本加 10 μL 抗原）；
- 滴加抗原后，立刻将反应板倾斜 30° 左右旋转数周，使抗原和标本快速混合；
- 将反应板固定在水平旋转仪夹槽内，一键启动仪器的反应程序（100 r/min，8 min）；
- 当仪器停止工作后，3 min 内肉眼观察结果；
- 按本标准第 9.1 条给出的定性实验反应结果的描述作出判断。

注1：涂布标本时移液吸头与反应板的夹角接近 30° ，避免吸头划破反应板表面防水涂层。

注2：混匀抗原悬液时勿剧烈吹吸。保持垂直状态，以自由落体方式滴加抗原。勿使用滴针内的第一滴和最后一滴抗原。针管中的抗原余量不足时，按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述重复操作。

注3：实验反应结束应立刻观察。否则液体蒸发后会严重影响结果判读。

注4：定性实验呈阳性反应时，应将标本进行梯度倍比稀释后，进行半定量实验。

注5：大样本比对实验显示：采用 RPR/TRUST-血清相同的实验程序用于 CSF 检测时，RPR/TRUST-CSF 与 VDRL-CSF 检测结果的符合率为 97%。在无法获得 VDRL 试剂或该试剂没有获得国家药品监督管理局注册证的情况下，可采用 RPR/TRUST 代替 VDRL 用于 CSF 检测。

8.2.2 半定量实验-血清/CSF 标本

RPR/TRUST 半定量实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：

- 吸取 50 μL 生理盐水，分别加至直径 18 mm 反应板上数个连续的圆圈内；
- 吸取 50 μL 待检血清/CSF 标本、对照品、质控物，与反应板上第一个圆圈内的生理盐水充分混合，稀释过程中，标本与生理盐水应反复吹吸混匀 ≥ 6 次，避免产生气泡，不应将标本吹出反应圆圈；
- 吸取第一个圆圈中倍比稀释的标本 50 μL ，与反应板上第二个圆圈内的生理盐水充分混合；
- 重复吸取前一个圆圈的 50 μL 稀释标本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 的稀释标本，弃去；
- 从高稀释度往低稀释度方向，逐一将稀释标本均匀地涂满整个圆圈；
- 按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述和步骤滴加抗原（血清标本加 17 μL 抗原；CSF 标本加 10 μL 抗原）；
- 按本标准第 8.2.1e) 项和第 8.2.1f) 项给出的描述和步骤启动反应程序；
- 当仪器停止工作后，3 min 内肉眼观察出现凝集反应。对最高稀释度凝聚反应圆圈的检测结果，以“+”或“±”表示（即本标准第 9.1.3 条或第 9.1.4 条反应结果的描述）。

注1：半定量实验应做到呈现阳性反应的最终稀释度。

注2：半定量实验第一圆圈的标本滴度为1:2；第二圆圈的标本滴度为1:4；以此类推。

注1：血浆标本不适合半定量实验。

8.3 VDRL 实验

8.3.1 配制抗原工作液

在实验前应新鲜配制VDRL抗原工作液。操作步骤如下：

- 配制抗原工作液前应测定抗原缓冲液的酸碱度，确保 $\text{pH}=6.0\pm 0.1$ ；
- 吸取 VDRL 抗原缓冲液 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；
- 吸取 VDRL 抗原 0.5 mL，一边平缓地沿水平方向转动玻璃瓶（以 180 r/min 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 抗原逐滴滴加到抗原缓冲液中；
- 最后一滴抗原滴加后，再持续转动玻璃瓶 10 s；
- 吸取抗原缓冲液 4.1 mL，沿瓶壁加入（不应直接滴至抗原中）；
- 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；
- 每次实验时平缓地旋转含抗原工作液的小瓶，让抗原均匀悬浮。

注：新鲜配制的抗原工作液用于血清检测时 8 h 内有效，用于 CSF 检测时 2 h 内有效。

8.3.2 VDRL 定性实验—血清标本

VDRL 定性实验对血清检测梅毒非特异性抗体时，操作步骤如下：

- 血清标本应灭活处理（56 °C, 30 min）。若已经做灭活处理的血清标本超过 4 h 检测，应在实验前重新快速灭活处理（56 °C, 10 min）；
- 吸取 50 μL 血清，在直径 14 mm 专用反应板上均匀地涂满整个反应圆圈；
- 按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述和步骤滴加抗原（17 μL ）；
- 将反应板固定在水平旋转仪上，一键启动仪器的反应程序（180 r/min, 4 min）；
- 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）；
- 按本标准第 9.1 条关于定性实验反应结果的描述作出结果判断。

8.3.3 VDRL 半定量实验—血清标本

半定量实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：

- 按本标准第 8.3.2a) 项处理血清标本；
- 按本标准第 8.2.2a) 项至第 8.2.2e) 项给出的步骤，在直径 14 mm 专用反应板上稀释标本；
- 按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述和步骤滴加抗原（17 μL ）；
- 将反应板固定在水平旋转仪上，一键启动仪器的反应程序（180 r/min, 4 min）；
- 当仪器停止工作后，5 min 内在显微镜下观察出现凝集反应。对最高稀释度凝聚反应圆圈的检测结果，以“+”或“±”表示（即本标准第 9.1.3 条或第 9.1.4 条反应结果的描述）。

8.3.4 VDRL 定性实验—CSF 标本

VDRL 定性实验对 CSF 检测梅毒非特异性抗体时，CSF 标本不需灭活处理。操作步骤如下：

- 将上述 VDRL 抗原工作液与 10% 浓度氯化钠溶液按照 1:1 比例混合后，配制成 VDRL-CSF 抗原工作液，至少静置 5 min 以上才可使用，2 h 内有效；
- 吸取 50 μL CSF，加入直径 16 mm 专用反应板上的反应圆圈；
- 按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述和步骤滴加 VDRL-CSF 抗原工作液（10 μL ）；
- 将反应板固定在水平旋转仪上，一键启动仪器的反应程序（180 r/min, 8 min）；
- 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）；
- 按本标准第 9.1 条给出的定性实验反应结果的描述作出结果判断。

8.3.5 VDRL 半定量实验—CSF 标本

半定量实验用于判定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) 按本标准第 8.2.2a) 项至第 8.2.2e) 项给出的步骤，在直径 16 mm 专用反应板上稀释标本；
- b) 按本标准第 8.2.1c) 项和第 8.2.1d) 项给出的描述和步骤滴加抗原（10 μ L）；
- c) 将反应板固定在水平旋转仪上，一键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 内在显微镜下观察出现凝集反应。对最高稀释度凝聚反应圆圈的检测结果，以“+”或“±”表示（即本标准第 9.1.3 条或第 9.1.4 条反应结果的描述）。

9 结果描述和表示

9.1 定性实验

- 9.1.1 强阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）显见团块状絮状凝集物，悬液背景清亮，以符号“++++”或“+++++”表示；
- 9.1.2 阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）显见比较小絮状凝集物，悬液背景较清亮，以符号“++”表示；
- 9.1.3 弱阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）可辨细小散在絮状凝集物，悬液背景浑浊，以符号“+”表示；
- 9.1.4 临界阳性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）可辨较粗糙抗原颗粒，悬液背景浑浊，以符号“±”表示；
- 9.1.5 阴性反应：RPR/TRUST 肉眼（VDRL 镜下）抗原颗粒均匀分布，以符号“-”或“阴性”表示。

注：采用分级方式表示免疫反应的强弱差异。用符号“-”表示阴性反应；用符号“+”表示阳性反应，并且以不同数量的“+”表示阳性反应程度。

9.2 半定量实验

9.2.1 大部分患者仅用定性实验分级方式不能精细地表示免疫反应状态，以及细微变化的差异，通过对标本梯度倍比稀释的方式放大免疫反应的指示效应。半定量实验的滴度指呈现弱阳性反应或临界阳性反应的最高稀释倍数。

9.2.2 滴度以 1:N+或 1:N±格式表示（其中 N 为稀释倍数）。

9.3 报告格式

梅毒非特异性抗体水平与免疫反应凝集的强弱程度呈正相关，反映患者特定的病程状态。梅毒的发生发展和临床表现异常复杂，治疗效果监测周期长，其检测报告应精准地提示患者免疫特征和变化趋势，比如“前带现象”等。

9.3.1 阴性反应的检测报告

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

示例：RPR -（阴性）

注：“实验方法”为RPR；原始标本定性实验符合本标准第9.1.5条给出的细节。提示：阴性反应。

9.3.2 阳性反应的检测报告

应有“实验方法”、“定性”（原始样本）结果和“半定量”结果（样本滴度）共三个部分组成。

示例 1：RPR++++，1:64+

示例 2：TRUST-，1:256+

注1：“实验方法”为RPR；原始标本“定性实验”符合本标准第9.1.1条给出的细节；“半定量实验”中，经过梯度倍比稀释至1:128符合本标准第9.1.5条给出的细节，而1:64符合本标准第9.1.3条给出的细节。提示：定性实验强阳性反应，无前带现象，呈高滴度状态，半定量实验已经至最终稀释度。

注2：“实验方法”为TRUST；原始标本“定性实验”符合本标准第9.1.5条给出的细节；“半定量实验”中，经过梯度倍比稀释至1:512符合本标准第9.1.5条给出的细节，而1:256符合本标准第9.1.3条给出的细节。提示：

定性实验有前带现象，呈高滴度状态，半定量实验已经至最终稀释度。

10 质量控制

10.1 基本要求

10.1.1 总则

应符合本标准第2章的总体要求。

10.1.2 温度和湿度

10.1.2.1 VDRL/RPR/TRUST 实验区域温度不应低于 16 °C，过低可增加假阴性。不应高于 30 °C，过高可增加假阳性。

10.1.2.2 所有从低温环境下取出的标本、试剂、对照品、质控物等，应放置在室温至少 30 min 才可进行实验。

10.1.2.3 VDRL/RPR/TRUST 实验区域湿度宜 >65% 至 <85%。

10.1.3 生物安全

本标准涉及传染性生物标本，应在二级生物安全实验室内开展相关操作，配备相应的个人防护用品。分级标准符合 GB19489 实验室生物安全通用要求。

10.1.4 隐私保护

本标准涉及性传播感染，应保护患者信息和实验结果等个人隐私。

10.1.5 技术人员

10.1.5.1 技术人员应具备医学和/或检验和/或生物专业教育背景，取得检验或相关卫生专业技术资格，上岗前应通过性病实验技术培训和考核。

10.1.5.2 按要求在岗人员定期参加专业机构组织的性病实验技术复训。

10.1.5.3 作为手工操作和肉眼判读的检测项目，如多人从事该检测项目，定期对岗位技术人员进行实验室内部能力评估。可采用人员比对、专业测评、检测特定标本或外部质控物等方式进行。标本构成至少选择 2 份阴性标本(含 1 份其它标志物阳性标本)、3 份阳性标本(含 2 份弱阳性标本)进行比对，评价比对结果的可接受性一般为 $\leq \pm 1$ 个滴度预期值。当 4 份标本符合检测误差范围内的检测结果，评估为合格。出现不一致检测结果时，应分析原因，并采取必要的纠正措施，确保评估纠正措施的有效性。保存相应的记录。能力评估频次宜不低于一年一次。

10.1.5.4 对缺乏判读反应结果经验的技术人员，可将高滴度的标本进行梯度倍比稀释，观察每个反应圆圈中的抗原抗体絮状凝集的状态，根据本标准第 9.1 条给出的描述细节，掌握辨别弱阳性结果的能力。

10.2 试剂检测性能验证

10.2.1 首次启用检测试剂前应做性能验证。按照 GB/T 22576.5 分析性能验证内容至少应包括符合率，适用时，还应包括检出限、灵敏度、特异性等指标。应保存验证数据记录。

10.2.2 应符合 GB/T 22576.1-2018 中第 5.3.2.3 条的要求。新批号试剂和(或)同批号但不同批次送达实验室的试剂，应与已使用或正在使用的旧批号试剂平行检测以保证患者结果的一致性。比对方案应至少利用一份已知阳性、一份已知弱阳性和一份已知阴性的患者标本。不同批号或者不同批次的试剂不得混用。

10.2.3 判断合格标准：定性实验的阴阳性结果应一致，半定量实验阳性结果 $\leq \pm 1$ 个滴度误差范围。

10.3 对照品

- 10.3.1 对照品应随试剂盒保存，不应冻存。
- 10.3.2 不同试剂盒中的对照品不应混用。
- 10.3.3 对照品不应作为监测检测质量稳定性的质控物。
- 10.3.4 应记录每次对照品的检测结果，并保存记录。
- 10.3.5 每一次实验时，应随待检标本同步检测阳性反应和阴性反应的 2 种对照品。
- 10.3.6 对照品检测符合预期结果，说明本次检测有效；对照品检测不符合预期结果，说明本次检测无效，应分析原因，进行重复检测，直至符合预期结果；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。

10.4 质控物

- 10.4.1 质控物适用于梅毒非特异性抗体的定性和半定量实验。
- 10.4.2 可选用商品化或自制质控物。质控物为已知阳性和阴性反应的血清制品各 1 支。阳性反应质控物的滴度宜为 1:8 或 1:16。

注：由于CSF标本冻存后的稳定性需要循证依据，采用血清基质的阳性和阴性质控物可以基本满足RPR/TRUST实验的评估。

- 10.4.3 若使用自制质控物，需确认其他感染性标志物结果为阴性，避免交叉反应，并验证其稳定性。
- 10.4.4 每一个批次质控物至少满足一年的使用计划，有效期应 ≥ 1 年。
- 10.4.5 质控物应保存在带密封胶圈的螺口冻存管中于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或更低温度储存。根据使用频次确定分装体积，每支分装量 $\geq 150\text{ }\mu\text{L}$ ，并标记质控物名称、定值、分装时间、有效期、分装人等信息。
- 10.4.6 连续 5 个检测日内使用的质控物，应置于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存，避免反复冻融。
- 10.4.7 应记录每次实验时质控物的指定值、批号、失效日期、当日检测结果，并保存记录。
- 10.4.8 每个检测日应随待检标本和对照品同步检测质控物一次。如当日发生更换试剂批号，应增加一次室内质控。
- 10.4.9 质控物的检测符合预期结果，表明检测系统在控，检测结果有效。可发送临床检测报告。
- 10.4.10 质控物的检测不符合预期结果，本次检测失控，检测结果无效。不应发送临床检测报告。查找并纠正失控原因。且室内质控合格后，重新检测标本，结果审核后，方可发送报告。实验室还应评估失控之前的临床标本检验结果的有效性。

10.5 反应板

- 10.5.1 反应板正面为标本的反应区，避免直接接触和污染。
- 10.5.2 RPR/TRUST 试剂盒开封后，纸质反应板应放置于密封袋内防止污染或损坏，并存储在干燥室温下，不应置于冰箱保存。
- 10.5.3 反应板应整体保持平坦，在储藏和检测过程中应确保其不会凸起或凹陷。
- 10.5.4 纸质反应板表面因覆盖塑料涂层而具有适当的表面张力，使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。如标本不能均匀地涂布标本到整个圆圈，应更换反应板。
- 10.5.5 VDRL 专用反应板重复使用前应洁净处理。

10.6 抗原滴针

- 10.6.1 宜使用符合本标准第 7.4 条滴量要求的滴针。

10.6.2 如遇到试剂盒中配套滴针不符合本标准第 7.4 条滴量要求,应另外购买合格的滴针,或使用微量移液器。

10.6.3 试剂用尽后,随新试剂更换新的滴针。

10.6.4 初次使用的滴针,应验证是否符合本标准第 7.4 条给出的要求。保存相关记录。

10.6.5 当日检测完成后,应使用蒸馏水或去离子水冲洗针管后自然晾干。勿擦拭针头,避免磨损硅涂层影响滴加抗原的准确性。

10.7 结果判定

10.7.1 应在明亮的光线下用肉眼观察 RPR/TRUST 结果,不应使用显微镜观察。

10.7.2 应在显微镜下观察 VDRL 实验结果。

10.7.3 少数标本在检测后,其反应圆圈周边出现均匀悬浮的细小絮状凝集,而中心部位呈现阴性反应。可将反应板倾斜 30° 轻轻转动数周,有助于辨别临界阳性反应。

10.7.4 “临床诊断”提示“一期梅毒”、“二期梅毒”、现症“晚期梅毒”的病例,或标本的梅毒特异性抗体反应阳性,即使定性实验呈阴性反应,也应将标本进行梯度倍比稀释到 1:16 进行半定量实验,排除前带现象的可能。

10.7.5 当判断为前带现象时,应进一步稀释标本进行半定量实验,报告最终滴度。

10.8 室内质量控制和室间质量评价

10.8.1 室内质量控制和室间质量评价应同时包含定性和半定量检测二项指标。

10.8.2 应开展梅毒非特异性抗体实验的室内质量控制。质控物要求详见本标准第 10.4 条。

10.8.3 应每年至少 1 次参加由专业管理机构组织的室间质量评价活动。每次能力验证物品或质评物构成至少 5 份,包含定性实验呈阴性、弱阳性和强阳性反应,以及半定量实验呈不同滴度。

10.8.4 单个标本检测结果判断标准:定性实验的检测结果显示与预期值一致,为合格。半定量实验阳性检测结果 $\leq \pm 1$ 滴度预期值的范围,为合格。

10.8.5 当 5 份标本中有 4 份标本和预期值一致(80%检测结果与预期值一致),本次室间质量评价判断为合格。

10.8.6 描述有关回报结果的分析、不合格结果的纠正措施、系统偏倚的预防措施等内容。

11 临床意义

11.1 检测策略

11.1.1 由于梅毒疾病的复杂性和特殊性,应根据诊疗需求、检测数量、技术能力、公共卫生任务和财政政策等因素,采用多种技术联合检测,提高临床诊疗服务和卫生资源效率、降低误诊和漏诊、减少医疗风险、提高公共卫生安全。

11.1.2 临床诊疗过程需要梅毒非特异性抗体实验和梅毒特异性抗体实验两类抗体联合检测,才能提高鉴别、诊断的效率。

11.1.2.1 伴有皮肤粘膜溃疡或皮肤损害的疑似患者,宜进行病原体+非特异性抗体+特异性抗体检测的联合筛查。

11.1.2.2 没有皮肤粘膜异常表现的疑似患者,宜进行非特异性抗体+特异性抗体检测的联合筛查。

11.1.3 梅毒特异性抗体实验的敏感性和特异性均高于梅毒非特异性抗体实验。无论哪一类抗体实验,对不同病程患者的检测都存在局限性。要评估二类抗体试剂的检测性能。

11.1.3.1 筛选一种 RPR 试剂或者 TRUST 试剂，作为日常梅毒非特异性抗体检测试剂。选择敏感性高的试剂。

11.1.3.2 筛选一种化学发光法、或酶联免疫法、或明胶颗粒法、或免疫层析法、或免疫荧光吸收法等试剂，作为日常梅毒特异性抗体检测试剂。储备一种与日常特异性抗体检测试剂同等灵敏度的试剂，当待检标本处于临界/灰区值、或者梅毒非特异性抗体阴性时，进行复测和确认。

11.1.4 要慎重实施单一的采用梅毒非特异性抗体检测、或者梅毒特异性抗体检测的筛查策略。

11.1.4.1 当首选的一类抗体试剂对标本检测阳性时，应补充另外一类抗体检测。

11.1.4.2 当首选的一类抗体试剂对标本检测阴性时，视临床诊疗需求，补充另外一类抗体检测。

11.1.5 检验报告应该如实反映检测结果。前带现象的检测单报告，不可将定性实验“阴性”修改为“阳性”。无论采用联合还是单一方法检测策略，都会遇到个别标本的检测结果无法解释的极端个案。

11.1.5.1 梅毒诊断涉及病史、临床表现和实验室结果三个要素。检测结果不是唯一诊断梅毒的依据。

11.1.5.2 在确保实验质量稳定、检测结果可靠的情况下，与临床医生密切沟通。

11.1.5.3 根据临床需要，即刻或随访再次采集样本进行复测。根据抗体的构成、浓度水平和变化趋势等指标特征，综合判断，提高诊断梅毒准确性。

注：国家法定传染病报告制度中，采用梅毒非特异性抗体实验和梅毒特异性抗体实验双阳性的诊断标准。

11.2 辅助诊断

11.2.1 感染梅毒螺旋体后，人体产生抗类脂物质的抗体。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。结合临床资料和梅毒特异性抗体检测结果可确诊梅毒。

11.2.2 由于超过 10% 的静脉药瘾者的梅毒非特异性抗体的滴度 $>1:8$ ，部分早期梅毒和潜伏梅毒、晚期梅毒的滴度 $<1:8$ 。应重视低滴度值的鉴别诊断。

11.2.3 VDRL-CSF 是传统的神经梅毒的诊断方法，有较高的特异性。大样本临床比对数据显示：VDRL 较 RPR/TRUST 有更高的敏感性。RPR/TRUST 代替 VDRL 用于 CSF 检测时，阳性反应具有与 VDRL 相同临床价值；阴性反应的患者不能排除神经梅毒。

11.2.4 在梅毒特异性抗体检测阳性的前提下，RPR/TRUST/VDRL 以下结果可作为判断先天梅毒的参考依据：

- a) 出生时，新生儿的血清、CSF 梅毒非特异性抗体水平高于同期母亲 2 个滴度；
- b) 或新生儿 CSF-VDRL 呈阳性反应；
- c) 或出生后 3 个月内，血清、CSF 梅毒非特异性抗体由阴转阳，或者抗体水平比出生时增加 2 个滴度。

11.3 疗效监测

11.3.1 对同一个病例治疗效果的监测，应采用与初次检测相同的方法和试剂。不同实验方法的半定量结果不能直接比较。

11.3.2 在抗梅毒治疗前，应掌握初诊患者定性和半定量实验的基础数据，将每次随访的定性和半定量实验结果，分别与前一次和/或初诊时的滴度水平进行动态的比较，给予临床合理解释。

11.3.3 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：

- a) 抗体下降 ≥ 2 个滴度（例：从 1:64 下降至 1:16），判断治疗有效。
- b) 抗体下降 ≥ 2 个滴度，并且连续 2 个监测周期的定性实验呈阴性反应，判断治愈。
- c) 抗体滴度下降或上升 < 2 个滴度，在排除再感染和实验技术性误差的情况下继续随访监测。

- d) 抗体上升 ≥ 2 个滴度（例：从 1:16 上升至 1:64），或定性实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、再感染、治疗失败。

注：最新临床研究和动物实验结果表明，梅毒非特异性抗体水平的变化是个自然过程，治疗与否均能出现下降，甚至转阴，可能与疗效判断无关。这需要更多的循证医学的证据支持。

12 局限性

12.1 概述

虽然 VDRL、RPR 和 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，各种方法和试剂敏感性和特异性存在系统性差异。任何 2 种方法的定性和半定量结果，相互间不应直接比较。当梅毒非特异性抗体实验用作梅毒筛查用途时，应选择敏感性高的方法或试剂。

12.2 假阳性反应

12.2.1 技术性假阳性主要由真空采血管添加剂成分引起干扰检测结果。应选择符合本标准附录 A 和附录 B 要求的采血管。

12.2.2 生物学假阳性是指与梅毒螺旋体感染无关的其他因素，也可使梅毒非特异性抗体实验呈阳性反应。如急性和慢性疾病、自然组织损伤等；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；常见的生理性因素有孕妇和老年等。

注：临床发现非梅毒患者的梅毒非特异性抗体实验阳性（生物学假阳性），对诊断其他疾病有重要的提示作用。

12.3 假阴性反应

12.3.1 机体感染梅毒螺旋体后，免疫应答需要一定时间，当抗类脂质抗体浓度尚处于实验方法的检出限以下，梅毒非特异性抗体实验出现假阴性反应，称为窗口期。在此阶段可发生假阴性反应。

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 RPR/TRUST 定性实验假阴性反应。

注：有关前带现象导致的假阴性反应的处理，详见本标准第 10.7.4 条和第 10.7.5 条。

12.4 血浆标本

12.4.1 仅在特殊情况下（如血库、无离心机的实验室、无法获得血清标本的状况），血浆标本方可用于 RPR/TRUST 定性实验。

12.4.2 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应直接比较。

12.4.3 用血浆进行检测时，应在标本类型中注明“血浆”。

12.4.4 血浆标本不用于 VDRL 实验。

附 录 A
(规范性)
抗干扰性能初步评估

A.1 干扰物质来源

A.1.1 内源性干扰物质常见于血红素、胆红素和脂质。

A.1.2 外源性干扰物质常见于标本处理过程中的添加物（抗凝剂、促凝剂等），以及采集和处理过程中接触标本的物质（标本收集容器及塞子等）。

A.2 获取抗干扰信息方式

A.2.1 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.2.2 向试剂生产商，了解其梅毒非特异性抗体检测试剂对常见干扰物质的抗干扰性能。

A.2.3 从国家和地区质量管理控制部门，获得试剂盒和真空采集器抗干扰实验的质量评估信息。

附 录 B
(规范性)
抗干扰性能评估—验证厂家声明

B.1 基本要求

B.1.1 应使用新鲜标本进行抗干扰性能评估。

B.1.2 应选择具有溯源性的标准干扰物质，进行抗干扰性能评估。包括：游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜微粒。

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(包含3份临界水平、3份低滴度、4份高滴度的标本)。

B.2.2 使用1种无添加剂的洁净玻璃管作对照。

B.2.3 被评估的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实验。

B.2.5 比较检测结果，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 标本选择符合本标准第B.2.1条规定。

B.3.3 静脉抽血，分离血清或者血浆备用。

B.3.4 干扰物质的标准物复溶后，按照最高人体生理浓度水平，与待检的血清或血浆标本混合。

B.3.5 对添加干扰物前后的血清或血浆标本，分别进行定性和半定量实验。

B.3.6 比较同一个受检者标本添加干扰物前后检测结果。

B.3.7 综合判断该试剂对感染物质的抗干扰能力。

B.4 判断标准

B.4.1 比较对照管标本的检测结果，含添加剂真空采集器的标本，其梅毒非特异性抗体定性实验结果一致；半定量实验的检测结果在预期值 $\leq \pm 1$ 滴度的范围。判断真空采集器具有抗干扰能力。

B.4.2 比较不添加干扰物的原始标本的检测结果，含干扰物的血清或血浆标本，其梅毒非特异性抗体定性实验结果一致；半定量实验的结果 $\leq \pm 1$ 滴度。判断该试剂具有抗干扰能力。

附 录 C
(规范性)
水平旋转仪关键技术参数

C.1 基本参数

C.1.1 水平旋转仪应具备机械旋转部件、反应板托架、电子控制集成器、数字显示、蜂鸣报警、参数调控按钮等组成。

C.1.2 标本反应板托盘附设有固定反应板的夹槽，避免反应板在旋转时滑动。水平托盘应带有上盖，减少外界温度和湿度的干扰。

C.1.3 转速： 100 ± 2 r/min (RPR/TRUST) 或 180 ± 2 r/min (VDRL)。

C.1.4 偏心回转直径： $19 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$ 。

C.1.5 电子数字定时： $60 \text{ s} \pm 1 \text{ s}$ 。

C.1.6 蜂鸣和倒计时数字显示双重提示。

C.1.7 一键式反应程序的按键。

C.2 组合反应程序

C.2.1 RPR/TRUST实验反应程序：转速 100 ± 2 r/min； $8 \text{ min} \pm 8 \text{ s}$ ；

C.2.2 VDRL-CSF标本的反应程序：转速 180 ± 2 r/min； $8 \text{ min} \pm 8 \text{ s}$ ；

C.2.3 VDRL-血清标本的反应程序：转速 180 ± 2 r/min； $4 \text{ min} \pm 4 \text{ s}$ 。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 性病防治管理办法 (卫生部令第89号). 2012-12-31
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 杨阳, 吴磊, 顾伟鸣, 等. 梅毒非特异性类脂质反应素抗体实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.
- [6] 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.
- [7] 童曼莉, 刘莉莉, 林丽蓉, 等. 梅毒实验诊断程序研究进展. 中华检验医学杂志. 2017, 40(11):898-903.
- [8] 尹跃平. 性传播疾病实验室检测指南. 北京:人民卫生出版社. 2019.
- [9] Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory Diagnosis and Interpretation of tests for Syphilis. Clin Microbiol Rev. 1995, 8(1):1-21.
- [10] Kennedy EJ, Creighton ET. Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) slide test; A manual of tests for syphilis. American Public Health Association, Washington D.C. 1998.
- [11] 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. Int J STD AIDS. 2005, 16(11):722-726.
- [12] Patrick RM, Ellen JB, James HJ, et al. Chapter: Treponema and Other Human Host-Associated Spirochetes. Manual of clinical microbiology, 9th edition, Washington D.C. American society for microbiology. 2007:987-1003.
- [13] Castro R., Prieto ES, 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. J Clin Lab Anal. 2008, 22(4):257-261.
- [14] Harding AS, Ghanem KG. The performance of cerebrospinal fluid treponemal-specific antibody tests in neurosyphilis: a systematic review. Sex Transm Dis. 2012, 39(4):291-297.
- [15] Gu WM, Yang Y, Wang QZ, et al. Comparing performance of traditional non-treponemal tests on syphilis and non-syphilis serum samples. Int J STD AIDS. 2013, 24(12):919-925
- [16] Gu WM, Yang Y, Wu L, 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.
- [17] Liu F, Liu LL, Guo XJ, et al. Characterization of the classical biological false-positive reaction in the serological test for syphilis in the modern era. Int Immunopharmacol. 2014, 20(2): 331-336.
- [18] Liu LL, Lin LR, Tong ML. et al. Incidence and risk factors for the prozone phenomenon in serologic testing for syphilis in a large cohort. Clin Infect Dis. 2014, 59(3):384-389.
- [19] Tong ML, Lin LR, Liu LL. et al. Analysis of three algorithms for syphilis serodiagnosis and implications for clinical management. Clin Infect Dis. 2014, 58(8):1116-1124.
- [20] Wei MG, Yue C, Wu L, et al. Exploring Serologic Indicators for Laboratory Diagnosis of Symptomatic Neurosyphilis. Journal Neuroinfect Diseases. 2016, 7(4):1-6.
- [21] Gao K, Shen X, Lin Y, et al. Origin of nontreponemal antibodies during treponema pallidum infection: evidence from a rabbit model. J Infect Dis. 2018, 218(5):835-843.
- [22] Lin LR, Zhu XZ, Liu D, et al. Are nontreponemal tests suitable for monitoring syphilis treatment efficacy? Evidence from rabbit infection models. Clin Microbiol Infect. 2020, 26(2):240-246.

[23] Janier M, Unemo M, Dupin N, et al. 2020 European guideline on the management of syphilis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021, 35(3):574-588.

[24] Xiao Y, Li W, Li QL, et al. Which is the optimum antigen concentration for the venereal disease research laboratory test of cerebrospinal fluid for neurosyphilis diagnosis: 10 or 17 μ L? *Front Med(Lausanne)*. 2022, 28;9:877186.
