

**NPU54180 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.18572\_18575delCAGT); entitisk antal = ?,**

**NPU54178 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.22657C>T); entitisk antal = ?,**

**NPU54181 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.16819C>T); entitisk antal = ?**

**Metodeblad nr. M-235/02**

<b>Udarbejdet af:</b> Marianne Smedegaard Hede	<b>Taget i brug:</b> 20.08.2021	<b>Revision:</b> 20.08.2024
	<b>Erstatter:</b> 22.02.2021	

<b>GENERELT</b>	
<b>Ansvarlig KBA analysesektion</b>	Sektion for DNA og screening
<b>Indikation og resultatvurdering</b>	Benyttes ved udredning af en række dermatologiske sygdomme bl.a. atopisk dermatitis (børneeksem) og ichthyosis (fiskehud).
<b>Analysenavn og kode i SP</b>	FLG (Filaggrin)-gen gruppe (LOKAL);DNA, EPC00021
<b>Analysenavn og kode i LABKA</b>	DNA(spec)-Filaggrin-gen (liste)(lokal), FILAGGRIN
<b>Analysenavn og kode i WebReq</b>	Analyse findes ikke i WebReq
<b>Enhed</b>	Kvalitativt analyseresultat uden enhed
<b>Prøvemateriale og rørtype</b>	Fuldblod Lilla 6S, Vacuette® glas (Greiner Bio-One) med lilla prop og sort ring, indeholdende K <sub>2</sub> -EDTA.
<b>Mindste prøvemængde</b>	0,5 ml
<b>Prøvetagning herunder særlige forhold</b>	Intet at bemærke
<b>Referenceinterval/kliniske beslutningsgrænser</b>	Analysen kan give tre forskellige kvalitative analyseresultater: Vildtype (reference), heterozygot for mutation samt homozygot for mutation.
<b>Ringegrænser</b>	Ingen
<b>Udførende laboratorie</b>	Klinisk Biokemisk Afdeling på Herlev matriklen
<b>Analyseringshyppighed</b>	1-2 gange om måneden

**NPU54180 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.18572\_18575delCAGT); entitisk antal = ?,**

**NPU54178 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.22657C>T); entitisk antal = ?,**

**NPU54181 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.16819C>T); entitisk antal = ?**

**Metodeblad nr. M-235/02**

<b>Svartid</b> <i>(efter modtagelse af prøve)</i>	1 måned		
<b>Prøvehåndtering</b>	<b>Intern rekvirent</b>	<b>Ekstern rekvirent</b>	<b>Praksis/Filialer</b>
	Intet at bemærke		
<b>Holdbarhed</b>	Prøvemateriale: Stuetemperatur: 15 dage Køleskab: Minimum 2,5 år Frost: Ubegrænset  DNA: Stuetemperatur: Minimum 10 uger Køleskab: Minimum 10 år Frost: Minimum 10 år		
<b>Forsendelse</b>	Intern transport	Region H's transportordning eller Postnord som quickbrev 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>(apparat og reagens i kombination)</i>	Nej		
<b>Akkrediteret analyse</b>	Nej		
<b>Metrologisk sporbarhed</b> <i>(rutinemålingens sporbarhed til referencemateriale og/el. -metode)</i>	Analysens reagenser (primerer og prober) har været bioinformatisk undersøgt ift. referencegenomet GRCh38.		
<b>Analyseprincip</b>	Allelic discrimination med brug af TaqMan-prober: 1) Primerer (kort sekvens af nukleotider) binder til tre specifikke steder på filaggrin-genet ( <i>FLG</i> ), som inkluderer de genomiske placeringer for mutationerne R501X, R2447X og 2282del4. Primerne faciliterer en opformering af de tre genomiske placeringer. 2) Seks TaqMan-prober, som er specifikke for hhv. R501X vildtype, R501X mutant, R2447X vildtype, R2447X mutant, 2282del4 vildtype og 2282del4 mutant, binder til det opformerede DNA og udsender fluorescenssignal ved binding.		

**NPU54180 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.18572\_18575delCAGT); entitisk antal = ?,**

**NPU54178 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.22657C>T); entitisk antal = ?,**

**NPU54181 DNA(spec.)—FLG-gen(NG\_016190.1:g.16819C>T); entitisk antal = ?**

**Metodeblad nr. M-235/02**

<b>Apparatur</b>	Quantstudio 7 + Orbitor RS (Applied Biosystems) eller Viia 7 + Twister II (Applied Biosystems), ProFlex PCR apparat (Thermo Fisher Scientific), Biomek i5 robot (Beckman Coulter)	
<b>Kalibrator</b>	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative	
<b>Reagens</b>	Sequence detection primer (Life Technologies) TaqMan MGB Probe (Life Technologies) TaqMan Genotyping Mastermix x2 (Life Technologies) Betain 5M (Sigma-Aldrich)	
<b>Ekstern kvalitetskontrol</b>	Prøveudveksling med eksternt laboratorie	
<b>Præcisionskontrolmaterialer</b> <i>(navn, producent, materialetype)</i>	Tidligere analyserede patientprøver, hvis genotyper er blevet bekræftet ved analyse med alternativ laboratoriemetode (sangersekventering)	
<b>Kontrolniveauer</b>	8 kontroller: Vildtype, heterozygot og homozygot for R501X- og 2282del4-analyserne og vildtype og heterozygot for R2447X-analysen	
<b>Intermediær præcision</b> <i>(CV<sub>oprundet</sub> inkl. instru. spred.)</i>	Ikke relevant, da analyseresultater er kvalitative	
<b>Ekspanderet måleusikkerhed</b> <i>(k=2 sv.t. 95% CI på måleresultatet)</i>	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> <i>(udstyr)</i> <b>måleområde opkonc.</b> <i>(udstyr)</i> <b>yderligere fortynding</b> <i>(ja/nej)</i>	Alle prøver analyseres.	
<b>Interferens</b> <i>(hæmolyse, icterus, lipæmi, andet)</i>	Intet at bemærke	
<b>Bemærkninger</b>	Ingen	