

 SØRLANDET SYKEHUS		Medisinsk serviceklinikk		Prosedyre
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	TATT I BRUK
Nei	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 enzymermerket 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: Kristine Thomassen Berget Enhetsleder	Fagansvarlig: Kristine T. Berget	Godkjent av: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Verifisert av: 08.06.2022 - Kvalitetskoordinator Kari - Ann Nedal, 23.06.2022 - Avd. overlege Christine T. Steinsvåg
---	--	--	--

 SØRLANDET SYKEHUS	Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.				Side: 2 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: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

Interferens/ kryssreaksjoner og andre feilkilder	Prøvemateriale med mikrobiell vekst, som er varmebehandlet eller som inneholder synlige partikler skal ikke benyttes. Unngå bruk av sterkt lipemisk og hemolysert prøvemateriale.
Usikkerhets- vurdering	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-posen kan føre til uttørking, degradering av antigen i brønnene og dårlig presisjon. Kontaminasjon av HRP konjugatet kan forårsake degradering.

PRØVEMATERIALE	
Prøvemateriale	Avpipettert serum.
Prøvemengde	5 µL til en 1:101 fortynning.
Prøvebehandling	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	
Leverandør	ELISA kit QUANTA LITE –produsert av Inova og leveres av Mediq. Se oversikt over reagenser: O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for IMM-TRA SSK\ImTra\A immunologi\Innkjøp av reagens\Plan for innkjøp av reagens fordelt på leverandører.xlsx
Reagenser	Mikrotiterbrønner dekket med Aktin IgG eller M2 antigen. Vaskebuffer: Må fortynnes Fortynningsbuffer: Sample diluent, klar til bruk Konjugat: HRP conjugate (Horse Raddish Peroxide), anti-human IgG fra geit. Klar til bruk. Substrat: TMB-Chromogen. Klar til bruk. OBS: Lysfølsomt. Stoppløsning: 0,334M H ₂ SO ₄ . Klar til bruk. Kalibrator: Lav positiv kontroll med verdi 25 enh brukes til kalibrator. Klar til bruk. Kontroller: Høy (high) positiv og negativ. Klare til bruk.
Mottak av reagens	Følg enhetens rutiner Bestilling og mottak av reagenser, engangsutstyr og kritiske materialer, ImTra SSK.
Pakningsvedlegg	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. Loggføring av versjoner på pakningsvedlegg i bruk. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.
Oppbevaring	Oppbevares på kjølerom 2017AN (2-8 °C) Enhet for immunologi.
Tillaging (med holdbarhet)	Vaskebuffer: 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.
Forholdsregler	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 kobber og danne svært eksplosive metallazider. Ved nedskylling må det skylles godt med vann for å forebygge oppbygging av azid.

 SØRLANDET SYKEHUS	Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.				Side: 3 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: Avdelingssjef 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 fortynnet 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 fortynning av prøver. Denne kalibreres iht. prosedyre Kontroll av Hamilton diluter, Enhet for immunologi, ImTra SSK. Presetjospipetter som følger gjeldende kalibreringsprosedyrer. Plate og lokk til mikrotiterplate, fortynningsrør, veieskip, engangshansker, cellostoff og plateavleser med filter 405/620 nm. Vi benytter plateavleser på Med.Mik.
Rutine ved latskifte	Internkontroll og ev. kontroll fra kit benyttes til å vurdere ev. nivåendring. Vurderinger av latskifte er utført i eget Excel-dokument (se avsnittet «vurdering av kontroller»).

KVALITETSKONTROLL	
Kontrollmateriale	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.
Rutine ved latskifte	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.	
Fortynn pasientprøver:	Lag utgangsfortynning av pasientserum 1: 101 med Sample Diluent. Bruk Hamilton diluter, Program 1:101 INOVA. Hamilton Diluter. Enhet for immunologi, ImTra SSK.

UTFØRELSE	
1. 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. 2. Tilsett 100 µL kontroller og fortynnet 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. 3. Dekk platen med lokk og la den inkubere i romtemperatur i 30 min. 4. 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 fortynnet vaskebuffer. Bruk multikanalpipette. Etter siste vask, snu platen opp ned på absorberende papir (cellestoff) for å fjerne resterende vaskebuffer fra brønnene. 5. 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. 6. Tøm og vask som før. 7. 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. 8. Tilsett 100 µL stoppløsning til brønnene.	

 SØRLANDET SYKEHUS		Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.			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: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

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

SVARRAPPORTERING	
Referanseområde	M2: 0 - 20 enh. negativ 21-24 enh. grenseverdi ≥ 25 enh. positiv Aktin: 0-19 enh. negativ 20-30 enh. svakt positiv > 30 enh. moderat/sterkt positiv
Benevnning	Enhet
Antall desimaler	0
Registrering	Resultatene registreres i arbeidslisten i Unilab. Standardkommentaren: «Se Laboratoriehåndboka (https://sshf.labfag.no) 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. Skriv ut liste med registrerte men ikke frigitte svar. Legg signert arbeidsliste og utskrift av innlagte svar i Unilab i hyllen for kontrollering.

 SØRLANDET SYKEHUS	Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.				Side: 5 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: Avdelingssjef Lene Haugen Tryland	Revisjon: 7.04

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

Teknisk validering	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.
Medisinsk validering	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 Medisinsk validering og frigivning av immunologi-resultater i Unilab. ImTra SSK.

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

AVFALLSHÅNDTERING
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

[II.MSK.FEL.LAB
FEL.LAB DATA.4-1](#)

[II.MSK.FEL.LAB
FEL.LAB DATA.4-4](#)

[II.MSK.FEL.LAB
FEL.IMTRA FEL-10](#)

[II.MSK.ImTra.2.a.3-1](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.3.1-1](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.3.3-2](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.3.3-3](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-1](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-2](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-4](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-5](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-12](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.4-13](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.5.9-1](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.7.1-3](#)

[II.MSK.ImTra.2.g.7.1-5](#)

[Brukerveiledning Unilab, LV SSHF](#)

[Korrigerings av resultater og kommentarer i Unilab LV SSHF](#)

[Ringe- og varslingsgrenser, ImTra SSHF](#)

[Bestilling og mottak av reagenser, engangsutstyr og kritiske materialer, ImTra SSK.](#)

[Antistoff rettet mot mitokondrier \(AMA\), glatt muskulatur \(AGM\) og LKM-1. Screening og titrering. Enhet for immunologi, ImTra SSK](#)

[Hamilton Diluter. Enhet for immunologi, ImTra SSK.](#)

[Kontroll av Hamilton diluter, Enhet for immunologi, ImTra SSK.](#)

[Behandling av prøver etter analysering: Arkivering, videresending og innlegging av svarkopier. Enhet for immunologi. ImTra SSK.](#)

[Mottak og fordeling av prøver på Enhet for immunologi. ImTra SSK.](#)

[Medisinsk validering og frigivning av immunologi-resultater i Unilab. ImTra SSK.](#)

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

[Uttak og kontroll av restlister i Unilab. Enhet for immunologi. ImTra SSK.](#)

[Loggføring av versjoner på pakningsvedlegg i bruk. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.](#)

[AGM, AMA og APC. Anti-LKM og anti-F-aktin. Verifisering av kit fra andre produsenter med indirekte immunfluorescensteknikk \(IIF\) og ELISA som metoder. Enhet for Immunologi. ImTra SSK.](#)

[Tillaging av interne kontroller, Enhet for immunologi, ImTra SSK.](#)

[Skjema for oppfølging av kvalitetskontroller. Enhet for immunologi, ImTra SSK.](#)

 SØRLANDET SYKEHUS	Antistoff mot Mitokondrie (M2) IgG og Aktin IgG. Enhet for immunologi, ImTra SSK.				Side: 6 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: Avdelingssjef 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