

**Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.**

Side 1 av 6

Dokumentplassering:

**II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2**

Godkjent dato:

**23.05.2024**

Gyldig til:

**23.05.2026**

Dato endret:

**23.05.2024**

Revisjon:

**7.04**

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

DISTRIBUSJONSLISTE: EK

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: Forlenget gyldighet til 23.05.2026 uten endringer i dokumentet.

**HENSIKT/BAKGRUNN**

Metode for påvisning av antistoff mot f-aktin (P-Aktin IgG, Aktin) og antistoff mot M2 (P-Mitokondrie (M2) IgG, M2).

Aktin IgG sees først og fremst hos pasienter med autoimmun hepatitt.

Mitokondrie (M2) IgG sees hovedsakelig ved primær biliær kolangitt (PBC).

Aktin IgG bestilles automatisk i Unilab ved påvist AGM (P-Glatt muskulatur IgG) med indirekte immunfluorescens metode (IIF). Metoden benyttes også der vi ser et sterkt ANA-mønster med IIF. I disse tilfellene må analysen legges til i Unilab.

Mitokondrie (M2) IgG bestilles automatisk i Unilab ved påvist AMA (P-Mitokondrie IgG) med IIF.

**OMFANG**

Bioingeniører ved Enhet for immunologi.

**AKKREDITERT ANALYSE**

Nei

**TATT I BRUK**

Mitokondrie (M2) IgG: Analysen har vært utført her siden før 2007.

Aktin IgG: Juni 2022

**ANALYSEPRINSIPP**

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Kvantitativ metode.

Pasientserum inkuberes i mikrotiterbrønner som er dekket med Aktin eller M2 antigener (affinitetsrenset rekombinant antigen MIT3). Antistoff mot Aktin eller M2 som måtte finnes i prøven, bindes til antigenene. Alt ubundet antistoff fjernes ved vask av brønnene. For å gjøre reaksjonen synlig/målbart tilsettes enzymerket konjugat. Konjugatet er anti-humant IgG fra geit som under inkubasjonstiden binder seg til pasientens antistoff mot Aktin eller M2, som har dannet kompleks med antigenet. Ubundet konjugat vaskes bort. Substratløsning (enzymsubstrat + kromogen) tilsettes, og enzymet spalter substratet. Dette fører til oksydering av kromogenet som resulterer i et farget produkt. Fargeutviklingen stanses ved å tilsette stoppløsning (syre). Graden av fargeutvikling (optisk tetthet OD) kan måles i spektrofotometer og er proporsjonal med mengden antistoff mot hhv. Aktin eller M2 i pasientserumet.

**LIS (lab-data system)**

[LIS prosedyre: Unilab 700. Enhet for immunologi. ImTra SSK.](#)

Analysekode i Unilab: sakt og sm2ny

Arbeidsliste: 416

**METODENS YTELSE****Måleområde**

Ingen satte grenser, da metoden beregnes ut fra en referanseverdi, og ikke en kalibreringskurve med en nedre og en øvre verdi.

Dokumentet skal verifiseres av medisinsk ansvarlig overlege.

DokumentID: D03085

Utarbeidet av: <b>Kristine Thomassen Berget</b> Enhetsleder	Fagansvarlig: <b>Kristine T. Berget</b>	Godkjent av: <b>Avdelingssjef Lene</b> <b>Haugen Tryland</b>	Verifisert av: <b>08.06.2022 - Kvalitetskoordinator Kari - Ann Nedal,</b> <b>23.06.2022 - Avd. overlege Christine T. Steinsvåg</b>
---	--	--	--

		<b>Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</b>			<b>Side: 2</b> <b>Av: 6</b>
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2	Utarbeidet av: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent dato: 23.05.2024	Godkjent av: Avdelingsjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

<b>Interferens/ kryssreaksjoner og andre feilkilder</b>	Prøvemateriale med mikrobiell vekst, som er varmebehandlet eller som inneholder synlige partikler skal ikke benyttes. Unngå bruk av sterkt lipemisk og hemolysert prøvemateriale.
<b>Usikkerhets- vurdering</b>	Ufullstendig eller dårlig vask og utilstrekkelig fjerning av væske kan medføre dårlig presisjon og/eller høy bakgrunn. Mange faktorer ved analyseringen kan gi usikkert resultat: Starttemperatur til analysekit og pasientprøver. Nøyaktighet og reproducerbarhet av pipetteringsteknikk. Vasking og fjerning av væske fra brønnene. Inkubasjonstid under utførelse. Kvaliteten på fotometer. Ufullstendig forsegling av «Zip-lock» til mikrotiterbrønn-poseden kan føre til uttørking, degradering av antigen i brønnene og dårlig presisjon. Kontaminasjon av HRP konjugatet kan forårsake degradering.

PRØVEMATERIALE	
<b>Prøvemateriale</b>	Avpipetert serum.
<b>Prøvemengde</b>	5 µL til en 1:101 fortyning.
<b>Prøvebehandling</b>	Oppbevares ved 2-8 °C i opptil 7 dager. Kan fryses i -20 °C om prøvene vil bli eldre enn 7 dager før analysering. Tinte prøver må blandes godt rett før analysering. Serum som har vært frosset og tint mer enn en gang, kan ikke benyttes til analysering (ref. 2).

REAGENSER	
<b>Leverandør</b>	ELISA kit QUANTA LITE –produsert av Inova og leveres av Mediq. Se oversikt over reagenser: <a href="O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for IMM-TRA SSK\ImTra\A immunologi\Innkjøp av reagens\Plan for innkjøp av reagens fordelt på leverandører.xlsx">O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for IMM-TRA SSK\ImTra\A immunologi\Innkjøp av reagens\Plan for innkjøp av reagens fordelt på leverandører.xlsx</a>
<b>Reagenser</b>	<b>Mikrotiterbrønner</b> dekket med Aktin IgG eller M2 antigen. <b>Vaskebuffer:</b> Må fortynnes <b>Fortynningsbuffer:</b> Sample diluent, klar til bruk <b>Konjugat:</b> HRP conjugate (Horse Raddish Peroxide), anti-human IgG fra geit. Klar til bruk. <b>Substrat:</b> TMB-Chromogen. Klar til bruk. OBS: Lysfølsomt. <b>Stoppløsning:</b> 0,334M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . Klar til bruk. <b>Kalibrator:</b> Lav positiv kontroll med verdi 25 enh brukes til kalibrator. Klar til bruk. <b>Kontroller:</b> Høy (high) positiv og negativ. Klare til bruk.
<b>Mottak av reagens</b>	Følg enhetens rutiner <a href="#">Bestilling og mottak av reagenser, engangsutstyr og kritiske materialer, ImTra SSK.</a>
<b>Pakningsvedlegg</b>	Ved ny lot skal papirversjon av pakningsvedlegget som følger med i kitet sammenliknes med tidligere versjon som står i perm på stillerommet. Ved ny versjon gis beskjed til enhetsleder/fagbioingeniør for videre oppfølging. Det kontrolleres ellers en gang i året at vi følger siste versjon av pakningsvedlegg. <a href="#">Loggføring av versjoner på pakningsvedlegg i bruk. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.</a>
<b>Oppbevaring</b>	Oppbevares på kjølerom 2017AN (2-8 °C) Enhet for immunologi.
<b>Tillaging (med holdbarhet)</b>	<b>Vaskebuffer:</b> Konsentrat i kitet, må fortynnes 1:40 før bruk. Ca. 2,0 mL konsentrat + 78 mL dest.vann til 16 brønner. Fortynnet vaskeløsning er holdbar i en uke ved 2-8 °C. Brukes også til A-MPO og A-PR3 INOVA.
<b>Forholdsregler</b>	Alle prøver, biologiske reagenser og materialer som brukes i analysen må betraktes som mulig smittefarlige stoffer. Bruk hansker. Unngå kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Noen reagenser i dette kitet inneholder natriumazid. Natriumazid kan reagere med bly- eller kobberer og danne svært eksplosive metallazider. Ved nedskylling må det skylles godt med vann for å forebygge oppbygging av azid.

		<b>Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</b>			<b>Side: 3</b> <b>Av: 6</b>
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2	Utarbeidet av: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent dato: 23.05.2024	Godkjent av: Avdelingsjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

	HPR konjugat inneholder kjemikalier som kan forårsake brannskader. Unngå kontakt med hud og øyne. TMP kromogen inneholder irriterende stoffer som kan være skadelig ved inhalasjon, svelging og kontakt med hud og øyne. HRP stoppløsning inneholder fortennet svovelsyre og kan reagere med base, metall og andre komponenter. Den er etsende og giftig. Unngå kontakt med hud og øyne for å hindre kjemisk brannskade.
--	--

UTSTYR OG KALIBRERING	
	Hamilton diluter benyttes for fortykning av prøver. Denne kalibreres iht. prosedyre <a href="#">Kontroll av Hamilton diluter, Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a> Presisjonspipetter som følger gjeldende kalibreringsprosedyrer. Plate og lokk til mikrotiterplate, fortykningsrør, veieskip, engangshansker, cellostoffer og plateavleser med filter 405/620 nm. Vi benytter plateavleser på Med.Mik.
<b>Rutine ved lotskifte</b>	Internkontroll og ev. kontroll fra kit benyttes til å vurdere ev. nivåendring. Vurderinger av lotskifte er utført i eget Excel-dokument (se avsnittet «vurdering av kontroller»).

KVALITETSKONTROLL	
<b>Kontrollmateriale</b>	Positiv og negativ kontroll i kit. Internkontroll finnes i frys ved enheten. Vanligvis er denne fremstilt fra pasientprøver med antistoff mot Aktin eller M2. Laboratoriet er med i SLP program for alle aktuelle analyser.
<b>Rutine ved lotskifte</b>	Ny lot på kontroller kjøres inn i etterkant av oppstart, over minst tre oppsett. Dette gjøres for å kartlegge nytt måleområde. Varselgrenser skal tilsvare 2,5 SD beregnet fra nytt gjennomsnitt og langtids CV%. Kontrollregler som benyttes er beskrevet i Excel-dokumentet.

FORBEREDELSE	
Alle reagenser skal ha romtemperatur før bruk. La reagensene stå framme på benk i 20-30 minutter. Lag arbeidsliste i Unilab 700 nr.416. Skriv ut.	
<b>Fortynn pasientprøver:</b>	Lag utgangsfortynning av pasientserum 1: 101 med Sample Diluent. Bruk Hamilton diluter, Program 1:101 INOVA. <a href="#">Hamilton Diluter. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a>

UTFØRELSE	
<ol style="list-style-type: none"> <li>Regn ut hvor mange brønner som trengs for oppsettet. Sett brønnene klare i et mikrotiterplate-brett. Ubrukte brønner må ikke bli utsatt for fuktighet. Sett dem tilbake i posen så fort som mulig.</li> <li>Tilsett 100 µL kontroller og fortennet pasientserum til brønnene. Lav positiv kontroll i duplikat, 1A og 1B. Høy positiv kontroll i 1C, negativ kontroll i 1D og pasientprøver i 1E osv. Sett en internkontroll i duplikat i de to siste posisjonene i oppsettet.</li> <li>Dekk platen med lokk og la den inkubere i romtemperatur i 30 min.</li> <li>Tøm brønnene ved å gripe fast i kanten av brettet, snu platen over vasken og hell ut væsken. Vask brønnene 3 ganger med 200-300 µL fortennet vaskebuffer. Bruk multikanalpipette. Etter siste vask, snu platen opp ned på absorberende papir (cellestoff) for å fjerne resterende vaskebuffer fra brønnene.</li> <li>Tilsett straks 100 µL konjugat til brønnene. Det er viktig at brønnene ikke rekker å tørke. Dekk med lokk og inkuber 30 min. i romtemperatur.</li> <li>Tøm og vask som før.</li> <li>Tilsett straks 100 µL substrat til brønnene. Det er viktig at brønnene ikke rekker å tørke. Dekk med lokk og inkuber mørkt (i skuff) 30 min. i romtemperatur.</li> <li>Tilsett 100 µL stoppløsning til brønnene.</li> </ol>	

 SØRLANDET SYKEHUS	<b>Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</b>				Side: 4 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2	Utarbeidet av: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent dato: 23.05.2024	Godkjent av: Avdelingsjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

9. Bank forsiktig i kantene av platen for å blande innholdet i brønnene. Fjern eventuelle luftbobler. Avles OD verdier på spektrofotometeret innen 1 time. Det skal ligge et eget program for INOVA-analyser der utregninger blir utført.

VURDERING AV ANALYSERESULTATER	
<b>Vurdering av kontroller</b>	<p>Kontroller kurveutskriften:            OD høy positiv kontroll må være &gt; OD lav positiv kontroll som må være &gt; negativ kontroll.            OD høy positiv kontroll må være &gt; 1            OD negativ kontroll må være &lt; 0,2            OD lav positiv kontroll må enten være &gt; 2 x OD negativ kontroll, eller en verdi &gt; 0,25</p> <p>Kontroller loggføres i eget <a href="#">Excel-dokument</a>.            All kontrollvirksomhet kontrolleres ved hvert oppsett før frigivning av prøvesvar, og signeres for på arbeidslisten.            Ved avvik: Kontakt enhetsleder/fagbioingeniør og overlever utfylt avviksskjema.  <a href="#">Skjema for oppfølging av kvalitetskontroller. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a></p>
<b>Vurdering av prøvesvar</b>	<p>Resultatene beregnes automatisk og finnes på utskriften sammen med OD verdien.</p> <p>Beregning av svar:            Resultat pasientprøve (enh.) = <math>\frac{\text{Prøve OD} \times 25 \text{ (enh. lav positiv)}}{\text{Lav pos. OD}}</math></p>
<b>Spesielle vurderinger</b>	Sjekk at ev. duplikater samstemmer.

SVARRAPPORTERING	
<b>Referanseområde</b>	<p>M2:            0 - 20 enh. negativ            21-24 enh. grenseverdi            ≥ 25 enh. positiv</p> <p>Aktin:            0-19 enh. negativ            20-30 enh. svakt positiv            &gt; 30 enh. moderat/sterkt positiv</p>
<b>Benevning</b>	Enhet
<b>Antall desimaler</b>	0
<b>Registrering</b>	<p>Resultatene registreres i arbeidslisten i Unilab.            Standardkommentaren: «Se Laboratoriehåndboka (<a href="https://sshf.labfag.no">https://sshf.labfag.no</a>) for tolkning av analyseresultat.» legges automatisk til som egen analyse ved patologiske resultater.            Standardkommentaren: «Grenseverdi» legges automatisk til ved resultater i grenseverdi område.            Sjekk om dagens prøveresultat er plausible sammenliknet med tidligere resultat der det finnes. Vurder tidsrommet mellom resultatene og om det kan være plausible forklaringer på nivåendringen (kliniske opplysninger?) Ved tvil konsulter enhetsleder/fagbioingeniør/ lege.</p> <p>Skriv ut liste med registrerte men ikke frigitte svar. Legg signert arbeidsliste og utskrift av innlagte svar i Unilab i hyllen for kontrollering.</p>

		<b>Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</b>			<b>Side: 5</b> <b>Av: 6</b>
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2	Utarbeidet av: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent dato: 23.05.2024	Godkjent av: Avdelingsjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

<b>Teknisk validering</b>	Resultater kontrolleres og frigis av en annen bioingeniør. Den som utfører kontrollen skal signere for dette på arbeidslisten. Signert arbeidsliste og spektrofotometer utskrift oppbevares i perm på stillerommet.
<b>Medisinsk validering</b>	De fleste patologiske prøveresultater på analyser utført ved Enhet for immunologi skal valideres av lege ved ImTra før de frigis til rekvirentene. Ved fravær av lege kan spesielt opplærte bioingeniører ved Enhet for immunologi frigi resultatene i påvente av medisinsk validering. Rutiner er beskrevet i <a href="#">Medisinsk validering og frigivning av immunologi-resultater i Unilab. ImTra SSK.</a>

<b>OPPBEVARING AV PRØVEMATERIALE ETTER ANALYSERING</b>
Alle prøver skal arkiveres i kjølerom i en uke. Pasientprøver med positivt utslag skal arkiveres i fryser i -20 °C på Enhet for immunologi.

<b>AVFALLSHÅNDTERING</b>
Forbruksmateriell som har lite blodsøl/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

<a href="#">II.MSK.FEL.LAB</a>	<a href="#">Brukerveiledning Unilab, LV SSHF</a>
<a href="#">FEL.LAB DATA.4-1</a>	
<a href="#">II.MSK.FEL.LAB</a>	<a href="#">Korrigerings av resultater og kommentarer i Unilab LV SSHF</a>
<a href="#">FEL.LAB DATA.4-4</a>	
<a href="#">II.MSK.FEL.LAB</a>	<a href="#">Ringe- og varslingsgrenser, ImTra SSHF</a>
<a href="#">FEL.IMTRA FEL-10</a>	
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.a.3-1</a>	<a href="#">Bestilling og mottak av reagenser, engangsutstyr og kritiske materialer, ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.3.1-1</a>	<a href="#">Antistoff rettet mot mitokondrier (AMA), glatt muskulatur (AGM) og LKM-1. Screening og titrering. Enhet for immunologi, ImTra SSK</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.3.3-2</a>	<a href="#">Hamilton Diluter. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.3.3-3</a>	<a href="#">Kontroll og kalibrering av Hamilton diluter, Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-1</a>	<a href="#">Behandling av prøver etter analysering: Arkivering, videresending og innlegging av svarkopier. Enhet for immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-2</a>	<a href="#">Mottak og fordeling av prøver på Enhet for immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-4</a>	<a href="#">Medisinsk validering og frigivning av immunologi-resultater i Unilab. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-5</a>	<a href="#">LIS prosedyre: Unilab 700. Enhet for immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-12</a>	<a href="#">Uttak og kontroll av restlister i Unilab. Enhet for immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.4-13</a>	<a href="#">Loggføring av versjoner på pakningsvedlegg i bruk. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.5.9-1</a>	<a href="#">AGM, AMA og APC. Anti-LKM og anti-F-aktin. Verifisering av kit fra andre produsenter med indirekte immunfluorescenssteknikk (IIF) og ELISA som metoder. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.7-3</a>	<a href="#">Tillaging av interne kontroller, Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a>
<a href="#">II.MSK.ImTra.2.g.7-5</a>	<a href="#">Skjema for oppfølging av kvalitetskontroller. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</a>

 <b>SØRLANDET SYKEHUS</b>	<b>Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.</b>				<b>Side: 6</b> <b>Av: 6</b>
Dokumentplassering: II.MSK.ImTra.2.g.3.1-2	Utarbeidet av: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent dato: 23.05.2024	Godkjent av: Avdelingsjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

### Eksterne referanser

1. Pakningsvedlegg i kit
2. Protein Reference Handbook of Autoimmunity (3rd Edition) 2004. Ed. A Milford Ward, GD Wild. Publ. PRU Publications, Sheffield. 14