NUTRISMART®

Instructions for use (EN)

INTENDED USE: NutriSMART® is an in vitro semi-quantitative enzyme immunoassay for the simultaneous measurement of food specific IgG_4 antibodies to 40 food extracts/extract mixtures in heparinized or Na-EDTA treated human capillary whole blood, venous whole blood, plasma or serum. It is intended for use as a tool to support the diagnosis of patients presenting with various clinical symptoms associated with food intolerances. It is to be carried out by healthcare professionals experienced in the use of in vitro diagnostic methods.

PRINCIPLE OF THE PROCEDURE: NutriSMART® is a modified ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) system. The device contains 4 rows with 5 test areas (windows) each. In each test area one standard and two specific food extracts or food mixtures are bound to the membrane. Specific IgG_4 antibodies from within the sample bind to the corresponding antigens. The bound human IgG_4 is detected by specific anti-human-IgG_4 antibodies. A secondary antibody coupled to alkaline phosphatase is added for signal amplification. After adding the color reagent bound IgG_4 is identified by an indigo colored precipitate. Food specific IgG_4 ($sIgG_4$) levels can be read out semi-quantitatively by the naked eye for all 40 food extracts/food mixtures. The $sIgG_4$ levels are classified into 3 levels. Read-out is performed by comparing the color saturation (intensity) of the signal lines with the one of the corresponding standard in each test field.

Precautions: 1. For human in vitro diagnostic use only. **2.** Please read the entire contents of these Instructions for Use before performing the test. **3.** Do not use reagents beyond their expiration dates. **4.** In case of damage to the packaging please inspect the protecting bag of the device carefully for damage and make sure that the protection of the fluid port is intact. Make sure the reagents are not damaged or open. In case of doubt do not use the test kit to avoid incorrect results or wrong diagnosis. **5.** It is not recommended to pool any reagents. **6.** The color reagent contains 5-bromo-4-chloro-3'-indolylphosphate and nitro-blue tetrazolium chloride. Avoid contact with skin. Wear suitable gloves. For more information see Material Safety Data Sheet (available on request). **7.** All components are single use only. **8.** Test results will not be valid if these precautions are not followed.

STORAGE: Store in a dark and cool place at 2-8°C/36-46°F. All reagents are ready-to-use, single dose and packaged in screw tubes.
EXPIRATION: The expiration date is printed on labels placed on the test packaging box. The expiration date of the kit is valid for all kit components, even if expiry of single components is different! After expiry all test components have to be discarded.

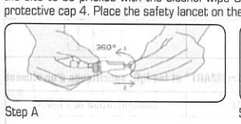
REAGENTS AND MATERIALS
1. DILUT - Sample dilutor, 350µl, 1x (red lid) **2. WASH - Washing solution**, 1ml each, 3x (blue lid) **3. Ab1G4 - Antibody solution 1G4**, 800µl, 1x (grey lid) **4. Ab2 - Antibody solution 2**, 800µl, 1x (yellow lid) **5. COLR - Color reagent**, 800µl each (contains 5-bromo-4-chloro-3'-indolylphosphate/nitro-blue tetrazolium chloride), 2x (white lid) **6. STOP - Stop buffer**, 1ml, 1x (green lid). **Note:** All reagents are ready for use; store at 2-8°C until expiration date.

Human material used in the NutriSMART® device components was tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
Materials provided: Instructions for Use, Evaluation Sheet, NutriSMART® assay device, Reagent rack containing 9 color coded vials, Blood sampling pouch containing: Disinfection swab, Lancet, sterile, Blood sampling 50 µl capillary with Lithium Heparin, Swab, Band-aid, Syringe
Additional materials required but not included in the kit: Disposable gloves, Timer
For venous whole blood and/or plasma samples: Normal venipuncture supplies, Heparinized blood collection tubes, Laboratory pipette
List of food extracts: Refer to result evaluation leaflet included in the box

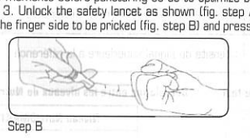
TEST SAMPLES: Capillary blood from a finger prick, from earlobes or heels (in case of infants) can be used in this test. The blood sampling capillary provided in the kit should be used to collect the correct volume (50 µl). Heparinized (sodium or lithium heparin) venous whole blood, plasma, or serum can also be used as specimen in this test. The volume to be added to the sample dilutor should be 50 µl for whole blood and 20 µl for plasma or serum. In case of plasma or serum, laboratory pipettes should be used to dispense the required volume.
Once added to the sample dilutor, all samples may be stored at 2-8°C for up to 72 hours. If you want to store the sample please make sure to label the test kit with the patient ID.
Note! Do not store the blood within the capillaries.

TEST PROCEDURE
Preparation: All reagents and the assay device must be adjusted to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes prior to use 1. Open the kit and take out the device, the syringe, the reagent rack and the blood sampling pouch. Place them on a flat surface 2. Open and assemble the reagent rack 3. Label the device with the patient ID in the grey label area.

Collection of capillary blood sample: Open the blood sampling pouch and take out its contents: alcohol wipe, safety lancet, blood sampling 50 µl capillary, gauze and band-aid. Place all items on a clean, flat surface. 1. Pinch fingertip or put it into warm water for a few moments before puncturing so as to optimize blood flow 2. Clean the site to be pricked with the alcohol wipe 3. Unlock the safety lancet as shown (fig. step A) and pull off the protective cap 4. Place the safety lancet on the finger side to be pricked (fig. step B) and press the button firmly.



Step A


Step B

Note! Make sure the hand is below the heart level. If the blood flow is initially slow, gently massage the finger and check if the hand is below (!) the level of heart.

Touch the drops of blood with the tip of the blood sampling capillary. Hold the blood sampling capillary horizontal or at a slight downward angle and let the blood flow until it is properly filled. Make sure not to cover the (air) hole in the plunger. The blood stop sets the sample volume (50 µl). Cover the wound with the band-aid. Immediately open the sample dilutor vial (red lid) and put the tip of the blood sampling capillary in a position just above the vial opening. Cover the hole at the end of the plunger with your finger. Gently press down the plunger to add the blood into the sample dilutor vial. Close the sample dilutor vial and mix gently by hand or vortex briefly.

Note! Do not store the blood without having added it to the sample dilutor. Once added to the sample dilutor, all samples may be stored at 2-8°C for up to 72 hours. If untreated blood is used (i.e. without adding whole blood to sample dilutor) then the tests results will not be valid.

Collection of venous blood sample, plasma sample, or serum sample: Heparinized (sodium or lithium heparin) venous whole blood, plasma, or serum can also be used as specimen in this test. 1. Use standard laboratory techniques for collection of venous (heparinized) blood samples. 2. Spin down using standard laboratory technique to separate plasma from blood cells if desired.
The volume to be added to the sample dilutor vial (red lid) should be 50 µl for whole blood and 20 µl for plasma or serum. Laboratory pipettes should be used to dispense the required volume. Mix gently by hand after adding the sample to the sample dilutor vial.

Adding the sample: 1. Gloves should be used while performing the test 2. Remove the sticker from the fluid port of the assay device. 3. Open the sample dilutor vial (red lid) containing the sample and completely withdraw its content with the syringe. Make sure no large air bubbles are formed inside. Place the syringe firmly on the fluid port of the assay device and inject the entire content of the syringe by pressing down the plunger. **Incubate for 8 minutes.**

Primary antibody incubation: 1. Open the first wash solution vial (blue lid), withdraw the solution completely and inject as described above 2. Open the primary antibody vial (grey lid), withdraw the solution completely and inject as described above. **Incubate for 8 minutes.**

Secondary antibody incubation: 1. Open the second wash solution vial (blue lid), withdraw the solution completely and inject as described above 2. Open the secondary antibody vial (yellow lid), withdraw the solution completely and inject as described above. **Incubate for 8 minutes.**

Color reaction: 1. Open the third wash solution vial (blue lid), withdraw the solution completely and inject as described above. 2. Open the two color reagent vials (brown tubes, white lid), withdraw the solution of the first vial completely and inject as described above. Start the timer 1. **Within 30 sec:** Withdraw the solution of the second vial completely and inject as described above. **Incubate for 5 minutes** (total incubation time of the two steps).

Stopping the reaction: 1. Open the stop buffer vial (green lid), withdraw the solution completely and inject as described above 2. Cover the fluid port with the sticker (optional).

TEST PROCEDURE FOR TWO OR MORE PARALLEL TESTS: Experienced users of NutriSMART® tests may perform more than one test in parallel. It is recommended to start the tests in intervals of at least 1 minute or multiples thereof to ensure proper handling during the development steps. It is not recommended to perform more than five tests in parallel.

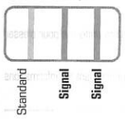
ASSAY RESULT READING: To evaluate the results, position the assay device with fluid port (sample inlet) pointing to the left. In this orientation the numbers of food extracts/food mixtures are positioned above and under the corresponding test areas. Results must be read in good light. Be cautious with shadows caused by the front label and avoid confusion with test signals. Start from the top left and then read out each test area until the right end of the row. Repeat row by row. This corresponds to the food list layout in the evaluation sheet. To estimate the level (1-3) of a signal its intensity must be compared with the intensity of the standard on the left side of the corresponding test area.Results are recorded in the corresponding evaluation sheet.

Note! 1. It is recommended to compare the test results with the assay result examples as shown in the illustrated Instructions for Use leaflet 2. Take care to use only the evaluation sheet that is part of the corresponding NutriSMART® kit 3. The reading of the test results should be done immediately after the test procedure to avoid confusion with other tests. Test results remain stable for at least 24 h if stored in the dark. The background color of the test areas might change with time. In case small air bubbles are present they may be removed by carefully inflating the device with some air using the syringe provided until the test areas are bubble free. If the standard band is not visible, test results are invalid.

Possible assay evaluation results

Level 1	Signal intensity less than the standard	
Level 2	Signal intensity approximately the same as the standard	
Level 3	Signal intensity greater than the standard	

Test area example



Correlation between NutriSMART® levels and food specific IgG_4

NutriSMART® level	$sIgG_4$ concentration*
1	low
2	moderate
3	high

*refer to the section "interpretation of results"

Analytical specificity: NutriSMART® detects specific IgG_4 antibodies. Cross-reactivity with other immunoglobulin species is not expected.
Diagnostic sensitivity/specificity: Test results of NutriSMART® have been compared to DST $sIgG_4$ ELISA laboratory test.
Restrictions and interferences: None known.

QUALITY CONTROL: It is good laboratory practice to record lot numbers of all components used.
INTERNAL CONTROLS: Each test area contains a standard (left band). This shows up in the development step as a band with a medium indigo color saturation. If the standard is missing, the test results are not valid for this test area and must either be ignored or the test must be repeated using a new test kit.
EXTERNAL CONTROLS: Specific control plasma for the NutriSMART® are available as external positive and negative $sIgG_4$ system controls. NutriSMART® positive control contains $sIgG_4$ antibodies to specified foods, whereas the negative control plasma does not contain measurable $sIgG_4$ antibodies to any food extract/food mixture present in the test. Controls are inserted like a normal sample and the test is carried out according to the instructions for use. A quality certificate accompanies each pack of control plasma. It is good laboratory practice to run controls in appropriate time intervals.

INTERPRETATION OF RESULTS: In $sIgG_4$ diagnostics it is not usual to consider particular values as strictly defined limits. The level of $sIgG_4$ concentration is individual specific and cannot be classified into generalized limits.
The standard in NutriSMART® corresponds to a medium $sIgG_4$ level (Level 2). Signal intensities equal or above the standard (Level 2 and 3) correspond to a moderate or high $sIgG_4$ level.*
In order to diagnose a patient, the test results must always be evaluated together with the medical history and symptoms (anamnesis).

WASTE DISPOSAL: Precautions for the handling of human blood and safe waste disposal of used parts (containing blood) must be observed. Please refer to all local/national guidelines for bio hazard handling. The rest of the kit may not be considered biohazard and can be disposed accordingly.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE: 1. A definitive clinical diagnosis of food intolerance should not be based only on the results of a single diagnostic method. In vitro evidence of $sIgG_4$ should always be accompanied by full medical history and analysis of symptoms 2. Each patient reacts individually, thus identical results in the test do not automatically imply the same diagnosis. Different foods with similar molecular structures or epitopes may trigger weak or severe cross-reactions. Cross-reactions must always be considered 3. Negative in vitro results may occasionally occur in patients with food intolerance symptoms that clearly correlate with food contact. 4. Level 2 or 3 results indicate the presence of $sIgG_4$ antibodies in the patient;s sample for one or more of the fourty food extracts/food mixtures. High $sIgG_4$ levels against foods other than those in NutriSMART® cannot be excluded 5. Patients with clinical symptoms suggestive of food intolerance but a level 1 result should be referred to a specialist for further investigation 6. The binding capacity for $sIgG_4$ antibodies may vary from food to food. Therefore, identical results for different foods may not necessarily apply exactly equal $sIgG_4$ antibody levels 7. Reliable and reproducible results will be obtained when the assay is performed according to the procedural instructions and with adherence to good laboratory practices.

EXPECTED VALUES: In general the higher the level of the test result, the higher is the concentration of food specific IgG_4. As is true with all food specific IgG_4 testing there is a potential for cross-reactivity between related and unrelated foods, which may contain similar or homologous molecules (antigens). The closer the biological relationship between different species, the greater is the degree of structural and immunological similarity of the epitopes present in the food. Accordingly, a patient who is clinically reactive to one species will likely be reactive to the other, closely related species due to immunological cross-reactivity of structurally related epitopes. On the other hand, cross-reactivity may occur also between biologically distantly related species. Some protein families are widely distributed and seem to contain highly conserved structures that can serve as similar epitopes.

WARRANTY: The performance data presented here was obtained using the procedure indicated. Any change or modification to the procedure not recommended here may affect the results, in which case DST Diagnostische Systeme & Technologien GmbH disclaims all warranties expressed, implied or statutory, including the implied warranty of merchantability and fitness for use. DST Diagnostische Systeme & Technologien GmbH and its authorized distributors, in such event, shall not be liable for damages indirect or consequential.

REFERENCES: Hardman G and Hart G, "Dietary advice based on food-specific IgG results" Nutrition & Food Science 2007; 37(1): 16-23.
Müller U and Bayer W, „Zur Relevanz der Bestimmung von spezifischem IgE und spezifischem IgG/IgG_4 in der Aufdeckung von Nahrungsmittelunverträglichkeiten" Erfahrungsheilkunde 2007; 56: 400-406.
David TJ, "Adverse reactions and intolerance to foods" Br Med Bull 2000; 56: 34-50.

PATENTS/TRADEMARKS: NutriSMART® may be covered by the following patents:
10 2009 33 008.9 and 10 2009 037 791.3

ADDRESS: Manufactured by DST Diagnostische Systeme & Technologien GmbH, Güterbahnhofstrasse 16, D-19059 Schwerin, Germany, Tel: +49 385 30348 0, Fax: +49 385 30348 499, Web: www.dst-diagnostic.com
Additional company and product information can be requested at any time.

* In contrast to the situation for type 1 allergies (immediate type) there is currently no uniform evaluation system for classifying food intolerances by means of $sIgG_4$ or sIgG concentration.

HISTORY: No changes to the intended application of the in-vitro diagnostics and no changes to information required for the correct and safe application.

IVD — In vitro diagnostic medical device
Consult instructions for use
2°C–8°C — Temperature limitation
Use by
Do not reuse
Caution
Σ 1 — Contains sufficient for <1> tests
Manufacturer
CE — Conformité Européenne
LOT — Batch code

NUTRISMART®

Gebrauchsanweisung (DE)

VERWENDUNGSZWECK: NutriSMART® ist ein semiquantitativer In-vitro-Immunoassay zur parallelen Messung von nahrungsmittelspezifischen IgG_4-Antikörpern für 40 Nahrungsmittel/ Nahrungsmittelmixe in heparinisiertem- oder Na-EDTA-Blut, venösem oder Kapillarblut, Plasma oder Serum. Der Test dient als Hilfsmittel zur Unterstützung der Diagnostik bei Patienten mit Verdacht auf Nachrungsmittelunverträglichkeit. Er ist durch medizinisches Fachpersonal durchzuführen, das im Umgang mit in-vitro-diagnostischen Methoden vertraut ist.

TESTPRINZIP: NutriSMART® ist ein modifiziertes ELISA-Testsystem (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Die Testkassette enthält 4 Reihen mit je 5 Testfenstern, in denen jeweils eine Kontrolle und zwei spezifische Nahrungsmittelextrakte oder Extraktmixe auf der Membran aufgetragen sind. Spezifische IgG_4-Antikörper ($sIgG_4$) aus der Probe binden an die entsprechenden Antigene des Nahrungsmittelextraktes. Das gebundene humane IgG_4 wird durch spezifische anti-human-IgG_4-Antikörper nachgewiesen. Ein sekundärer Antikörper, der an das Enzym alkalische Phosphatase gekoppelt ist, wird zur Signalamplifikation hinzugegeben. Nach Zugabe eines Farbreagenz wird der gebundene IgG_4-Antikörper durch ein indigo-farbenes Präzipitat identifiziert. Die $sIgG_4$-Stufe wird semiquantitativ durch das bloße Auge für alle 40 Nahrungsmittelextrakte/Extraktmixe abgelesen und in die 3 $sIgG_4$-Stufen klassifiziert. Das Auslesen erfolgt durch Vergleichen der Farbsättigung (Intensität) des Signals mit der entsprechenden Kontrolle in jedem Testfenster.

Vorsichtsmaßnahmen: 1. Nur zur Verwendung im Bereich der humanen In-vitro Diagnostik **2.** Bitte lesen Sie die gesamte Gebrauchsanweisung vor der Durchführung des Tests. **3.** Verwenden Sie keine Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums. **4.** Bei Beschädigung der Verpackung prüfen Sie bitte sorgfältig, ob die Schutzhülle der Testkassette beschädigt oder der Fluid-Port offen ist. Überprüfen Sie auch, ob die Reagenzien-Röhrchen beschädigt oder offen sind. Im Zweifelsfall verwenden Sie den Test nicht, um fehlerhafte Ergebnisse oder eine falsche Diagnose auszuschließen. **5.** Mischen Sie keine Reagenzien. **6.** Das Farbreagenz enthält 5-Bromo-4-Chloro-3'-Indolylphosphat und Nitroblau Tetrazoliumchlorid. Vermeiden Sie den Kontakt mit der Haut. Tragen Sie geeignete Schutzhandschuhe. Für weitere Informationen siehe Materialsicherheitsblatt (erhältlich auf Anfrage). **7.** Alle Komponenten sind für den Einmalgebrauch. **8.** Die Testergebnissse sind nicht gültig, wenn die Vorsichtsmaßnahmen nicht eingehalten werden.

LAGERUNG: Die Lagerung sollte dunkel und kühl bei 2-8°C erfolgen. Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig in Einzeldosen und Schraubdeckelröhrchen verpackt.
VERFALLSDATUM: Das Verfallsdatum ist auf den Etiketten der Verpackung angegeben. Das Verfallsdatum des Kits ist für alle Kit-Komponenten gültig, auch wenn das Verfallsdatum der einzelnen Komponenten anders ist! Nach dem Verfallsdatum müssen alle Testkomponenten verworfen werden.

REAGENZIEN UND MATERIAL
1. DILUT - Probenverdünner, 350µl, 1x (roter Deckel) **2. WASH - Waschlösung**, je 1ml, 3x (blauer Deckel) **3. Ab1G4 – Antikörperlösung 1G4**, 800µl, 1x (grauer Deckel) **4. Ab2 – Antikörperlösung 2**, 800µl, 1x (gelber Deckel) **5. COLR - Farbreagenz**, je 800µl (beinhaltet 5-Bromo-4-Chloro-3'-Indolylphosphat/Nitroblau Tetrazoliumchlorid), 2x (weißer Deckel) **6. STOP – Stop-Puffer**, 1ml, 1x (grüner Deckel). **Hinweis:** Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig; Lagerung bei 2-8°C bis zum Verfallsdatum.

Bestandteile der NutriSMART® Testkassette aus menschlichem Material wurden getestet und als negativ auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C befunden. Aus Sicherheitsgründen sollten jedoch alle Kit-Komponenten als potenziell infektiös behandelt werden.
Vorhandene Materialien: Gebrauchsanweisung, Auswertebogen, NutriSMART® Testkassette, Reagenzständer mit 9 farbkodierten Röhrchen, Blutentnahme-Beutel mit folgenden Bestandteilen: Alkoholtupfer, Sicherheitslanzette (steril), Blutentnahmekapillare 50 µl mit Lithium Heparin, Tupfer, Pflaster, Spritze.
Zusätzlich benötigtes Material, nicht im Kit enthalten: Einweghandschuhe, Stoppuhr
Für venöses Blut und/oder Plasmaproben: Zubehör für die venöse Blutabnahme, heparinisiertes Blutentnahmeröhrchen, Laborpipette.
Liste der Lebensmittelextrakte: Siehe Auswertebogen in der Verpackung

PROBENBEHANDLUNG: Kapillarblut, das durch einen Stich in den Finger, ins Ohrläppchen oder in die Ferse (geeignet für Kinder) entnommen wurde, kann für den Test verwendet werden. Die im Kit enthaltene Blutentnahmekapillare sollte verwendet werden, um das korrekte Volumen (50 µl) einzuhalten. Heparinisiertes (Natrium- oder Lithium-Heparin) venöses Blut, Plasma oder Serum können ebenfalls als Probe für diesen Test verwendet werden. Das Volumen der Probe, das zum Probenverdünner hinzugefügt wird, sollte für Blut 50 µl und für Plasma oder Serum 20 µl betragen. Um das erforderliche Volumen für Plasma oder Serum einzusetzen, sollten Laborpipetten verwendet werden. Sobald die Probe zum Probenverdünner hinzugegeben wurde, können alle Proben bei 2-8°C für bis zu 72 Stunden gelagert werden. Wenn Sie die Proben lagern, stellen Sie bitte sicher, dass das Test-Kit mit der Patienten-Nummer beschriftet ist. **Hinweis!** Lagern Sie das Blut nicht in der Blutentnahmekapillare.

TESTANLEITUNG
Vorbereitung: Alle Reagenzien und die Testkassette müssen mind. 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18°C-30°C) gebracht werden. 1. Öffnen Sie das Test-Kit und entnehmen Sie: die Testkassette, die Spritze, den Reagenzständer und das Blutentnahme-Zubehör. Legen Sie diese auf eine ebene Oberfläche und 2. stellen Sie den Reagenzständer auf. 3. Beschriften Sie die Testkassette mit der Patienten-Nummer oder -Namen im grauen Beschriftungsfeld.

Blutentnahme: Entnehmen Sie den Inhalt des Blutentnahme-Beutels: Alkoholtupfer, Sicherheitslanzette, Blutentnahmekapillare 50 µl, Tupfer und Pflaster.
Legen Sie alle Bestandteile auf eine saubere, ebene Oberfläche. 1. Vor der Blutentnahme massieren Sie die Fingerspitze oder legen Sie sie einige Momente in warmes Wasser, um den Blutfluss zu optimieren. 2. Reinigen Sie die Stelle, die gestochen wird, mit dem Alkoholtupfer. 3. Nehmen Sie die Sicherheitslanzette und drehen Sie wie dargestellt (Abb. Schritt A) und ziehen Sie dann die Schutzkappe ab. 4. Pressen Sie die Sicherheitslanzette auf die Stelle des Fingers, die gestochen werden soll (Abb. Schritt B) und drücken Sie fest auf den Knopf, bis er sich löst.

Schritt A

Schritt B

Hinweis! Achten Sie darauf, dass die Hand unterhalb der Herzhöhe ist. Wenn der Blutfluss zunächst langsam ist, massieren Sie sanft den Finger und stellen Sie sicher, dass die Hand unterhalb (!) der Herzhöhe ist.

1. Nehmen Sie die Bluttropfen mit der Spitze der Blutentnahmekapillare auf. Halten Sie die Blutentnahmekapillare in einem leichten Winkel nach unten. Lassen Sie das Blut fließen, bis es bis zur Füllmarkierung gefüllt ist. Achten Sie darauf, dass dabei das Belüftungsloch des Saugrohres nicht bedeckt wird. Die Füllmarkierung markiert das Probenvolumen von 50 µl. 2. Bedecken Sie die Wunde mit einem Pflaster. 3. Öffnen Sie sofort anschließend das Probenverdünner-Röhrchen (roter Deckel) und bringen Sie die Spitze der Blutentnahme-Kapillare knapp unter der Öffnung des Röhrchens in Position. Bedecken Sie das Loch am Ende des Saugröhrchens mit Ihrem Finger. Drücken Sie vorsichtig das Saugröhrchen, um das Blut in das Probenverdünner-Röhrchen zu drücken. Schließen Sie das Probenverdünner-Röhrchen und mischen Sie vorsichtig oder vortexen kurz.

Hinweis! Lagern Sie das Blut nicht, ohne dieses zum Probenverdünner hinzugefügt zu haben. Sobald die Probe zum Probenverdünner hinzugefügt wurde, können alle Proben bei 2-8°C bis zu 72 Stunden gelagert werden. Wenn unbehandeltes Blut verwendet wird (z. B. ohne die Zugabe des Probenverdünners), dann sind die Testergebnisse ungültig. Entnahme von venösem Blut, Plasma oder Serum: Venöses heparinisiertes (Natrium- oder Lithium-Heparin) Blut, Plasma oder Serum können ebenfalls als Probe für diesen Test verwendet werden. 1. Verwenden Sie Standard-Laborverfahren für die Entnahme von venösem heparinisierten Blut. 2. Falls gewünscht, zentrifugieren Sie mittels Standard-Laborverfahren Blut, um Plasma von Blutzellen zu trennen.

Das Volumen, das zum Probenverdünner hinzugegeben wird (roter Deckel) sollte 50 µl für Blut und 20 µl für Plasma oder Serum betragen. Um das notwendige Volumen hinzuzufügen, sollten Laborpipetten verwendet werden. Schließen Sie das Probenverdünner-Röhrchen und mischen Sie vorsichtig oder vortexen kurz.

Zugabe der Probe: 1. Benutzen Sie Handschuhe während der Durchführung des Tests. 2. Entfernen Sie den Aufkleber vom Fluid-Port der Testkassette. 3. Öffnen Sie das Probenverdünner-Röhrchen mit hinzugefügter Probe (roter Deckel) und ziehen Sie dessen Inhalt vollständig mit der Spritze auf. Achten Sie darauf, dass sich keine großen Luftblasen bilden. Stecken Sie die Spritze fest in den Fluid-Port der Testkassette und injizieren Sie den gesamten Inhalt der Spritze, indem Sie den Spritzenkolben herunterdrücken. **Inkubation: 8 Minuten**

Primäre Anitkörperinkubation: 1. Öffnen Sie das erste Röhrchen mit Waschlösung (blauer Deckel), entnehmen Sie die Lösung vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. 2. Öffnen Sie das Röhrchen mit der Antikörperlösung 1G4 (grauer Deckel), entnehmen Sie die Lösung vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. **Inkubation: 8 Minuten.**

Sekundäre Antikörperinkubation: 1. Öffnen Sie das zweite Röhrchen mit Waschlösung (blauer Deckel), entnehmen Sie die Lösung vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. 2. Öffnen Sie das Röhrchen mit der Antikörperlösung 2 (gelber Deckel), entnehmen Sie die Lösung vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. **Inkubation: 8 Minuten.**

Zugabe des Farbreagenz: 1. Öffnen Sie das dritte Röhrchen mit Waschlösung (blauer Deckel), entnehmen Sie die Lösung vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. 2. Öffnen Sie beide Farbreagenz-Röhrchen (braune Röhrchen, weiße Deckel), entnehmen und injizieren Sie den gesamten Inhalt des ersten Röhrchens wie oben beschrieben. Starten Sie die Stopp-Uhr: 3. Innerhalb von 30 Sekunden: entnehmen und injizieren Sie den gesamten Inhalt des zweiten Farbreagenz-Röhrchens (braunes Röhrchen, weißer Deckel) wie oben beschrieben. **Inkubation: 5 Minuten** (Gesamt-Inkubationszeit von beiden Schritten).

Abstoppen der Reaktion: 1. Öffnen Sie das Stopp-Puffer-Röhrchen (grüner Deckel), entnehmen Sie die Flüssigkeit vollständig und injizieren Sie sie wie oben beschrieben. 2. Verschließen Sie den Fluid-Port mit dem Aufkleber (optional).

TESTDURCHFÜHRUNG MIT ZWEI ODER MEHR PARALLEL DURCHGEFÜHRTEN TESTS: Erfahrende Anwender von NutriSMART® Tests können mehr als einen Test parallel durchführen. Es wird empfohlen, die Tests in Abständen von mindestens 1 Minute oder einem Vielfachen zu starten, um die korrekte Handhabung während der Entwicklungsschritte zu gewährleisten. Es wird nicht empfohlen, mehr als fünf Tests parallel durchzuführen.

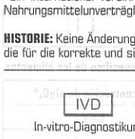
LESEN DER TESTERGEBNISSE: Um die Ergebnisse zu bewerten, legen Sie die Testkassette so, dass der Fluid-Port nach links zeigt. In dieser Ausrichtung sind den Nahrungsmitteln zugeordnete Nummern von 1 bis 40 über und unter den entsprechenden Test-Fenstern positioniert. Die Testergebnisse müssen bei guten Lichtverhältnissen ausgelesen werden. Vermeiden Sie Schattenwurf beim Auslesen der Test-Fenster. Lesen Sie die Test-Fenster beginnend von oben links bis zum rechten Ende der Zeile. Wiederholen Sie dies Zeile für Zeile. Diese Reihenfolge entspricht der auf dem Auswertebogen. Um die Stufe (1-3) eines Nahrungsmittels einzuordnen, wird die Intensität der Signalbande (Mitte und rechts) mit der Intensität des Kontrollsignal-Standards (links) in jedem Test-Fenster verglichen. Alle 40 Ergebnisse werden auf dem beiliegenden Auswertebogen notiert.

Hinweise! 1. Es wird empfohlen, die Testergebnisse mit den Beispiel-Ergebnissen in der bebilderten Anleitung zu vergleichen. 2. Achten Sie darauf, nur Auswertebögen zu verwenden, die dem dazugehörigen NutriSMART® Kit entnommen wurden. 3. Das Auslesen der Ergebnisse sollte direkt nach der Testdurchführung vorgenommen werden, so können Verwechslungen mit anderen Testergebnissen vermieden werden. Sofern die Testkassette im Dunkeln gelagert wird, bleiben die Testergebnisse für mindestens 24 Stunden stabil. Die Hintergrundfarbe der Ergebnisse in den Testfenstern kann sich mit der Zeit verändern. Falls sich kleine Luftblaschen in der Testkassette entwickelt haben sollten, so können Sie diese entfernen, indem Sie vorsichtig mit Hilfe der Spritze etwas Luft injizieren. Wenn die Kontrollbande nicht sichtbar ist, so sind die Testergebnisse ungültig.

Mögliche Auswertungsergebnisse

Stufe 1	Signal-Intensität ist schwächer als der Standard	
Stufe 2	Signal-Intensität ist ungefähr gleich stark wie der Standard	
Stufe 3	Signal-Intensität ist höher als der Standard	

Testfenster Beispie



Korrelation zwischen NutriSMART® Stufe und nahrungsmittelspezifischer IgG_4-Konzentration*

NutriSMART® -Stufe	$sIgG_4$ Konzentration*
1	niedrig
2	mäßg
3	hoch

* Siehe Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse"

Analytische Spezifität: NutriSMART® weist spezfische IgG_4 Antikörper nach. Kreuzreaktivität mit anderen Immunglobulin-Spezies wird nicht erwartet.
Diagnostische Sensitivität/Spezifität: Die Testergebnisse des NutriSMART® sind im Vergleich zu DST $sIgG_4$ ELISA Labor-systemen bewertet worden.
Einschränkungen und Interferenzen: Bisher nicht bekannt.

QUALITÄTSKONTROLLE: Es ist gute Laborpraxis, die Lot-Nummern aller verwendeten Komponenten zu dokumentieren.
INTERNE KONTROLLEN: Jedes Test-Fenster enthält eine prozedurale Kontrolle (Standard links). Diese zeigt sich im Farbreagenz-Schritt als Bande einer bestimmten Indigo-Farbsättigung. Wenn dieser Standard fehlt, ist das Testergebnis für dieses Test-Fenster ungültig und muss entweder ignoriert oder der Test mit einem neuen Test-Kit wiederholt werden.
EXTERNE KONTROLLEN: Spezifische Kontroll-Plasmaproben für den NutriSMART® Test stehen als spezifische positive und negative IgG_4 Systemkontrollen zur Verfügung. Die positive NutriSMART® Systemkontrolle enthält spezifische IgG_4-Antikörper auf angegebene Nahrungsmittel. Die negative Systemkontrolle enthält keine messbaren $sIgG_4$ Antikörper für Nahrungsmittelextrakte, die im Test vorhanden sind. Kontrollen werden wie eine normale Probe eingesetzt und die Prüfung erfolgt lt. Gebrauchsanweisung; jeder Sendung ist ein Qualitätszertifikat beigefügt. Es entspricht guter Laborpraxis, in festgelegten Abständen externe Kontrollen mitzutesten.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE: In der $sIgG_4$-Diagnostik ist es nicht üblich, Messergebnisse im Rahmen streng definierter Grenzen zu interpretieren. Die Stufe der $sIgG_4$-Konzentration ist sehr individuell und kann nicht an genauen Grenzwerten festgemacht werden. Der Standard im NutriSMART® Test entspricht einer mäßigen $sIgG_4$ Konzentration (Stufe 2). Signalstärken gleich oder über diesem Standard (Stufen 2 und 3) entsprechen einer mittleren oder hohen $sIgG_4$ Konzentration.* Um eine Diagnose zu stellen, müssen die Testergebnisse immer im Zusammenhang mit der Anamnese und den Symptomen betrachtet werden.

ENTSORGUNG: Vorsichtsmaßnahmen für den Umgang mit menschlichem Blut und der sicheren Entsorgung von gebrauchten Teilen (mit Blut) müssen eingehalten werden. Bitte lesen Sie alle lokalen/internationalen Richtlinien für die Handhabung von biogefährlichem Abfall. Die restlichen Bestandteile können ggf. als nicht biologisch angesehen und entsprechend entsorgt werden.

GRENZEN DES VERFAHRENS: 1. Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht nur auf den Ergebnissen eines einzelnen diagnostischen Verfahrens beruhen. Der in-vitro-Nachweis von spezifischem IgG_4 sollte immer durch eine sorgfältige Anamnese und Analyse von verschiedenen Symptomen begleitet werden. 2. Jeder Patient reagiert individuell, so dass identische Ergebnisse im Test nicht automatisch zu gleichen Diagnosen führen müssen. Verschiedene Nahrungsmittel mit ähnlichen Molekülstrukturen oder Epitopen können schwache oder starke Kreuzreaktionen auslösen, die immer berücksichtigt werden müssen. 3. Gelegentlich können negative in-vitro-Ergebnisse auch bei sehr sensiblen Patienten oder Patienten mit Symptomen auftreten, die eindeutig mit Kontakten zu bestimmten Nahrungsmitteln korrelieren. 4. Die Stufen 2 oder 3 indizieren das Vorliegen von $sIgG_4$-Antikörpern gegen eines oder mehrerer der 40 Nahrungsmittelextrakte/ Extraktmixe. Eine Sensibilisierung auf andere Nahrungsmittel als die, die im NutriSMART® -Test enthalten sind, können nicht ausgeschlossen werden. 5. Patienten mit klinischen Symptomen und Stufe 1 Ergebnissen auf die entsprechenden Nahrungsmittel, die auf eine Nahrungsmittelunverträglichkeit hindeuten, sollten für eine weitere Untersuchung zu einem Spezialisten überwiesen werden. 6. Bindekapazitäten $sIgG_4$-Antikörper können von Nahrungsmittel zu Nahrungsmittel variieren. Deshalb müssen identische Stufen für verschiedene Nahrungsmittel nicht unbedingt dem selben $sIgG_4$-Gehalt entsprechen. 7. Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn der Test entsprechend den prozeduralen Anweisungen und unter Einhaltung guter Laborpraxis durchgeführt wird.

ERWARTETE WERTE: Generell ist die ermittelte Stufe umso höher, je höher die nahrungsmittelspezifische IgG_4-Konzentration gegen jedes der 40