

EN

## TOTAL BILIRUBIN-SL-X ASSAY

CATALOGUE NUMBER: 284-10 SIZE: R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL  
284-30 R1: 3 x 100 mL, R2: 1 x 75 mL

**Note:** Changes are highlighted.

### 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<sup>(1)</sup> used ethanol, Jendrassik-Grof<sup>(2)</sup> used caffeine, and Walters-Gerard<sup>(3)</sup> used DMSO. Modifications of these methods included the addition of surfactants as solubilizing agents.<sup>(4)</sup>

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



R1 and R2: Contains Hydrochloric Acid

Danger

Hazard statements

H314 - Causes severe skin burns and eye damage.

Precautionary statements

Prevention

P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P260 - Do not breathe vapour/spray.

P264 - Wash thoroughly after handling.

Response

P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.

P333 + P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P310 - Immediately call a POISON CENTRE or doctor/physician.

Storage

P405 - Store locked up.

Disposal - P501 - Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Avoid contact with skin and eyes.

See Material 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.<sup>(5)</sup>

### 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.<sup>(6)</sup>

### 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<sup>(5)</sup>

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)<sup>(7)</sup>

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)<sup>(7)</sup>

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)<sup>(7)</sup>

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.

Manufactured by:



**The Americas**  
Sekisui Diagnostics P.E.I. Inc.  
70 Watts Avenue  
Charlottetown, PE C1E 2B9  
Canada

**International**  
Sekisui Diagnostics (UK) Limited  
Liphook Way  
Allington, Maidstone  
KENT, ME16 0LQ, UK

Phone: 800-565-0265

Email: info@sekisuidiagnostics.com

Fax: 902-628-6504

Email: questions@sekisuidiagnostics.com

peidiagnosticttechnical@sekisuidiagnostics.com

www.sekisuidiagnostics.com

ES

## ENSAYO DE BILIRRUBINA TOTAL SL-X

**NÚMERO DE REFERENCIA:** 284-10 **TAMAÑO:** R1: 1 x 100 ml, R2: 1 x 25 ml  
284-30 R1: 3 x 100 ml, R2: 1 x 75 ml

**Nota:** los cambios se han resaltado.

## USO INDICADO

Para la medición cuantitativa IN VITRO de bilirrubina (total) en suero.

## RESUMEN DE LA PRUEBA

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

La elevación de la bilirrubina sérica total puede ocurrir debido a los procesos hemolíticos, enfermedad del hígado o un trastorno 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<sup>(1)</sup> usó etanol, Jendrassik-Grof<sup>(2)</sup> usó cafeína y Walters-Gerard<sup>(3)</sup> usó DMSO. Las modificaciones de estos métodos incluyen la adición de agentes tensioactivos como agentes solubilizantes.<sup>(4)</sup>

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

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

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

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.

## REACTIVOS

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

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

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES DE USO



R1 y R2: Contiene ácido clorhídrico

Peligro

Indicaciones de peligros

H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Indicaciones de precaución

Prevención

P280 - Llevar guantes, ropa, gafas y máscara de protección.

P260 - No respirar los vapores ni el aerosol.

P264 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

Respuesta

P303 + P361 + P533 - CONTACTO CON LA PIEL O EL CABELLO: Quitarse inmediatamente toda la ropa contaminada. Lavarse la piel con agua o ducharse.

P333 + P313 - En caso de irritación cutánea o sarpullido: Consultar a un médico.

P305 + P351 + P338 - CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o un médico.

Almacenaje

P405 - Guardar bajo llave.

Eliminación - P501 - Eliminar el contenido y el recipiente conforme a la normativa local, regional, nacional e internacional.

Evitar el contacto con la piel y los ojos.

Ver la Ficha de Seguridad de Materiales (ficha técnica) para información adicional.

### REACTIVO, PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los reactivos se proporcionan en un formato listo para usar.

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

Las reclamaciones de estabilidad se basan en estudios en tiempo real.

### DETERIORO DEL REACTIVO

Los reactivos deben ser transparentes. La turbidez indicaría deterioro.

### ELIMINACIÓN

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

### MUESTRA

Suero fresco, transparente y no hemolizado.

### CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

La muestra se debe proteger contra 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 menos 70 °C durante un máximo de 3 meses.<sup>(5)</sup>

### ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

No se han realizado estudios de contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Ciertas combinaciones de reactivos/instrumentos empleadas en secuencia con este ensayo pueden interferir con el rendimiento del reactivo y los resultados de la prueba. Se desconocen la existencia o los efectos de posibles casos de contaminación cruzada.

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 > 10% de varianza del 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) 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 al consultar Young, D.S.<sup>(6)</sup>

## PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

### MATERIALES PROPORCIONADOS

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 DE LA PRUEBA

Para los datos presentados en este documento, los estudios que utilizaron este reactivo se realizaron en un analizador automatizado en modo de análisis de criterio de valoración, con una proporción de muestra reactivo de 1:32:8 y una lectura de longitud de onda de 546 nm. Para asistencia respecto a las aplicaciones en los analizadores automatizados dentro de Canadá y EE. UU., por favor póngase en contacto con los Servicios Técnicos de Sekisui Diagnostics llamando al +1 (800) 565-0265. Fuera de Canadá y de EE. UU., por favor póngase en contacto con su distribuidor local.

### CALIBRACIÓN

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

### CONTROL DE CALIDAD

Debe analizarse el control de la concentración normal y anormal según sea necesario, de conformidad con las pautas 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 DE LA PRUEBA

Una muestra que tenga una concentración de bilirrubina total superior al límite de linealidad debe diluirse con 0,9% de solución salina y repetirse el ensayo incorporando el factor de dilución en el cálculo del valor.

### INTERVALOS DE REFERENCIA<sup>(5)</sup>

0,2-1,0 mg/dl (3,4-17,1 µmol/l)

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

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

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

### RESULTADOS

La concentración de bilirrubina (total) se comunica como mg/dl (µmol/l).

### RANGO COMUNICABLE (CLSI EP6)<sup>(7)</sup>

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 dan como resultado un rango comunicable de 0,04-20,00 mg/dl (0,7-342,0 µmol/l).

### ESTUDIOS DE PRECISIÓN (CLSI EP5)<sup>(7)</sup>

Los datos diarios se recogieron en dos sueros de control utilizando dos lotes de reactivo en 40 repeticiones 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

Se recogieron datos de precisión dentro de la corrida en dos sueros control, utilizando un único lote de reactivo, cada corrida 20 veces en un solo ensayo.

Concentración		Desviación estándar dentro de la corrida		Coeficiente de variación dentro de la corrida %
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

#### PRECISIÓN (CLSI EP9)<sup>(7)</sup>

El rendimiento de este método (y) fue comparado con el rendimiento 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 logo Sekure son marcas comerciales de Sekisui Diagnostics, LLC.

Elaborado por:



#### Continente americano

Sekisui Diagnostics P.E.I. Inc.  
70 Watts Avenue  
Charlottetown, PE C1E 2B9  
Canadá

Teléfono: 800-565-0265

Fax: 902-628-6504

Correo electrónico:

questions@sekisuidiagnostics.com

peidiagnosticttechnical@sekisuidiagnostics.com

www.sekisuidiagnostics.com

#### Internacional

Sekisui Diagnostics (UK) Limited  
Liphook Way  
Allington, Maidstone  
KENT, ME16 0LQ, RU

Correo electrónico:

info@sekisuidiagnostics.com

## Definitions for Symbols/Definición de los Símbolos



Batch Code  
Código de lote



Manufacturer  
Fabricante



Consult instructions for use  
Consulte las instrucciones de uso



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



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



Catalog number  
Número de catálogo



Temperature limitation  
Límites de temperatura

## 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.

IN28410-13  
January 30, 2020