

Product Information: AgriStrip-magnetic Grapevine leafroll-assoc. virus 3 (GLRaV-3)

GLRaV-3 AgriStrip-magnetic - a rapid assay for the detection of Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3)

Intended use

The rapid assay GLRaV-3 AgriStrip-magnetic from BIOREBA enables the identification of GLRaV-3 in symptomatic tissue of grapevine. Optimally, the presence of GLRaV-3 is assessed in mature grapevine leaves in autumn or in bark scrapings during dormancy. It is not recommended to use young tissue early in the growing season.

The symptoms of GLRaV-3 cannot be distinguished from those caused by other grapevine viruses. Red cultivars show a reddish leaf area, whereas major veins stay green. White cultivars typically show slight yellowish discoloration of leaves. Furthermore, the leaves roll characteristically.

Test principle

The innovative rapid assay GLRaV-3 AgriStrip-magnetic, developed and produced by BIOREBA, is a lateral-flow immunochromatographic test based on an antigen-antibody reaction combined with Magnetic Bead Technology, enabling the preceding enrichment of the antigen. Grapevine leaf extract or extract of bark scrapings is first incubated with magnetic beads coated with antibodies specific for GLRaV-3. These beads are then separated from the extract with a magnet and resuspended in a small volume of running buffer. Finally, the concentrated beads migrate upwards through the test strip and brown colored lines become visible.

Both test and control lines become visible with positive extracts (containing GLRaV-3), whereas negative samples produce only the upper control line (Fig. A). Intense coloration is reached within 10-20 min. and the result can be registered.

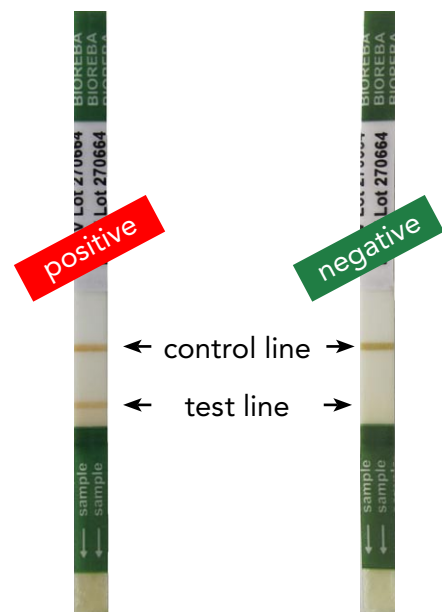
Specificity and sensitivity

The GLRaV-3 AgriStrip-magnetic is based on monoclonal antibodies and reacts specifically with GLRaV-3. No cross-reaction is observed with other grapevine viruses. Strongest coloration of test bands is obtained with a 1:30 (w/v) dilution of an extract of infected grapevine leaves or bark scrapings.

The sensitivity attained with the AgriStrip lateral flow is comparable to the sensitivity in the DAS-ELISA method. Evaluation studies of several laboratories involved in grapevine certification revealed an accordance of 100% between the two test formats with field samples.

Please read the notes on page 3 before starting the assay.

Fig. A
Test strip



Test procedure

Sampling and extraction

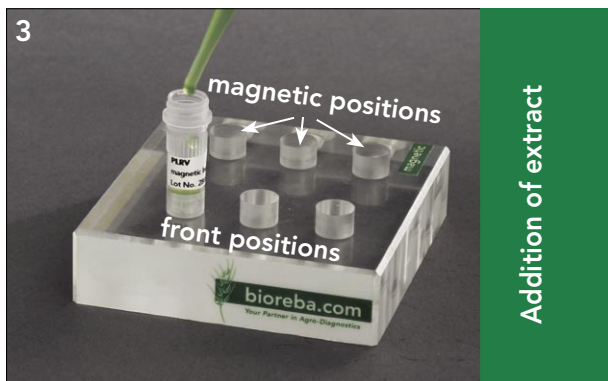
Label extraction bags, tubes and strips with a permanent marker to prevent confusion.



1) Place a piece of **0.1 g** of symptomatic leaf (that is approximately the size of a 1-EURO coin) or bark scrapings in an extraction bag and add 3 ml of **AgriStrip Extraction buffer C** with a disposable pipette*.



2) Homogenize the tissue with the homogenizer hand model on a flat surface with a few movements for 5-7 sec (crushing bark scrapings first with a hammer is recommended) to obtain a 1:30 (w/v) extract.



3) Remove the lid of a GLRaV-3 magnetic beads tube. Place the tube at a **front position** (not magnetic) of the rack. Insert the tube as deep as possible. With a disposable pipette*,

transfer 1 ml of the extract from the extraction bag into the tube (fill it until the liquid layer becomes visible in the rack). Close the tube.



4) Remove the tube from the rack and shake it (by turning upside down) until the brownish content is completely resuspended. Place the tube again at a **front position** (not magnetic) on the rack and wait for **7 min** ⌚



5) Remove the tube and shake it for 3 sec. Remove the lid. Insert the tube as deep as possible at the position «**magnetic**» of the rack.

Wait for **3 min** ⌚ to allow the beads to accumulate at the wall of the tube by the effect of the magnet. Do not remove or turn the tube during this period of time in order not to disturb this process.

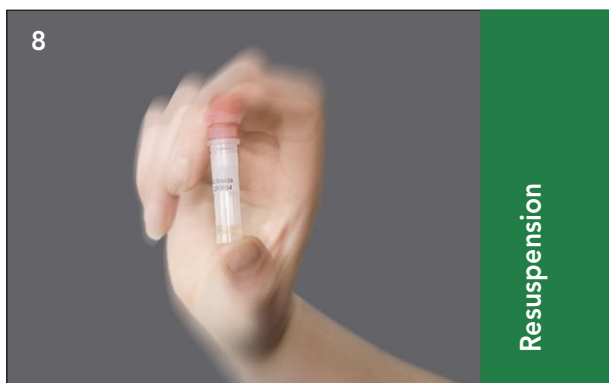


6) Discard the liquid in a waste container.



Addition of buffer

7) Remove the tube from the position «magnetic». A brownish precipitate is visible at the wall of the tube. Add **4 drops of Running buffer R** and close the lid.



Resuspension

8) **Shake vigorously for 10 sec** to resuspend the accumulated beads to obtain a homogenous suspension.



Immuno-chromatography

9) Place the tube at a **front position** (not magnetic) on the rack and insert a test-strip with the end marked «sample». Observe the coloration of the lines that is completed after 10-20 min.

Analysis of results

- 1) Both, a clearly visible test and control line are obtained with extracts containing GLRaV-3 as shown in Fig. A. This means the test is **positive**.
- 2) The test is **negative**, if the control line but no test line appears after 10-20 min. This means that

no GLRaV-3 is in the extract or in a concentration below the detection limit.

- 3) If neither test nor control line become visible, the test is **invalid** and should be repeated with a fresh strip.
- 4) Rarely, a faint test line might become visible after 20-30 min. Repeat the test in this case with a new extract or send the sample to a laboratory for verification with another method.

Dried test strips can be kept as permanent records, even though the coloration of bands is stronger when the strips are still wet.

Notes

- 1) Be aware that the strong magnets of the magnetic rack may interfere with or even destroy magnetic sensitive devices such as credit cards or watches.
- 2) Store the strips and the buffers at 4°C. However, limited exposure to ambient temperature (10 - 30°C), such as during transport and use in the field, does not affect the quality. Keep the packaging of the strips (containing desiccant bags) and the tubes containing the magnetic beads always hermetically closed. Absorbed moisture can lead to poor results or even complete failure of the test.
- 3) Strips must be used before the expiration date indicated on the label of the packaging.
- 4) Use the GLRaV-3 AgriStrip-magnetic always with the Extraction buffer C and the Running buffer R supplied with the strips. Other buffers might fail.
- 5) It is recommended to run the test at ambient temperature (15–25°C). At temperatures below 15°C, the speed of color development of test and control lines slows down.
- 6) The extraction buffer and running buffer contain sodium azide as preservative. Keep out of reach of children and do not ingest.

* Use of the disposable pipettes

Do not accidentally contaminate the extraction buffer. Please make sure that the disposable pipettes are immediately disposed of, after having been in contact with samples. Use always a **fresh pipette** from the pouch for dosing extraction buffer.

GLRaV-3 AgriStrip-magnetic



Fig. GLRaV-3 AgriStrip-magnetic Complete kit (Art. No. 122381)

Content of the Complete kit

- 25 strips packed with desiccant bags
- 25 tubes containing magnetic beads coupled to GLRaV-3 specific antibody
- 100 ml AgriStrip Extraction buffer C
- 5 ml Running buffer R
- 25 disposable pipettes
- 25 extraction bags
- Note: the magnetic rack and the homogenizer hand model are optional and not included in the Complete kit.

Ordering Information

Product	Art. No.	Size	Assays
GLRaV-3 AgriStrip-magnetic Complete kit	122381	1 Kit	25
<i>Optional tools required for the test but not supplied in the Complete kit</i>			
Magnetic rack	2367	1 unit	
Homogenizer hand model	400010	1 unit	

Disclaimer

This BIOREBA product is guaranteed to meet the specifications mentioned in this product information. No further warranties are given. Should this product fail for reasons other than inappropriate handling or misuse, BIOREBA AG will replace the product free of charge or refund the purchase price.

BIOREBA AG shall not be liable for any direct or indirect, special or consequential damages of any kind resulting from the use of this product.

Produktinformation: AgriStrip-magnetic Grapevine leafroll-assoc. virus 3 (GLRaV-3)

GLRaV-3 AgriStrip-magnetic – der Schnelltest für den Nachweis von Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3)

Verwendung

Der Schnelltest GLRaV-3 AgriStrip-magnetic von BIOREBA ermöglicht den Nachweis von GLRaV-3 in symptomatischem Gewebe von Reben. Die Probenahme ist optimal von älteren Blättern im Spätsommer/Herbst, sowie ab Kambium von ruhendem Holz. Junges Pflanzengewebe zu Beginn der Wachstumsaison eignet sich nicht für den Nachweis von GLRaV-3.

Die durch GLRaV-3 verursachten Symptome sind das für Blattrollviren typische Rollen der Blätter. Bei roten Sorten färbt sich die Blattspreite rötlich, wobei die Mittelrippen grünlich bleiben. Weisse Sorten zeigen eine leichte Vergilbung der Blattspreite. Die Symptome verursacht durch GLRaV-3 können nicht von Symptomen anderer Blattrollviren unterschieden werden.

Testprinzip

Der innovative Schnelltest GLRaV-3 AgriStrip-magnetic basiert auf einer Antikörper-Antigen-Reaktion im „Lateral flow“ Immunochromatographie-Format, kombiniert mit der Verwendung magnetischer Kügelchen („Magnetic Bead Technology“), welche die vorgängige Anreicherung des Antigens (Krankheitserregers) ermöglichen. Der Rebenblatt- oder Kambium-Extrakt wird dabei in einem ersten Schritt mit magnetic Beads inkubiert, an die GLRaV-3-spezifische Antikörper gebunden sind. Dabei werden vorhandene Viruspartikel an die Beads gebunden und in einem nächsten Schritt durch die Wirkung eines Magneten vom Extrakt getrennt. Die angereicherten Beads werden schliesslich in einem kleinen Volumen resuspendiert. Ein Teststreifen wird in die Suspension gegeben, die Flüssigkeit wandert durch den Streifen hoch, und braune Linien werden nach wenigen Minuten sichtbar (Abb.A).

Wenn GLRaV-3 im Extrakt vorhanden ist, entwickeln sich sowohl Test-, als auch Kontrolllinien. Ist kein GLRaV-3 im Extrakt, wird nur die Kontrolllinie sichtbar. Nach 10-20 Min. wird die maximale Farbintensität der Linien erreicht, und das Resultat kann abgelesen werden

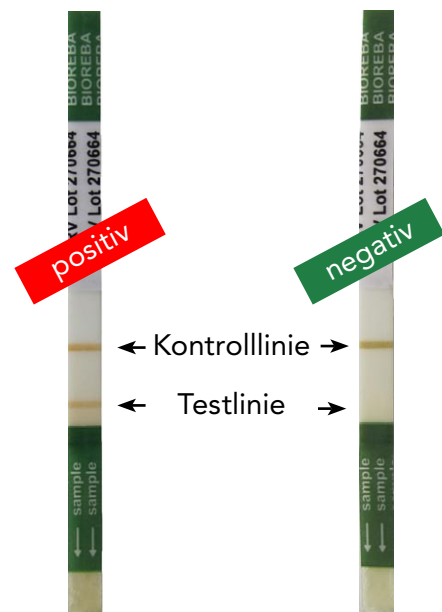
Eigenschaften und Empfindlichkeit

Der GLRaV-3 AgriStrip-magnetic basiert auf monoklonalen Antikörpern und reagiert spezifisch mit GLRaV-3. Mit anderen Rebeviren wird keine Kreuzreaktion festgestellt. Die stärkste Einfärbung der Linien wird mit einer 1:30 (w/v) Extraktverdünnung von infiziertem Rebenmaterial erreicht.

Die Empfindlichkeit des GLRaV-3 AgriStrip-magnetic ist vergleichbar mit derjenigen der GLRaV-3 DAS-ELISA-Methode. Vergleichstests in mehreren Labors, welche in der Reben-Zertifizierung involviert sind, zeigten eine 100%ige Übereinstimmung beider Methoden.

Vor der Testdurchführung beachten Sie bitte die Bemerkungen auf Seite 3.

Abb. A
Teststreifen



Testdurchführung

Beschriften Sie Extraktionsbeutel, Röhrchen und Streifen mit einem wasserfesten Schreiber, um Verwechslungen zu vermeiden.



1) Ein symptomatisches Blattstück von **0.1 g** (entspricht der Grösse einer 1-Euro-Münze) oder Kambiumschnitte in einen Extraktionsbeutel geben und mit einer Einwegpipette* **3 ml AgriStrip Extraktionspuffer C** zugeben.



2) Die Probe mit dem Handhomogenisator auf einer flachen Unterlage mit wenigen Bewegungen ca. 5-7 sec homogenisieren (Holzproben erst mit Gummihammer flach klopfen), um einen 1:30 (w/v) Extrakt zu erhalten.



3) Den Deckel eines GLRaV-3 Magnetic-Beads Röhrchens entfernen und das Röhrchen auf eine **Front-Position** (nicht magnetisch) des Magnetgestells stecken und es bis zum Anschlag hinunter drücken. Mit der Einwegpipette* etwa

1 ml Extrakt aus dem Extraktionsbeutel ins Röhrchen geben (bis die Flüssigkeit am Rande des Magnetgestells sichtbar wird). Deckel wieder aufsetzen.



4) Röhrchen entnehmen und solange schwenken bis sich der braune Inhalt komplett gelöst hat. Das Röhrchen wiederum auf **Front-Position** (nicht magnetisch) des Magnetgestells setzen. **7 min** stehen lassen ⌚.



5) Röhrchen entnehmen und 3 sec schwenken. Deckel entfernen. Röhrchen in eine hintere, **magnetische Position** des Magnetgestells stecken (ohne Deckel) und bis zum Anschlag hinunter drücken.

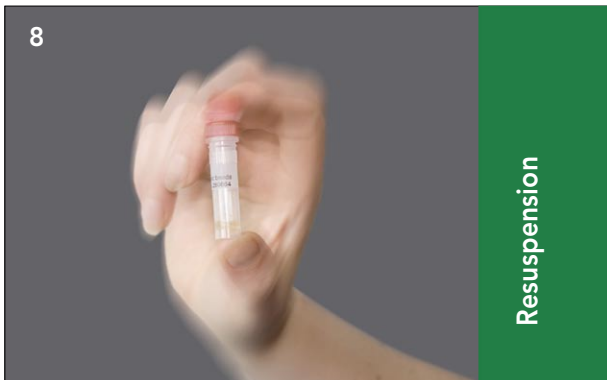
3 min ⌚ stehen lassen. Röhrchen im Magnetgestell nicht bewegen, damit sich die magnetic Beads an der Röhrchenwand in Magnethöhe ungestört ansammeln können.



6) Die Flüssigkeit in ein Abfallgefäss abgiessen.



7) Das Röhrchen von der **magnetischen Position** entfernen. Ein bräunlicher Niederschlag an der Röhrchenwand ist sichtbar. **4 Tropfen Running buffer R** zugeben und Röhrchen verschliessen.



8) Röhrchen **10 sec energisch schütteln** um den bräunlichen Niederschlag vollständig zu resuspendieren.



9) Das Röhrchen wieder auf eine **Front-Position** (nicht magnetisch) des Magnetgestells setzen und einen Teststreifen mit dem „sample“ markierten Ende in den Extrakt tauchen und stehen lassen. Die Einfärbung der Linien ist nach 10-20 Min. abgeschlossen.

Auswertung

- 1) Sowohl Test- als auch Kontrolllinie werden stark eingefärbt mit Extrakten, die GLRaV-3 enthalten (vgl. Abb. A). D. h. der Test ist **positiv**.
- 2) Der Test ist **negativ**, wenn die Kontrolllinie aber auch nach 10-20 Min. keine Testlinie sichtbar wird. Dies bedeutet, dass gar kein GLRaV-3 im Extrakt

enthalten ist, oder die Viruskonzentration unter der Nachweisgrenze liegt.

3) Wenn weder Test- noch Kontrolllinie sichtbar wird, ist der Test **ungültig** und muss mit einem frischen Röhrchen und Streifen wiederholt werden.

4) In seltenen Fällen wird eine schwache Testlinie erst nach 20-30 Min. sichtbar. Den Test mit einem frischen Extrakt wiederholen, oder die Probe an ein Labor einsenden, zur Überprüfung mit einer anderen Methode.

Die Streifen können nach dem Test in getrocknetem Zustand zur Dokumentation aufbewahrt werden; die Einfärbung der Linien erscheint in diesem Zustand jedoch leicht schwächer.

Bemerkungen

1) Beachten Sie, dass die starken Magnete im Magnetgestell magnetempfindliche Gegenstände wie Uhren stören oder die gespeicherte Information im Magnetstreifen von Kreditkarten löschen können.

2) Die Teststreifen, Röhrchen und Puffer bei 4°C lagern. Für den Transport und während des Gebrauchs im Feld können die Teststreifen, Röhrchen und Puffer jedoch ohne Qualitätsverlust einer Umgebungstemperatur von 10-30°C ausgesetzt werden. Die Teststreifen und Röhrchen mit den magnetischen Beads immer gut verschlossen aufbewahren. Absorption von Feuchtigkeit kann die Qualität der Ergebnisse mindern bis zur völligen Unbrauchbarkeit der Tests.

3) Verwendung bis Ende des Haltbarkeitsdatums auf der Verpackung.

4) Verwenden Sie die GLRaV-3 AgriStrip-magnetic immer mit dem „AgriStrip Extraktion buffer C“ und dem „Running buffer R“. Bei Verwendung anderer Puffer ist das Funktionieren des Tests nicht garantiert.

5) Es wird empfohlen, die Tests bei einer Umgebungstemperatur von 15–25°C durchzuführen. Bei Temperaturen unter 15°C verzögert sich die Farbentwicklung.

6) Die Puffer enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Ausser Reichweite von Kindern aufbewahren und nicht einnehmen.

* Gebrauch der Einwegpipetten

Bitte achten Sie darauf, dass mit Antigen kontaminierte Einwegpipetten unverzüglich entsorgt werden und nicht den Extraktionspuffer aus Versehen kontaminieren können. Nehmen Sie immer eine **frische Pipette** aus dem mitgelieferten Beutel für die Dosierung des Extraktionspuffers.

GLRaV-3 AgriStrip-magnetic



Abb. GLRaV-3 AgriStrip-magnetic Complete kit
(Art. Nr. 122381)

Inhalt des Complete kit

- 25 Teststreifen in Röhrchen mit Trockenmittel
- 25 Röhrchen mit GLRaV-3 spezifischen Antikörpern beschichteten magnetic Beads
- 100 ml gebrauchsfertiger AgriStrip-Extraktionspuffer C
- 5 ml gebrauchsfertiger Running Buffer R in Tropfflasche
- 25 Einwegpipetten
- 25 Extraktionsbeutel «Universal»
- NB: das Magnetgestell und der Handhomogenisator sind nicht im Complete kit enthalten.

Bestellinformationen

Produkt	Art. Nr.	Einheit	Tests
GLRaV-3 AgriStrip-magnetic Complete kit	122381	1 Kit	25
<i>Für die Durchführung benötigt aber nicht enthalten im Complete kit</i>			
Magnetgestell	2367	1 Stk.	
Handhomogenisator	400010	1 Stk.	

Haftungsausschluss

BIOREBA AG garantiert das gute Funktionieren der Tests gemäss den Spezifikationen bei korrekter Anwendung. Ersatzansprüche sind auf den Ersatz des Produktes beschränkt. Für

allfällige Schäden, welche mit der Anwendung dieses Tests direkt oder indirekt in Zusammenhang stehen, lehnt BIOREBA AG jedoch jede Haftung ab.