



ECP TEST

Enzym-Immuno-Assay (EIA) zur quantitativen Bestimmung von ECP in humanem Serum

REF 20076

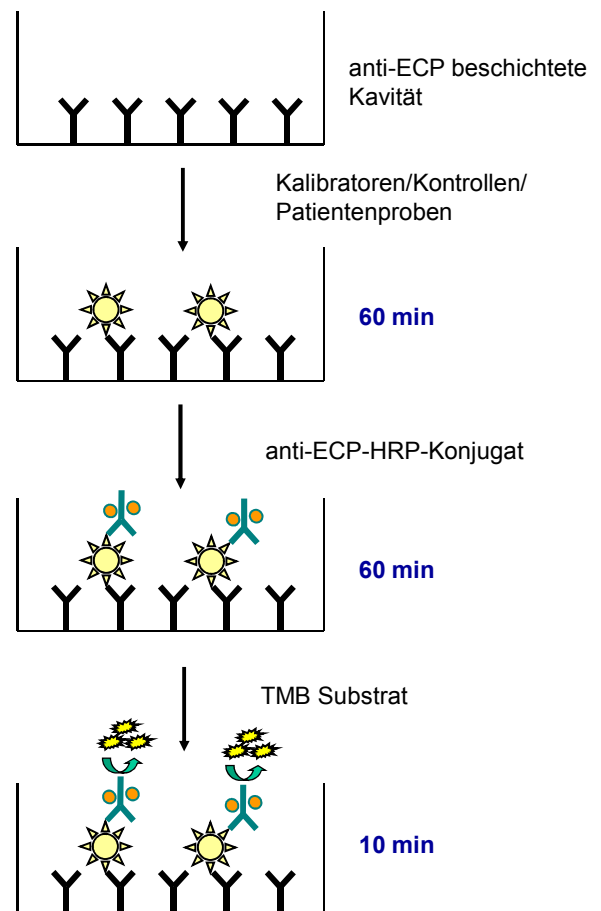
Hintergrund

Die Proteine „Eosinophiles Cationisches Protein“ (ECP), „Eosinophil-derived Neurotoxin“ (EDN) und „Major Basic Protein“ (MBP) sind Mediatoren aktivierter eosinophiler Granulozyten. ECP und EDN kommen in der Matrix der Granula eosinophiler Zellen vor, während MBP im Kern der Granula lokalisiert ist. ECP und EDN gehören zu der Ribonuclease A Superfamilie und sind in ihrer Funktion zytotoxisch.

Aktivierte eosinophile Zellen spielen eine wichtige Rolle im späteren Verlauf eines Asthmaanfalls und bei der durch Asthma bedingten entzündlichen Reaktion der Atemwege. Da ECP von aktivierten eosinophilen Zellen freigesetzt wird, dient es als diagnostischer Marker der Aktivierung und Degranulierung dieser Zellen. Der ECP TEST ermöglicht die spezifische und hoch sensitive Quantifizierung von ECP in humanen Serumproben auf der Basis eines „Sandwich ELISA“ (Abbildung 1). Die Nachweisgrenze dieses ELISA liegt bei 0,125 ng/mL wobei keine Kreuzreaktionen mit EDN beobachtet wurden.

Standards und Proben werden in mit anti-human-ECP Antikörpern beschichteten Kavitäten einer Mikrotiterplatte inkubiert. Durch einen Waschschritt werden überschüssige Serumkomponenten aus dem System entfernt. In einem zweiten Inkubationsschritt bindet ein HRP markierter Detektionsantikörper an das gebundene ECP. Nach einem erneuten Waschzyklus wird die Substratlösung Tetra-Methyl-Benzidin (TMB) zugegeben, welche durch das Enzym (Peroxidase) des Detektionsantikörpers unter Ausbildung eines blauen Farbstoffes umgesetzt wird.

Nach Abstoppen der Enzymreaktion durch Zugabe von Stopplösung (H_2SO_4) erfolgt ein Farbumschlag nach Gelb. Die optische Dichte der Lösung wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt und die ECP-Konzentration der Proben anhand einer Standardkurve ermittelt.



Zugabe der Stopplösung und Messung der optischen Dichte bei 450 nm

Abbildung 1
Prinzip des ECP TEST



Intra-Test Variation				
Probe	# 1	# 2	# 3	# 4
Anzahl der Replikate	8	8	8	8
Mittelwert (ng/ml)	1,35	1,51	4,96	6,10
VK (%)	6	5	6	5
Inter-Test Variation				
Probe	# 1	# 2	# 3	
Anzahl der Ansätze	4	4	4	
Mittelwert (ng/ml)	1,66	4,73	5,82	
VK (%)	10	6	5	
„Lot to Lot“ Variation				
Probe	# 1	# 2	# 3	# 4
Anzahl der Chargen	3	3	3	3
Mittelwert (ng/ml)	1,24	1,50	4,62	6,07
VK (%)	5	5	4	3

Tabelle 1: Variationskoeffizienten ECP ELISA

Generelle Merkmale

- CE gekennzeichnet
- Benutzerfreundlich
- Gebrauchsfertige Komponenten (Ausnahme: Kontrollen und Waschpuffer)
- Verdünnung der Kalibratoren, Kontrollen und Patientenproben in den Kavitäten der Mikrotiterplatte

Technische Informationen

- Testdauer < 2,5 h (60 min/60 min/10 min) bei RT
- 20 µL Serum oder Plasma pro Bestimmung
- Detektionssystem: HRP/TMB (450 nm)
- 6-Punkt Kalibrierung (0; 0,125; 0,5; 2,5; 5; 50 ng/mL)
- Weiter Messbereich (0,125-50 ng/mL)
- Detektionslimit 0,125 ng/mL

Leistungsmerkmale

- Gute Korrelation zu ECP-RIA $R^2 = 0,90$
- Exzellente "lot to lot" Korrelation (VK% < 5)
- Geringe Intra- und Interassay Variationen (VK% < 10)
- Gute Linearität über den gesamten Messbereich

Literatur

1. Gleich GJ, Loegering DA, Bell MP, Checkel JL, Ackerman SJ, McKean DJ: **Biochemical and functional similarities between human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein: homology with ribonuclease.** *Proc. Natl Acad Sci* 1986, **83**:3146-3150.
2. Krisjansson S, Strannegard IL, Wennergren G: **Inflammatory markers in childhood asthma.** *Annals of medicine* 1996, **28**:395-399.
3. Peterson CG, Jörnvall H, Venge P: **Purification and characterization of eosinophil cationic protein from normal human eosinophils.** *Eur J Haematol*, 1988, **40**:415-423.
4. Zimmerman B, Lanner A, Enander I, Zimmerman RS, Peterson CG, Ahlstedt S: **Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy.** *Clin Exp Allergy*, 1993, **23**:564-570.

2011-05

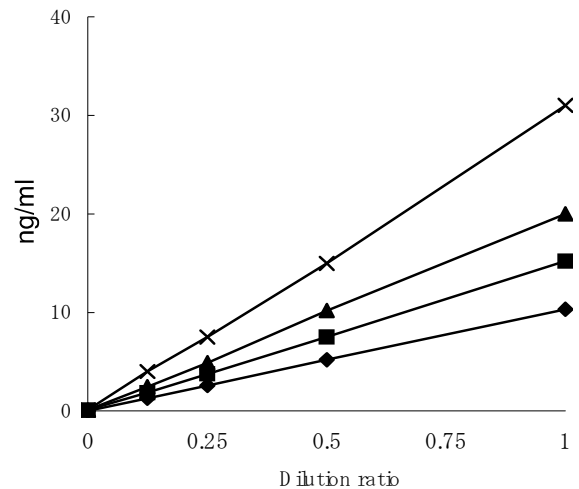


Abbildung 2

Linearität über den gesamten Messbereich.

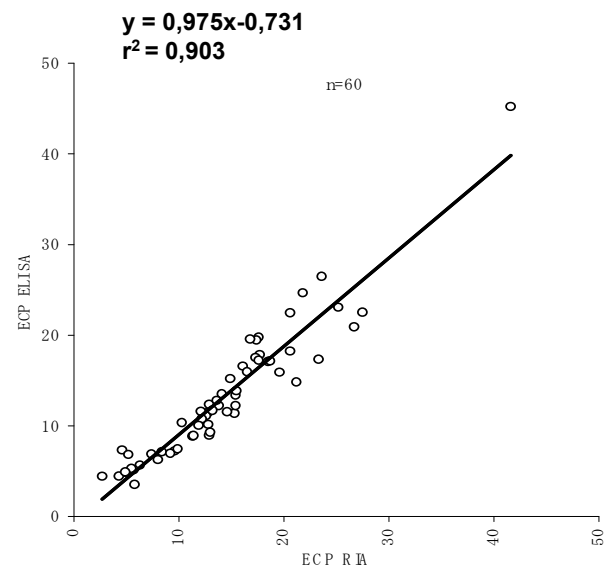


Abbildung 3

Korrelation zwischen ECP RIA und dem ECP ELISA (n=60).