

室温下光线照射对血清胆红素测定结果的影响

李治锋, 夏寿扬, 杨艳艳(江苏省泗洪县人民医院检验科, 江苏宿迁 223900)

【摘要】 目的 探讨室温下血清标本在实验室放置不同时间和受实验室光线照射对总胆红素和直接胆红素测定结果的影响。**方法** 将一组标本暴露在实验室光线下, 另一组标本避光保存, 分别于 0、2、4、8、24 h 测定总胆红素和直接胆红素, 对比分析两组标本测定结果的平均偏差。**结果** 室温下血清标本在 0 h 测定的总胆红素结果为 $(17.47 \pm 9.33) \mu\text{mol/L}$, 2、4、8、24 h 后光照组总胆红素结果为 (16.73 ± 9.09) 、 (15.98 ± 8.85) 、 (15.13 ± 8.35) 、 $(13.50 \pm 7.37) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$); 2、4、8、24 h 后避光组总胆红素结果为 (17.47 ± 9.45) 、 $(17.58 \pm 9.60) \mu\text{mol/L}$ ($P > 0.05$)、 (17.92 ± 9.95) 、 $(19.86 \pm 11.21) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$); 室温下血清标本在 0 h 测定的直接胆红素结果为 $(5.40 \pm 3.19) \mu\text{mol/L}$, 2、4、8、24 h 后光照组直接胆红素结果为 $(5.49 \pm 3.22) \mu\text{mol/L}$ ($P > 0.05$)、 (5.55 ± 3.26) 、 (5.80 ± 3.37) 、 $(6.08 \pm 3.64) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$); 2、4、8、24 h 后避光组总胆红素结果为 (5.28 ± 3.17) 、 (5.39 ± 3.28) 、 (5.51 ± 3.40) 、 $(5.63 \pm 3.72) \mu\text{mol/L}$ ($P > 0.05$)。**结论** 室温下受光线照射血清标本的总胆红素不断下降, 2 h 后总胆红素测定值差异也有统计学意义, 避光保存组的血清总胆红素标本测定值略微上升, 但至少可以保存 4 h; 室温下受光线照射血清标本的直接胆红素值不断上升, 但 2 h 内检测结果差异无统计学意义, 避光组的直接胆红素标本测定值也不断上升, 但至少可以保存 24 h。

【关键词】 室温; 总胆红素; 直接胆红素; 光线照射; 血清

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.22.012 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)22-2806-03

The effect of laboratory light ray at room temperature on the result of determination of serum bilirubin LI Zhi-feng, XIA Shou-yang, YANG Yan-yan (The Clinical Laboratory of Sihong People's Hospital, Suqian, Jiangsu 223900, China)

【Abstract】 Objective To explore effects of serum samples at room temperature in different time and a light ray laboratory on results of total bilirubin and direct bilirubin determination. **Methods** A group in the laboratory specimen were exposed in light, another group of specimens were preserved avoiding light, respectively. Total bilirubin and direct bilirubin were detected in 0, 2, 4, 8, 24 h, comparative analysis of the two groups of specimens of the average deviation determination was taken. **Results** Serum samples at room temperature in 0 h determination of the total bilirubin result was $(17.47 \pm 9.33) \mu\text{mol/L}$. 2, 4, 8, 24 h after light, total bilirubin results were (16.73 ± 9.09) , (15.98 ± 8.85) , (15.13 ± 8.35) , $(3.50 \pm 7.37) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). After 2, 4, 8, 24 h avoiding light, determination of the total bilirubin results were (17.47 ± 9.45) , $(17.58 \pm 9.60) \mu\text{mol/L}$ ($P > 0.05$), (17.92 ± 9.95) , $(19.86 \pm 11.21) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$). Serum samples at room temperature in 0 h determination of the direct bilirubin result was $(5.40 \pm 3.19) \mu\text{mol/L}$. After 2, 4, 8, 24 h light, determination of direct bilirubin the results were (5.49 ± 3.22) ($P > 0.05$), (5.55 ± 3.26) , (5.80 ± 3.37) , (6.08 ± 3.64) ($P < 0.05$) $\mu\text{mol/L}$. After 2, 4, 8, 24 h avoiding light, determination of the total bilirubin results were (5.28 ± 3.17) , (5.39 ± 3.28) , (5.51 ± 3.40) , $(5.63 \pm 3.72) \mu\text{mol/L}$ ($P > 0.05$). **Conclusion** Serum samples of total bilirubin values falling, total bilirubin determination value has statistical significance after 2 h in light ray at room temperature. avoiding light preservation can save the serum total bilirubin specimens determination value with rising slightly, but these can be stored for at least 4 h. Room temperature with a light ray, direct bilirubin serum blood samples values are rising, but after 2 h results have no statistical significance, avoid light group's direct bilirubin specimens are rising, but these can be stored for at least 24 h.

【Key words】 room temperature; total bilirubin; direct bilirubin; light irradiation; serum

血清胆红素大部分是体内衰老红细胞裂解而释放出的血红蛋白分解的产物, 也有一些是无效红细胞生成和其他含血红蛋白辅基的蛋白质分解而来。胆红素是难溶于水的脂溶性物质, 在血液中主要以胆红素—清蛋白复合物的形式存在和运输。健康的成年人每天大约产生 250~350 mg 胆红素, 在肝胆疾病和免疫性溶血性疾病的人体内胆红素会增加^[1]。因此, 血清胆红素测定是实验室肝功能检查的常规项目, 可用于判断肝脏功能、判断有无黄疸及黄疸的程度及黄疸类型。近年来的资料表明, 胆红素可能具有抗氧化作用, 对类风湿的治疗有指导

意义^[2]。血清胆红素降低与冠心病的危险增加相关, 且总胆红素随着冠状动脉狭窄程度增加而降低, 逐渐扩大了胆红素的临床应用范围^[3]。因此, 准确测定胆红素才能为临床提供强有力的实验依据。由于国内外学者对胆红素检测的实验结论存在一定差异, 为此, 本文结合本实验室情况, 试验光照对血清胆红素测定结果的影响, 以保证实验室胆红素测定结果的准确性。

1 材料与方法

1.1 标本采集 随机抽取门诊或病区 25 例患者静脉血 4~6 mL 于凝胶真空管内, 避光保存, 并快速分离血清。每份血清

分装于 8 个 7600 日立生化分析仪专用微量测量杯中后密封, 每杯 300 μL, 其中 4 杯避光于实验室室温保存, 另 4 杯直接置于实验室台面, 距实验室天花板 40 W 日光灯 1.8 m 光照保存。

1.2 仪器与试剂 Hitachi(日立)7600-020 全自动生化分析仪, 该仪器由日立工程师于 2012 年 2 月 14 日校准。由日本和光纯药工业株式会社提供总胆红素测定试剂盒(钒酸氧化法), 批号 DJ655(R1)+DJ656(R2); 直接胆红素测定试剂盒(钒酸氧化法), 批号 DJ661(R1)+DJ662(R2)。有效期均为 2012 年 7 月 15 日。

1.3 方法 分别于分离血清后 0、2、4、8、24 h 测量避光和光照条件下血清总胆红素和直接胆红素浓度。

1.4 质量控制 Beckman COULTER 质控血清, 批号 657365, 有效期至 2013 年 5 月 31 日, 其中 Level 2 总胆红素靶值为 64.5 μmol/L, 直接胆红素靶值为 16.5 μmol/L; Level 3 总胆红素靶值 118.5 μmol/L, 直接胆红素靶值为 22.3 μmol/L。每天上午和下午随标本一同检测。

1.5 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光线对总胆红素的影响 避光组与光照组测定值的结果见表 1。2、4、8、24 h 的总胆红素测定值与基础值的配对检验 t 值和 P 值见表 2。结果显示, 室温下受光线照射血清标本的总胆红素值不断下降, 2、4、8、24 h 测定结果与基础值差异均有统计学意义($P < 0.01$); 室温下避光组血清标本总胆红素值也不断下降, 但 2、4 h 测定结果与基础值差异无统计学意义($P > 0.05$), 8、24 h 测定结果与基础值差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 光照组总胆红素测定结果($n=25$)

实验室光线照射时间	$\bar{x} \pm s(\mu\text{mol/L})$	回收率 $\pm s$	t	P
基础值	17.47 ± 9.33	100	—	—
2 h	16.73 ± 9.09	96 ± 3	6.43	<0.001
4 h	15.98 ± 8.85	91 ± 5	9.925	<0.001
8 h	15.13 ± 8.35	86 ± 6	9.021	<0.001
24 h	13.50 ± 7.47	77 ± 10	9.267	<0.001

注: — 表示无数据。

表 2 避光组总胆红素测定结果($n=25$)

避光时间	$\bar{x} \pm s(\mu\text{mol/L})$	回收率 $\pm s$	t	P
基础值	17.47 ± 9.33	100	—	—
2 h	17.47 ± 9.45	100 ± 1	0.127	0.899 9
4 h	17.58 ± 9.60	101 ± 2	1.244	0.225 4
8 h	17.92 ± 9.95	103 ± 4	2.935	0.007 2
24 h	19.86 ± 11.21	114 ± 10	4.866	0.000 1

注: — 表示无数据。

2.2 光线对直接胆红素的影响 避光组与光照组测定值的结果见表 3。2、4、8、24 h 的直接胆红素测定值与基础值的配对检验 t 值和 P 值见表 4。室温下受光线照射血清标本的直接胆红素值不断上升, 2 h 测定结果与基础值差异均无统计学意义($P > 0.05$), 4、8、24 h 测定结果与基础值差异均有统计学意义

($P < 0.05$); 室温下避光组血清标本直接胆红素值也是不断上升, 但 2、4、8、24 h 测定结果与基础值差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 光照组直接胆红素测定结果($n=25$)

实验室光线照射时间	$\bar{x} \pm s(\mu\text{mol/L})$	回收率 $\pm s$	t	P
基础值	5.4 ± 3.19	100	—	—
2 h	5.49 ± 3.22	102 ± 1	1.866	0.074 0
4 h	5.55 ± 3.26	103 ± 1	2.568	0.020 0
8 h	5.8 ± 3.37	107 ± 5	3.54	0.002 0
24 h	6.08 ± 3.64	113 ± 8	3.624	0.001 4

注: — 表示无数据。

表 4 避光组直接胆红素测定结果($n=25$)

避光时间	$\bar{x} \pm s(\mu\text{mol/L})$	回收率 $\pm s$	t	P
基础值	5.4 ± 3.19	100	—	—
2 h	5.28 ± 3.17	98 ± 1	1.478	0.153 0
4 h	5.39 ± 3.28	100 ± 3	0.231	0.819 0
8 h	5.51 ± 3.40	103 ± 5	1.719	0.098 4
24 h	5.63 ± 3.72	104 ± 9	1.595	0.124 0

注: — 表示无数据。

2.3 光照组和避光组同时时间段检测值统计学分析 为了确定室温下光线照射是否对总胆红素和直接胆红素有影响, 本文将各个时间段的两组结果进行平行统计分析, 分析结果见表 5。从表 5 可以看出, 2、4、8、24 h 光照组和避光组的总胆红素和直接胆红素测定结果差异均有统计学意义($P < 0.05$), 由此可以看出光线照射对总胆红素和直接胆红素检测的影响。

表 5 光照组和避光组的统计学分析结果

时间(h)	总胆红素		直接胆红素	
	t	P	t	P
2	6.284	<0.01	2.435	<0.05
4	9.055	<0.01	2.971	0.01
8	7.706	<0.01	2.503	0.05
24	7.093	<0.01	2.401	0.05

3 讨论

胆红素检测作为肝功能检查的一项指标应用已久, 室温下光线对总胆红素检测的影响的研究报道屡见不鲜^[4-9], 而对直接胆红素的报道则相对较少^[6], 殊不知直接胆红素为黄疸的分型提供理论依据, 而健康人的直接胆红素含量的较少, 更易被医务人员忽略其含量的变化。一直以来高胆红素被认为才有意义, 但近年来的报道使低浓度的胆红素也不能被忽视^[3]。国内的学者对这方面的研究相对简单一些, 沈学耕^[8]用 VITROS350 干化学全自动生化仪对 48 例肝素抗凝血来进行胆红素测定; 赵同军和焦红见^[9]用日本东芝 TB120FR 全自动生化分析仪对 30 例黄疸患儿血清分别进行胆红素测定。但他们均未说明检测方法, 对实验室光线具体情况也未详细描述。国外的学者相对详细一点, Sofronescu 等^[6]用 38 份肝素抗凝血, 使用 Uni-Cel DxC 800 生化分析仪, 利用重氮法对总胆红素和直接胆红素进行检测, 并且对标本放置容器和光照条件都有明确说明。

他们研究认为血浆标本在室温或冰箱中避光保存总胆红素和直接胆红素 24 h 不会有明显变化,常温条件下实验室光照 8 h 内总胆红素和直接胆红素检测不会有明显变化。Rehak 等^[7]也有类似的报道。

在本实验中结合了国内外学者的优秀理念和方法,结合本实验室光照背景情况进行了研究。本研究结果显示,总胆红素在实验室光照 2 h 后,胆红素含量已经开始下降,所得检测结果与基础值差异已有统计学意义。8 h 回收率为 86%,根据美国 CLIA'88 能力验证计划分析质量要求:胆红素检测值在靶值 ± 6.84 mmol/L(0.4 mg/dL)或 $\pm 20\%$ (取大者),仍为可接受范围,但 24 h 回收率已达 77%,结果不可接受。究其原因还是胆红素在光的作用下导致分子中双键构型转变方向,影响分子内部氢键形成,发生光照异构作用及自身氧化作用,这其中未结合胆红素比结合胆红素的分解作用大 2~3 倍。而胆红素中大部分为非结合胆红素,标本在受到光照下会使胆红素中相当部分的非结合胆红素形成构型异构体,进而进一步形成结构异构体,由于结构异构体不参与反应,所以导致测得总胆红素比实际值要低^[4-10]。在室温避光条件下,本文检测的总胆红素值呈上升趋势,到 24 h 回收率为 104%,仍为可接受范围。这就与国内外的报道存在一定差异,仔细分析可能与检测方法有关。有文献报道,干化学法、钒酸氧化法与重氮法检测胆红素结果不具有可比性^[11],而且国内也有文献报道钒酸氧化法测定总胆红素的平均回收率为 103.5%^[12]。

本研究结果显示,直接胆红素无论是在照射组还是避光组,随着时间的增加检测值在不断升高,且照射组比避光组明显,照射组 24 h 回收率可达 113%,避光组 24 h 回收率为 104%。升高的原因可能是:直接胆红素包括结合胆红素和 δ -胆红素,利用钒酸氧化法进行胆红素的测定存在反应时间不同,结果相差很大的特点。时间短,非结合胆红素参与反应少,结合胆红素反应也不完全;时间长,结合胆红素反应较完全,但一部分非结合胆红素也参与反应。光照加速了结合胆红素的转化,因此上升的速度比避光组要快,而且 δ -胆红素在血清中滞留的时间较长,也导致了结果的上升^[13-14]。

总而言之,由于各实验室所用生化仪器及配套试剂的不同、检测方法的不同、标本类型的不同、实验室光照条件的不同等各方面因素的影响,所得出的光线照射对胆红素的检测的影响不尽相同。因此各实验室应根据自身的条件,自行设计胆红素光照实验,合理安排标本保存时间。根据本科室现有环境和临床采集标本的时间,特制订如下措施:门诊待测标本应尽早离心分离血清,并且要避光保存,病房标本抽取后应放冰箱冷藏,并尽快送检;为了保证总胆红素和直接胆红素的测量准确,当待测标本较多时,为减少胆红素的自身氧化和光异构化,同

时为了给临床提供更为准确的实验数据,避光保存应不超过 4 h,条件允许应在项目测定设置时先测定胆红素,若 4 h 内无法检测,应置 2~8 °C 冰箱中避光保存^[9]。

参考文献

- [1] 周新,涂植光.临床生物化学和生物化学检验[M].3版.北京:人民卫生出版社,2006:234-235.
- [2] Fischman D. bilirubin as a Protective Factor for Rheumatoid Arthritis: An NAHANES Study of 2003-2008 Data [J]. Clin Med Res, 2010, 2(6): 256-260.
- [3] 史连义,周志伟.冠心病患者血清总胆红素水平的 Meta 分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18): 2062-2064.
- [4] McDough AF. Photolysis and photoisomerization of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting [J]. Clin Chim Acta, 2008, 393(2): 130-131.
- [5] Tanner M, Kent N, Smith B, et al. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation [J]. Ann Clin Biochem, 2008, 45(4): 375-379.
- [6] Sofronescu AG, Loeb T, Zhu YS. Effects of temperature and light on the stability of bilirubin in plasma samples [J]. Clin Chim Acta, 2012, 413: 463-466.
- [7] Rehak NN, Cecco SA, Hortin GL. Photolysis of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting [J]. Clin Chim Acta, 2008, 387(1/2): 181-183.
- [8] 沈学耕.胆红素待测标本受实验室光线照射影响测定结果的探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(3): 285-287.
- [9] 赵同军,焦红见.自然光线照射对血清胆红素检测的影响[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(46): 238-239.
- [10] 刘玉霞,朱晴辉.结合胆红素和非结合胆红素在高胆红素血症中的应用[J]. 检验医学, 2008, 23(2): 156-159.
- [11] 陈荔霞.总胆红素三种检测方法对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(22): 5342-5344.
- [12] 贾丽霞,张红艳,程书珍.3种血清胆红素测定方法的比较[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(24): 3462-3463.
- [13] 李巍,于飞,宋克,等.胆红素测定若干问题的讨论[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(4): 53-54.
- [14] 王耿新,宋玉华.钒酸氧化法与重氮法胆红素测定的动力学研究[J]. 邯郸医学高等专科学校学报, 2005, 8(3): 223-224.

(收稿日期:2012-06-15)

(上接第 2805 页)

- [6] 叶晓光,王若伦,林红燕,等.产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌耐药谱动态观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(5): 492-495.
- [7] Esen S, Leblebicioglu H. Prevalence of nosocomial infections at intensive care units in Turkey: a multicentre 1 day point prevalence study [J]. Scand J Infect Dis, 2004, 36

(2): 144-148.

- [8] 林漫燕,陈亿长,辜红妮.下呼吸道感染的病原菌分布及药敏分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(7): 637-638.
- [9] 杨清宇,刘荣森.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(4): 478-480.

(收稿日期:2012-06-27)