

ECP



Bestimmung vom **Eosinophilen kationischem Protein (ECP)**

Für eine bessere Einschätzung Ihrer Asthma-Patienten

Thermo
SCIENTIFIC

Hintergrund

Eosinophile Granulozyten setzen bei ihrer Aktivierung während der späten Phase der allergischen Reaktion unter anderem eosinophiles kationisches Protein (ECP) frei. ECP ist ein zytotoxisches und neurotoxisches Protein mit einem Molekulargewicht von 21.000 Dalton. Es ist nahezu ausschließlich in eosinophilen Granulozyten enthalten und wird nur von aktivierten Eosinophilen freigesetzt. Dadurch korreliert die ECP-Konzentration im Serum und in anderen Körperflüssigkeiten quantitativ mit dem Aktivierungsgrad dieser Zellen.

Ein Anstieg der ECP-Konzentration findet sich bei einer Vielzahl entzündlicher Vorgänge, wie zum Beispiel Asthma bronchiale, atopische Dermatitis, Rhinitis, allergische Entzündungen des Auges, parasitäre Infektionen, entzündliche Darmerkrankungen.

Bei Asthmatikern konnte gezeigt werden, dass unter der Belastung des Pollenfluges signifikant höhere ECP-Spiegel vorliegen als im Winter. Die Behandlung mit entzündungshemmenden Medikamenten führt sowohl zu einer Besserung der klinischen Symptomatik der Patienten, als auch zu einer Reduktion der saisonal erhöhten Spiegel zirkulierenden ECP. Daher kann ECP bei Asthmatikern als sensibler Marker zur Beurteilung der Krankheitsaktivität und zur Therapiekontrolle eingesetzt werden.

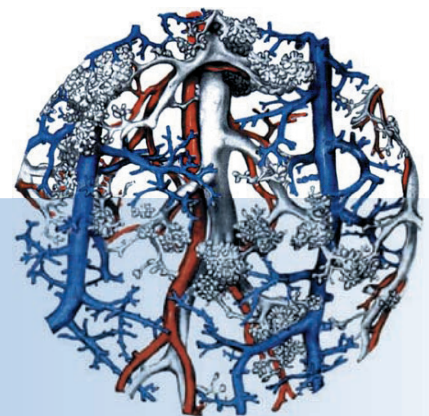
Der Nachweis der ECP-Serumkonzentration wird auch bei einigen Erkrankungen der Haut zur Bestimmung des Schweregrades der Erkrankung eingesetzt. Bedingt durch seine neurotoxische Wirkung scheint ECP an der Ausbildung des Juckreizes beteiligt zu sein und findet sich bei Erkrankungen wie Prurigo nodularis, papulösen erythematösen Eruptionen. Mit dem Abklingen der Beschwerden sinkt auch der ECP-Spiegel wieder auf Normalniveau. Auch für die atopische Dermatitis (Neurodermitis) konnte von einigen Forschungsgruppen gezeigt werden, dass der Serum-ECP Spiegel die Krankheitsaktivität gut reflektiert.

Der ECP-Wert und die Anzahl der Eosinophilen korrelieren relativ gut bei manchen Patienten, aber es zeigte sich, dass der ECP-Serumwert noch besser mit dem Entzündungsgrad übereinstimmt. Dies erklärt sich dadurch, dass der ECP-Wert eine Kombination aus der Anzahl und der Aktivierung der Eosinophilen ist.

Die objektive Bestimmung der ECP-Konzentration bietet große Vorteile gegenüber den breiten Schwankungen der individuellen Bewertung der klinischen Befunde.

Normbereich

Normalwerte für Erwachsene liegen im geometrischen Mittelwert bei 5,5 µg/l, die 95er Perzentile liegt bei 13,3 µg/l. ECP-Werte über 15 µg/l sollten als erhöht angesehen werden. Bei einem Therapie-Monitoring stellt der individuelle Basalwert den Bezugspunkt für den Patienten dar.



Klinischer Nutzen

ImmunoCAP® ECP ist ein In-vitro-Test für die quantitative Messung von eosinophilem kationischem Protein (ECP) im Serum.

Der klinische Nutzen eines bekannten ECP-Wertes ist für folgende Fragestellungen besonders hoch:

- **Ausmaß der Entzündungsaktivität bei Asthma**
- **Monitoring der therapeutischen Maßnahmen bei Asthma**
 - Behandlung mit Glukokortikosteroiden
 - Allergenkarenz
 - Spezifische Immuntherapie
- **Krankheitsaktivität und Therapie-Verlaufskontrolle bei atopischer Dermatitis**

Testverfahren

Mit dem ImmunoCAP ECP-Assay wird die ECP-Konzentration quantitativ gemessen.

Die Bestimmung wird mit den Phadia® Systemen durchgeführt, welche in vielen Labors für die Allergie- und Autoimmundiagnostik eingesetzt werden. Die Methode ist ein Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay mit dem ImmunoCAP als Festphase. Sämtliche Arbeitsschritte wie Proben- und Reagenzpipettierung, Inkubation, Waschschriffe, Fluoreszenzmessung und Ergebnisberechnung im System sind automatisiert, wodurch eine hervorragende Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit gewährleistet ist.

Messbereich:

2 – 200 µg/l für unverdünnte Proben

Probenmaterial:

Serum (siehe Probengewinnung)

Für spezielle Fragestellungen können als Probenmaterial auch Nasensekret, Flüssigkeiten von Bronchoalveolär- und Nasal-Lavage sowie Biopsieüberstände eingesetzt werden.

Asthma und ECP

Bei Asthma handelt es sich um eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, charakterisiert durch eine bronchiale Hyperreagibilität und eine variable Atemwegsobstruktion gegenüber einer Vielzahl von möglichen Stimuli. Asthma ist durch wiederkehrende Anfälle charakterisiert; es können aber auch dauernde Atemwegsprobleme über einen längeren Zeitraum vorhanden sein. Die durch Asthma verursachten Belastungen von Einzelpersonen, Familien und der Volkswirtschaft weltweit sind viel größer als dies eigentlich notwendig wäre. Asthma ist mit weltweit mehr als 300 Millionen Betroffenen eine der häufigsten chronischen Krankheiten.

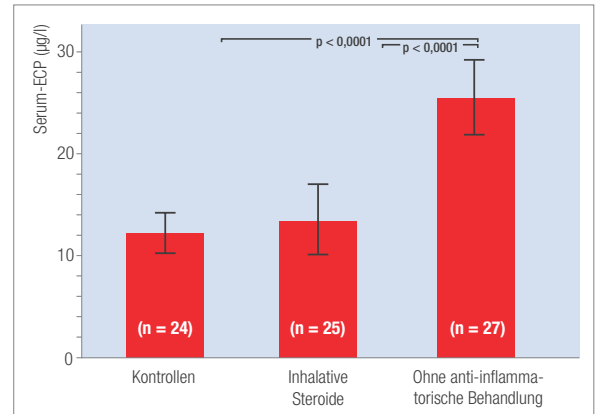
Das Ausmaß der Entzündungsaktivität bei Asthmaerkrankungen wird häufig nicht vollständig erfasst und daher erhalten diese Patienten keine ausreichende anti-inflammatorische Behandlung.

Wenn das Bronchialepithel der Kinder entzündet ist, wird dessen Aktivität beeinträchtigt und die Morbidität nimmt zu; weiterhin wird die Entwicklung der Lungenkapazität eingeschränkt und damit die Lebenserwartung. Die Behandlung der Atemwegsentzündung mit Glukokortikosteroiden kann Nebenwirkungen auf das Wachstum des Kindes haben, so dass man bestrebt ist, die Erkrankung mit einer möglichst niedrigen Steroid-Dosierung zu behandeln. Mit einem geeigneten Asthma-Management können Betroffene ein normales und aktives Leben führen.

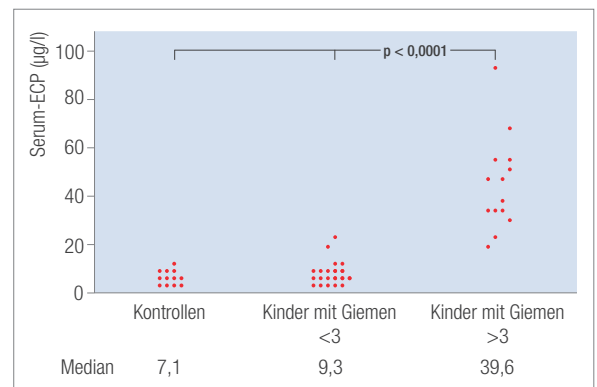
Die Messung des ECP-Spiegels hilft bei der Erfassung des Entzündungsgrades.

1. Überwachung der medikamentösen Behandlung

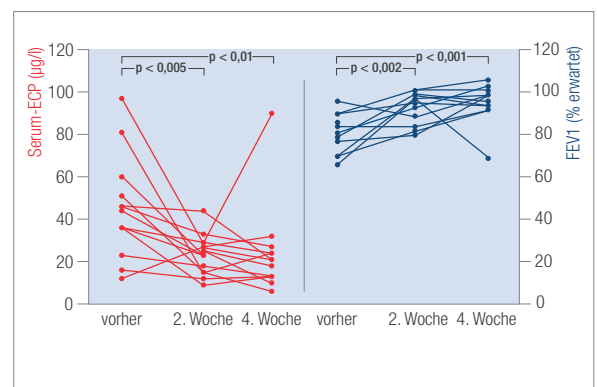
Eine rein symptomatische Behandlung kann zu einer raschen Besserung der Beschwerden führen und beim Patienten den Eindruck erwecken, dass die Erkrankung unter Kontrolle ist, während der Entzündungsprozess jedoch weiter andauert. Durch die Überwachung des Therapieeffektes können Arzt und Patient die Gewissheit erlangen, ob die Besserung der Beschwerden eine Folge der verbesserten Entzündungssituation ist oder nicht.



Serum-ECP-Spiegel bei Kindern mit Asthma, geometrisches Mittel und 95 % Konfidenzintervall (Kristjansson et al., 1996)



Serum-ECP-Spiegel bei gesunden Kindern und Kindern mit weniger bzw. mehr als drei Episoden mit Giemen (Koller et al., 1997)



Verläufe von ECP und FEV1 unter inhalativer Steroidtherapie (Koller et al., 1995)

Die Messung der ECP-Serumwerte

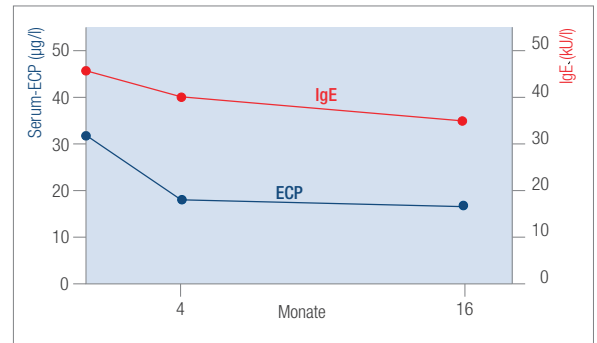
- zu Beginn der Therapie
 - bei einer Folgeuntersuchung während der Therapie
 - in regelmäßigen Abständen bei Kontrolluntersuchungen
- spiegeln den Grad der Entzündung in den Atemwegen wider. Diese Information ermöglicht es, den Erfolg der medikamentösen Therapie (Therapie-Compliance) zu verfolgen und die optimale Dosierung festzulegen.

2. Beurteilung der Karenzmaßnahmen

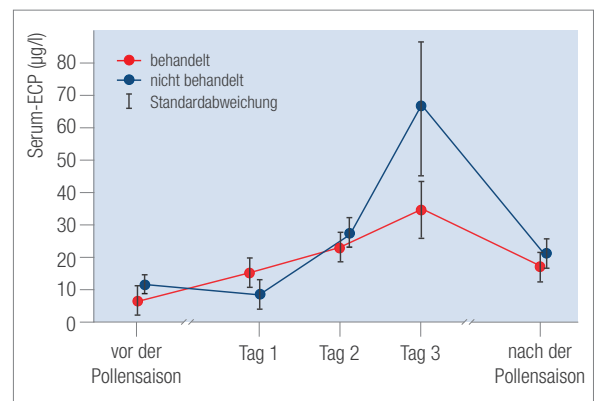
Untersuchungen haben gezeigt, dass der Erfolg der Allergenmeidung mit der Messung allergenspezifischer IgE-Antikörper und ECP überwacht werden kann. Der Abfall der spezifischen IgE-Werte gegen die auslösenden Allergene sowie das Absinken des Serum-ECP-Spiegels sind mit einem Rückgang der Beschwerden verbunden.

3. Serum-ECP-Werte unter spezifischer Immuntherapie

In einer Studie wurden die Serum-ECP-Werte bei Allergikern mit oder ohne kausale Therapie (Hyposensibilisierung) gemessen. In der unbehandelten Patientengruppe stieg der ECP-Spiegel während der Pollensaison signifikant an.



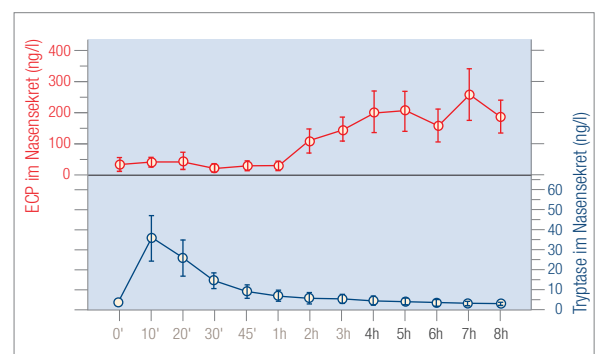
Serum-ECP-Spiegel und spezifisches IgE gegen Hausstaubmilben bei Milben-sensibilisierten Patienten, die Matratzenüberzüge verwenden (Sandahl and Strigard, 1994)



Serum-ECP-Spiegel unter Hyposensibilisierung (Rak et al., 1988)

Rhinitis und ECP

Bei entzündlichen Schleimhauterkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen werden erhöhte Konzentrationen des ECP im Nasensekret gefunden. Untersucht wurden Proben von Patienten mit allergischer Rhinitis mit intermittierenden und persistierenden Inhalationsallergien, chronischer Sinusitis und Polyposis nasi. Die entsprechenden Serumuntersuchungen zeigten nur teilweise leicht erhöhte Werte, da das betroffene Schleimhautareal relativ klein ist und die Anzahl aktivierter Eosinophiler niedriger ist als bei allergischem Asthma bronchiale oder atopischer Dermatitis. Insbesondere die Verlaufsuntersuchungen bei verschiedenen Therapieformen und der Provokationstestung sind Anwendungsbereiche für die Messung von ECP im Nasensekret.



Sekretion von ECP und Tryptase in Abhängigkeit von der Zeit nach Allergenprovokation im Nasensekret (Rasp, 1998)

Atopische Dermatitis und ECP

Bei der atopischen Dermatitis, auch Neurodermitis oder atopisches Ekzem genannt, handelt es sich um eine schubweise auftretende, chronische Entzündungsreaktion der Haut, die zumeist mit starkem Juckreiz einhergeht. Bei der Mehrheit der Patienten bricht die Krankheit zum ersten Mal im Säuglings- und Kindesalter aus. Betroffen sind weltweit 10 – 20 % der Kinder und 1 – 3 % der Erwachsenen. Ein signifikanter Anteil der Patienten weist IgE-vermittelte Sensibilisierungen gegen Aeroallergene und/oder Nahrungsmittelallergene auf. Diese Form, bei der eine Assoziation mit spezifischem IgE gegen die genannten Allergene vorliegt, wird extrinsische Form genannt (AEDES – atopic eczema/dermatitis syndrome). Davon abzugrenzen ist die intrinsische Form (NAEDES – nonallergic AEDES), bei der das klinische Bild identisch ausgeprägt sein kann.

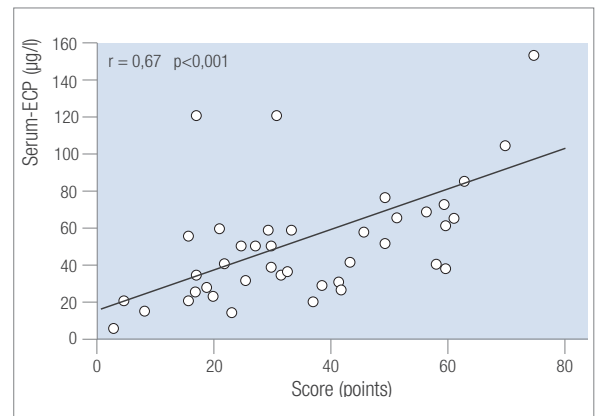
Eine Assoziation zwischen atopischer Dermatitis (AD) und der Vermehrung der eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut ist seit langem bekannt, die diagnostische Wertigkeit dieses Befundes ist jedoch nicht eindeutig. In den befallenen Hautarealen der Patienten wurden deutliche Ablagerungen der Granulaproteine gefunden, was auf die Degranulation der Eosinophilen am Entzündungsort hinweist und für die aktive Beteiligung der Eosinophilen bei der AD spricht.

1. ECP – ein sensitiver Marker für die Krankheitsaktivität der atopischen Dermatitis

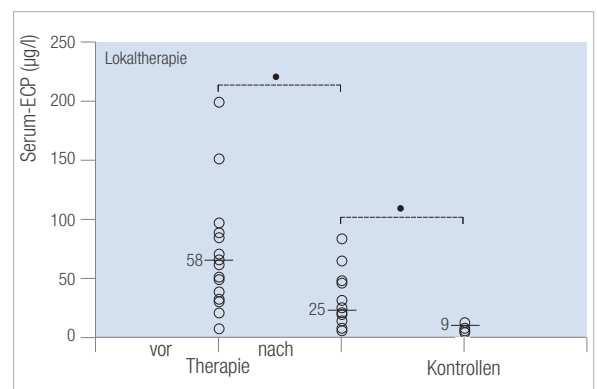
Die Krankheitsaktivität der AD wird durch den klinischen Score (SCORAD: Erfassung der Intensität und Ausbreitung der Hautveränderungen sowie subjektiver Parameter) beschrieben. Der Serum-ECP-Spiegel bei Patienten mit AD zeigt eine gute Korrelation mit dem klinischen Score auf. Somit steht mit dem Entzündungsparameter ECP ein sensitiver Marker für die Krankheitsaktivität zur Verfügung.

2. Therapie-Verlaufskontrolle bei AD

Unter dem Einsatz von Lokaltheraeutika für die Behandlung der AD nimmt der Serum-ECP-Spiegel bei den behandelten Patienten ab. Die Messung des Serum-ECP-Spiegels kann somit als Therapie-Verlaufskontrolle bei Patienten mit AD eingesetzt werden.



Der klinische Score der atopischen Dermatitis korreliert mit den Serum-ECP-Spiegeln (19 Patienten, 57 Untersuchungen; Czech et al., 1992)



Serum-ECP-Spiegel vor und nach Therapie und für Kontrollen, Striche zeigen das geometrische Mittel, $p < 0,005$ (Czech et al., 1992)

ECP Probengewinnung im Überblick

Blutentnahmeröhrchen, Gerinnungszeit und Temperatur beeinflussen die Konzentration des freigesetzten ECP in den Serumproben und müssen deshalb beachtet werden. Die Gerinnung ist der erste Schritt dieses diagnostischen Tests, bei dem das ECP reproduzierbar aus den durch die Entzündung aktivierten Eosinophilen freigesetzt wird.

1. Für die venöse Blutentnahme empfehlen sich folgende Blutabnahmeröhrchen:

- Terumo Venosafe®, Plastik
- Greiner Vacuette®, Plastik
- Sarstedt S-Monovette®, Plastik
- Terumo Venoject®, Glas

2. Es ist wichtig, dass das Röhrchen ganz gefüllt ist.

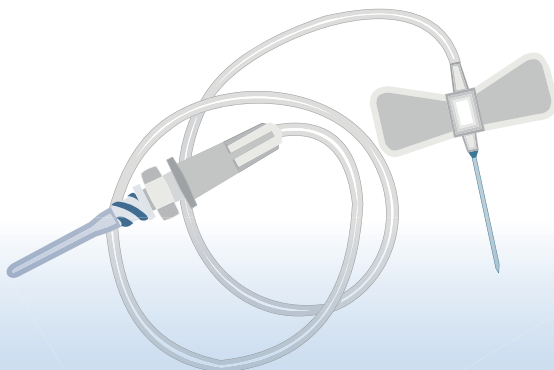
Vorzugsweise Röhrchen mit einem Volumen von 2,5 bis 5 ml verwenden.

3. Das Röhrchen 5-mal vorsichtig kippen.

4. Die Probe 60 – 120 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 24 °C) gerinnen lassen.

Die Konzentration an freigesetztem ECP nimmt mit der Zeit zu. Höhere Temperaturen stimulieren die Eosinophilen, was zu höheren Serum-ECP-Spiegeln führt. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, sollte die Gerinnungszeit eingehalten werden und die Temperatur während des Gerinnungsvorganges so konstant wie möglich gehalten werden.

5. Die Probe 10 Minuten bei 1000 x g und Raumtemperatur zentrifugieren.



6. Das Serum dekantieren.

Ein Trenngel vereinfacht das Dekantieren und verringert das Risiko, dass Zellen in das Serum übertragen werden. Dies ist besonders wichtig, da Zellen, die sich nach der Zentrifugation im Serum befinden, weiterhin ECP freisetzen und somit zu falsch erhöhten Ergebnissen führen. Es ist erforderlich, das Serum nach der Zentrifugation in ein neues Röhrchen zu überführen. Bei Verwendung von Röhrchen ohne Trenngel empfiehlt sich, das Serum nach dem ersten Dekantieren nochmals zu zentrifugieren und ein weiteres Mal zu dekantieren.

7. Lagerung / Transport von Serumproben:

- Für Versandzwecke maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur
- Lagerung maximal 5 Tage im Kühlschrank (+2 bis +8 °C)
- Lagerung bei -20 °C oder tiefer für späteren Analysenzeitpunkt

Serumproben für ECP-Messungen können zu jeder Tageszeit abgenommen werden. Gesunde Personen oder Patienten mit Asthma weisen keine signifikante zirkadiane Varianz des ECP auf. Ausgenommen hiervon sind Patienten mit nächtlichem Asthma, welche nachts zu höheren ECP-Spiegeln neigen.

Für die Blutentnahme bei Kindern empfiehlt sich die Verwendung einer Betäubungssalbe (z. B. Emla®) und einer „Butterfly“-Nadel, um die venöse Blutentnahme zu erleichtern.

Bitte beachten:
Plasma, Vollblut (venös oder kapillär) und hämolysierte Seren können nicht verwendet werden.

ImmunoCAP ECP

Klinische Anwendung bei Asthma

- Zur Überwachung der Entzündungsaktivität
- Zum Management der Kortikosteroidbehandlung
- Zur Identifikation von Patienten, die den Therapieempfehlungen nicht folgen

Literatur: 1. Czech W. et al.: Serum eosinophil cationic protein (ECP) is a sensitive measure for disease activity in atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology* 1992; 126:351-355
2. Dahl R.: Monitoring bronchial asthma in the blood. *Allergy* 1993; 48:77-80 3. Koller D.Y. et al.: Clinical value of monitoring eosinophil activity in asthma. *Archives of Disease in Childhood* 1995; 73:413-417 4. Koller D.Y. et al.: High levels of eosinophil cationic protein in wheezing infants predict the development of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1997; 99 (6):753-756 5. Kristjansson S, Strannegard IL, Wennergren G.: Inflammatory markers in childhood asthma. *Ann Med* 1996; 28 (5):395-9 6. Luck W. et al.: In vitro release of eosinophil cationic protein from peripheral eosinophils reflects disease activity in childhood – Crohn disease and ulcerative colitis. *The European Journal of Pediatrics* 1997; 156:921-924 7. Rak S et al.: The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1988; 82:470-480 8. Rasp G.: Klinische Anwendung von Entzündungsmediatoren im Nasensekret: Tryptase und ECP. *Allergo Journal* 1998;7:SA9-SA11 9. Sandahl G. and Strigard E.: ECP and mite IgE levels in mite sensitive patients using or not using bed covering system. *Allergy and Clinical Immunology News* 1994; Suppl.1: No. 1861

thermoscientific.com/phadia/de

© 2014 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Warenzeichen sind das Eigentum von Thermo Fisher Scientific und seiner Tochtergesellschaften.
Rechtmäßiger Hersteller: Phadia AB, Uppsala, Schweden

Thermo Fisher Scientific – Phadia GmbH, Munzinger Str. 7, D-79111 Freiburg, Tel. +49 761 47 805 0, Fax +49 761 47 805 338
Thermo Fisher Scientific – Phadia Austria GmbH, Donau-City-Str. 1, A-1220 Wien, Tel. +43 1 270 20 20, Fax +43 1 270 20 20 20
Thermo Fisher Scientific – Phadia AG, Sennweidstr. 46, CH-6312 Steinhausen, Tel. +41 43 343 40 50, Fax +41 43 343 40 51

Thermo
SCIENTIFIC

A Thermo Fisher Scientific Brand