

抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法 技术领域

本发明涉及医学检测技术领域，尤其涉及一种抗体标准品的赋值以及抗体检测试剂最低检出限的确定的方法。

背景技术

体外诊断（In Vitro Diagnosis, IVD）医疗器械是通过对人体的样品（血液、体液、组织等）进行检测而获取临床诊断信息的产品，包括试剂、校准品、控制物质、设备或系统。诊断试剂是检测患者是否患病和病情程度的基本工具之一，其结果是否准确直接影响到医生的诊断以及患者的身体健康和生命安全。而随着现代医学科技的进步，对于医学检验的结果提出了更加精准的要求，从而对体外诊断产品的质量要求也越来越高。

标准物质（如国际标准、国家标准、企业标准和临床应用的校准品等）的制备及其量值溯源是获得精准测定结果的前提条件。由于抗体的储存稳定性差，即使深低温保存亦会随着保存时间的延长，而活性逐渐降低；而且，抗体的活性多用相对的稀释滴度表示，很难客观精准量化。因此，各种抗体的标准品或参考物质的制备十分困难。目前国内外均缺乏有关抗体标准品的商品供应，给抗体检测试剂的生产和应用带来了许多难以克服的困难。

另一方面，抗体检测试剂的一个重要的性能参数是检出限。检出限是指生物样品按照分析方法的要求进行处理并检测，能区分于噪声的以特定置信水平报告被测量存在的最低值，它也被用来指最小可检测浓度，可见检出限也是一个量化指标。由于缺乏抗体的标准品，抗体检测试剂的最低检出限也无从精准确定。

因此，有必要开发一种能够准确定量抗体的方法。虽然抗体的活性不稳定，但是和抗体对应的抗原通常比较稳定，而且可以准确定量。利用抗原可以和抗体发生中和反应（中和反应是抗原决定簇和抗体识别端 Fab 的反应），可根据抗体需要多少抗原来中和其活性来定量抗体活性，也就是给抗体赋值。我们把单位体积基质（如血清）中的抗体需要多少相应的抗原来中和称作抗体的“抗原中和当量（Neutralized Antigen Equivalent, NAE）”。用抗原中和当量的大小来定量抗体的多少，抗体的抗原中和当量越大表示在单位体积基质中的抗体越多。借此，我们就可以定量抗体，给抗体标准物质赋值，确定抗体检测试剂的最低检出限。

发明内容

本发明要解决的技术问题是，提供一种抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，此方法能解决目前市面上抗体检测试剂最低检出限不能定值或定值不准确的问题，也可以作为抗体标准品活性的赋值方法。

为了解决上述技术问题，本发明采用的技术方案为：该抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，具体包括以下步骤：

S1 抗体标准品或样品的抗原中和当量的确定：将已知纯度和浓度的抗原用基质进行梯度稀释，获得多个不同浓度的梯度稀释液；向每个不同浓度的梯度稀释液中分别加入等量的抗体标准品或含有抗体的样品，反应后，用第一抗体检测试剂对每个混合液进行抗体检测，从而确定抗体标准品或样品的抗原中和当量；所述步骤 S1 抗体标准品或样品的抗原中和当量的确定的方法即是一定体积中抗体量的赋值方法。其中一定体积中抗体标准品或样品中抗体的抗原中和当量的计量单位以其中抗体可中和抗原的质量-体积浓度表示，为了特别明确质量-体积单位中的质量数是相应中和抗原的量，故而在质量单位后面加上“NAE”如：1ng NAE/mL、1 μ g NAE/mL、1mg NAE/mL 等。

基质，指标本中除分析物以外的一切成分。以血清胆固醇（Chol）测定而言，就是指 Chol 以外血清中的一切成分。由于抗原或抗体一般存在于血清中，所以本发明的基质具体指“已知纯度和浓度的抗原”中除了“抗原”之外的血清成分（或稀释用缓冲液成分）；以及“抗体标准品或含有抗体的样品”中除了“抗体标准品”与“抗体”之外的血清成分（或稀释用缓冲液成分）。

本发明进一步改进在于，还包括以下步骤 **S2 样品的抗体滴度的确定：**将所述步骤 S1 中含有抗体的样品用基质进行梯度稀释，获得不同稀释度的梯度稀释液；用第二抗体检测试剂对每个稀释度的梯度稀释液进行抗体检测，从而确定样品的抗体滴度；

S3 抗体检测试剂最低检出限的获得：将所述步骤 S1 中确定的样品的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算，获得第二抗体检测试剂的最低检出限。

采用上述技术方案，抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法首先确定抗体标准品或样品的抗原中和当量(A)；再确定样品的抗体的滴度(B)；

从而抗体检测试剂最低检出限= $A*B$ ；因为抗原通常是稳定的，可定量的，可以和抗体发生中和反应，而中和反应是抗原决定簇和抗体识别端 Fab 的反应，再使用特异性抗体检测试剂来测定其抗体的最低检出限；其中步骤 S1 中的采用的抗原是已知纯度和浓度的，进行梯度稀释后加入等量的抗体标准品或含有抗体的样品，样品可以是混合样品，可以用原样品，可适当准确稀释，反应后进行检测，在所有梯度稀释度中会有一个稀释度出现阳性反应，而出现阳性反应的前一个较高浓度的稀释度的抗原量即为抗体标准品或样品的抗原中和当量，若样品为稀释后的样品，需考虑稀释因素；其中步骤 S2 中的样品的抗体滴度采用与步骤 S1 中相同的含有抗体的样品通过梯度稀释后进行检测，在所有梯度稀释度中会有一个稀释度出现阴性反应，而出现阴性反应的前一个较高浓度的稀释液的稀释度即为该样品的抗体的滴度。其中步骤 S1 中的第一抗体检测试剂与所述步骤 S2 中的第二抗体检测试剂可以是不同种检测试剂，步骤 S1 所用的第一抗体检测试剂可以是步骤 S2 中所用的第二抗体检测试剂的高一级的、更加精准、检出限更低的检测试剂。

本发明进一步改进在于，还包括步骤 S4 抗体检测试剂的最低检出限的确认：将至少三个含有抗体的样品，按照步骤 S1~S3 获得第二抗体检测试剂的最低检出限，若获得的含有抗体的样品的最低检出限和步骤 S3 中获得的最低检出限一致，则将含有抗体的样品分别稀释至最低检出限的浓度，进行多次重复检测，若阳性率均 $\geq 90\%$ ，则第二抗体检测试剂的最低检出限通过确认。分别选择不同来源具有代表性的至少 3 个临床含待测抗体的样品进行确认，首先确定抗原中和当量（A）；确定抗体的滴度（B）；从而抗体检测试剂最低检出限= $A*B$ ；再将含抗体的样品稀释至最低检出限的浓度，确认通过步骤 S1~S3 获得的最低检出限是否准确。

本发明进一步改进在于，还包括步骤 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：将至少三个含有抗体的样品稀释至最低检出限的浓度，进行多次重复检测，若达到 90%~95% 阳性检出率，则最低检出限通过验证。选择具有时间和区域特征性的至少 3 个临床样品（且与步骤 S4 中最低检出限确认所使用的样品不同），优选进行 20 次重复检测，这样通过验证可以进一步确认通过步骤 S1~S3 获得的抗体检测试剂的最低检测出限是否准确。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S1 中的抗原的梯度稀释的稀释度分别为：1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64、1: 128 和 1: 256。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S1 中向每个梯度稀释液中分别加入等量的抗体标准品或含有特异抗体的样品，经 37℃ 反应 30min，后对每个混合液分别用第一抗体检测试剂进行检测，当检测结果中某个稀释度的混合液出现阳性反应，则确定该混合液的前一个较高浓度的混合液的抗原量为抗体标准品或样品的抗原中和当量。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S2 中的含有抗体的样品的梯度稀释度分别为：1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64 和 1: 128；所述步骤 S2 中用第二抗体检测试剂对每个稀释度的稀释液进行抗体检测，当检测结果中某个稀释度的稀释液出现了阴性反应，则确定该稀释液的前一个较高浓度的稀释液的稀释度为样品的抗体滴度。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S3 中将所述步骤 S1 中确定的样品的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算，获得第二抗体检测试剂的最低检出限。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S4 中当多次重复检测后，阳性率低于 90%，则调整步骤 S2 中的抗体滴度，选取现确定的抗体滴度的上一稀释度为新的抗体滴度，再进行多次重复检测，直至阳性率 $\geq 90\%$ ；则此时的确认的第二最低检出限是根据新的抗体滴度重新进行计算获得的。

作为本发明的优选技术方案，还包括步骤 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：将至少三个含有抗体的样品稀释至最低检出限的浓度，先做 3 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现一次阴性，则再做 7 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现两次阴性，则再做 18 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中均为阴性，则验证不通过。当一次性采用 20 次及 20 次以上进行检测时，会耗费更多的时间，则可以采用该递进方式进行第二抗体检测试剂的最低检出限的验证。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤 S4 中分别选取不同来源具有代表性的至少三个临床含待测抗体的样品进行第二抗体检测试剂最低检出限的确认；所述步骤 S5 中进行第二抗体检测试剂的最低检出限的验证时选取具有时间和区域

特征性的至少3个临床样品且与步骤S4中最低检出限确认时所使用的样品不同。

作为本发明的优选技术方案，所述步骤S1中的第一抗体检测试剂为所述步骤S2中的第二抗体检测试剂的高一级抗体检测试剂或同一种抗体检测试剂，步骤S1所用的抗体检测试剂可以比步骤S2中所用的抗体检测试剂更加精准和检出限更低。

与现有技术相比，本发明的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法具有的有益效果为：抗原性质稳定，可以精准定量，而抗体性质不稳定，此方法利用抗原来给抗体标准品赋值，可以用于企业标准品甚至国家标准品的制备；而且能精准确定抗体检测试剂的最低检出限，解决了市面上抗体检测试剂最低检出限不能定值或定值不准确的问题，是目前对抗体检测试剂最低检出限精准确定的创新性解决方法，通过对抗体检测试剂最低检出限的精准确定，能够保证试剂质量稳定，提高检测准确性，提高临床效率。

具体实施方式

为了加深对本发明的理解，下面将结合附图和实施例对本发明做进一步详细描述，该实施例仅用于解释本发明，并不对本发明的保护范围构成限定。

实施例1：抗体标准品的赋值方法，具体包括以下步骤：

S1 抗体标准品的抗原中和当量的确定：将已知纯度和浓度的抗原用基质进行梯度稀释，获得一系列不同浓度的梯度稀释液；向每个不同浓度的稀释液中分别加入等量的抗体标准品，反应后，用第一抗体检测试剂对每个混合液进行抗体检测，从而确定抗体标准品的抗原中和当量，以此对抗体标准品赋值；其中，抗体标准品中抗体的量值用其抗原中和当量的质量-体积浓度单位表示。

该实施例为制备新型冠状病毒（COVID-19）的抗体标准品（标准物质），其赋值方法为：

收集恢复期新型冠状病毒患者的高滴度抗体血清，混合均匀，作为抗体标准品；

抗体标准品的抗原中和当量的确定：用重组新型冠状病毒抗原（S蛋白），抗原浓度为400 μg/mL，用基质（阴性血清）进行梯度稀释，稀释梯度为1：2、1：4、1：8、1：16、1：32、1：64、1：128和1：256，得到每份稀释液50 μL；向每个梯度稀释液中分别加入等体积50 μL抗体血清，37℃反应30 min后以抗

体检测试剂对混合液进行抗体检测，1: 64 稀释度的混合液出现阳性反应，则确定 1:32 稀释度的混合液中的抗原量为 50 μL 抗体标准品的抗原中和当量，经计算得到抗体标准品的抗体浓度为 $400 \mu\text{g/mL} \div 32 = 12.5 \mu\text{gNAE/mL}$ ，即新型冠状病毒（COVID-19）的抗体标准品赋值为 12.5 $\mu\text{gNAE/mL}$ ，将抗体血清分装、冻存；

使用时，将分装冻存的抗体血清取出，恢复室温后，用上述方法重新确定抗体标准品的抗原中和当量，即重新对抗体标准品赋值，保证抗体标准品的量值精准确定，避免抗体标准品因活性下降而造成临床诊断误差。

利用上述抗体标准品的赋值方法，即样品的抗原中和当量的确定方法，还可以通过步骤 S2，S3 来获得抗体检测试剂的最低检出限，通过步骤 S4，S5 来对抗体检测试剂的最低检出限进行确认和验证（详见以下实施例 2 的内容）。

实施例 2：抗体检测试剂最低检出限的确定方法，具体包括以下步骤：

S1 样品的抗原中和当量的确定：将已知纯度和浓度的抗原用基质进行梯度稀释，梯度稀释的稀释度分别为 1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64、1: 128 和 1: 256，获得多个不同浓度的梯度稀释液；向每个梯度稀释液中分别加入等量的含有特异抗体的样品，经 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min，后对每个混合液分别用特异抗体检测试剂（第一抗体检测试剂）进行检测，当检测结果中某个稀释度的混合液出现阳性反应，则确定该混合液的前一个较高浓度的混合液的抗原量为该样品的抗原中和当量；

S2 样品的抗体滴度的确定：将含有抗体的样品用基质进行梯度稀释，梯度稀释的稀释度分别为：1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64 和 1: 128，获得不同稀释度的梯度稀释液；采用第二抗体检测试剂对每个稀释度的稀释液进行抗体检测，当检测结果中某个稀释度的稀释液出现了阴性反应，则确定该稀释液的前一个较高浓度的稀释液的稀释度为抗体滴度，从而确定抗体滴度；

S3 抗体检测试剂最低检出限的获得：将所述步骤 S1 中获得的样品中抗体的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算，获得第二抗体检测试剂的最低检出限。

对以上抗体检测试剂的最低检出限可以进行如下确认与验证：

S4 抗体检测试剂的最低检出限的确认：分别选择不同来源具有代表性的至少 3 个临床含待测抗体的样品，将 3 个临床含待测抗体的样品按照步骤 S1~S3

获得抗体检测试剂的最低检出限，若获得的含有抗体的样品的最低检出限和步骤 S3 中测得的最低检出限一致，则将含有抗体的样品分别稀释至最低检出限的浓度，进行 20 次重复检测，若阳性率均 $\geq 90\%$ ，则第二抗体检测试剂的最低检出限通过确认；

当多次重复检测后，阳性率低于 90%，则调整步骤 S2 中的抗体滴度，选取现确定的抗体滴度的上一稀释度为新的抗体滴度，再进行多次重复检测，直至阳性率 $\geq 90\%$ ；则此时的确认的最低检出限是根据新的抗体滴度重新进行计算获得的；

S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：选择具有时间和区域特征性的 3 个临床样品（且与步骤 S4 中最低检出限确定所使用的样品不同），将 3 个临床样品稀释至最低检出限的浓度进行 20 次检测，若达到 90%~95%阳性检出率，则最低检出限通过验证；

或者步骤 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证的方法为：将 3 个临床样品稀释至最低检出限的浓度，先做 3 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现一次阴性，则再做 7 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现两次阴性，则再做 18 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中均为阴性，则验证不通过（当一次性采用 20 次及 20 次以上进行检测时，会耗费更多的时间，则可以采用该递进方式进行第二抗体检测试剂的最低检出限的验证）。

采用上述抗体检测试剂最低检出限的确定方法进行具体检测应用，确定呼吸道合胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒（胶体金法）的最低检出限时，具体包括以下步骤：

其中试验材料：

抗原使用呼吸道合胞病毒 RSV F protein, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 购自 absolute antibody；

检测试剂盒使用呼吸道合胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒（胶体金法），购自北京英诺特生物技术有限公司；

阴性血清：购自北京经科宏达生物技术有限公司；

S1 样品的抗原中和当量的确定：

S1-1 稀释抗原：将抗原用基质-阴性血清进行梯度稀释，呼吸道合胞病毒 RSV F protein 的稀释度分别为 1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64、1: 128 和

1: 256, 每份稀释得到 50 μ L 样品, 获得多个不同浓度的梯度稀释液;

S1-2 抗原/抗体孵育后检测: 向每个梯度稀释液中分别加入 50 μ L 含 RSV IgM 的样品, 37 $^{\circ}$ C 作水浴 30 min 后, 每个混合液分别用呼吸道合胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒 (胶体金法) 进行检测, 记录数据如表 1;

表 1 为抗原/抗体孵育后检测结果数据

抗原稀释梯度	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256
阴阳性	-	-	-	-	-	-	+	+

S1-3 确定样品的抗原中和当量: 当检测结果中某个稀释度的混合液出现阳性反应, 则确定该混合液的前一个较高浓度的混合液的抗原量为样品中抗体的抗原中和当量;

即此含 RSV IgM 的样品的抗原中和当量为 $1000 \mu\text{g/mL} \div 64 = 15.625 \mu\text{gNAE/mL}$;

S2 样品的抗体滴度的确定:

S2-1 稀释样品: 将含 RSV IgM 的样品用阴性血清进行梯度稀释, 样品的稀释度分别为 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1: 16, 1: 32, 1: 64, 1: 128, 获得不同稀释度的梯度稀释液;

S2-2 抗体检测: 用呼吸道合胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒 (胶体金法) 对每个稀释度的稀释液进行抗体检测, 记录数据如表 2;

表 2 为样品 (抗体) 检测结果数据

样品 (抗体) 稀释梯度	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128
阴阳性	+	+	+	+	+	-	-

S2-3 确定样品的抗体滴度: 当检测结果中某个稀释度的稀释液出现了阴性反应, 则确定该稀释液的前一个较高的浓度的稀释液的稀释度为抗体滴度, 从而确定样品的抗体滴度, 即抗体滴度为 1: 32;

S3 抗体检测试剂最低检出限的获得: 将所述步骤 S1 中确定的样品的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算, 获得第二抗体检测试剂的最低检出限;

即呼吸道合胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒 (胶体金法) 的最低检出限为 $15.625 \mu\text{gNAE/mL} \times (1:32) = 0.488 \mu\text{gNAE/mL}$;

将上述应用实施例的数据经过步骤 S4 和步骤 S5 的确认与验证;

S4 抗体检测试剂的最低检出限的确认：分别选择不同来源具有代表性的至少 3 个临床含待测抗体的样品，将 3 个临床含待测抗体的样品按照步骤 S1~S3 获得抗体的最低检出限，若获得的含有抗体的样品的最低检出限和步骤 S3 中测得的最低检出限一致，则将含有抗体的样品分别稀释至最低检出限的浓度，进行 20 次重复检测，若阳性率均 $\geq 90\%$ ，则第二抗体检测试剂的最低检出限通过确认；

当多次重复检测后，阳性率低于 90%，则调整步骤 S2 中的抗体滴度，选取现确定的抗体滴度的前一个较高浓度的稀释度为新的抗体滴度，再进行多次重复检测，直至阳性率 $\geq 90\%$ ；则此时的确认的最低检出限是根据新的抗体滴度重新进行计算获得的；

S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：选择具有时间和区域特征性的 3 个临床样品（且与步骤 S4 中最低检出限确认所使用的样品不同），将 3 个临床样品稀释至最低检出限的浓度进行检测多次检测，若达到 90%~95%阳性检出率，则最低检出限通过验证；

或者 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证的方法为：将 3 个临床样品稀释至最低检出限的浓度，先做 3 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现一次阴性，则再做 7 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现两次阴性，则再做 18 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中均为阴性，则验证不通过（当一次性采用 20 次及 20 次以上进行检测时，会耗费更多的时间，则可以采用该递进方式进行第二抗体检测试剂的最低检出限的验证）。

对于本领域的普通技术人员而言，具体实施例只是对本发明进行了示例性描述，显然本发明具体实现并不受上述方式的限制，只要采用了本发明的方法构思和技术方案进行的各种非实质性的改进，或未经改进将本发明的构思和技术方案直接应用于其它场合的，均在本发明的保护范围之内。

权利要求书

- 1、一种抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，具体包括以下步骤：
S1 抗体标准品或样品的抗原中和当量的确定：将已知纯度和浓度的抗原用基质进行梯度稀释，获得一系列不同浓度的梯度稀释液；向每个不同浓度的稀释液中分别加入等量的抗体标准品或含有抗体的样品，反应后，用第一抗体检测试剂对每个混合液进行抗体检测，从而确定抗体标准品或样品的抗原中和当量。
- 2、根据权利要求 1 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，还包括以下步骤：
S2 样品的抗体滴度的确定：将所述步骤 S1 中含有抗体的样品用基质进行梯度稀释，获得一系列不同稀释度的梯度稀释液；用第二抗体检测试剂对每个稀释度的稀释液进行抗体检测，从而确定样品的抗体的滴度；
S3 抗体检测试剂最低检出限的获得：将所述步骤 S1 中确定的样品的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算，获得第二抗体检测试剂的最低检出限。
- 3、根据权利要求 2 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，还包括步骤 S4 抗体检测试剂的最低检出限的确认：将至少三个含有抗体的样品，按照步骤 S1~S3 获得第二抗体检测试剂的最低检出限，若获得的含有抗体的样品的最低检出限和步骤 S3 中获得的最低检出限一致，则将含有抗体的样品分别稀释至最低检出限的浓度，进行多次重复检测，若阳性率均 $\geq 90\%$ ，则第二抗体检测试剂的最低检出限通过确认。
- 4、根据权利要求 3 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，还包括步骤 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：将至少三个含有抗体的样品稀释至最低检出限的浓度，进行多次重复检测，若达到 $90\% \sim 95\%$ 阳性检出率，则第二抗体检测试剂的最低检出限通过验证。
- 5、根据权利要求 1 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S1 中抗原的梯度稀释的稀释度分别为：1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64、1: 128 和 1: 256。
- 6、根据权利要求 5 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方

法，其特征在于，所述步骤 S1 中向每个不同浓度的抗原稀释液中分别加入等量的抗体标准品或含有特异抗体的样品，经 37℃ 反应 30min，然后对每个混合液分别用第一抗体检测试剂进行检测，当检测结果中某个稀释度的混合液出现阳性反应，则确定该混合液前一个较高浓度的混合液的抗原量为抗体标准品或样品的抗原中和当量。

7、根据权利要求 3 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S2 中的将含有抗体的样品进行稀释的稀释度分别为：1: 2、1: 4、1: 8、1: 16、1: 32、1: 64 和 1: 128；所述步骤 S2 中用第二抗体检测试剂对每个稀释度的稀释液进行抗体检测，当检测结果中某个稀释度的稀释液出现了阴性反应，则确定该稀释液的前一个较高浓度的稀释液的稀释度为抗体滴度。

8、根据权利要求 7 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S3 中将所述步骤 S1 中获得的样品的抗原中和当量与所述步骤 S2 中确定的样品的抗体滴度进行相乘计算，获得第二抗体检测试剂的最低检出限。

9、根据权利要求 7 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S4 中当多次重复检测后，阳性率低于 90%，则调整步骤 S2 中的抗体滴度，选取现确定的抗体滴度的上一稀释度为新的抗体滴度，再进行多次重复检测，直至阳性率 $\geq 90\%$ ，则此时的确认的最低检出限是根据新的抗体滴度重新进行计算获得的。

10、根据权利要求 3 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，还包括步骤 S5 抗体检测试剂的最低检出限的验证：将至少三个含有抗体的样品稀释至最低检出限的浓度，先做 3 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现一次阴性，则再做 7 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中出现两次阴性，则再做 18 次检测，若均阳性则通过验证；若 3 次检测中均为阴性，则验证不通过。

11、根据权利要求 4 或 10 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S4 中分别选取不同来源具有代表性的至少三个含待测抗体的临床样品进行第二抗体检测试剂最低检出限的确认；所述步骤

S5 中进行第二抗体检测试剂的最低检出限的验证时选取具有时间和区域特征性的至少 3 个临床样品且与步骤 S4 中第二抗体检测试剂最低检出限确认时所使用的样品不同。

12、根据权利要求 2 所述的抗体标准品赋值和抗体检测试剂最低检出限确定的方法，其特征在于，所述步骤 S1 中的第一抗体检测试剂为所述步骤 S2 中的第二抗体检测试剂的高一级抗体检测试剂或同一种抗体检测试剂。