

Test zur Risikoabschätzung für die Entstehung eines Hepatozellulären Karzinoms (HCC)

Code-Nr. 995-60701  
DE 1018 D2

**Bei der Produktkennzeichnung verwendete Symbole:**

<b>REF</b>	Bestellnummer	<b>CAL</b>	Kalibrator
<b>IVD</b>	In-vitro-Diagnostikum	<b>CONTROL</b>	Kontrolle
<b>CONT.</b>	Bestandteile des Kits	<b>CONC.</b>	Sollwert
<b>AC.</b>	Zubehör		Gebrauchsanweisung lesen
<b>Adaptor</b>	Adapter		Verfallsdatum (letzter Tag des Monats)
<b>Holder</b>	Halter		Achtung
<b>LOT</b>	Chargenkennung		Hersteller
<b>BL</b>	Leerwert		Temperaturbeschränkung
<b>EC REP</b>	Autorisierter Vertragshändler innerhalb der Europäischen Gemeinschaft		

### Zweckbestimmung

Das immunologische Testsystem μTASWako DCP ist ein *in-vitro*-Diagnostikum, mit dessen Reagenzien das Des-gamma-Carboxy-Prothrombin (DCP) im Humanserum auf dem Analysenautomaten μTASWako i30 mit immunologischen Techniken quantitativ bestimmt werden kann. In Verbindung mit weiteren Laborbefunden, bildgebenden Verfahren sowie der klinischen Beurteilung des Patienten unterstützt dieser *in-vitro*-Immuntest bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung die Abschätzung des Risikos, ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) zu entwickeln.

### Zusammenfassung und Eigenschaften des Tests

Prothrombin ist ein Vitamin-K-abhängiger Blutgerinnungsfaktor, der in der Leber gebildet wird. In seiner N-terminalen Domäne befinden sich 10 Gamma-Carboxy-Glutaminsäurereste (Gla), die posttranslational durch eine Vitamin-K-abhängige Glutamylcarboxylase aus Glutamin-säureresten (Glu) synthetisiert wurden<sup>(1,2,3)</sup>. Bei Vitamin-K-Mangel oder der Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten (z.B. Warfarin-Natrium) lässt sich bei Patienten DCP nachweisen.

1984 beschrieben Liebman et al. DCP als spezifischen Tumormarker, der bei Patienten mit hepatozellulärem Karzinom (HCC) in erhöhten Konzentrationen vorkommt<sup>(4)</sup>. In zahlreichen Untersuchungen wurden bei Patienten mit HCC und Leberzirrhose erhöhte Serumspiegel an DCP nachgewiesen<sup>(5,6)</sup>. Allerdings korreliert DCP nicht mit AFP und AFP-L3%; vielmehr gelten die DCP- und AFP-L3%-Bestimmung in Bezug auf die Risikoabschätzung, ein HCC zu entwickeln, als sich gegenseitig ergänzende Tests<sup>(7,8)</sup>. Durch Kombination dieser beiden Tests konnte eine größere Anzahl an HCC-Risikopatienten identifiziert und damit für eine größere Patientenzahl ein breiteres Behandlungsspektrum angeboten werden<sup>(7,8)</sup>.

### Testprinzip

Der μTASWako DCP-Test ist ein gebrauchsfertiges System, bei dem alle Reagenzien in einer Kartusche vereint sind und jeder einzelne Test mittels mikrofluider Elektrophorese auf einem Einweg-Trägerchip durchgeführt wird<sup>(9)</sup>. Nach Einsetzen der Probe, Reagenzkartusche, Waschlösung und der Chip-Kassette in das Analysengerät werden Puffer, Antikörperlösungen und die Probe automatisch in die entsprechenden Wells des Chips pipettiert. Zunächst werden die Probe und die Farbstoff-markierte Antikörperlösung (Farbstoff-Fab') pipettiert und bilden in dem Well den primären Immunkomplex (Farbstoff-Fab'-DCP). Jede Lösung wird mittels Vakuum in die mikrofluiden Kanäle befördert. An den Chip wird Spannung angelegt und DNA-markierte Antikörper (DNA-Fab') werden auf ihrem Weg zur Anode durch die Isotachophorese aufkonzentriert. Die aufkonzentrierten DNA-markierten Antikörperfragmente (DNA-Fab') reagieren mit den primären Immunkomplexen zu sekundären Immunkomplexen (Farbstoff-Fab'-DCP-DNA-Fab'), die während der Isotachophorese auf dem Weg zur Anode weiter aufkonzentriert und von ungebundenen Farbstoff-Fab' abgetrennt werden.

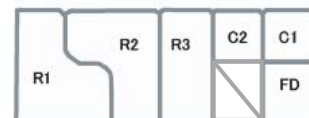
Die aufkonzentrierten sekundären Immunkomplexe werden dann durch Kapillargel-elektrophorese von ungebundenen Farbstoff-Fab' separiert. Das verbleibende mit Farbstoff-Fab' markierten Antikörpern markierte DCP wird durch laserinduzierte Fluoreszenz quantifiziert; die Konzentration des Analyten ist proportional zur Fluoreszenz. Alle Reaktionen und Trennschritte sowie der Nachweis erfolgen auf einem mikrofluiden Trägerchip.

### Reagenzien

Der μTASWako DCP-Kit beinhaltet eine Reagenzkartusche sowie einen Adapter. Die Reagenzkartusche enthält folgende für die Durchführung von 100 Tests ausreichende Puffer- und Antikörperlösungen:

- |     |   |         |
|-----|---|---------|
| (1) | Elektrophoresepuffer (R1)   | 5,4 ml  |
|     | 105 mmol/l Tris-Puffer pH 7,9   |         |
| (2) | Elektrophoresepuffer (R2)   | 4,4 ml  |
|     | 42 mmol/l Tris-Puffer pH 8,0  |         |
| (3) | Elektrophoresepuffer (R3)   | 2,6 ml  |
|     | 79 mmol/l Tris-Puffer pH 7,1  |         |
| (4) | Markierte Antikörper-Lösung (C1)  | 0,77 ml |
|     | 80 mmol/l Good's-Puffer pH 6,0  |         |
|     | 204 nmol/l Anion-konjugierter anti-human DCP-Antikörper (monoklonaler Maus-Antikörper) (DNA-Fab' (DCP))                           |         |
| (5) | Markierte Antikörper-Lösung (C2)  | 0,92 ml |
|     | 27 mmol/l Good's-Puffer, pH 5,8   |         |
|     | 707 nmol/l Fluoreszenz-markierter anti-human Prothrombin-Antikörper (monoklonaler Maus-Antikörper) (Farbstoff-Fab' (Prothrombin)) |         |
| (6) | Fluoreszenzfarbstoff-Lösung (FD)  | 1,4 ml  |
|     | 50 mmol/l Good's-Puffer pH 6,0  |         |

Reagenzkartusche bei 2 - 10°C lagern. (Nicht einfrieren.)



Anordnung der Reagenzien in der Reagenzkartusche.

### Zubehör

Adapter (zum Öffnen der Reagenzkartusche) 1 Stück.

### Geräte

Der μTASWako DCP-Kit ist zur Verwendung auf dem Analysenautomaten μTASWako i30 vorgesehen. Eine Anleitung zur Gerätebedienung und den Gerätespezifikationen finden Sie im Gerätehandbuch.

### Probenmaterial und -vorbereitung

- Als Probe wird Serum verwendet.
- Ist keine unmittelbare Analyse möglich, Proben bei -80°C lagern. Eingefroren bei -80°C ist die DCP-Konzentration im Serum 4 Jahre, bei -20°C bis zu 3 Wochen und bei 4°C gelagert 1 Woche stabil.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Im Hinblick auf den Test ist folgendes zu beachten:

- (1) Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.
- (2) Darf bei Menschen oder Tieren nicht *in-vivo* angewendet werden.
- (3) Reagenzien unter den angegebenen Bedingungen lagern. Reagenzien nach Ablauf des auf der Reagenzkartusche angegebenen Verfallsdatums bzw. länger als 30 Tage nach Öffnung der Kartusche nicht mehr verwenden.
- (4) Das Auftreten von Präzipitaten in den Reagenzien oder Werte der Kontrollseren außerhalb des durch den Hersteller angegebenen Toleranzbereichs können auf Reagenzinstabilitäten hindeuten.
- (5) Die oben beschriebenen Reagenzien nicht für einen anderen, als den hier beschriebenen Zweck einsetzen.
- (6) Die oben beschriebenen Reagenzien dürfen nur für das hier beschriebene Verfahren verwendet werden; werden sie in anderen Testverfahren eingesetzt, kann ihre Leistungsfähigkeit nicht garantiert werden.
- (7) Reagenzien nicht einfrieren; dies könnte zu falschen Ergebnissen führen.
- (8) Reagenzien unmittelbar nach dem Öffnen im Analysengerät platzieren. Einmal geöffnet, müssen sie im  $\mu$ TASWako i30 gelagert werden.
- (9) Es dürfen weder die Kartusche noch der Adapter oder andere Bestandteile des Kits zu einem anderen als dem hier beschriebenen Zweck verwendet werden.
- (10) Die Bedienung des Analysengeräts muss entsprechend der Bedienungsanleitung erfolgen.
- (11) Trägerchips und Probengefäße sind Einwegartikel und dürfen nicht mehrfach verwendet werden.
- (12) Das Kalibrationsmaterial wird separat verkauft. Hinweise und eine Anleitung zur Verwendung des Kalibrationsmaterials finden sich in der zugehörigen Packungsbeilage.
- (13) Es wird empfohlen, die Probenentnahme in Übereinstimmung mit den nationalen Sicherheitsbestimmungen durchzuführen. Da keine Testmethode bekannt ist, mit der eine Infektionsübertragung durch menschliche Blutproben mit völliger Sicherheit ausgeschlossen werden kann, müssen grundsätzlich alle Produkte, die Blut oder Blutbestandteile enthalten, als potenziell infektiös behandelt werden.

### Vorsichtsmaßnahmen zum Schutz vor Gefahren

- (1) Bei Kontakt von Mund, Augen oder Haut mit den Reagenzien müssen die betroffenen Bereiche sofort mit viel Wasser abgewaschen werden. Gegebenenfalls einen Arzt aufsuchen.
- (2) Die Waschlösung für den  $\mu$ TAS ( $\mu$ TASWako Wash Solution) enthält 0,5 mol/l NaOH, pH 11 oder mehr. Falls dieses Reagenz mit Mund, Augen oder Haut in Kontakt kommt, betroffene Bereiche sofort mit großen Mengen Wasser abwaschen und gegebenenfalls einen Arzt aufsuchen.
- (3) Alle Serumproben und Geräte, die mit Serum kontaminiert sein könnten, sollten zur Vermeidung von Infektionen mit äußerster Vorsicht behandelt werden.

Dieses Produkt enthält Komponenten, die nach der Richtlinie (EG) Nr. 1272/2008 folgendermaßen klassifiziert sind.

Gefahrenkennzeichnung des Produkts:



Achtung

Die Mischung enthält:

5-Chlor-2-Methyl-2H-Isothiazol-3-on [EC No 247-500-7] und  
2-Methyl-2H-Isothiazol-3-on [EC No 220-239-6] (3:1)

### Besondere Gefahrenhinweise für Mensch und Umwelt

**Gefahrenhinweis (H-Sätze)**  
H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

**Sicherheitshinweise (P-Sätze)**  
P261 Einatmen von Nebel / Dampf / Aerosol vermeiden.  
P280 Schutzhandschuhe und Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.  
P303+P361+P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen / duschen.  
P332+P313 Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.  
P501 Entsorgung des Inhalts / des Behälters gemäß den örtlichen / regionalen / nationalen / internationalen Vorschriften.

### Vorsichtsmaßnahmen für die Beseitigung

- (1) Die Reagenzien, Behälter und Abfälle sind in Übereinstimmung mit den lokalen bzw. nationalen Vorschriften zu entsorgen.
- (2) Bei der Entsorgung von Flüssigabfall, benutzten Trägerchips und Probengefäßen ist zur Vermeidung von Infektionen eine laborübliche Schutz-ausrüstung zu tragen.

## Grenzen des Verfahrens

- (1) Im Humanserum vorhandene heterophile Antikörper können mit den im Testkit enthaltenen Immunglobulinen reagieren und zu Störungen der *in-vitro*-Immunoassays führen. Proben von Patienten, die regelmäßig Umgang mit Tieren oder tierischen Serumprodukten haben, können diese Störung aufweisen, was möglicherweise zu einem anomalen Testergebnis führen kann. Der  $\mu$ TASWako DCP-Test ist zwar zur Minimierung dieses Störpotenzials konzipiert, dennoch könnte eine Wechselwirkung zwischen seltenen Seren und den Bestandteilen des Kits auftreten. Für diagnostische Zwecke müssen die mit diesem Test erzielten Ergebnisse immer in Verbindung mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und weiteren Befunden interpretiert werden.
- (2) Es wird empfohlen, diesen Test in Kombination mit bildgebenden Diagnoseverfahren durchzuführen.
- (3) Neben HCC können auch andere Tumore DCP produzieren und für erhöhte DCP-Werte sorgen.
- (4) Durch andere Ätiologien wie Alkoholmißbrauch, Hämatochromatose, Wilson-Krankheit (hepatolentikuläre Degeneration), Autoimmunhepatitis oder Steatohepatitis (Fettleberhepatitis) verursachte Lebererkrankungen wurden mit diesem Test nicht untersucht. Die Ergebnisse dieses Tests sollten immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung des Patienten, seiner Anamnese und weiteren Befunden interpretiert werden.
- (5) Medikamente, die eine Vitamin K-Zubereitung enthalten, können eine negative Abweichung der DCP-Werte aufweisen.
- (6) Medikamente, die Vitamin K-Antagonisten oder Antibiotika enthalten, können eine positive Abweichung der DCP-Werte aufweisen.

## Testverfahren für den $\mu$ TASWako i30™

### Im Kit enthaltene Materialien

Siehe Abschnitt „Reagenzien“.

### Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien (können separat erworben werden)

$\mu$ TASWako i30	(Gerät)
$\mu$ TASWako DCP Calibrator-Set	(Kalibratorset)
$\mu$ TASWako DCP Control L	(Kontrolle niedrig)
$\mu$ TASWako DCP Control H	(Kontrolle hoch)
$\mu$ TASWako Wash Solution	(Waschlösung)
$\mu$ TASWako Chip-Cassette	(Chipkassette)
Sample Cup S	(Probengefäße S)
Pure Water	(Reinstwasser)

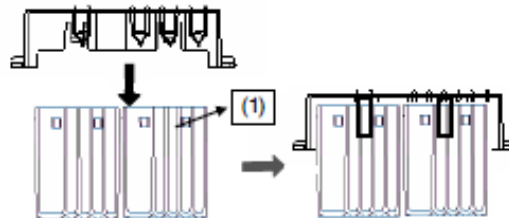
### Reagenzvorbereitung

Reagenzien: Reagenz ist gebrauchsfertig. Ungeöffnete Reagenzien sind bei 2 - 10°C bis zu dem auf der Verpackung aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Einmal geöffnet können die Reagenzien 30 Tage lang auf dem  $\mu$ TASWako i30 verwendet werden.

Die ungeöffnete Reagenzkartusche ist mit einer Aluminiumfolie versiegelt. Zur Ingebrauchnahme wird der Adapter von oben so auf die Kartusche aufgesetzt, dass die nach unten gerichteten Spitzen die Aluminiumfolie beim Aufdrücken des Adapters vollständig durchstechen. Stellen Sie die Reagenzkartusche dabei auf eine flache Oberfläche. Die von den Spitzen gestochenen Löcher dienen als Pipettierkanal für die Reagenznadel. Ist der Adapter richtig aufgesetzt, entstehen sieben Einstichlöcher.

Nach Zerstörung der Versiegelung darf der Adapter nicht von der Kartusche entfernt werden!

Reagenzkartusche wie im  $\mu$ TASWako i30 Handbuch beschrieben in den  $\mu$ TASWako i30 einsetzen. Reagenzkartusche im Gerät aufbewahren.

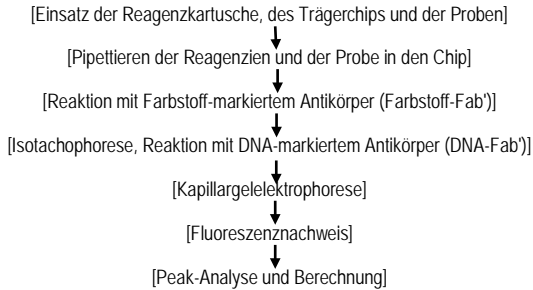


Positionierung des Adapters über und Einpassung in die Reagenzkartusche (1).

### Testverfahren

Einzelheiten zum Testverfahren finden Sie im  $\mu$ TASWako i30 Gerätehandbuch.

## Übersicht über den Reaktionsablauf



## Kalibration

Eine Kalibration ist erforderlich sobald die Reagenzkartusche geöffnet wurde. Die Kalibrationskurve wird im  $\mu$ TASWako i30 durch Darstellung der Fluoreszenzintensität der Peakfläche des Immunkomplexes gegen die DCP-Konzentrationen des Kalibrators automatisch erstellt. Diese Kalibrationskurve ist 30 Tage lang stabil. Eine genaue Beschreibung der Kalibration finden Sie im Gerätehandbuch im Abschnitt 4.2 „Kalibration“.

## Qualitätskontrolle

Eine Qualitätskontrolle wird allen klinischen Laboratorien empfohlen. Zur Kontrolle der Leistungsfähigkeit des Testverfahrens wird eine tägliche Analyse mit den  $\mu$ TASWako DCP Kontrollen L und H von Wako empfohlen. Die Messwerte der Kontrollen sollten im oberen Bereich ( $\geq 1$  ng/ml) bei  $\pm 15\%$  und im unteren Bereich ( $< 1$  ng/ml) bei  $\pm 20\%$  der erwarteten Werte liegen.

## Ergebnisse

Die Endergebnisse werden automatisch berechnet und entweder ausgedruckt oder an den Zentralrechner übermittelt. Wiedergegeben werden die Ergebnisse als DCP-Konzentration. Zu Berechnung und Ausdruck siehe Gerätehandbuch, Abschnitt 4.11 „Überprüfung der Testergebnisse“.

## Berichtsbereich

Die DCP-Konzentration wird im Bereich von 0,1 - 950 ng/ml wiedergegeben. Liegt der berechnete Wert über 950 ng/ml, erscheint auf dem Bildschirm des  $\mu$ TASWako i30 als auch auf dem Ausdruck die Markierung H! oder HH!. Die entsprechende Probe dann mit dem "Blank" aus dem  $\mu$ TASWako DCP Calibrator Set auf 950 ng/ml oder weniger verdünnen, erneut messen und das Messergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren. Die Verdünnungsfaktoren liegen bei H! bei etwa dem 20-fachen und bei HH! bei etwa dem 200-fachen. Näheres zu den Ergebnis-Markierungen finden Sie im Gerätehandbuch in Abschnitt 4.11.3 "Überprüfung der ausgegebenen Testergebnisse".

## Referenzbereich

Die Referenzwerte für DCP liegen unter 7,5 ng/ml (interne Daten).

## Leistungsdaten des Tests

### Richtigkeit

Die Genauigkeit wurde in einer Wiederfindungsstudie ermittelt. Die Ergebnisse der Wiederfindungsrate (%) lagen im Bereich zwischen 94,0% und 111,6%.

Probe	Probenserie A (ng/ml)	Probenserie B (ng/ml)	Nach Mischung der Serien (A:B=9:1 gemischt) Erwarteter Wert (ng/ml)	Erzielter Wert (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1	0,20	2,10	0,39	0,38 0,38	97,4 97,4
2	0,20	9,80	1,16	1,09 1,12	94,0 96,6
3	0,20	73,10	7,49	7,15 7,18	95,5 95,9
4	0,20	893,90	89,57	94,87 95,82	105,9 107,0
5	0,20	3639,00	364,08	374,13 376,92	102,8 103,5
6	7,80	9,80	8,00	8,12 8,17	101,5 102,1
7	7,80	73,10	14,33	14,13 13,82	98,6 96,4
8	7,80	893,90	96,41	96,87 99,88	100,5 103,6
9	7,80	3639,00	370,92	392,40 391,92	105,8 105,7
10	7,80	7565,60	763,58	782,87 809,56	102,5 106,0
11	100,84	893,90	180,15	183,26 181,28	101,7 100,6
12	100,84	3639,00	454,66	438,91 430,21	96,5 94,6
13	100,84	7565,60	847,32	924,94 945,39	109,2 111,6
14	307,19	893,90	365,86	357,92 362,80	97,8 99,2
15	307,19	1866,60	463,13	467,82 481,47	101,0 104,0
16	307,19	3639,00	640,37	667,58 671,57	104,2 104,9

## Präzision [in der Serie]

Für den DCP-Test wurden die Präzisionsstudien innerhalb der Analysenserie mit 4 Serumproben und 2 verschiedenen Kontrollkonzentrationen im berichtspflichtigen Bereich durchgeführt. Der prozentuale Variationskoeffizient (%VK) bewegte sich bei den in 21 Replikaten gemessenen Proben von 1,1% bis 6,7%. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP5-A2 durchgeführt.

Probe	Anzahl der Replikate	MW (ng/dl)	SD (ng/ml)	VK (%)
Serum 1	21	0,18	0,012	6,7
Serum 2	21	1,05	0,017	1,6
Serum 3	21	6,70	0,076	1,1
Serum 4	21	914,98	14,039	1,5
Kontrolle L	21	1,00	0,018	1,8
Kontrolle H	21	22,63	0,256	1,1

## Gesamtpräzision

Die Untersuchungen zur Gesamtpräzision des DCP-Tests über den berichtspflichtigen Bereich erfolgten mit 7 gepoolten Humanserumproben und zwei Kontrollleveln. Drei dieser verwendeten Pool-Proben (5,6 und 7) lagen nahe dem klinischen Entscheidungspunkt und wurden ohne Zusatz von Analytkonzentrationen hergestellt. Die Ergebnisse der bei allen Proben über einen Zeitraum von 21 Tagen bestimmten prozentualen Variationskoeffizienten (%VK) lagen zwischen 1,3% und 7,9%. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP5-A2 durchgeführt.

Probe	Anzahl der Testtage	MW (ng/dl)	SD (ng/ml)	VK (%)
Serum 1	21	0,19	0,015	7,9
Serum 2	21	1,04	0,035	3,4
Serum 3	21	6,70	0,135	2,0
Serum 4	21	917,94	14,847	1,6
Serum 5	21	6,91	0,24	3,5
Serum 6	21	7,22	0,21	2,9
Serum 7	21	7,57	0,23	3,0
Kontrolle L	21	1,05	0,024	2,3
Kontrolle H	21	22,74	0,303	1,3

## Linearität

Der Test ist im berichtspflichtigen Bereich von 0,1 - 950 ng/ml linear; dieser Nachweis erfolgte in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP6-A.

## Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) wurde in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP17-A "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline" (Vol. 24, No. 34, 2004) ermittelt. Aus den Ergebnissen wurde der LoD für DCP mittels einer Gleichung basierend auf einer Normalverteilung nach Gauss wie im CLSI EP-17A (Abschnitt 4.3.2) beschrieben, berechnet. Der LoD, die kleinste Analytkonzentration, die noch vom Leerwert unterschieden werden kann, beträgt bei DCP 0,042 ng/ml.

## Interferenzen beim Test

Zur Bewertung des Störpotenzials der nachfolgend aufgelisteten Substanzen wurde die Wiederfindung in Gegenwart bekannter Mengen dieser Substanzen bestimmt. Diese potenziell störenden Faktoren hatten keine signifikanten Auswirkungen auf den Test. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Richtlinie CLSI EP7-A durchgeführt.

### ① Hämoglobin

Hämoglobin	(mg/dl)	0	193,3	386,6	579,9	773,2	966,5
DCP	(ng/ml)	4,81	4,83	4,84	4,88	4,82	5,12
	Wiederfindung (%)	100,0	100,4	100,6	101,5	100,2	106,4

### ② Bilirubin

Bilirubin	(mg/dl)	0	7,5	15,0	22,5	30,0	37,5	79,4
DCP	(ng/ml)	5,00	4,97	4,83	4,75	4,66	4,66	4,70
	Wiederfindung (%)	100,0	99,4	96,6	95,0	93,2	93,2	94,0

### ③ Konjugiertes Bilirubin

Konjugiertes Bilirubin	(mg/dl)	0	8,4	16,8	25,3	33,7	42,1	84,2
DCP	(ng/ml)	5,36	5,25	5,10	5,06	5,07	4,73	4,65
	Wiederfindung (%)	100,0	97,9	95,1	94,4	94,6	88,2	86,8

### ④ Triglyceride

Triglyceride	(mg/dl)	0	45,2	90,4	135,6	180,8	226,0	452,0
DCP	(ng/ml)	5,83	5,91	5,87	5,91	5,81	5,82	5,99
	Wiederfindung (%)	100,0	101,4	100,7	101,4	99,7	99,8	102,7

### ⑤ Ascorbinsäure

Ascorbinsäure	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	6,42	6,70	6,60	6,81	7,01	6,98
	Wiederfindung (%)	100,0	104,4	102,8	106,1	109,2	108,7

### ⑥ Rheumafaktor

Rheumafaktor	(IU/ml)	0	100	200	300	400	500
DCP	(ng/ml)	6,15	6,16	6,32	6,21	6,25	6,25
	Wiederfindung (%)	100,0	100,2	102,8	101,0	101,6	101,6

## 7 Acetaminophen

Acetaminophen	(mg/dl)	0	4	8	12	16	20
DCP	(ng/ml)	5,03	5,05	4,98	5,04	4,92	5,05
	Wiederfindung (%)	100,0	100,4	99,0	100,2	97,8	100,4

## 8 Ibuprofen

Ibuprofen	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	6,36	6,09	6,37	6,80	6,85	6,79
	Wiederfindung (%)	100,0	95,8	100,2	106,9	107,7	106,8

## 9 Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	6,33	6,15	6,37	6,28	6,38	6,48
	Wiederfindung (%)	100,0	97,2	100,6	99,2	100,8	102,4

## 10 Vitamin B1

Vitamin B1	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	5,67	5,63	5,53	5,66	5,65	5,67
	Wiederfindung (%)	100,0	99,3	97,5	99,8	99,6	100,0

## 11 Vitamin B6

Vitamin B6	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	5,66	5,59	5,61	5,58	5,54	5,61
	Wiederfindung (%)	100,0	98,8	99,1	98,6	97,9	99,1

## 12 Vitamin B12

Vitamin B12	(mg/dl)	0	10	20	30	40	50
DCP	(ng/ml)	5,86	5,92	5,86	5,87	5,85	5,80
	Wiederfindung (%)	100,0	101,0	100,0	100,2	99,8	99,0

## 13 Interferon $\alpha$

IFN $\alpha$	(IU/ml)	0	600	1200	1800	2400	3000
DCP	(ng/ml)	6,22	6,43	6,31	6,35	6,36	6,31
	Wiederfindung (%)	100,0	103,4	101,4	102,1	102,3	101,4

## 14 Interferon $\beta$

IFN $\beta$	(IU/ml)	0	600	1200	1800	2400	3000
DCP	(ng/ml)	6,14	6,23	6,08	6,16	6,17	6,34
	Wiederfindung (%)	100,0	101,5	99,0	100,3	100,5	103,3

## 15 Interferon $\gamma$

IFN $\gamma$	(IU/ml)	0	600	1200	1800	2400	3000
DCP	(ng/ml)	6,13	6,22	6,34	6,11	6,01	6,34
	Wiederfindung (%)	100,0	101,5	103,4	99,7	98,0	103,4

### Interferenzen beim Test mit hohen DCP-Konzentrationen

Zur Bewertung des Störpotenzials der nachfolgend aufgelisteten Substanzen wurde die Wiederfindung in Gegenwart bekannter Mengen dieser Substanzen bestimmt. Diese potenziell störenden Faktoren hatten keine signifikanten Auswirkungen auf den Test. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Richtlinie CLSI EP7-A durchgeführt.

### 1 Hämoglobin

Hämoglobin	(mg/dl)	0	1060
DCP	(ng/ml)	125,9	124,3
	Wiederfindung (%)	100,0	98,7

### 2 Bilirubin

Bilirubin	(mg/dl)	0	75
DCP	(ng/ml)	108,2	118,4
	Wiederfindung (%)	100,0	109,5

### 3 Konjugiertes Bilirubin

Konjugiertes Bilirubin	(mg/dl)	0	80
DCP	(ng/ml)	106,9	101,7
	Wiederfindung (%)	100,0	95,2

### 4 Triglyceride

Triglyceride	(mg/dl)	0	452
DCP	(ng/ml)	135,4	135,3
	Wiederfindung (%)	100,0	100,0

### 5 Rheumafaktor

Rheumafaktor	(IU/ml)	0	500
DCP	(ng/ml)	159,9	161,7
	Wiederfindung (%)	100,0	101,1

## Korrelation

Zur Überprüfung der Methode wurde der  $\mu$ TASWako DCP Test mit einem vergleichbaren DCP Test (LBA DCP) auf dem  $\mu$ TASWako i30 bzw. LiBASys durchgeführt. Eine Vergleichsstudie mit 200 Proben von 100 Patienten wurde an beiden Geräten durchgeführt. Zusätzlich wurden 20 Serumproben mit DCP gespikt um den oberen Bereich abzubilden. Die Deming Analyse zeigt eine akzeptable Korrelation mit und ohne gespikter Proben wie die nachfolgenden Korrelationsgraphiken zeigen.

Korrelation #1 zeigt die Deming Regressionsanalyse der DCP Werte mit gespikten Proben am  $\mu$ TASWako i30 und LiBASys.

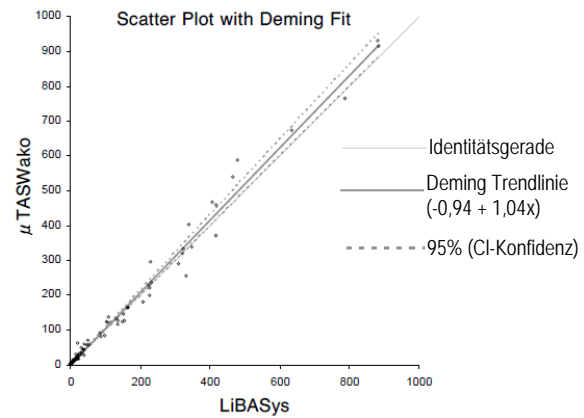
Korrelation #2 zeigt die Deming Regressionsanalyse der DCP Werte ohne gespikte Proben.

Zusätzlich ergibt sich eine Berechnung zur Abschätzung der Übereinstimmung wie oft der  $\mu$ TASWako DCP Test mit dem Vergleichstest LBA DCP korreliert. Betrachtet man die Daten von Korrelation # 2 und den klinischen Cut-Off von 7,5 ng/ml, ergibt sich eine Konkordanz (Allesübereinstimmung) von 95,5%.

### Korrelation #1

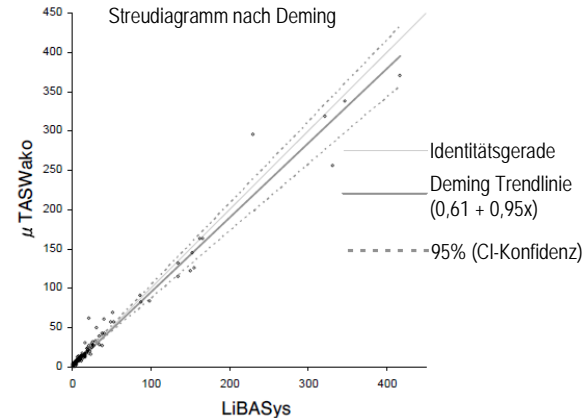
Anzahl	220	
Achsenabschnitt	-0,94	95% CI (-2,09 bis 0,21)
Steigung	1,04	95% CI (1,00 bis 1,08)

Streudiagramm nach Deming



### Korrelation #2

Anzahl	200	
Achsenabschnitt	0,61	95% CI (-0,50 bis 1,72)
Steigung	0,95	95% CI (0,85 bis 1,04)



### DCP 2 x 2 Übereinstimmung

		LiBASys	
		≥ 7,5 ng/ml	< 7,5 ng/ml
$\mu$ TASWako i30	≥ 7,5 ng/ml	77 (38,5%)	5 (2,5%)
	< 7,5 ng/ml	4 (2,0%)	114 (57,0%)

Prozent positive Übereinstimmung = 95,1%

Prozent negative Übereinstimmung = 95,8%

Allesübereinstimmung = 95,5%

## Klinische Informationen mit LiBASys

Longitudinale Studienergebnisse wurden von 441 Patienten mit Lebererkrankungen an 7 klinischen Standorten ermittelt. Von den Studienteilnehmern waren 324 Männer und 117 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 52,6 Jahren in einem Bereich von 40 bis 70 Jahren. Das Serum wurde durchschnittlich alle 138 Tage entnommen.

Die Testpersonen wurden aufgrund von Befunden der Biopsie, Histologie der explantierten Leber oder bildgebender Verfahren in drei Gruppen eingeteilt: Die Patienten der Gruppe **A** entwickelten ein bestätigtes HCC mit Läsionen von mindestens 0,5 cm Durchmesser während der Studie, in Gruppe **B** befanden sich Patienten mit Verdacht auf HCC und Läsionen von mindestens 0,3 cm Durchmesser und hohen DCP-Spiegeln und in Gruppe **C** entwickelten die Patienten kein HCC.

Das Risiko der HCC-Entstehung bei Patienten mit einem erhöhten DCP um oder über 7,5 ng/ml und bei Patienten ohne eine derartige Erhöhung wurde zusammen mit dem 95% Konfidenzintervall mittels der DCP-Ergebnisse aus den Gruppen **A** und **C** ermittelt. Das Risiko der HCC-Entstehung mit einem erhöhten DCP-Wert ist 36,5%. Das HCC-Entstehungsrisiko mit einem negativen DCP-Testergebnis ist 7,6%. Das Verhältnis ist 4,8, was auf ein 4,8-faches höheres Risiko der HCC-Entstehung bei erhöhtem DCP-Testergebnis hindeutet.

Gruppe		A	C	Total	B
		HCC	Nicht HCC		Suspicious*
DCP	≥ 7,5 ng/ml	19	33	52	7
	< 7,5 ng/ml	20	244	264	64
Total		39	277	316	71

Relatives Risiko: 4,8 (95% CI: 2,8 - 8,4)  
 Risiko für HCC bei positivem DCP: 36,5% (95% CI: 23,5% - 49,6%)  
 Risiko für HCC bei negativem DCP: 7,6% (95% CI: 4,4% - 10,8%)

\* Die als „Suspicious“ kategorisierten Patienten (rechte Spalte) wurden als separate Studiengruppe behandelt, da von den Ärzten keine definitive Diagnose gestellt werden konnte. Aus Gründen der besseren Anschauung wurden diese Patienten dennoch in die Analyse mit einbezogen, um den Effekt einer Umgruppierung auf die Berechnung des relativen Risikos zu veranschaulichen. Die Szenarien des ungünstigsten und günstigsten Falls sind in folgenden beiden Tabellen dargestellt.

Günstigster Fall		HCC	Nicht HCC	Total
DCP	≥ 7,5 ng/ml	19 + 7 = 26	33	59
	< 7,5 ng/ml	20	244 + 64 = 308	328
Total		46	341	387

Relatives Risiko: 7,2 (95% CI: 4,3 - 12,1)  
 Risiko für HCC bei positivem DCP: 44,1% (95% CI: 31,4% - 56,7%)  
 Risiko für HCC bei negativem DCP: 6,1% (95% CI: 3,5% - 8,7%)

Ungünstiger Fall		HCC	Nicht HCC	Total
DCP	≥ 7,5 ng/ml	19	33 + 7 = 40	59
	< 7,5 ng/ml	20 + 64 = 84	244	328
Total		103	284	387

Relatives Risiko: 1,3 (95% CI: 0,8 - 1,9)  
 Risiko für HCC bei positivem DCP: 32,2% (95% CI: 20,3% - 44,1%)  
 Risiko für HCC bei negativem DCP: 25,6% (95% CI: 20,9% - 30,3%)

## Literatur

1. Bajaj S.P., et al., J. Biol. Chem., 257, 3726 - 3731 (1982)
2. Poser J.W., et al., J. Biol. Chem., 254, 431 - 436 (1979)
3. Olson, R.E., et al., Annu. Rev. Nutr., 4, 281-- 337 (1984)
4. Liebman, HA, et al., N Engl. J. Med., 310, 1427-- 1431 (1984)
5. Okuda, H., et al., Cancer, 85, 812 --818 (1999)
6. Koike, Y., et al., Cancer, 91, 561-- 569 (2001)
7. Sassa, T., et al., Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, 1387-- 1392 (1999)
8. Shimauchi, Y., et al., Oncol. Rep., 7, 249- - 256 (2000)
9. Kagebayashi C., et al., Anal. Biochemistry, 388, 306- - 311 (2009)

## Bestellinformation

Bestell-Nr.	Produkt	Packung
995-60701	μTASWako DCP	100 Tests
999-61201	μTASWako DCP Calibrator Set: μTASWako DCP Blank μTASWako DCP Calibrator 1	1 Set: BL: 3 x 2 ml CAL 1: 1 x 2 ml
995-61301	μTASWako DCP Control L	CONTROL L: 4 x 2 ml
991-61401	μTASWako DCP Control H	CONTROL H: 4 x 2ml
991-60801	μTASWako Wash Solution	4 x 60 ml
993-61601	μTASWako Chip Cassette	5 x 20 Stück
452-00505	Sample Cup S	1000 Stück



Das von Wako entwickelte μTASWako i30 Gerät und die zugehörigen IVD-Reagenzien und Verbrauchsmaterialien nutzen die LBA-EATA Assay-Technologien von Wako sowie die von Caliper Life Sciences Inc. lizenzierte Mikrofluidik-Technologie.

Hersteller

### FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku Osaka 540-8605, Japan

Telefon: +81-6-6203-3749

Fax: +81-6-6203-1917

www.wako-chem.co.jp

Vertrieb

### FUJIFILM Wako Diagnostics U.S.A. Corporation

1025 Terra Bella Ave., Mountain View, CA 94043 U.S.A.

Telefon: +1-804-714-1924

Fax: +1-804-271-0449

www.wakodiagnostics.com

EC REP

### FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany

Telefon: +49 (0) 2131-311-272

Fax: +49 (0) 2131-311-110

www.wako-chemicals.de

Wako