

# Prospecto para el médico: MiSeqDx® Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

## Pruebas genéticas y fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad crónica que afecta a varios aparatos, en especial, al digestivo y al respiratorio. En los Estados Unidos, es el trastorno autosómico recesivo más frecuente que supone una amenaza para la vida. Deriva de la herencia de una copia defectuosa del gen del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*) del padre y de la madre que contiene mutaciones genéticas.<sup>1,2</sup> Por lo general, los diagnósticos de las personas que padecen fibrosis quística se realizan mediante programas de cribado de recién nacidos y se confirman con la prueba de cloruro en sudor cuando tienen dos años.<sup>3</sup> Hasta la fecha, se han identificado más de 1900 variantes en el gen de la *CFTR*; sin embargo, solo se ha verificado clínica y funcionalmente un subconjunto relativamente pequeño de estas variantes, y se ha determinado que causa la fibrosis quística.<sup>4</sup> Una variante (a veces denominada "mutación" cuando causa una enfermedad) es un cambio genético identificado como diferente a la secuencia de referencia normal (o salvaje) con la que se compara. Las variantes de la *CFTR* pueden causar la enfermedad, ser de consecuencia clínica variable, ser benignas o tener una relevancia desconocida. Aquellas que son de consecuencia clínica variable pueden causar la fibrosis quística solo en determinadas circunstancias o estar asociadas con enfermedades relacionadas con la fibrosis quística.

## ¿Cuál es la esperanza de vida de los pacientes con fibrosis quística en los Estados Unidos?

La esperanza y la calidad de vida de una persona con fibrosis quística dependen en gran medida de numerosos y diferentes factores, entre los que se incluye la gravedad de la enfermedad y el momento en el que se inicia el tratamiento. Cabe tener en cuenta que no todas las mutaciones de *CFTR* provocan una enfermedad grave. Muchas personas presentan casos leves de fibrosis quística, mientras que otros presentan casos moderados o graves. Los datos del registro de pacientes de la fundación estadounidense para la fibrosis quística (Cystic Fibrosis Foundation), que recopila datos estadísticos de pacientes tratados en centros de atención acreditados por esta fundación, muestran que más del 47 % de todos los pacientes con fibrosis quística de EE. UU. tienen 18 años o una edad superior, y que el valor actual global de la mediana correspondiente a la edad de supervivencia es de 38,3 años.<sup>5</sup>

## Epidemiología de la fibrosis quística

La fibrosis quística es uno de los trastornos genéticos autosómicos recesivos más frecuentes.<sup>6,7</sup> Presenta una incidencia estimada de uno entre 2000 a 4000 nacidos vivos y una prevalencia de, aproximadamente, 30 000 personas en la población estadounidense.<sup>8</sup> La fibrosis quística existe en todas las poblaciones étnicas y raciales en frecuencias distintas: una de cada 3000 personas de origen caucásico, uno de cada 9200 hispanoamericanos, uno de cada 10 900 americanos nativos, uno de cada 15 000 afroamericanos y uno de cada 31 000 asiático-americanos.<sup>8,9</sup>

## Pruebas genéticas y cribado de portador para la fibrosis quística

Las pruebas de cribado se pueden utilizar para determinar si una persona cuenta con una variante genética en el gen de la *CFTR*. Las pruebas se limitan a aquellas variantes que se sabe que causan la enfermedad. Si los padres cuentan con una variante que causa la enfermedad, su hijo tendrá una probabilidad de una entre cuatro de heredar ambos genes y, en consecuencia, desarrollar la enfermedad. Los índices de detección de portadores dependen de la raza y etnia de la persona, ya que muchas mutaciones solo se dan en ciertos grupos étnicos. Más de 10 millones de estadounidenses portan una mutación del gen de la fibrosis quística. En la [Tabla 1](#) se proporcionan los cálculos actuales de frecuencia de portadores de la mutación de *CFTR* por etnias en los EE. UU. basados en una cohorte de 364 890 individuos sometidos a pruebas para determinar portadores sin antecedentes familiares de fibrosis quística.

**Tabla 1** Frecuencia general de portadores de mutación de fibrosis quística en distintos grupos étnicos de EE. UU.<sup>10</sup>

Grupo étnico	Frecuencia de portadores observada
Afroamericano	1 en 84
Judío asquenazí	1 en 29
Asiático	1 en 242
Caucásico	1 en 28
Hispano	1 en 59
Judío	1 en 32
De Oriente Medio	1 en 91
Americano nativo	1 en 70
Sudasiático	1 en 118
Otra etnia	1 en 111
> 1 origen étnico	1 en 34
Mitad afroamericano	1 en 56
Mitad caucásico	1 en 32
Mitad hispano	1 en 51
No se indica	1 en 37
Todos los individuos	1 en 38

## Paneles de pruebas genéticas

Las pruebas de la fibrosis quística para detectar mutaciones genéticas pueden variar en gran medida en función de los laboratorios y dependen de la prueba específica que haya utilizado cada uno de ellos. Algunos limitan la cobertura a la recomendación de 23 variantes de fibrosis quística de la institución estadounidense de genética médica (ACMG)<sup>11</sup> de 2004 y de la institución estadounidense de obstetras y ginecólogos (ACOG)<sup>12</sup> de 2011 que tiene en cuenta todas las etnias, mientras que otros incluyen variantes excepcionales y menos frecuentes adicionales que se dan en poblaciones con mayor diversidad étnica.<sup>2, 5, 10, 13</sup> Las variantes incluidas en el panel recomendado por la ACMG se seleccionaron en un principio en función de su prevalencia en la población estadounidense general y de la asociación conocida con enfermedades con una gravedad entre moderada y elevada.

La validez clínica de las variantes incluidas en el Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx se ha basado en información recopilada y publicada por el proyecto CFTR2.<sup>14, 15</sup> El proyecto CFTR2 está vinculado con la base de datos original de mutaciones de la fibrosis quística (Cystic Fibrosis Mutations Database) denominada, actualmente, "CFTR1", que se dedica a la recopilación de variantes identificadas en el gen de la *CFTR* para la comunidad científica internacional para la fibrosis quística. CFTR2 forma parte de un proyecto de colaboración internacional que aúna registros, médicos e investigadores especializados en fibrosis quística para categorizar todas las variantes que se encuentran en una base de datos de 39 696 pacientes con fibrosis quística según el origen de su enfermedad: variantes que causan la enfermedad, mutaciones de consecuencia clínica variable (MVCC), mutaciones de significado desconocido y variantes que no causan la fibrosis quística (es decir, benignas o neutrales).<sup>14, 15</sup> La clasificación de estas variantes se basa en datos clínicos (es decir, niveles de cloruro de sodio, función pulmonar y función pancreática), en estudios funcionales in vitro (es decir, síntesis, maduración, expresión, función y conductancia de cloruro de la proteína CFTR) y en estudios de penetración (con padres aparentemente sanos y fértiles de pacientes con fibrosis quística para estudiar todas las variantes de *CFTR* presentes en el alelo no transmitido a los hijos afectados).<sup>14</sup> Hasta septiembre de 2013, el proyecto CFTR2 había identificado más de 160 variantes que se dan con una frecuencia superior al 0,01 % en personas con fibrosis quística, de las que 134 variantes únicas (según los cambios en los nucleótidos, correspondientes a 129 variantes de la base de datos del CFTR2) se han clasificado como causantes de la fibrosis quística.<sup>14, 15</sup>

## Características del Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx

Las pruebas con el Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx se realizan con ADN extraído de una muestra de sangre total. El ensayo realiza pruebas de lo siguiente: 134 variantes que provocan la FQ, una variante de panel

recomendada por la institución estadounidense de genética médica (ACMG) (R117H, clasificada como mutación de consecuencia clínica variable [MVCC] según CFTR2), una variante de modificación descrita de forma secundaria (Poli-TG/Poli-T) y tres variantes benignas descritas de forma secundaria (I506V, I507V y F508C)<sup>16</sup> para un total de 139 variantes descritas.

Las 134 variantes que causan la FQ corresponden a 129 variantes que causan la FQ de la base de datos del CFTR2. La base de datos del CFTR2 incluye cinco variantes que causan la FQ que pueden sufrir el mismo cambio en el nivel proteico a partir de dos cambios de nucleótidos diferentes como, por ejemplo, S466X(C>A) y S466X(C>G). Estas cinco variantes se enumeran de acuerdo con el codón de aminoácidos de la base de datos del CFTR2 (por ejemplo, S466X), mientras que el ensayo especifica cada una de las variantes como, por ejemplo, S466X(C>A) y S466X(C>G). La lista de 139 variantes que especifica el Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx se muestra en la [Tabla 2](#).

**Tabla 2** Resumen de variantes del Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx

(Por orden de coordenadas genómicas; **negrita** = ACMG-23; *cursiva* = descritas de forma secundaria; \*\* = validadas con muestras sintéticas)

M1V**	T338I**	Q552X	3121-1G>A**
CFTR dele2,3	1154insTC	<b>R553X</b>	3272-26A>G
Q39X**	S341P**	A559T	L1065P**
E60X	R347H	<b>R560T</b>	R1066C
P67L	<b>R347P</b>	R560K**	R1066H
R75X	R352Q	1811+1,6kb A>G**	L1077P**
<b>G85E</b>	1213delT**	1812-1 G>A	W1089X
394delTT	1248+1G>A**	E585X**	Y1092X (C>A)
405+1 G>A**	1259insA**	<b>1898+1G&gt;A</b>	Y1092X(C>G)**
406-1G>A	W401X (c.1202G>A)**	1898+3A>G**	M1101K
E92X	W401X (c.1203G>A)**	2143delT	E1104X**
E92K**	1341+1G>A**	R709X	R1158X
Q98X**	<i>Poli-TG/Poli-T</i>	K710X	<b>R1162X</b>
457TAT>G**	1461ins4**	2183delAA>G	<b>3659delC</b>
D110H	<b>A455E</b>	2184insA	S1196X
R117C	1525-1G>A**	<b>2184delA</b>	W1204X (c.3611G>A)**
<b>R117H</b>	S466X (C>A)**	2307insA	W1204X (c.3612G>A)**
Y122X	S466X (C>G)	L732X**	3791delC
574delA**	L467P**	2347delG**	<b>3849+10kbC&gt;T</b>
<b>621+1G&gt;T</b>	1548delG <sup>†</sup>	R764X	G1244E**
663delT	S489X**	2585delT**	3876delA
G178R	S492F**	E822X**	S1251N
<b>711+1G&gt;T</b>	Q493X	2622+1G>A**	3905insT
711+3A>G**	<b>I507del</b>	E831X**	<b>W1282X</b>
711+5 G>A**	<b>F508del</b>	W846X	4005+1G>A**
712-1 G>T**	1677delTA	R851X**	<b>N1303K</b>
H199Y**	V520F	2711delT**	4016insT**
P205S	Q525X** <sup>†</sup>	<b>2789+5G&gt;A</b>	Q1313X**
L206W	1717-8G>A	Q890X	4209TGTT>AA**
Q220X**	<b>1717-1G&gt;A</b>	L927P**	CFTRdele22,23
852del22**	<b>G542X</b>	S945L**	4382delA**
1078delT	S549R (c.1645A>C)	3007delG**	<i>I506V</i>
G330X	S549R (c.1647T>G)	G970R**	<i>I507V</i>
<b>R334W</b>	S549N	3120G>A	<i>F508C</i>
I336K	<b>G551D</b>	<b>3120+1G&gt;A</b>	

<sup>†</sup> Clasificado en la base de datos del CFTR2<sup>15</sup> como una variante que provoca la FQ, mientras que el artículo de Sosnay<sup>14</sup> clasifica la variante como indeterminada. La clasificación de la base de datos es más reciente y refleja la prueba funcional completa, que no estaba disponible en el momento de la publicación de Sosnay.

Con el uso de una prueba que detecta todas estas variantes se espera detectar un mínimo de 95,4 % de alelos que causan la FQ en pacientes con FQ de la cohorte de pacientes del proyecto CFTR2. Asimismo, el índice de detección de parejas que corren el riesgo de tener hijos con fibrosis quística incrementaría, aproximadamente, a un 91 % de parejas que utilizan este panel, en comparación con el 72 % de parejas que utilizan el panel de 23 variantes recomendado por la institución estadounidense de genética médica (ACMG).<sup>14</sup> No obstante, estos cálculos dependen de la frecuencia y distribución de variantes en relación con la variabilidad en la geografía y la etnia.

## Indicación de la prueba

- Esta prueba se ha diseñado para la evaluación del estado de portador de 139 variantes clínicamente relevantes del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*), incluidas las variantes que la institución estadounidense de genética médica (ACMG)<sup>11</sup> recomendó en 2004 y que la institución estadounidense de obstetras y ginecólogos (ACOG)<sup>12</sup> recomendó en 2011.
- Esta prueba se debe utilizar con adultos en edad reproductiva.
- Esta prueba se ha diseñado para la realización de pruebas diagnósticas de confirmación de recién nacidos y niños.
- Esta prueba se ha diseñado como prueba inicial de ayuda en el diagnóstico de personas con síntomas de fibrosis quística.



### PRECAUCIÓN

Esta prueba no está indicada para el cribado de recién nacidos, pruebas diagnósticas de fetos, pruebas previas a implantaciones ni fines diagnósticos independientes.

- El Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx solo está indicado para su uso bajo prescripción.

## Características de rendimiento de la prueba

El rendimiento de la prueba se ha basado en comparaciones con dos métodos de referencia (secuenciación bidireccional de Sanger y un ensayo de PCR validado) con el fin de verificar la precisión del ensayo en la detección de 139 variantes. Dada la peculiaridad de muchas de las variantes incluidas en el ensayo, no se han podido obtener muestras clínicas de todas las variantes. Por lo tanto, la precisión de la detección de ciertas variantes se ha establecido mediante muestras sintéticas de construcciones de plásmidos complejos mezclados con ADN salvaje para simular muestras heterocigóticas. El ensayo pudo identificar correctamente variantes presentes en todas las muestras con una precisión general superior al 99,99 %. Con un estudio de reproducibilidad llevado a cabo en tres instalaciones de usuario, el ensayo demostró su reproducibilidad en el caso de la detección de variantes positivas (99,77 %) y variantes negativas (99,88 %).

## Guía para la interpretación de resultados

Los resultados de la prueba se deben interpretar teniendo en cuenta los resultados clínicos, el historial familiar y otros datos del laboratorio. Es posible que las pruebas moleculares no detecten todas las posibles mutaciones que causan la fibrosis quística. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de que la persona porte una mutación no identificada en el gen de la *CFTR*. Esta prueba se debe utilizar junto con otra información clínica y del laboratorio disponible. Todas las interpretaciones clínicas de las variantes detectadas las debe realizar un especialista en patología molecular, un especialista en genética molecular clínica o equivalente certificado. Se recomienda que el médico que prescriba la prueba se ponga en contacto con un especialista en genética o un especialista en genética médica clínica certificado. Asimismo, se recomienda a los pacientes recibir asesoramiento de un especialista en genética. Si desea más información, consulte las páginas web de la fundación estadounidense para la fibrosis quística (Cystic Fibrosis Foundation) ([www.cff.org](http://www.cff.org)), del proyecto Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) ([www.cftr2.org](http://www.cftr2.org)) y de la institución estadounidense de genética médica (American College of Medical Genetics) ([www.acmg.net](http://www.acmg.net)).

## Limitaciones de la prueba

- Los resultados obtenidos se deben utilizar e interpretar en el marco de una evaluación clínica completa.
- El producto se ha diseñado para la identificación de un subconjunto específico de variantes conocidas en el gen de la *CFTR* y no incluye todas las variantes identificadas en él. Por lo tanto, si no se identifica una variante, no se garantiza que no existan otras variantes de la *CFTR* en las muestras que se estén analizando.
- Las instituciones estadounidenses de genética médica, American College of Medical Genetics (ACMG), y de obstetras y ginecólogos, American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), recomiendan la descripción secundaria de cuatro variantes que se consideran problemáticas en la interpretación debido a la complejidad de su asociación con otras variantes. Las variantes descritas de forma secundaria en el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística MiSeqDx incluyen la región Poli-TG/Poli-T (que se describe cuando se identifica la variante R117H) y las variantes benignas I506V, I507V y F508C<sup>16</sup> (que se describen cuando se identifican mutaciones F508del o I507del homocigóticas).



### NOTA

Dado que este es un ensayo basado en secuenciación, no se producen interferencias en la descripción de F508del o I507del debido a los tres polimorfismos benignos. Por lo tanto, no se realizarán correcciones en el resultado obtenido.

- El ensayo no puede determinar si la orientación de la variante Poli-TG/Poli-T respecto de la variante R117H es del tipo cis-trans. En el caso de los pacientes con una variante R117H, se deben realizar pruebas adicionales para determinar si una variante Poli-TG/Poli-T, que podría afectar al fenotipo clínico (por ejemplo, 12-13[TG] o 5T), se encuentra en orientación cis-trans respecto de la variante R117H.
- Las variantes identificadas con este ensayo varían en frecuencia en función de las distintas poblaciones.
- Si bien se dispone de una gran cantidad de información acerca de la gravedad de la enfermedad en el caso de algunas variantes, para otros, la información es limitada y se basa en un número limitado de casos clínicos conocidos.
- En el caso de aquellas variantes que se hayan validado únicamente con muestras sintéticas (Tabla 2), se recomienda que el laboratorio verifique la presencia de dichas variantes mediante otro método validado antes de notificar los resultados. Póngase en contacto con el laboratorio encargado de las pruebas para establecer el procedimiento de estas.
- Los errores de laboratorio son excepcionales, pero pueden ocurrir. Las diferencias subyacentes en el ADN de un paciente u otros factores analíticos pueden afectar al resultado del ensayo y, en consecuencia, provocar la realización o pérdida de llamadas.

## Referencias

- 1 Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, et al. (2008) Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr.* 153(2): S4–S14
- 2 Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Cutting GR. (2008) *CFTR*-related disorders. *Gene Reviews.* Seattle (WA): University of Washington; 2008. Disponible en [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250). Actualización: 19 de febrero de 2008.
- 3 U.S. National Newborn Screening Status Report [genes-r-us.uthscsa.edu/sites/genes-r-us/files/nbsdisorders.pdf](http://genes-r-us.uthscsa.edu/sites/genes-r-us/files/nbsdisorders.pdf) Actualización: 6 de enero de 2013.
- 4 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). [www.genet.sickkids.on.ca/app](http://www.genet.sickkids.on.ca/app). [En línea]. Septiembre de 2013.
- 5 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry: Annual Data Report 2010.
- 6 [www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002052.html](http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002052.html).
- 7 [www.nlm.nih.gov/medlineplus/geneticdisorders.html](http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/geneticdisorders.html).
- 8 Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, et al. (2008) Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and *CFTR*-related disorders. *Genet Med.* 10(12): 851–868.

- 9 Katkin JP. (2012) Cystic fibrosis: Clinical manifestations and diagnosis. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com) [En línea]. Diciembre de 2012.
- 10 Rohlfs EM, Zhou Z, Heim R, Nagan N, Rosenblum L, et al. (2011) Cystic Fibrosis Carrier Testing in an Ethnically Diverse US Population. *Clin Chem.* 57(6): 841–848.
- 11 Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, Driscoll DA, Klinger K, et al. (2004) Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genet Med.* 6(5): 387–391.
- 12 American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Committee on Genetics. (2011) The ACOG Committee Opinion No. 486: Update on Carrier Screening for Cystic Fibrosis. *Obstet Gynecol.* 117(4): 1028-31.
- 13 Bobadilla JL, Macek Jr. M, Fine JP, Farrell PM. (2002) Cystic Fibrosis: A Worldwide Analysis of CFTR Mutations—Correlation with Incidence Data and Application to Screening. *Human Mutation* 19:575–606.
- 14 Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, et al. (2013) Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet.* Octubre de 2013; 45(10): 1160-7.
- 15 Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). [www.cftr2.org](http://www.cftr2.org). [En línea]. Septiembre de 2013.
- 16 Grody WW, Cutting GR, Klinger KW, Richards CS, Watson MS, Desnick RJ. (Marzo/abril de 2001) Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genetics in Medicine* 3(2): 149–154.

## Patentes y marcas registradas

Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor ni similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS AL PRODUCTO, LESIONES A LAS PERSONAS, INCLUIDOS LOS USUARIOS Y OTROS, Y DAÑOS A OTRA PROPIEDAD.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA QUE SURJA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2017 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

**Illumina, Genetic Energy, MiSeqDx, Powered by Illumina**, el color naranja calabaza y el diseño de las bases de streaming son marcas comerciales de Illumina, Inc. o sus afiliados en EE. UU. o en otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

AMPure, Beckman y Beckman Coulter son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc.

## Información de contacto



Illumina

5200 Illumina Way

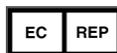
San Diego, California 92122 (EE. UU.)

+ 1 800 809 ILMN (4566)

+ 1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)



Illumina Cambridge Limited

Chesterford Research Park, Little Chesterford

Saffron Walden, CB10 1XL

REINO UNIDO