



ELISA 实验的样本收集与前期准备

利用 ELISA 进行临床检验常见的样本一般包括血液（指血，静脉血），尿，粪便，脑脊液，胸腹水，前列腺液，精液，阴道分泌物等，这些样本收集的时间、方法和保存都有一定的要求。

（一）临床样本的收集

A、血液样本

有些生理因素，如吸烟、进食、运动、情绪波动、妊娠、体位等均可影响血液中某些成分的变化，有些甚至还有昼夜变化。因此血液标本的采集应尽量避免生理因素干扰，以条件一致为宜，如无法避免，应在标本上注明该因素。

1. 外周血

一般选取左手无名指内侧采血，该部位应无冻疮，炎症，水肿，破损。如该部位不符合要求，以其他手指部位代替。对烧伤病人，可选择皮肤完整处采血。由于部分血液常规检测

（如白细胞计数、分类等）受生理因素影响波动过大，比较时宜使条件尽量一致。涉及到体内出、凝血功能的检测项目（如血小板计数，出血时间或凝血时间等）的检测，一定要注意了解患者是否用过抗凝、促凝药物，以便在减少或避免干扰因素的影响。

2. 静脉血

除涉及各种止血和血栓检测等项目需采用抗凝静脉血血浆外，目前绝大多数检测项目的分析检测可直接采用静脉血的血清。在血清检测项目中，有些（如血糖，血脂等）受饮食及昼夜因素影响较大，一般以清晨空腹血标本为宜；有些在血中衰变较快（血清酶活性测定如 ACP 活性等），0~4℃贮存活性减弱也不一，这些项目的检测必须及时而快速；有些（如肌酸激酶等）受运动等因素影响较大。抽血时避免溶血的发生也十分重要，尤其涉及血钾，LDH 等的测定。

B、尿液样本

同血标本一样，尿液标本受饮食、运动、药物量等因素的影响也较大，特别是饮食的影响，故一般来说晨尿优于随机尿。晨尿是指清晨起床后的第一次尿标本，较浓缩和酸化，有形成分（如血细胞，上皮细胞，管形）相对集中便于观察。随机尿即随意一次尿，留取方便，但受饮食、运动、药物影响较甚，易于出现假阳性和假阴性结果，如饮食性蛋白尿，饮食性糖尿，维生素 C 干扰潜血结果等。餐后尿（午餐后 2 小时收集的患者尿液）适用于尿糖，

尿蛋白和尿胆原的检查，此时的尿标本可增加试验敏感性，检出较轻微的病变。12 小时尿细胞计数即 Addis 计数（前晚 8 时排空膀胱后留取至次日晨 8 时的所有尿液），因时间较长，细菌易繁殖，须加入防腐剂甲醛。24 小时尿（第一天晨 8 时排空膀胱后留取至次日晨 8 时的所有尿液）中化学物质的定量，包括蛋白，糖，尿 17-酮、17-羟类固醇，儿茶酚胺，Ca²⁺ 等，检测不同的物质，选择不同的防腐剂防腐。清洁中段尿多用于尿细菌培养，要求无菌，冲洗外阴后留取标本。所有尿标本的收集都应足量，最少 12 ml，最好 50 ml，定时尿须全部收集，对女性患者应避免阴道分泌物、经血污染尿标本。

C、粪便样本

粪便标本的检测对判断消化系统疾病有重要参考价值。采集时要求用干净的竹签选取含有粘液、脓血等异常病变成分的粪便，对外观无异常的粪便须从表面、深处及粪端多处取材。找寄生虫虫体及作虫卵计数应收集 24 小时粪便。查痢疾阿米巴滋养体应于排便后立即检查，从有脓血和稀软处取材，保温送检。查日本血吸虫虫卵时应取粘液、脓血部分，孵化毛蚴时至少留取 30g 粪便，且需尽快处理。检查蛲虫卵须用透明薄膜拭子于晚 12 时或清晨排便前自肛门周围皱襞处拭取并立即镜检。隐血试验（化学法），试验前 3 日禁食肉类及含动物血食物并禁服铁剂，维生素 C 等。所有粪便标本采集后 1 小时内应检查完毕，以防止有形成分受消化酶及 pH 的破坏。

D、脑脊液样本

脑脊液标本采集后立即送检，放置过久将影响检验结果：如细胞变性，破坏，导致计数和分类不准；有些化学物质如葡萄糖等将分解含量减少；细菌发生自溶影响细菌的检出率。脑脊液抽取后一般分装三个无菌管，第一管作细菌培养，第二管作化学分析和免疫学检查，第三管作一般性状及显微镜检查，三管的顺序不宜颠倒。因标本采集较难，全部送检和检测过程应注意安全。

E、胸腹水样本

与脑脊液标本一样，采集后的标本注意安全，及时送检。一般也分装三管，一管作常规细胞学检查，一管生化检查，一管细菌培养，顺序以与脑脊液相同为宜。

样本保存：保存的话看取样周期到检测有多长，如果在 1 个礼拜内，2-8 摄氏度，如果在 1 个礼拜以上 1 个月以内-20 保存，如果 1 个月以上-80 保存；单纯的全血不能冻存

F、前列腺液样本

前列腺液标本由前列腺按摩后采集，液量少时直接滴在载玻片上及时送检，须注意防止标本蒸干，量多时收集在洁净干燥的试管中。若按摩不出前列腺液，可检查按摩后的尿液沉渣。

G、精液样本

精液标本采集前应禁欲 3~7 天，排净尿液后可用手淫法或其他方法将精液直接排入干净的容器中，保温并及时送检。由于精子生成日间变动较大，一般应检查 2~3 次（每次间隔 1~2 周）方可做诊断。

H、阴道分泌物样本

阴道标本采集前 24 小时应禁止房事、盆浴、阴道检查、阴道灌洗及局部上药等，取材所用器械需清洁。一般用盐水浸湿的棉拭子自阴道深部或阴道穹后部、宫颈管口等处取材，制成生理盐水涂片后观察阴道分泌物标本，经期的女性患者不宜检查阴道分泌物标本。

（二）ELISA 的样本实验准备

在收集样本前都必须有一个完整的计划，必须清楚要检测的成份是否足够稳定。对收集后当天就进行检测的样本，及时储存在 4℃ 备用。对于隔天再检测的样本，及时分装后冻存在 -20℃ 备用，有条件的，最好 -70℃ 冻存备用。标本应避免反复冻融。

液体类标本：包括血清、血浆、尿液、胸腹水、脑脊液、细胞培养上清等。

1. 血清

室温血液自然凝固 10-20 分钟后，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

2. 血浆

应根据标本的要求选择 EDTA、柠檬酸钠或肝素作为抗凝剂，混合 10-20 分钟后，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

3. 尿液

用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。胸腹水、脑脊液参照此实行。

4. 细胞培养上清

检测分泌性的成份时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。

5. 培养细胞

检测细胞内的成份时，用 PBS (PH7.2-7.4) 稀释细胞悬液，细胞浓度达到 100 万/ml 左右。通过反复冻融或加入组织蛋白萃取试剂，以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心 20 分钟左

右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

6. 组织标本

切割标本后，称取重量。加入一定量的 PBS，PH7.4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃ 的温度。加入一定量的 PBS（PH7.4），或组织蛋白萃取试剂，用手工或匀浆器将标本匀浆化。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻备用。