

TOTAL BILIRUBIN-SL-X ASSAY

CATALOGUE NUMBER: 284-30 SIZE: R1: 3 x 100 mL, R2: 1 x 75 mL

INTENDED USE

For the *in vitro* quantitative measurement of bilirubin (total) in serum.

TEST SUMMARY

Bilirubin is a bile pigment normally found in serum as a result of red cell destruction. It is a product of hemoglobin breakdown by the reticuloendothelial system and exists in two forms. Unconjugated (indirect) bilirubin is transported to the liver bound by albumin where it becomes conjugated (direct) with glucuronic acid and excreted.

The elevation of total serum bilirubin may occur due to hemolytic processes, liver disease, or a disorder of the biliary tract.

Traditional methods of measuring bilirubin are based on the reaction of bilirubin with a diazo reagent to form the colored compound: azo-bilirubin. The diazo reaction can be accelerated by the addition of various chemicals. For example, Malloy-Evelyn⁽¹⁾ used ethanol, Jendrassik-Grof⁽²⁾ used caffeine, and Walters-Gerarde⁽³⁾ used DMSO. Modifications of these methods included the addition of surfactants as solubilizing agents.⁽⁴⁾

In this method, a 2,4-dichlorophenyldiazonium salt is used as the diazo reagent and the reaction is facilitated by the use of a surfactant.

TEST PRINCIPLE

Surfactant

Total Bilirubin + 2,4-dichlorophenyldiazonium salt → Azobilirubin

Bilirubin (conjugated and unconjugated) couples with the diazo reagent in the presence of a surfactant to form azobilirubin. The increase in absorbance at 546 nm is directly proportional to the total bilirubin concentration.

REAGENTS

TBili-SL-X Accelerator Reagent (R1): A solution containing 154 mmol/L NaCl, 230 mmol/L HCl, surfactants, and preservatives.

TBili-SL-X Diazo Reagent (R2): A solution containing 153 mmol/L HCl, 5 mmol/L 2,4-dichlorophenyldiazonium salt and a surfactant.

WARNINGS & PRECAUTIONS FOR USE

TBILI-SL-X Accelerator Reagent (R1)



Warning

Hazard statements

H410 - Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

Precautionary statements

P273 - Avoid release to the environment.

P391 - Collect spillage.

P501 - Dispose of contents/container to hazardous or special waste collection point, in accordance with local, regional, national and/or international regulation.

Avoid contact with skin and eyes.

See Safety Data Sheet for additional information.

REAGENT, PREPARATION, STORAGE & STABILITY

The reagents are provided in a ready to use format.

Supplied reagents are stable at 2-8°C until expiry date.

Stability claims are based on real time studies.

REAGENT DETERIORATION

The reagents should be clear. Turbidity would indicate deterioration.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State, and local regulations.

SPECIMEN

Fresh, clear, unhemolysed serum.

SAMPLE STORAGE

The specimen must be protected from light. Specimens for analysis should be stored at 2-8°C and are stable for 3 days. Specimens may be stored frozen at minus 70°C for up to 3 months.⁽⁵⁾

ANALYTICAL SPECIFICITY

Cross contamination studies have not been performed on automated instruments. Certain reagent/ instrument combinations used in sequence with this assay may interfere with reagent performance and test results. The existence of, or effects of, any potential cross contamination issues are unknown.

Interferences from hemoglobin and lipemia were evaluated for this total bilirubin method on a Roche/Hitachi® analyzer using a significance criterion of > 10% variance from control.

Concentration		Substance Tested	Concentration of Interferent Where Interference is Insignificant	
Conv. Units	SI Units			
1.35 mg/dL	23.1 µmol/L	Hemoglobin	400 mg/dL	62 µmol/L
1.75 mg/dL	29.7 µmol/L	Intralipid	1000 mg/dL	3000 mg/dL (33.9 mmol/L) Simulated Triglycerides

Samples containing indocyanine green should not be used.

Samples containing elevated levels of Immunoglobulin M (IgM) or samples from patients with Waldenstrom's Macroglobulinemia may produce unreliable results.

The information presented is based on results from SEKISUI Diagnostic studies and is current at the date of publication.

A summary of the influence of drugs on assays may be found by consulting Young, D.S.⁽⁶⁾

ANALYTICAL PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED

SEKISUI Diagnostics' Total Bilirubin-SL-X reagents.

MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

1. Automated analyzer capable of accurately measuring absorbance at appropriate wavelength as per instrument application.
2. Calibration material.
3. Quality Control materials.

TEST CONDITION

For the data presented in this insert, studies using this reagent were performed on an automated analyzer using an endpoint test mode, with a sample to reagent ratio of 1:32:8 and a wavelength reading of 546 nm. For assistance with applications on automated analyzers within Canada and the U.S., please contact SEKISUI Diagnostics Technical Services at (800) 565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

Calibration material should be used to calibrate the procedure. The frequency of calibration, if necessary, on automated systems is dependant on system and parameters used.

QUALITY CONTROL

A normal and abnormal concentration control should be analyzed as required in accordance with local, state, and federal guidelines. The results should fall within the acceptable range as established by the laboratory.

CALCULATIONS

The analyzer automatically calculates the total bilirubin concentration of each sample.

TEST LIMITATIONS

A sample with a total bilirubin concentration exceeding the linearity limit should be diluted with 0.9% saline and reassaying incorporating the dilution factor in the calculation of the value.

REFERENCE INTERVALS⁽⁵⁾

0.2-1.0 mg/dL (3.4-17.1 µmol/L)

These values are suggested guidelines. It is recommended that each laboratory establish the normal range for the area in which it is located.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Data presented was collected on a Roche/Hitachi® analyzer unless otherwise stated.

RESULTS

Bilirubin (Total) concentration is reported as mg/dL (µmol/L).

REPORTABLE RANGE (CLSI EP6)⁽⁷⁾

The linearity of the procedure described is 20.00 mg/dL (342.0 µmol/L). The lower limit of detection is 0.04 mg/dL (0.7 µmol/L). This data results in a reportable range of 0.04-20.00 mg/dL (0.7-342.0 µmol/L).

PRECISION STUDIES (CLSI EP5)⁽⁷⁾

Day to day data was collected on two control sera using two lots of reagent in 40 runs conducted over 20 days.

Concentration		Day -To-Day SD		Day-To-Day CV %
mg/dL	µmol/L	mg/dL	µmol/L	
0.69	11.7	0.02	0.3	3.4
6.95	118.8	0.16	2.7	2.3

Within run precision data was collected on two control sera, using a single lot of reagent, each run 20 times in a single assay.

Concentration		Within-Run SD		Within-Run CV %
mg/dL	µmol/L	mg/dL	µmol/L	
0.67	11.4	0.01	0.2	1.7
6.76	115.6	0.06	1.0	0.8

ACCURACY (CLSI EP9)⁽⁷⁾

The performance of this method (y) was compared with the performance of a similar method (x) on a Roche/Hitachi® analyzer. Forty samples ranging from 0.18 mg/dL to 19.76 mg/dL (3.1 µmol/L to 335.9 µmol/L) gave a correlation coefficient of 0.9990. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 1.02 (\text{reference method}) + (0.03 \text{ mg/dL}) 0.5 \text{ µmol/L.}$$

These performance characteristics were generated in SEKISUI Diagnostics' laboratories using automated procedures unless otherwise stated.

All trademarks, brands, product names and trade names are the property of their respective companies.

The word SEKURE and the Sekure logo are trademarks of SEKISUI Diagnostics, LLC.

ES

TOTAL BILIRUBIN-SL-X ASSAY

NÚMERO DE CATÁLOGO: 284-30 TAMAÑO: R1: 3 × 100 ml, R2: 1 × 75 ml

USO PREVISTO

Para la medición cuantitativa *in vitro* de bilirrubina (total) en suero.

RESUMEN DEL ANÁLISIS

La bilirrubina es un pigmento biliar que se encuentra normalmente en el suero como resultado de la destrucción de los glóbulos rojos. Es un producto de la degradación de la hemoglobina por el sistema reticuloendotelial y existe en dos formas. La bilirrubina no conjugada (indirecta) se transporta al hígado unida a la albúmina, donde se conjuga con ácido glucurónico (de forma que se convierte en directa) y se excreta.

La elevación de la bilirrubina sérica total puede ocurrir debido a los procesos hemolíticos, enfermedad hepática o afecciones de la vía biliar.

Los métodos tradicionales de medición de la bilirrubina se basan en la reacción de la bilirrubina con un reactivo diazo para formar el compuesto coloreado:

azobilirrubina. La reacción diazo se puede acelerar mediante la adición de diversos productos químicos. Por ejemplo, Malloy-Evelyn⁽¹⁾ usó etanol, Jendrassik-Grof⁽²⁾ usó cafeína y Walters-Gerarde⁽³⁾ usó DMSO. Las modificaciones de estos métodos incluyen la adición de agentes tensioactivos como agentes solubilizantes.⁽⁴⁾

En este método, se utiliza una sal de 2,4-diclorofenil diazonio como reactivo diazo y la reacción se ve facilitada por el uso de un tensioactivo.

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

Bilirrubina total + sal de 2,4-diclorofenil diazonio $\xrightarrow{\text{Agente tensioactivo}}$ Azobilirrubina

La bilirrubina (conjugada y no conjugada) se une al reactivo diazo en presencia de un agente tensioactivo para formar azobilirrubina. El aumento en la absorbancia a 546 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina total.

AGENTES REACTIVOS

Agente reactivo acelerador de la bilirrubina total SL-X (R1): solución que contiene 154 mmol/l de NaCl, 230 mmol/l de HCl, tensioactivos y conservantes.

Agente reactivo diazo de bilirrubina total SL-X (R2): solución que contiene 153 mmol/l de HCl, 5 mmol/l de sal de 2,4 diclorofenil diazonio y un agente tensioactivo.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCIÓN PARA SU USO

TBILI-SL-X Accelerator Reagent (R1)



Atención

Indicaciones de peligro

H410 - Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Consejos de prudencia

P273 - Evitar su liberación al medio ambiente.

P391 - Recoger el vertido.

P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de recogida de residuos peligrosos o especiales, con arreglo a la normativa local, regional, nacional y/o internacional.

Evitar el contacto con la piel y los ojos.

Véase la ficha de datos de seguridad para información adicional.

PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL AGENTE REACTIVO

Los agentes reactivos se proporcionan listos para usar.

Los agentes reactivos suministrados son estables a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad.

Los datos de estabilidad presentados se basan en estudios realizados en tiempo real.

DETERIORO DEL AGENTE REACTIVO

Los agentes reactivos deben ser transparentes. La turbidez indicaría deterioro.

ELIMINACIÓN

Los agentes reactivos se deben eliminar de conformidad con todas las normas federales, provinciales, estatales y locales.

MUESTRA

Suero fresco, transparente, sin hemolizar.

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

La muestra se debe proteger de la luz. Las muestras para análisis deben conservarse a 2-8 °C y son estables durante 3 días. Las muestras se pueden conservar congeladas a -70 °C durante un máximo de 3 meses.⁽⁵⁾

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

No se han realizado estudios de contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Ciertas combinaciones de agentes reactivos/instrumentos empleadas en secuencia con este ensayo pueden interferir en el rendimiento del agente reactivo y los resultados de la prueba. Se desconoce si existen problemas de posible contaminación cruzada, así como sus efectos.

Se evaluaron las interferencias de la hemoglobina y lipemia para este método de bilirrubina total en un analizador Roche/Hitachi® utilizando un criterio de significancia de más de un 10 % de varianza respecto al control.

Concentración		Sustancia analizada	Concentración de interferente en casos de interferencia insignificante	
Unidades convencionales	Unidades SI			
1,35 mg/dl	23,1 µmol/l	Hemoglobina	400 mg/dl	62 µmol/l
1,75 mg/dl	29,7 µmol/l	Intralípido	1000 mg/dl	3000 mg/dl (33,9 mmol/l) de triglicéridos simulados

Las muestras que contengan verde de indocianina no deben utilizarse.

Las muestras que contienen niveles elevados de inmunoglobulina M (IgM) o las muestras de pacientes con macroglobulinemia de Waldenström pueden producir resultados poco confiables.

La información presentada se basa en los resultados de estudios de SEKISUI Diagnostic y está vigente a la fecha de publicación.

Se puede encontrar un resumen de la influencia de los medicamentos en los ensayos consultando a Young, D.S.⁽⁶⁾

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

MATERIALES PROPORCIONADOS

Agentes reactivos de la bilirrubina total SL-X de SEKISUI Diagnostics.

MATERIALES NECESARIOS (PERO NO SUMINISTRADOS)

1. Analizador automatizado capaz de medir con precisión la absorbancia a la longitud de onda adecuada según la aplicación del instrumento.
2. Material de calibración.
3. Materiales de control de calidad.

CONDICIÓN DEL ANÁLISIS

Para la obtención de los datos que se presentan en esta ficha, se realizaron estudios con este agente reactivo en un analizador automatizado en modo de análisis de criterio de valoración con una proporción de 1:32:8 entre la muestra y el agente reactivo, y una lectura de longitud de onda de 546 nm. Si desea recibir ayuda con las aplicaciones de los analizadores automatizados en Canadá y EE. UU., comuníquese con SEKISUI Diagnostics Technical Services llamando al teléfono +1 (800) 565-0265. En otros países, llame a su distribuidor local.

CALIBRACIÓN

Se debe utilizar el material de calibración para calibrar el procedimiento. De ser necesaria, la frecuencia de la calibración en sistemas automatizados depende del sistema y de los parámetros utilizados.

CONTROL DE CALIDAD

Deben analizarse los controles de concentración normal y anormal, según sea necesario, de conformidad con las directrices locales, estatales y federales. Los resultados deben estar dentro de los límites aceptables establecidos por el laboratorio.

CÁLCULOS

El analizador calcula automáticamente la concentración de bilirrubina total de cada muestra.

LIMITACIONES DEL ANÁLISIS

Si una muestra contiene una concentración de bilirrubina total superior al límite de linealidad, debe diluirse con solución salina al 0,9 % y repetirse el ensayo teniendo en cuenta el factor de dilución en el cálculo del valor.

INTERVALOS DE REFERENCIA⁽⁵⁾

0,2-1,0 mg/dl (3,4-17,1 µmol/l)

Estos valores se sugieren como pauta. Se recomienda que cada laboratorio establezca el rango normal para el área en que se encuentre.

PARÁMETROS DE CALIDAD

Los datos presentados se recogieron en un analizador Roche/Hitachi®, a menos que se indique lo contrario.

RESULTADOS

La concentración de bilirrubina (total) se indica en mg/dl (µmol/l).

INTERVALO DE TRABAJO (CLSI EP6)⁽⁷⁾

La linealidad del procedimiento descrito es 20,00 mg/dl (342,0 µmol/l). El límite inferior de detección es de 0,04 mg/dl (0,7 µmol/l). Estos datos establecen un intervalo de trabajo de entre 0,04 y 20,00 mg/dl (0,7 y 342,0 µmol/l).

ESTUDIOS DE PRECISIÓN (CLSI EP5)⁽⁷⁾

Los datos diarios se recogieron en dos sueros de control utilizando dos lotes de reactivo en 40 pruebas realizadas durante 20 días.

Concentración		Desviación estándar diaria		Coeficiente de variación diario (%)
mg/dl	µmol/l	mg/dl	µmol/l	
0,69	11,7	0,02	0,3	3,4
6,95	118,8	0,16	2,7	2,3

Los datos de precisión dentro de la prueba fueron recogidos en dos sueros de control utilizando el mismo lote de reactivo, y cada uno se procesó 20 veces en un solo análisis.

Concentración		Desviación estándar intraanálisis		Coeficiente de variación intraanálisis %
mg/dl	µmol/l	mg/dl	µmol/l	
0,67	11,4	0,01	0,2	1,7
6,76	115,6	0,06	1,0	0,8

EXACTITUD (CLSI EP9)⁽⁷⁾

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método similar (x) en un analizador Roche/Hitachi®. Cuarenta muestras de 0,18 mg/dl a 19,76 mg/dl (3,1 µmol/l a 335,9 µmol/l) dieron un coeficiente de correlación de 0,9990. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1,02 (\text{método de referencia}) + (0,03 \text{ mg/dl}) 0,5 \text{ µmol/l.}$$

Estas características de rendimiento se generaron en los laboratorios SEKISUI Diagnostics utilizando procedimientos automatizados, a menos que se indique lo contrario.

Todas las marcas comerciales, marcas, nombres de productos y nombres comerciales son propiedad de sus respectivas compañías.

La denominación SEKURE y el logotipo de Sekure son marcas comerciales de SEKISUI Diagnostics, LLC.

Symbols / Símbolos

LOT

Batch Code
Código de lote



Manufacturer
Fabricante



Consult instructions for use
Consulte las instrucciones de uso

IVD

In vitro diagnostic medical device
Dispositivo médico para el diagnóstico *in vitro*



Use by date
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Fecha de caducidad
AAAA-MM-DD o AAAA-MM

REF

Catalog number
Número de catálogo



Temperature limit
Límites de temperatura



Environmental hazards
Peligros para el medio ambiente

R_x ONLY

For use by or on the order of a physician only (applicable to USA classification only)
Solo para el uso por parte de un médico o bajo la prescripción de un médico (aplicable solo a la clasificación de los Estados Unidos)

REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA

1. Malloy H.T. and Evelyn, K.A., The Determination of Bilirubin with the Photoelectric Colorimeter., J. Biol. Chem. 119: 481-490 (1937).
2. Jendrassik, L and Grof. P. Vereinfachte, Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins, Biochem. A. 297: 81-89 (1938).
3. Walters, M. and Gerarde, H., An Ultramicromethod for the Determination of Conjugated and Total Bilirubin in Serum or Plasma, Microchem. J. 15: 231-243 (1970).
4. Winsten, S. and Cehelyk, B., A Rapid Micro Diazo Technique for Measuring Total Bilirubin., Clin. Chem. Acta 25: 441-446 (1969).
5. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
6. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, 1990.
7. *CLSI Method Evaluation Protocols*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

IN28410-15
March 22, 2024

The Americas

SEKISUI Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada
Phone: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Email: questions@sekisuidiagnostics.com
techservices@sekisuidiagnostics.com

International

SEKISUI Diagnostics (UK) Limited
Liphook Way
Allington, Maidstone
KENT, ME16 0LQ, UK
Email: info@sekisuidiagnostics.com

SEKISUI
DIAGNOSTICS

sekisuidiagnostics.com