

## DNA(spec.)-Malign hypertermi, NPU62488

### Metodeblad nr. M-293/02

<b>Udarbejdet af:</b> Karin Dreisig Hansen	<b>Taget i brug:</b> 26.08.2025	<b>Revision:</b> 26.08.2028
	<b>Erstatter:</b> 18.12.2024	

GENERELT			
<b>Ansvarlig KBA analysesektion</b>	DNA, Screening og Biobanker		
<b>Indikation og resultatvurdering</b>	Benyttes til at identificere genetiske varianter associeret med malign hypertermi.		
<b>Analysenavn og kode i SP</b>	NPU62488 DNA(spec.)—Malignant hyperthermia related genes; seq.var.(list;proc.)		
<b>Analysenavn og kode i LABKA</b>	DNA(spec.)-Malign hypertermi relateret gener; sekv.var.(liste;proc.), MALHYP		
<b>Analysenavn og kode i WebReq</b>	Analysen kan ikke rekvireres i WebReq.		
<b>Enhed</b>	Kvalitativt analyseresultat uden enhed.		
<b>Prøvemateriale og rørtype</b>	Fuldblod. Lilla 4S, Vacuette® glas (Greiner Bio-One) med lilla prop og sort ring, indeholder K <sub>2</sub> -EDTA.		
<b>Mindste prøvemængde</b>	50 ng DNA.		
<b>Prøvetagning herunder særlige forhold</b>	Intet at bemærke.		
<b>Referenceinterval/kliniske beslutningsgrænser</b>	Der rapporteres ikke varianter mere end 10 baser væk fra exons. Regionen af interesse (ROI) er præcist defineret i den datapipeline (manifestfilen) og inkluderer således områder, der strækker sig ± 10 baser omkring samtlige exons. Identificerede varianter sorteres på baggrund af ROIs angivet i manifestfilen. Der sættes en padding size på 50 bp for at detektere eventuelle varianter omkring splice sites, hvilket er den lavest teknisk mulige. Dette gøres for at undgå for mange varianter i introns med ukendt klinisk betydning.		
<b>Ringegrænser</b>	Ingen.		
<b>Udførende laboratorie</b>	Klinisk Biokemisk Afdeling på Herlev matriklen.		
<b>Analyseringshyppighed</b>	Hvert kvartal.		
<b>Svartid</b> <i>(efter modtagelse af prøve)</i>	3 måneder.		
<b>Prøvehåndtering</b>	<b>Intern rekvirent</b>	<b>Ekstern rekvirent</b>	<b>Praksis</b>
	Intet at bemærke.		
<b>Holdbarhed</b>	Stuetemperatur: 15 dage. Køleskab: minimum 2,5 år. Frost: Ubegrænset.		

## DNA(spec.)-Malign hypertermi, NPU62488

### Metodeblad nr. M-293/02

<b>Forsendelse</b>	Intern transport.	Region H's transport-ordning eller Postnord som quick-brev i boblekuvert til "Biologisk stof kategori B".	Region H's transportordning ved 21 °C.
<b>Præanalytiske fejlkilder</b>	Intet at bemærke.		
<b>METODEBESKRIVELSE</b>			
<b>CE mærket analyse</b> <i>(apparaturl og reagens i kombination)</i>	Nej.		
<b>Akkrediteret analyse</b>	Nej.		
<b>Metrologisk sporbarhed</b> <i>(rutinemålingens sporbarhed til referencemateriale og/el. -metode)</i>	Sekventeringssvar sammenholdes med referencegenomet hg19.		
<b>Analyseprincip</b>	<p>Enrichment NGS (Next-Generation Sequencing) er en teknik, hvor specifikke områder af genomet selektivt beriges, før de sekventeres. Processen begynder med fragmentering af DNA, efterfulgt af hybridisering med målrettede prober, der binder til de ønskede regioner. Disse målregioner isoleres derefter og amplificeres, hvilket øger deres tilstedeværelse i prøven. Til sidst sekventeres det selektivt berigede DNA ved hjælp af NGS, hvilket muliggør en dybdegående analyse af specifikke genetiske områder.</p> <p>Første dataanalyse foregår på MiSeq-udstyret og udføres automatisk efter sekventeringen af MiSeq-enhedens integrerede software. Software udfører basekald, kvalitetsfiltrering og alignment af sekvenserne til et referencegenom. Resultaterne visualiseres gennem genererede rapporter, der inkluderer kvalitetsmålinger, varianter og dataoversigt.</p> <p>Efterfølgende sammenholdes de identificerede varianter med listen over MH-associerede mutationer, som er godkendt af European Malignant Hyperthermia Group. Fund af andre varianter vurderes dels på baggrund af online databaser, <i>in silico</i> prædiktionsværktøjer, litteraturstudier samt ved løbende dialog med den rekvirerende afdeling.</p>		
<b>Apparatur</b>	MiSeq (Illumina). Biomek 4000 robot (Beckman Coulter). 2100 Bioanalyser Instrument (Agilent). FLUOstar Omega Microplate Reader (BMG Labtech).		
<b>Kalibrator</b>	Ikke relevant da analyseresultater er kvalitative.		
<b>Reagens</b>	Library preparation kit med universal adapter system og custom enrichment panel (Twist Bioscience). MiSeq Reagent Nano Kit v2 (Illumina).		

## DNA(spec.)-Malign hypertermi, NPU62488

### Metodeblad nr. M-293/02

<b>Ekstern kvalitetskontrol</b>	Prøveudveksling med eksternt laboratorie.	
<b>Præcisionskontrolmaterialer</b> (navn, producent, materialetype)	Der anvendes PhiX som proceskontrol til Illumina-sekventering mhp. at overvåge clusterdannelse, sekventering, alignment og fejlratet.	-
<b>Kontrolniveauer</b>	Negativ kontrol.	-
<b>Intermediær præcision</b> (CV <sub>oprundet</sub> inkl. instru. spred.)	Ikke relevant da analyseresultater er kvalitative.	-
<b>Ekspanderet måleusikkerhed</b> ( $k=2$ sv.t. 95% CI på måleresultatet)	Ikke relevant da analyseresultater er kvalitative.	-
<b>Mindste relevante kliniske difference</b>	Ikke relevant da analyseresultater er kvalitative.	
<b>Måleområde (total)</b> <b>standard analyseområde</b> <b>måleområde fortynding</b> (udstyr) <b>måleområde opkonc.</b> (udstyr) <b>yderligere fortynding</b> (ja/nej)	Måleområdet omfatter de kodende sekvenser i de humane <i>RYR1</i> - og <i>CACNA1S</i> -gener samt 10 baser på hver side af exons.	
<b>Interferens</b> (hæmolyse, icterus, lipæmi, andet)	Intet at bemærke.	
<b>Bemærkninger</b>	Analysen kræver henvisning fra Dansk Malign Hypertermi Center for at blive udført.	

### Dokumenthistorik

Dato		Initialer
18.12.2024	Nyt dokument.	KHAN0715
26.08.2025	Lilla 6S rettet til Lilla 4S.	KHAN0715