



ImmunoStrip® User Guide for CTV

On-site Plant Pathogen Testing

Citrus tristeza virus (CTV)

ISK/STX 78900

ImmunoStrip®

Phone: 800-622-4342

Sales Email: info@agdia.com

Technical Email: techsupport@agdia.com

Intended Use:

This ImmunoStrip test is a rapid means of screening citrus crops for *Citrus tristeza virus* (CTV). The CTV ImmunoStrip is intended for use with leaves, petioles, and young shoots. ImmunoStrip tests require no equipment or expertise to run. Results can be obtained in 30 minutes or less, making ImmunoStrips perfect for use in the field or greenhouse.

Kit Storage:

Kit components should be stored refrigerated (2 - 8 °C) between uses, and ImmunoStrips should be tightly sealed in the desiccated container at all times.

Before use, allow all kit components to warm to room temperature (18 - 30 °C).

Limitations:

This test is not recommended for testing woody tissue. Extraction and testing of decomposed, dried, or large amounts of tissue can cause invalid results.

Contents of Kit:

- ImmunoStrips
- *SEB1 sample extraction bags

Not Included but Required:

- Scissors, knife, or razorblade
- Extraction tool
 - » Agdia tissue homogenizer ([ACC 00900](#)), marker, or pen
- Letter holder or another device to hold sample extraction bags upright

*Not included if ordering STX only

PERFORMING THE ASSAY (*Special Attention Required)

Prepare Sample

1. Take a sample from symptomatic leaves, petioles, or shoots when possible. Agdia sample extract bags contain 3 mL of extraction buffer, requiring 0.15 g (approximately 1 inch² or the size of the bottom of the ImmunoStrip container) of tissue for the optimal 1:20 dilution. Please note that thick or dense tissues can alter the targeted 1:20 dilution. (Figure 1)

Note: If reusing cutting tools, disinfect them with a 10 % bleach solution between every sample.



2. Cut open the sample extraction bag near the bottom of the label. Be careful not to spill the buffer. *SEB1 buffer is required to perform this assay. (Figure 2)

3. Insert the sample between the mesh linings near the bottom of the sample extraction bag.



4. Extract the sample by thoroughly macerating it with an Agdia tissue homogenizer or a blunt object such as a pen or marker. (Figure 3)

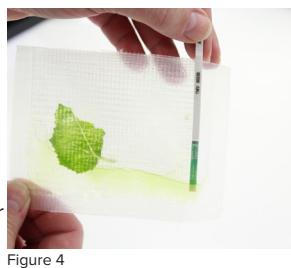
An adequately extracted sample will result in a homogenous green or light brown colored solution.

Allow the resulting solution to settle for 3 minutes before inserting the ImmunoStrip.

Perform Assay

5. Remove an ImmunoStrip then reclose the container. When handling the ImmunoStrips, always grasp the top of the ImmunoStrip marked with Agdia's name. Do not remove the protective covering.

Insert sample end of the ImmunoStrip into the channel portion of the bag (no mesh) until submerged in the extract **up to the white line approximately ¼ inch from the bottom. Do not allow the side of the ImmunoStrip to come into contact with foam or bubbles (if present).** (Figure 4)



6. Place the bag in a letter holder or another device in an **upright** position. Allow the ImmunoStrip test to remain in the sample extract **for 30 minutes.** Positive results may be visible in as few as 5 minutes. Lower titer samples may take up to 30 minutes.

Interpret Results

7. Remove the ImmunoStrip from the extract and interpret the results. Use the images provided as a guide to determine results. If storing the ImmunoStrips as a permanent record, immediately cut off the sample pad, then press the remaining ImmunoStrip between paper towels to remove any excess liquid.

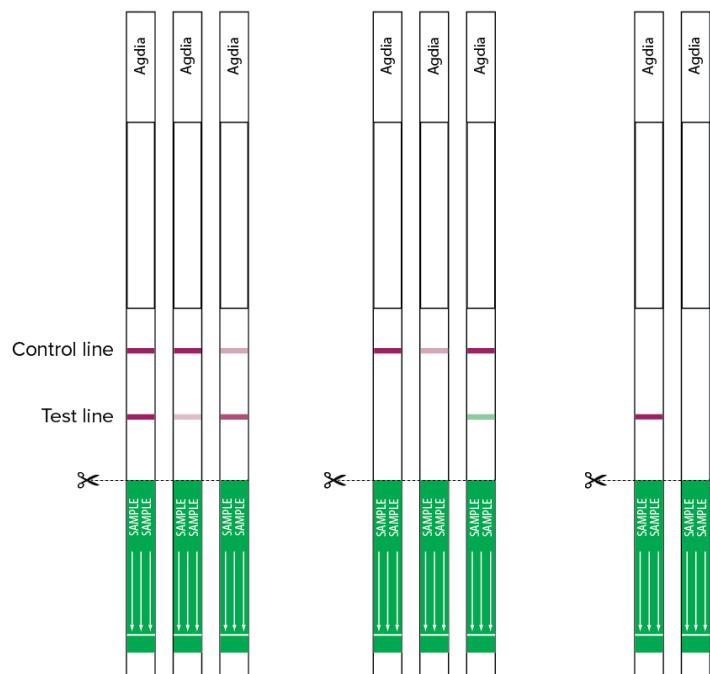
If only the control line is visible, this indicates a negative result.

If the control line is visible and the test line is also present at any intensity of pink**/purple, this indicates the presence of the target pathogen (or in some cases, a closely related pathogen). Visit the product webpage to see if any other pathogens are known to cross-react with this test.

The control line assures that the test is working properly. If the control line does not appear, the test is invalid, even if a test line is visible (see troubleshooting).

As with all diagnostic tools, Agdia recommends confirming all results with a secondary detection method before making any economic decisions (ex: discarding plants due to positive test results, etc.).

Positive Results Negative Results Invalid Results



SAFETY

Agdia recommends reading all relevant SDS sheets before using assay components: <http://docs.agdia.com/datasheets.aspx>.

TROUBLESHOOTING

Control line did not develop.	<ul style="list-style-type: none">Submerging the ImmunoStrip past the white line in the sample extract. (Step 5)ImmunoStrip inserted before the 3 minute sample extract settling period. (Step 4)
Test runs very slow or not at all.	<ul style="list-style-type: none">Extracting more tissue than is required. (Step 1) Further dilute sample extract 1:10 in SEB1 and repeat test.Components were not warmed to room temperature before use. (Kit Storage)Check kit and components expiration dates.
Test has a green or pigmented test line.	<ul style="list-style-type: none">Extracting more tissue than is required. (Step 1)Green lines should be considered a negative result. (Step 7)
Test and/or control line is weak.	<ul style="list-style-type: none">Components absorbed moisture. (Kit Storage) Moisture can cause the membrane to wick without test components and fail to produce lines.Low pathogen titer in the sample. (Step 7)Check kit and components expiration dates.

QUESTIONS OR TECHNICAL SUPPORT:

Phone: 800-622-4342 (toll-free) or 574-264-2014

Fax: 574-264-2153

E-mail: info@agdia.com for sales and general product information
techsupport@agdia.com for technical information and troubleshooting

Web: www.agdia.com

Scan for How To Video





Uso previsto:

Esta prueba ImmunoStrip es un medio rápido para la detección del virus de la tristeza (CTV) en cultivos cítricos. La prueba ImmunoStrip CTV está desarrollada para su uso en hojas, pecíolos y brotes jóvenes. Las pruebas ImmunoStrip no requieren ningún equipo ni experiencia para su ejecución. Los resultados pueden obtenerse en 30 minutos o menos, lo que hace que los ImmunoStrips sean perfectos para su uso en el campo o en el invernadero.

Almacenamiento del kit:

Los componentes del kit deben almacenarse refrigerados (2 - 8 °C) entre usos, y los ImmunoStrips deben mantenerse herméticamente cerrados en el envase de desecado en todo momento.

Antes de utilizar las pruebas, deje que todos los componentes del kit se calienten a temperatura ambiente (18 - 30 °C).

Limitaciones:

Esta prueba no se recomienda para analizar tejido leñoso. La extracción y el análisis de tejido descompuesto, seco o en grandes cantidades puede provocar resultados no válidos.

Contenido del kit:

- ImmunoStrips
- *Bolsas para extracción de muestras SEB1

No está incluido pero es necesario:

- Tijeras, cuchillo u hoja de afeitar
- Herramienta de extracción
 - » Homogeneizador de tejidos Agdia (ACC 00900), marcador o bolígrafo
- Porta tarjetas u otro dispositivo para mantener las bolsas de extracción de muestras en posición vertical

*No se incluye si se pide sólo STX

REALIZACIÓN DE LA PRUEBA (*Requiere atención especial)

Preparación de la muestra

1. Tome una muestra de hojas, pecíolos o brotes sintomáticos cuando sea posible. Las bolsas de extracto de muestras de Agdia **contienen 3 mL** de solución tampón para extracción, lo que requiere 0,15 g (aproximadamente 1 pulgada cuadrada o el tamaño de la base del contenedor con los ImmunoStrip) de tejido para una dilución óptima de 1:20. Tenga en cuenta que los tejidos gruesos o densos pueden alterar la dilución 1:20 deseada. (Figura 1)

Nota: Si se reutilizan herramientas de corte, desinféctelas con una solución de lejía al 10% entre la toma de cada muestra.



Figura 1

2. Abra la bolsa para extracción de muestras cerca de la parte inferior de la etiqueta. Tenga cuidado de no derramar la solución tampón. *Se necesita la solución tampón **SEB1** para realizar esta prueba. (Figura 2)



Figura 2

3. Introduzca la muestra entre la malla hacia el fondo de la bolsa de extracción para muestras.



Figura 3

4. Procese la muestra macerándola a fondo con un homogeneizador de tejidos Agdia o con un objeto romo como un bolígrafo o un rotulador/marcador/plumón. (Figura 3)

Una muestra adecuadamente extraída dará lugar a una solución homogénea de color verde o marrón claro. Deje que la solución resultante se asiente durante 3 minutos antes de insertar el ImmunoStrip.

Realizar el ensayo

5. Retire un ImmunoStrip del envase y vuelva a cerrarlo. Cuando manipule los ImmunoStrips, agarre siempre la parte superior del ImmunoStrip marcado con el nombre de Agdia. No retire la cubierta

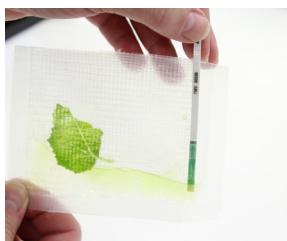


Figura 4

Introduzca el extremo final del ImmunoStrip en el canal de la bolsa (sin malla) sumergiéndolo en el extracto hasta la altura de la **línea blanca** (aproximadamente $\frac{1}{4}$ de pulgada del fondo). **No permita que los lados del ImmunoStrip entren en contacto con espuma o burbujas** (si éstas están presentes). (Figura 4)

6. Coloque la bolsa con la prueba en un porta tarjetas u otro dispositivo en posición **vertical**. Deje que el ImmunoStrip permanezca en el extracto de la muestra **durante 30 minutos**. Los resultados positivos pueden ser visibles en tan sólo 5 minutos. Muestras con títulos bajos del analito pueden tardar hasta 30 minutos.

Interpretación de los resultados

7. Retire el ImmunoStrip de la muestra e interprete los resultados. Utilice las imágenes proporcionadas como guía para determinar los resultados. Si se guardan los ImmunoStrips como registro permanente, corte inmediatamente la almohadilla de la muestra y luego presione el ImmunoStrip restante entre toallas de papel para eliminar el exceso de líquido.

Si sólo es visible la línea de control, esto indica un resultado negativo.

Si la línea de control es visible y la línea de prueba también está presente en cualquier intensidad de rosa**/púrpura, esto indica la presencia del patógeno objetivo (o en algunos casos, un patógeno estrechamente relacionado). Visite la página web del producto para ver si se sabe que otros patógenos presentan reacción cruzada con esta prueba.

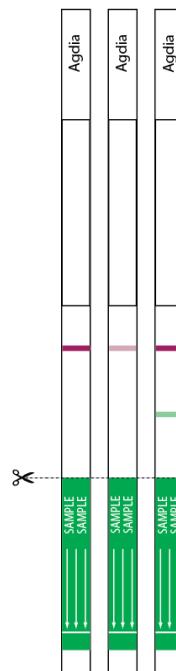
La línea de control garantiza que la prueba funciona correctamente. Si la línea de control no aparece, la prueba es inválida, aunque se vea una línea de prueba (véase la resolución de problemas).

Al igual que con todas las herramientas de diagnóstico, Agdia recomienda confirmar todos los resultados con un método de detección secundario antes de tomar cualquier decisión económica (por ejemplo, descartar plantas debido a resultados positivos de la prueba, etc.).

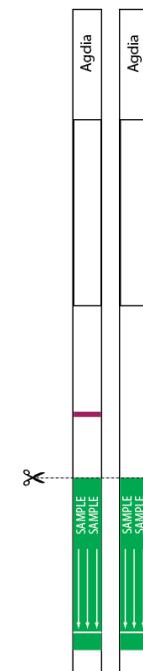
Resultados Positivos



Resultados Negativos



Resultados Inválidos



SEGURIDAD

Agdia recomienda leer todas las hojas SDS relevantes antes de utilizar los componentes de la prueba de ensayo:

<http://docs.agdia.com/datasheets.aspx>

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

La línea de control no apareció.	<ul style="list-style-type: none">Sumergir el ImmunoStrip más allá de la línea blanca en el extracto de la muestra. (Paso 5)ImmunoStrip fue insertado antes del período de sedimentación del extracto de la muestra de 3 minutos. (Paso 4)
La prueba se ejecutó muy lentamente o no se ejecutó en absoluto.	<ul style="list-style-type: none">Se extrajó más tejido del necesario. (Paso 1) Diluir de nuevo el extracto de la muestra 1:10 en SEB1 y repetir la prueba.Los componentes no se calentaron a temperatura ambiente antes de su uso. (Almacenamiento del kit)Compruebe las fechas de caducidad del kit y de los componentes.
La prueba tiene una línea de prueba verde o pigmentada.	<ul style="list-style-type: none">Se extrajó más tejido del necesario. (Paso 1)Las líneas verdes deben considerarse como resultado negativo. (Paso 7)
La línea de prueba y/o control es débil.	<ul style="list-style-type: none">Los componentes absorbieron humedad. (Almacenamiento del kit) La humedad puede hacer que la membrana se mueva sin componentes de prueba y no produzca líneas.Bajo título de patógenos en la muestra. (Paso 7)Compruebe las fechas de caducidad del kit y de los componentes.

PREGUNTAS O SOPORTE TÉCNICO:

Teléfono: 800-622-4342 (gratuito) o 574-264-2014

Fax: 574-264-2153

E-mail: info@agdia.com para información sobre ventas y productos en general
techsupport@agdia.com para información técnica y resolución de problemas

Web: www.agdia.com

Búsqueda de videos sobre cómo hacerlo

