

Lateral Flow Assay

Marc-André Avondet
Werner Hofmann
Stefan Landolt

Einleitung

Lateral Flow Assays (LFA) sind Testsysteme zur Bestimmung verschiedener Analyte:

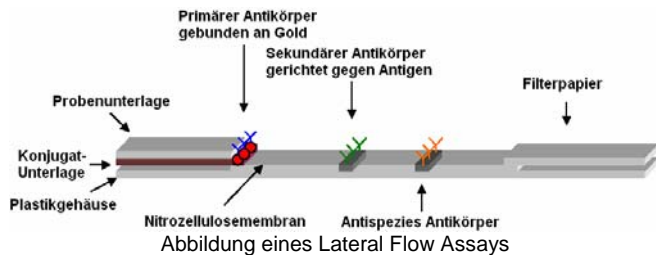
- Schwangerschaft (hCG, Human Chorion Gonadotropin)
- Drogen
- klinische Diagnostik
- B-Toxine

Die LFA basieren auf dem gleichen Prinzip wie andere immunologische Assays (ELISA, Magnetic Bead Assays usw.), sie nutzen den Effekt der Antikörper-Antigen Reaktion aus. Zusätzlich haben sie chromatographische Eigenschaften, da die Antikörper auf einer Membran gebunden sind. Die zu analysierende Probe (Lösung) wird durch die Kapillarkräfte über den ganzen Strip gezogen und führt zu einem schnell sichtbaren Resultat. Aus den erwähnten Gründen wird der LFA auch als Immuno-Chromatographie bezeichnet.

LFA sind vor allem für das Militär interessant, da sie auf dem Feld schnell einsetzbar sind und einen ersten Überblick über mögliche Kontaminationen mit B-Toxinen oder anderen biologischen Agenzien geben können. Jedoch sind weitere Analysen im Labor für eine Bestätigung der Ergebnisse zwingend nötig.

Aufbau eines LFA

Nach Aufgabe der Probe an der entsprechenden Stelle des Plastikgehäuses strömt diese als Folge der wirkenden Kapillarkräfte durch das Membransystem.

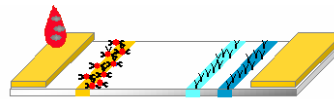


Die Probe wird von einer Probenunterlage aufgenommen, welche Verunreinigungen (Schmutzpartikel) von der Probe abtrennt. Unter der Probenunterlage liegt die Konjugat-Unterlage, in dem sich das Konjugat (primärer Antikörper) befindet. Dabei handelt es sich um gegen den zu messenden Analyten (z.B. Ricin) gerichtete Antikörper, die an kolloidales Gold gebunden sind. Auf der Konjugat-Unterlage reagiert der Analyt, wenn er in der Probe enthalten ist, mit dem am kolloidalen Gold gebundenen Antikörper.

Danach strömt die Probe auf die Nitrozellulosemembran. Dort sind hintereinander zwei Zonen aufgetragen. Bei der ersten Zone handelt es sich um einen sekundären Antikörper, der gegen den Analyten gerichtet ist und ein zum Konjugat unterschiedliches Epitop (Erkennungsstelle des Antikörpers) erkennt. Die andere Linie enthält einen Antispezies Antikörper, der mit dem nicht gebundenen Konjugat reagiert. Dementsprechend können sich entweder eine oder zwei Linien bilden

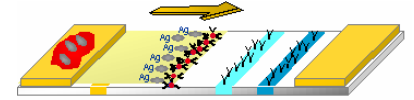
Die überschüssige Flüssigkeit mit den an der Test- bzw. Kontrolllinie nicht gebundenen Goldpartikeln strömt weiter durch das Membransystem, bis sie von einem Filterpapier aufgesaugt wird und somit einen Rückfluss verhindert.

Beispiel eines LFA mit Ricin



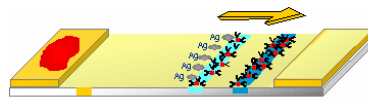
Eine ricinhaltige Probe wird auf das Sample pad aufgetragen und gelangt auf die Nitrozellulosemembran. Dort bindet der Ricin an das Gold gelabelte

Antikörper (Konjugat) an das Ricin, es entsteht ein Antikörper-Antigen Komplex. Da das Konjugat im Überschuss vorliegt, werden auch nicht gebundene Konjugate mit dem Kapillarfluss mitgerissen. Sobald nun der Antikörper-Antigen



Komplex in die Zone des sekundären Antikörpers gelangt (Testzone), bindet dieser an einem zweiten Epitop des Ricins und bleibt in der Zone hängen. Die nicht gebundenen Konjugate fließen bis zur zweiten Zone (Kontrollzone),

dem so genannten Antispezies Antikörper, welcher Epitope auf dem



Konjugat erkennen kann und bindet. Durch das kolloidale Gold erscheinen die beiden Zonen, nach einer gewissen Zeit, in einer rötlichen Farbe. Falls die Probe kein Ricin enthält, sollte nur die Kontrolllinie rötlich werden.

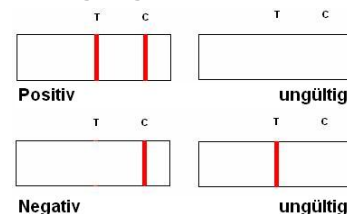
Membranen

Nitrozellulosemembranen sind für einen LFA die mit am besten geeigneten Membranen. Die Eigenschaften des Nitrozellulosepolymers zusammen mit der Mikroporenstruktur machen die Membran zu einem idealen Trägermaterial für die meisten Lateral Flow Assays. Eine gute Membran muss folgende Eigenschaften besitzen:

- hohe Bindungskapazität
- definierte und präzise Kapillargeschwindigkeit
- gleichmässige Membranoberfläche, welche frei von Staub und Defekten ist
- gleichmässige Dicke der Membran
- gleichmässige Qualität zwischen den verschiedenen Chargen

Auswertung

Die Auswertung eines Strips kann visuell (qualitativ) oder über einen Reader (Messgerät, halbquantitativ) erfolgen. Die visuelle Auswertung ist relativ einfach, sobald die Kontrolllinie (C) erscheint, ist der LFA gültig. Wenn dann auch noch die Testlinie (T) erscheint, ist der Test positiv, ohne Testlinie negativ. Wenn die Kontrolllinie nicht erscheint, sind die Tests als ungültig anzusehen.



Die vier möglichen Testergebnisse eines Lateral Flow Assays. Die linken zwei Tests sind gültig, die Tests auf der rechten Seite können nicht ausgewertet werden, da die Kontrolllinie (C) fehlt.



Leitungswasserproben mit (50 ng ml^{-1}) und ohne Ricin. Links sind die negativen und rechts die positiven Resultate zu sehen.

