

 SØRLANDET SYKEHUS		Medisinsk serviceklinikk			Generelt dokument
Kalprotektin, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.					Side 1 av 4
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.1-3	Godkjent dato: 01.08.2024	Gyldig til: 01.08.2026	Dato endret: 01.08.2024	Revisjon: 4.04	

Medisinsk serviceklinikk/Avd. for immunologi og transfusjonsmedisin SSK/Pasienter og brukere/Immunologi/Phadia

DISTRIBUSJONSLISTE: EK, I. 9 Tarifold ved Phadia-250 instrumentene.

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: Forlenget gyldighet til 01.08.2026 uten endringer i dokumentet.

HENSIKT/BAKGRUNN
EliA Calprotectin 2 er en in vitro kvantitativ måling av kalprotektin i human avføring, til hjelp ved utredning av den kliniske diagnosen kronisk inflammatorisk tarmsykdom (inflammatory bowel disease, IBD), Crohns sykdom og ulcerøs kolitt. Kalprotektin er et kalsium- og sinkbindende protein som finnes i cytoplasma i celler involvert i forsvar mot patogener; nøytrofile granulocytter, monocytter og makrofager. I nøytrofile granulocytter er hele 60 % av cytosolproteiner kalprotektin. Ved betennelsesreaksjoner i tarmen migrerer nøytrofile granulocytter gjennom tarmveggen og inn i tarmlumen, noe som fører til forhøyet kalprotektinnivå i avføringen. Nivået av fekalt kalprotektin korrelerer direkte med antall nøytrofile granulocytter i tarmen, og er derfor forhøyet ved IBD, men også, i mindre grad, ved andre tilstander som gir inflammasjon i tarmen, slik som infeksjoner, polypper og cancer.

OMFANG
Analysering: Bioingeniører ved Enhet for immunologi.

AKKREDITERT ANALYSE	TATT I BRUK
Ja	Dato: Kalprotektin 1 ble tatt i bruk fra 8.12.2014 Overgang til Kalprotektin 2, 06.04.17

ANALYSEPRINSIPP
EliA calprotectin 2 brønnene er coatet med monoklonalt antistoff mot kalprotektin. Dersom kalprotektin er tilstede i pasientprøven, vil kalprotektin bindes til det coatede antistoffet. Etter vasking av ubundne komponenter, tilsettes enzymerkede antistoffer mot humant kalprotektin (EliA Calprotectin 2 konjugat) for å danne et kalprotektin-konjugat-kompleks. Etter inkubering vaskes ubundet konjugat vekk, og det bundne kompleks inkuberes med development-løsning. Når reaksjonen er stanset, måles reaksjonsblandingens fluorescens. Jo høyere responsverdi, jo mer kalprotektin er til stede i prøven. For å evaluere testresultatene, sammenlignes pasientprøvenes respons med kalibratorers respons.

LIS (lab-data system)
Unilab: Arbeidsliste for Kalprotektin: 427 Restliste: FKALP2 Unilabkode: fkalp2 Alt arbeid som utføres i Unilab har fremgangsmåte beskrevet i: LIS prosedyre: Unilab 700. Enhet for immunologi. ImTra SSK. PRIME: Analysekode: cn2

METODENS YTELSE	
Måleområde	3,8 - 6 000 mg/kg.
Interferens/ kryssreaksjoner og andre feilkilder	Blod i avføringen (> 100 mL blødning) kan gi falskt positivt resultat. Dette kan bl.a. forekomme etter inntak av ikke-steroidale antiinflammatoriske legemidler og ved kreft i tarmen.

Dokumentet skal verifiseres av medisinsk ansvarlig overlege.

DokumentID: D36126

Utarbeidet av: Kristine T. Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget og Janina Avreid	Godkjent av: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Verifisert av: 02.08.2022 - Kvalitetskoordinator Kari - Ann Nedal
--	--	--	---

 SØRLANDET SYKEHUS		Kalprotektin, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.			Side: 2 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.1-3	Utarbeidet av: Kristine T. Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget og Janina Avreid	Godkjent dato: 01.08.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 4.04

Medisinsk serviceklinikk/Avd. for immunologi og transfusjonsmedisin SSK/Pasienter og brukere/Immunologi/Phadia

	Tyntflytende eller svært hardt prøvemateriale kan gi feil resultat. Prøvematerialets konsistens kan påvirke resultatet.
Usikkerhetsvurdering	EliA brønner må ikke tørke ut. Sørg for at pakninger som blir åpnet og ikke brukt opp, blir forsvarlig lukket. Holdbarheten fra brønnene er lastet på instrumentet er 28 dager. Pålastede brønner og reagenser som er gått ut på dato, skal <u>ikke</u> brukes. Brukte konjugatflasker skal <u>ikke</u> brukes på ny.

PRØVEMATERIALE	
Prøvemateriale	Supernatant av fæcesprøve. Forfortynningen utføres av MedMik som har egen prosedyre for dette.
Prøvemengde	10 µL supernatant til automatisk fortynning og 100 µL dødvolum.
Prøvebehandling	Før analysing: Fæcesprøven kan oppbevares i inntil 7 dager før ekstrahering. (Se ekstern ref. 3 og 4). Holdbarhet på supernatant er opp til 7 dager i kjøleskap ved 4°C. Langtidsoppbevaring: For lengre lagring, må supernatant oppbevares i fryseskap i -20°C som står på immunologen. Supernatanten er da holdbar i 3 mnd.

REAGENSER	
	Beskrives i prosedyren: EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.

UTSTYR OG KALIBRERING	
	Analysen utføres på Phadia 250-1. Men kan utføres på Phadia 250-2 (back up). Det er ingen internasjonale standarder for kalprotektin. Resultatene oppgis i mg/kg. Ny kalibreringskurve for kalprotektin må bestilles ved oppstart etter månedlig/kvartalsvis vedlikehold.
Rutine ved lotskifte	Ved lot-skifte av konjugat vil ny kalibreringskurve bli bestilt automatisk.
Rutiner ved bruk av back up instrument	Beskrives i prosedyren: EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.

KVALITETSKONTROLL	
Kontrollmateriale	Beskrives i prosedyren EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.
Rutine ved lotskifte	Beskrives i prosedyren EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.

UTFØRELSE			
Utførelse står beskrevet i prosedyren: EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK. Avvik fra prosedyren er listet nedenfor:			
Forberedelse	Kalprotektin har eget konjugatreagens, kalibrator og kurvekontroller.		
Oppstart	Under informasjon om aktive metoder må EliA Calprotectin: EIC2 velges.		
Analysing av kontroller	Tabellen nedenfor viser hvordan rutinekjøring av kontroller skal utføres. Det er definert egne rack til kontrollkjøring.		
	<i>Oppsett for analysing av kvalitetskontroller:</i>		
	Kontrollmateriale:	Utføres:	Oppbevaring:
	Phadia I:		
	<i>(Back up Phadia II: Kontroller kjøres som i oppsettet nedenfor, og vurderes med grenser for Phadia I.)</i>		
	Kalp. int. (ev. flere dersom dette er tilgjengelig)	Ved start og slutt av dagens analyseoppsett.	Oppbevares i frys. Tines ny kontroll for hver analysedag.
	Firmakontroller (fra Thermo Fisher): positiv og negativ kontroll for Kalprotektin	Ved første analysing hver uke.	Oppbevares i kjølerommet.
Analysing av prøver	Prøvematerialet kommer inn til Enhet for Immunologi direkte etter sentrifugering. Supernatanten må deretter pipetteres over i nytt, merket rør. Vær obs på at det kun er		

 SØRLANDET SYKEHUS	Kalprotektin, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.				Side: 3 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.1-3	Utarbeidet av: Kristine T. Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget og Janina Avreid	Godkjent dato: 01.08.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 4.04

Medisinsk serviceklinikk/Avd. for immunologi og transfusjonsmedisin SSK/Pasienter og brukere/Immunologi/Phadia

	supernatanten vi overfører, og ikke det nedspunnede materialet i bunn. Etter overføring til nytt glass er supernatanten klar for analysering. Det er viktig at etiketten som benyttes er merket med riktig analysekode. Dersom prøvene ikke skal analyseres samme dag som preparering, settes disse i kjøleskap på immunologen. Om supernatanten har vært fryst, må den blandes før analysering.
--	--

VURDERING AV ANALYSERESULTATER
Vurdering av analysesvar står beskrevet i prosedyren: EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.

SVARRAPPORTERING	
Referanseområde og standardkommentarer	
<u>Barn ≥ 4 år (1460 dager) og voksne:</u> Vi angir aktuell tallverdi og referanseområde.	
<u>Barn < 4 år (1460 dager):</u> Vi angir aktuell tallverdi, men intet referanseområde.	
Følgende standardkommentarer skal automatisk legges til:	
Kriterium alder	Kriterium f-kalprotektin verdi
< 1460 dager	
≥ 1460 dager	50-149 mg/kg
≥ 1460 dager	>149 mg/kg
Standardkommentarene legges automatisk til som en egen analyse.	
Benevnning	mg/kg
Antall desimaler	0
Registrering	Overføring fra PRIME til Unilab skjer når vi frigir prøvene i PRIME bildet.
Kommentering	Med.Mik. skriver beskjed på Unilab etikett om synlig blod, tynt og tykt prøvemateriale som skal kommenteres. Vi legger til aktuell kommentar i Unilab: • lite: «For lite prøvemateriale tilsendt.» • imot: «Prøven ikke mottatt.» • imotk: «Prøve til kalprotektin ikke mottatt. Det må sendes to prøveglass med separate etiketter ved bestilling av både kalprotektin og elastase.» Velg ikke utført, samt slett standardkommentar. • kalpb: «Det var synlig blod i prøvematerialet. Dette kan gi falsk forhøyet f-kalprotektinverdi, og resultatet må tolkes med forsiktighet.» -Legges til som kommentar til resultatet. • kalpt: Prøvematerialet var tyntflytende. Dette kan påvirke resultatet. Ny prøve bør vurderes.» -Legges til som kommentar til resultatet. • kalph: «Prøvematerialet var hardt. Dette kan påvirke resultatet. Ny prøve bør vurderes.» -Legges til som kommentar til resultatet. • kalpk: «Prøvematerialets konsistens kan påvirke resultatet. Ny prøve bør vurderes.» -Legges til som kommentar til resultatet.
Teknisk validering	Beskrives i prosedyren EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.
Medisinsk validering	Kalprotektin analysen blir overført direkte til rekvirenter etter teknisk validering.

 SØRLANDET SYKEHUS	Kalprotektin, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.				Side: 4 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.1-3	Utarbeidet av: Kristine T. Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget og Janina Avreid	Godkjent dato: 01.08.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 4.04

Medisinsk serviceklinikk/Avd. for immunologi og transfusjonsmedisin SSK/Pasienter og brukere/Immunologi/Phadia

UTTAK AV RESTLISTE

Restliste FKALP2 skal tas ut hver fredag, av bioingeniør som har dagens ansvar for Phadia 250 instrumentene. Søk opp i PRIME om prøven er analysert, og se inne på benk/kjøleskap på mikro om prøven er ankommet. Benytt også *sign in* dato og vis rekvisisjon i unilab som hjelp til vurdering.

Er prøven ikke ankommet oss innen 14 dager fra prøvetakingsdato legges kommentar imot (ikke mottatt) inn på analysen FKALP2. Dersom det er bestilt både kalprotektin og elastase, kode FELAS, og denne er svart ut med «Sendt» skal følgende kode legges inn på FKALP2: imotk. I alle tilfeller der resultatet svares ut med «ikke utført» må automatisk standardkommentar slettes. Denne ligger som egen analyse og hele analysen må slettes etter lagring av «ikke utført» på analysekode FKALP2.

Den som tar ut restlisten er ansvarlig for oppfølging. Ferdig utført restliste settes i egen perm på stillerommet.

OPPBEVARING AV PRØVEMATERIALE ETTER ANALYSERING

Ferdig analyserte prøver arkiveres i 7 dager.

AVFALLSHÅNDTERING

Forbruksmateriell som har lite blodsl/en dråpe, kastes i vanlig søppel. Prøverør med ID kastes i gul dunk. Glass/plast med kroppsvæsker skal kastes som risikoavfall. All plast skal kastes i plastavfall. Blå plastbeholder til alt papir som inneholder pasientdata, ellers alt annet papir i grønn beholder. Ved behandling av prøver og reagenser som er i kontakt med prøver, skal hansker benyttes for å unngå ev. smitte. Ved behov; se Stoffkartoteket.

Kryssreferanser:

II.MSK.MedMik.2.D.3-1	Ekstraksjon av fæces som forberedelse til Kalprotektinundersøkelse på ImTra, utført på Avd. for medisinsk mikrobiologi, SSK
II.MSK.ImTra.2.a.3-1	Bestilling og mottak av reagenser, engangsutstyr og kritiske materialer, ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.1-1	EliA-analyser, Phadia 250. Enhet for Immunologi, ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.4-4	Medisinsk validering og frigivning av immunologi-resultater i Unilab. ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.4-5	LIS prosedyre: Unilab 700. Enhet for immunologi. ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.5-3	Metodeverifisering av kalprotektin i feces. Enhet for immunologi. ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.5.5-1	Metodeverifisering av Kalprotektin 2. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.7.1-1	Intern kvalitetskontrolløverblik, Enhet for immunologi, ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.7.1-3	Tillaging av interne kontroller, Enhet for immunologi, ImTra SSK.
II.MSK.ImTra.2.g.7.3-3	Phadia 250: Ny software og endringer i pakningsvedlegg til reagens som tilhører metoden. Enhet for immunologi. ImTra SSK.

Eksterne referanser:

1. Brukermanual fra Thermo Fisher Scientific.
2. Siste versjon av pakningsvedlegg finnes på <http://www.dfu.phadia.com/Pages/SearchDFU.aspx?type=row> Tidligere versjoner kan forespørres.
3. Tøn, H., Brandsnes, Ø., Dale, S., Holtlund, J., Skuibina, E., Schjønby, H., John, B. (2000). Improved assay for fecal calprotectin. *Clinica Chimica Acta* 292 41-54 [O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for IMM-TRA SSK\ImTra\A immunologi\Validering\2016\Kalprotektin 2\Calpro stability in stool \(gulmerket\).pdf](#)
4. Fagerberg, U. L., Löf, L., Myrdal, U., Hansson, L., Finkel, Y. (2005). Colorectal Inflammation is Well Predicted by Fecal Calprotectin in Children with Gastrointestinal Symptoms. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. [O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for IMM-TRA SSK\ImTra\A immunologi\Validering\2016\Kalprotektin 2\Fagerberg_2005 \(gulmerket stabilitet feces i RT\).pdf](#)