

# Product Information: AgriStrip-magnetic Potato leafroll virus (PLRV)

## PLRV AgriStrip-magnetic - a rapid assay for the detection of Potato leafroll virus (PLRV)

### Intended use

The rapid assay PLRV AgriStrip-magnetic is produced by BIORÉBA for identification of PLRV in symptomatic potato leaves. Symptoms of primary infection consist typically of pale yellowish leaves, and in some cultivars, reddening of the tip leaves which may become rolled and assume an erect habit. Secondary symptoms, in plants grown from infected tubers, are stunting of the shoots and upward rolling of leaves.

### Test principle

The innovative rapid assay PLRV AgriStrip-magnetic, developed and produced by BIORÉBA, is a lateral-flow immunochromatographic test based on an antigen-antibody reaction combined with Magnetic Bead Technology, enabling the preceding enrichment of the antigen.

Potato leaf extract is first incubated with magnetic beads coated with antibodies specific for PLRV. 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 strip and brown colored lines become visible.

Both test and control lines become visible with positive extracts (containing PLRV), 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

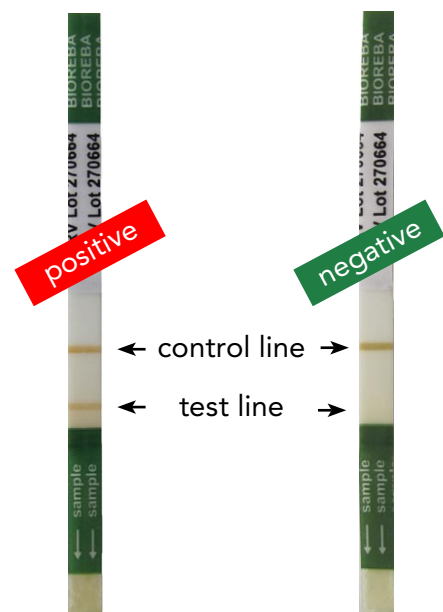
The PLRV AgriStrip-magnetic assay is based on mono- and polyclonal antibodies and reacts specifically with PLRV. No cross-reaction is

observed with other potato viruses. Strongest coloration of test bands is obtained with a 1:30 (w/v) dilution of an extract of infected potato leaves.

The sensitivity attained with the AgriStrip lateral flow is comparable to the sensitivity in the DAS-ELISA method, meaning that both weakly and strongly infected samples are clearly detected with both methods. Evaluation studies of several European laboratories involved in seed potato 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 any confusion.



1) Place a piece of **0.1 g** of symptomatic leaf (that is approximately the size of one EURO coin) 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 (5-7 sec) to obtain a 1:30 (w/v) extract.



3) Remove the lid of a PLRV 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.

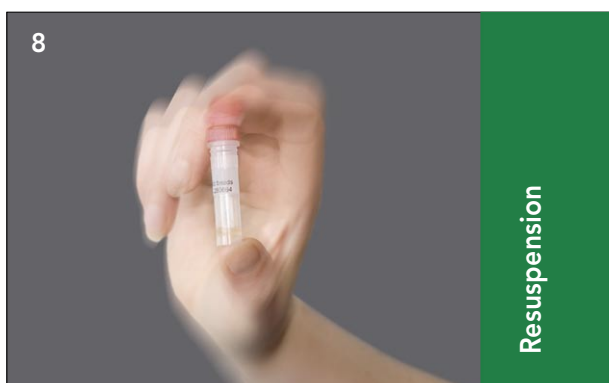
Wait for **3 min** ⌚ to allow the beads to accumulate at the wall of the tube by the effect of the magnet. Do not remove or turn the tube during this period of time in order not to disturb this process.



6) Discard the liquid in a waste container.



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.



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



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 PLRV 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 PLRV 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) The same sample extracts (in AgriStrip Extraction buffer C) can also be used for detection of PVA, PVM, PVS, PVX, and PVY using the AgriStrip.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Strips must be used before the expiration date indicated on the label of the packaging.
- 5) Use the PLRV AgriStrip-magnetic always with the Extraction buffer C and the Running buffer R supplied with the strips. Other buffers might fail.
- 6) 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.
- 7) 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 disinfected and disposed of, after having been in contact with samples. Use always a **fresh pipette** from the pouch for dosing extraction buffer.

# PLRV AgriStrip-magnetic



Fig. PLRV AgriStrip-magnetic Complete kit  
(Art. No. 110681)

## Content of the Complete kit

- 25 strips packed with desiccant bags
- 25 tubes containing magnetic beads coupled to PLRV 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
PLRV AgriStrip-magnetic Complete kit	110681	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 Potato leafroll virus (PLRV)

## PLRV AgriStrip-magnetic - der Schnelltest für den Nachweis von Potato leafroll virus (PLRV)

### Verwendung

Der Schnelltest PLRV AgriStrip-magnetic wird von BIOREBA produziert und ermöglicht den Nachweis von PLRV in symptomatischen Kartoffelblattproben.

### Testprinzip

Der innovative Schnelltest PLRV 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) ermöglicht.

Der Kartoffelblattextrakt wird dabei in einem ersten Schritt mit magnetic Beads inkubiert, an die PLRV-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 PLRV im Extrakt vorhanden ist, entwickeln sich sowohl Test-, als auch Kontrolllinien. Ist kein PLRV 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

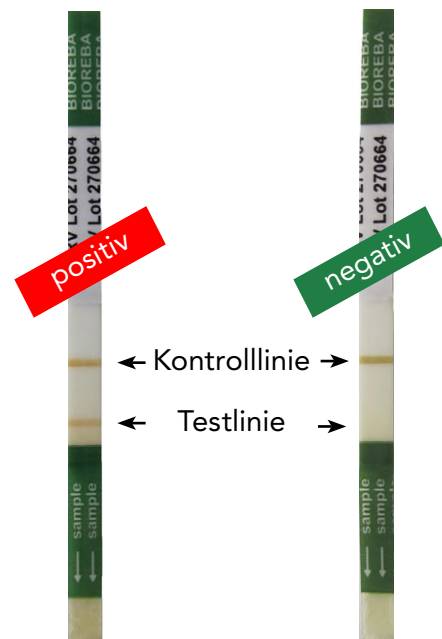
Der PLRV AgriStrip-magnetic basiert auf mono- und polyklonalen Antikörpern und reagiert

spezifisch mit PLRV. Mit anderen Kartoffelviren wird keine Kreuzreaktion festgestellt. Die stärkste Einfärbung der Linien wird mit einer 1:30 (w/v) Extraktverdünnung von infizierten Kartoffelblättern erreicht.

Die Empfindlichkeit des PLRV AgriStrip-magnetic ist vergleichbar mit derjenigen der PLRV DAS-ELISA-Methode. Das heisst, dass das Virus sowohl in schwach als auch in stark infizierten Proben mit beiden Methoden eindeutig nachgewiesen wird. Vergleichstests in mehreren europäischen Labors, welche in der Kartoffel-Saatgutzertifizierung 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, Röhren und Streifen mit einem wasserfesten Schreiber, um Verwechslungen zu vermeiden.



1) Ein symptomatisches Blattstück von **0.1 g** (entspricht der Grösse einer Euro-Münze) 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, um einen 1:30 (w/v) Extrakt zu erhalten.



3) Den Deckel eines PLRV Magnetic-Beads Röhrens entfernen und das Röhren 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

Röhren geben (bis die Flüssigkeit am Rande des Magnetgestells sichtbar wird). Deckel wieder aufsetzen.



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



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

**3 min** ⌚ stehen lassen. Röhren im Magnetgestell nicht bewegen, damit sich die magnetic Beads an der Röhrenwand in Magnetrnähe 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** bis der bräunliche Niederschlag vollständig resuspendiert ist.



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 PLRV 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 PLRV 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) Dieselben Probenextrakte (in AgriStrip-Extraktionspuffer C) können auch zum Nachweis von PVA, PVM, PVS, PVX und PVY mittels AgriStrip verwendet werden.

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

3) 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.

4) Verwendung bis Ende des Haltbarkeitsdatums auf der Verpackung.

5) Verwenden Sie die PLRV 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.

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

7) 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.

# PLRV AgriStrip-magnetic



Abb. PLRV AgriStrip-magnetic Complete kit (Art. Nr. 110681)

## Inhalt des Complete kit

- 25 Teststreifen in Röhrchen mit Trockenmittel
- 25 Röhrchen mit PLRV 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
PLRV AgriStrip-magnetic Complete kit	110681	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.