

NPU19240 DNA(spec.)-BCHE-gen



Metodeblad nr. M-237/07

Udarbejdet af: Karin Dreisig Hansen	Taget i brug: 06.03.2026 Erstatter: 05.05.2025	Revision: 06.03.2029
---	---	-----------------------------

GENERELT	
Ansvarlig KBA analysesektion	Sektion for DNA og screening
Indikation og resultatvurdering	Benyttes ved udredning af nedsat eller manglende aktivitet af enzymet butyrylkolinesterase. Enzymet nedbryder bedøvelsesmidlet suxamethon. Mutationer i genet kodende for enzymet (<i>BCHE</i>) kan føre til nedsat eller manglende aktivitet, som videre kan føre til forlænget virkning af suxamethon som bedøvelsesmiddel. I analysen undersøges for de to mutationer A-varianten og K-varianten med TaqMan allelic discrimination og klinisk relevante genotyper verificeres ved sekventering. Laboratoriet modtager udelukkende prøver fra Dansk Kolinesterase Kartotek. Supplerende sekventering af hele genet efterrekvireres af klinikerne ved at kontakte afdelingen.
Analysenavn og kode i SP	BCHE-gen;DNA, NPU19240
Analysenavn og kode i LABKA	DNA(spec.)-BCHE-gen, DNABCHE.
Analysenavn og kode i WebReq	Analyse findes ikke i WebReq.
Enhed	Kvalitativt analyseresultat uden enhed.
Prøvemateriale og rørtype	Lilla 4S, Vacuette® glas (Greiner Bio-One) med lilla prop og sort ring, indeholdende K ₂ -EDTA til veneblod. Kapillarrør MiniCollect (Lilla Babyrør) indeholdende K ₂ -EDTA til kapillær- eller veneblod.
Mindste prøvemængde	Få dråber.
Prøvetagning herunder særlige forhold	Intet at bemærke.
Referenceinterval/kliniske beslutningsgrænser	Referencen har hverken A- eller K-varianten (vildtype for begge varianter).
Ringegrænser	Ingen.
Udførende laboratorie	Klinisk Biokemisk Afdeling på Herlev matriklen.
Analyseringshyppighed	1-2 gange om måneden.
Svartid (efter modtagelse af prøve)	TaqMan-analyse: 1 måned. Supplerende sekventering af hele genet: 3 måneder

NPU19240 DNA(spec.)-BCHE-gen



Metodeblad nr. M-237/07

Prøvehåndtering	Intern rekvirent	Intern rekvirent	Intern rekvirent
	Intet at bemærke		
Holdbarhed	Prøvemateriale: Stuetemperatur: 15 dage Køleskab: Minimum 2,5 år Frost: Ubegrænset DNA: Stuetemperatur: Minimum 10 uger Køleskab: Minimum 10 år Frost: Minimum 10 år		
Forsendelse	Intern transport.	Region H's transport-ordning eller Postnord som quickbrev i boblekuvert til ”Biologisk stof kategori B”.	Region H's transportordning ved 21 °C.
Præanalytiske fejlkilder	Intet at bemærke.		
METODEBESKRIVELSE			
CE mærket analyse <i>(apparat og reagens i kombination)</i>	Nej		
Akkrediteret analyse	Ja		
Metrologisk sporbarhed <i>(rutinemålingens sporbarhed til referencemateriale og/el. –metode)</i>	Analysens reagenser (primere og prober) har været bioinformatisk undersøgt ift. referencegenomet GRCh38.		
Analyseprincip	Allelic discrimination ved brug af TaqMan-prober: • Primere (kort sekvens af nukleotider) binder til to specifikke steder på genet kodende for butyrylkolinesterase (<i>BCHE</i>). Primerne faciliterer en opformering af to korte områder af <i>BCHE</i>, som inkluderer hhv. A-varianten og K-varianten. • Fire TaqMan-prober, som er specifikke for hhv. A-variant vildtype, A-variant mutant, K-variant vildtype og K-variant mutant binder til det opformerede DNA og udsender fluorescenssignal ved binding. Supplerende sekventering: • Der laves en opformering af hele genets proteinkodende regioner med tilgrænsende områder. Disse fragmenter indmærkes med nukleotider mærket med forskellige farver, som efterfølgende aflæses som fluorescenssignal inden for de forskellige farvespektrere.		

NPU19240 DNA(spec.)-BCHE-gen



Metodeblad nr. M-237/07

Apparatur	TaqMan-analyse: • Quantstudio 7 + Orbitor RS (Applied Biosystems) eller Viia 7 (Thermo Fisher) • Twister II (Applied Biosystems) • ProFlex PCR apparat (Thermo Fisher Scientific) • Biomek i5 robot (Beckman Coulter) Supplerende sekventering: • Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems) • Biomek 4000 robot (Beckman Coulter) • ABI 3730xl Analyzer (Thermo Fisher)
Kalibrator	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative.
Reagens	TaqMan-analyse: • Sequence detection primer (Life Technologies) • TaqMan MGB Probe (Life Technologies) • TaqMan Genotyping Mastermix x2 (Life Technologies) • Betain 5M (Sigma-Aldrich) Supplerende sekventering: • RedTaq 2x Master Mix (VWR) • Sequence detection primer (Life Technologies) • Stock primere med M13-haler (Life Technologies) • Agencourt AMPure XP oprensningsbeads (Ramcon) • Agencourt CleanSEQ oprensningsbeads (Ramcon) • BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies)
Ekstern kvalitetskontrol	For TaqMan-analysen deltages i RfB EQA-program med to årlige udsendinger, som hver indeholder to prøver til analyse. For sekventering deltages i EMQN EQA-program med en årlig udsending.
Præcisionskontrolmaterialer (navn, producent, materialetype)	Tidligere analyserede patientprøver, hvis genotyper er blevet bekræftet ved analyse med alternativ laboratoriemetode (sekventering).
Kontrolniveauer	6 kontroller for TaqMan-analyse: Vildtype, heterozygot og homozygot for A-variant samt vildtype, heterozygot og homozygot for K-variant. 2 kontroller til aflæsning af sekventering: NTC negativ kontrol og pGEM positiv kontrol.
Intermediær præcision (CV _{oprundet inkl. instru. spred.})	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative.
Ekspanderet måleusikkerhed ($k=2$ sv.t. 95% CI på måleresultatet)	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative.
Mindste relevante kliniske difference	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative.

NPU19240 DNA(spec.)-BCHE-gen



Metodeblad nr. M-237/07

Måleområde (total) standard analysemåleområde måleområde fortynding (udstyr) måleområde opkonc. (udstyr) yderligere fortynding (ja/nej)	Alle prøver analyseres med TaqMan-analyse. Udvalgte prøver kontrolleres efterfølgende med verificerende sekventering.
Interferens (hæmolyse, icterus, lipæmi, andet)	Intet at bemærke.
Bemærkninger	Ingen.

Dokumenthistorik

Dato		Initialer
05.05.2025	Emballage ændret til Lilla 4S	KHAN0715
06.03.2026	Tilføjet Kapillarrør MiniCollect (Lilla Babyrør) til prøverør og ændret mindstevo-lumen.	KHAN0715