

Notice destinée au médecin : Test de fibrose kystique à 139 variants MiSeqDx^{MD}

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

Tests génétiques et fibrose kystique

La fibrose kystique est une maladie chronique qui affecte plusieurs systèmes organiques, en particulier les systèmes pulmonaire et digestif. Il s'agit du trouble récessif autosomique mortel le plus répandu aux États-Unis. Il résulte de la transmission d'une copie défectueuse du gène régulateur de conductance transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*) provenant de chaque parent qui contient des mutations génétiques^{1,2}. La fibrose kystique est généralement diagnostiquée par le biais de programmes de dépistage chez les nouveau-nés et confirmée à l'aide d'un test de chlorure dans la sueur autour de l'âge de deux ans³. Jusqu'à présent, plus de 1 900 variants du gène *CFTR* ont été identifiés; cependant, seul un sous-ensemble relativement petit de ces variants a été vérifié et identifié sur le plan clinique et fonctionnel comme étant à l'origine de la fibrose kystique⁴. Un variant, appelé parfois « mutation » lorsqu'il provoque une maladie, est une modification génétique qui est identifiée comme étant différente de la séquence de référence normale (ou « type sauvage ») à laquelle on le compare. Les variants du gène *CFTR* peuvent provoquer une maladie, avec des conséquences cliniques variables, pouvant être bénignes ou d'une importance inconnue. Ceux qui présentent des conséquences cliniques variables peuvent provoquer la fibrose kystique uniquement dans certaines circonstances ou être liés à des états associés à la fibrose kystique.

Quelle est l'espérance de vie des patients atteints de la fibrose kystique aux États-Unis?

La durée et la qualité de vie d'un individu atteint de la fibrose kystique dépendent fortement de nombreux facteurs, notamment la gravité de la maladie et le moment où il a commencé le traitement. Il est important de noter que les mutations du gène *CFTR* ne provoqueront pas toutes une maladie grave. De nombreuses personnes souffrent d'un léger cas de fibrose kystique, tandis que d'autres souffrent de cas modérés ou graves. Les données provenant du registre de patients de la CF Foundation, qui répertorie les statistiques sur la santé des patients traités dans des centres de soins agréés par la CF Foundation, montrent que plus de 47 % des personnes atteintes de la fibrose kystique aux États-Unis sont âgées de 18 ans et plus et que l'âge médian de survie est de 38,3 ans⁵.

Épidémiologie de la fibrose kystique

La fibrose kystique est l'un des troubles génétiques récessifs autosomiques^{6,7} les plus courants. Les estimations de l'incidence et de la prévalence de la maladie sont respectivement d'une naissance sur 2 000 à 4 000 et d'environ 30 000 individus aux États-Unis⁸. La fibrose kystique touche toutes les ethnies, à des fréquences variables : 1 sur 3 000 Caucasiens; 1 sur 9 200 Hispano-Américains; 1 sur 10 900 Amérindiens; 1 sur 15 000 Afro-Américains et 1 sur 31 000 Asio-Américains^{8,9}.

Tests génétiques et dépistage du porteur de la fibrose kystique

Les tests de dépistage peuvent être utilisés si une personne présente un variant génétique dans son gène *CFTR*. Les tests sont limités à ces variants connus pour provoquer la maladie. Si les deux parents présentent un variant provoquant la maladie, l'enfant a alors un risque sur quatre d'hériter des deux gènes et donc de développer la maladie. Les taux de détection du porteur dépendent de l'ethnie de l'individu, car de nombreuses mutations sont seulement observées dans certains groupes ethniques. Plus de 10 millions d'Américains sont porteurs d'une mutation du gène de la fibrose kystique. Les estimations actuelles de fréquence des porteurs de la mutation *CFTR* par ethnie aux États-Unis dans un groupe composé de 364 890 individus aiguillés vers un test de porteur sans antécédents familiaux de fibrose kystique figurent dans le [Tableau 1](#).

Tableau 1 Fréquence générale des porteurs de la mutation de la fibrose kystique au sein de différents groupes ethniques aux États-Unis¹⁰

Groupe ethnique	Fréquence des porteurs observée
Afro-Américains	1 sur 84
Juifs ashkénazes	1 sur 29
Asiatiques	1 sur 242
Caucasiens	1 sur 28
Hispaniques	1 sur 59
Juifs	1 sur 32
Moyen-Orientaux	1 sur 91
Amérindiens	1 sur 70
Sud-asiatiques	1 sur 118
Autre groupe ethnique	1 sur 111
Ethnicité > 1	1 sur 34
En partie afro-américains	1 sur 56
En partie caucasiens	1 sur 32
En partie hispaniques	1 sur 51
Non indiqué	1 sur 37
Tous les individus	1 sur 38

Panels de tests génétiques

Les tests de la fibrose kystique recherchant des mutations génétiques peuvent varier considérablement entre différents laboratoires et dépendent du test spécifique utilisé par le laboratoire. Certains limitent leur couverture aux 23 variants panethniques de la fibrose kystique recommandés par l’American College of Medical Genetics (ACMG) 2004¹¹ et l’American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 2011¹², tandis que d’autres incluent des variants supplémentaires ou plus rares, que l’on trouve chez des personnes issues de groupes ethniques plus diversifiés^{2,5,10,13}. À l’origine, les variants inclus dans le panel recommandé par l’ACMG ont été sélectionnés en se basant sur leur prévalence chez la population américaine en général et sur une association connue avec des formes modérées à graves de la maladie.

La validité clinique de ces variants inclus dans le Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx repose sur des renseignements recueillis et publiés dans le cadre du projet CFTR2^{14,15}. Le projet CFTR2 est lié à la base de données sur les mutations de la fibrose kystique (désormais appelée CFTR1), consacrée à la collecte de variants identifiés dans le gène *CFTR* pour la communauté internationale de recherche sur la fibrose kystique. CFTR2 est une collaboration internationale entre chercheurs, cliniciens et registres axés sur la fibrose kystique, dont l’objectif est de classer tous les variants trouvés dans une base de données de 39 696 patients atteints de la fibrose kystique en fonction du mode de transmission de la maladie : mutations aux conséquences variables (MVCC) provoquant la maladie, mutations d’une importance inconnue ne provoquant pas la fibrose kystique (c.-à-d. bénignes ou neutres)^{14,15}. La classification de ces variants est basée sur des données cliniques (c.-à-d. les niveaux de chlorure de sodium, les fonctions pulmonaires et les fonctions pancréatiques), des études fonctionnelles in vitro (c.-à-d. la synthèse de protéine CFTR, la maturation, l’expression, la fonction et la conductance chlorure) et des études de pénétrance (en utilisant des pères sains et fertiles en apparence de patients atteints de la fibrose kystique pour étudier tout variant *CFTR* se présentant sur l’allèle non transmis à leurs fils affectés)¹⁴. Depuis septembre 2013, le projet CFTR2 a identifié plus de 160 variants qui se produisent à une fréquence > 0,01 % chez des individus atteints de la fibrose kystique. Parmi ces variants, 134 sont des variants uniques (en fonction des modifications au niveau des nucléotides, et correspondant à 129 variants dans la base de données CFTR2) qui ont été classés comme provoquant la fibrose kystique^{14,15}.

Fonctionnalités de Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx

Les tests avec le Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx sont effectués sur de l'ADN extrait d'un échantillon de sang total. Le test est prévu pour : 134 variants provoquant la fibrose kystique; un variant de panel recommandé par l'ACMG (R117H, classé comme une mutation aux conséquences cliniques variables ou MVCC, selon CFTR2); un variant de modification rapporté sous certaines conditions (PolyTG/PolyT); et trois variants bénins rapportés sous certaines conditions (I506V, I507V, F508C)¹⁶; pour un total de 139 variants rapportés.

Les 134 variants provoquant la fibrose kystique correspondent aux 129 variants provoquant la fibrose kystique dans la base de données CFTR2. La base de données CFTR2 comprend cinq variants provoquant la fibrose kystique pour lesquels la même modification de niveau de protéine peut provenir de deux modifications de nucléotide distinctes [p. ex., S466X(C>A) et S466X(C>G)]. Ces cinq variants sont répertoriés en fonction du codon d'acide aminé dans la base de données CFTR2 (p. ex., S466X) tandis que le test rapporte chaque variant individuel [p. ex., S466X(C>A) et S466X(C>G)]. La liste des 139 variants rapportés par le Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx est fournie dans le [Tableau 2](#).

Tableau 2 Résumé des variants du Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx [répertoriés dans l'ordre des coordonnées génomiques; **Gras** = ACMG-23; *Italique* = Rapporté sous certaines conditions; ** = Validés avec des échantillons synthétiques]

M1V**	T338I**	Q552X	3121-1G>A**
CFTR dele2,3	1154insTC	R553X	3272-26A>G
Q39X**	S341P**	A559T	L1065P**
E60X	R347H	R560T	R1066C
P67L	R347P	R560K**	R1066H
R75X	R352Q	1811+1.6kb A>G**	L1077P**
G85E	1213delT**	1812-1 G>A	W1089X
394delTT	1248+1G>A**	E585X**	Y1092X (C>A)
405+1 G>A**	1259insA**	1898+1G>A	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>PolyTG/PolyT</i>	K710X	R1162X
457TAT>G**	1461ins4**	2183delAA>G	3659delC
D110H	A455E	2184insA	S1196X
R117C	1525-1G>A**	2184delA	W1204X (c.3611G>A)**
R117H	S466X (C>A)**	2307insA	W1204X (c.3612G>A)**
Y122X	S466X (C>G)	L732X**	3791delC
574delA**	L467P**	2347delG**	3849+10kbC>T
621+1G>T	1548delG ⁺	R764X	G1244E**
663delT	S489X**	2585delT**	3876delA
G178R	S492F**	E822X**	S1251N
711+1G>T	Q493X	2622+1G>A**	3905insT
711+3A>G**	I507del	E831X**	W1282X
711+5 G>A**	F508del	W846X	4005+1G>A**
712-1 G>T**	1677delTA	R851X**	N1303K
H199Y**	V520F	2711delT**	4016insT**
P205S	Q525X** ⁺	2789+5G>A	Q1313X**
L206W	1717-8G>A	Q890X	4209TGTT>AA**
Q220X**	1717-1G>A	L927P**	CFTRdele22,23
852del22**	G542X	S945L**	4382delA**
1078delT	S549R (c.1645A>C)	3007delG**	I506V

G330X	S549R (c.1647T>G)	G970R**	I507V
R334W	S549N	3120G>A	F508C
I336K	G551D	3120+1G>A	

† Classé dans la base de données du CFTR²¹⁵ comme un variant provoquant la fibrose kystique, tandis que l'article Sosnay¹⁴ le classe parmi les variants indéterminés. La classification de la base de données est plus récente et tient compte du test fonctionnel réalisé qui n'était pas disponible au moment de la publication de l'article de Sosnay.

L'utilisation d'un test qui détecte tous ces variants doit permettre la détection d'au moins 95,4 % des allèles provoquant la fibrose kystique chez les patients atteints de fibrose kystique dans la cohorte de patients du projet CFTR2. En outre, le taux de détection de couples présentant un risque d'avoir un enfant atteint de fibrose kystique devrait augmenter à environ 91 % des couples avec l'utilisation de ce panel, alors que ce taux est de 72 % des couples avec l'utilisation du panel de 23 variants¹⁴ recommandé par l'ACMG. Ces estimations dépendent toutefois de la fréquence et de la distribution des variants selon la variabilité dans les paramètres géographiques et ethniques.

Indication du test

- Ce test est prévu pour l'évaluation de l'état du porteur par rapport à 139 variants pertinents sur le plan clinique du gène du régulateur de la perméabilité transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*), y compris des variants recommandés en 2004 par l'ACMG¹¹ et en 2011 par l'ACOG¹².
- Ce test est prévu pour une utilisation chez des adultes en âge de procréer.
- Ce test est prévu pour des tests de confirmation de diagnostic chez des nouveau-nés et des enfants.
- Ce test est prévu en tant que test initial pour faciliter le diagnostic d'individus soupçonnés d'avoir la fibrose kystique.



ATTENTION

Ce test n'est pas indiqué pour le dépistage néonatal, pour les tests de diagnostic fœtal, pour les tests pré-implantatoires ou à des fins de diagnostic autonome.

- Le Test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx est conçu pour une utilisation sur ordonnance uniquement.

Caractéristiques de performance du test

Les performances du test ont été basées sur des comparaisons avec deux méthodes de référence, un séquençage Sanger bidirectionnel et un test PCR validé, pour vérifier la précision du test pour la détection des 139 variants. En raison de la rareté de plusieurs variants parmi ceux inclus dans le test, il a été impossible d'obtenir des échantillons cliniques pour tous les variants. Par conséquent, la précision de la détection pour certains variants a été établie en utilisant des échantillons synthétiques composés de structures de plasmide complexes mélangées à un ADN de type sauvage pour stimuler les échantillons hétérozygotes. Le test a permis d'identifier avec précision les variants présents dans tous les échantillons, avec une précision globale > 99,99 %. Lors d'une étude de reproductibilité menée au niveau de trois sites d'utilisateur, le test s'est révélé reproductible pour la détection de variant positif (99,77 %) et de variant négatif (99,88 %).

Guide d'interprétation des résultats

Les résultats des tests doivent être interprétés en se basant sur les résultats cliniques, les antécédents familiaux et d'autres données de laboratoire. Les tests moléculaires ne permettent peut-être pas de détecter toutes les mutations entraînant éventuellement la fibrose kystique. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité que l'individu présente une mutation non identifiée du gène *CFTR*. Ce test doit être utilisé avec les autres renseignements cliniques et de laboratoire disponibles. Toute interprétation clinique de variants détectés doit être effectuée par un pathologiste moléculaire diplômé, un généticien moléculaire clinique diplômé ou équivalent. Il est recommandé que le médecin qui commande le test consulte un généticien médical clinique diplômé ou un conseiller en génétique diplômé. Il est également recommandé aux patients de prendre conseil auprès d'un conseiller en génétique.

Des renseignements supplémentaires peuvent être obtenus auprès de la Cystic Fibrosis Foundation (www.cff.org), de la Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) (www.cftr2.org) et de l'American College of Medical Genetics (www.acmg.net).

Limites des tests

- Les résultats obtenus doivent être utilisés et interprétés dans le contexte d'une évaluation clinique complète.
- Le produit est conçu pour identifier un sous-ensemble spécifique de variants connus dans le gène *CFTR*, mais n'inclut pas tous les variants identifiés dans le gène *CFTR*. Par conséquent, si un variant n'est pas identifié, cela ne garantit pas que d'autres variants *CFTR* ne sont pas présents dans les échantillons analysés.
- Des signalements conditionnels ont été recommandés par l'ACMG/ACOG pour quatre variants dont l'interprétation est considérée comme problématique en raison de la complexité de leur association avec d'autres variants. Les variants signalés sous certaines conditions dans le test à 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx regroupent les variants de la région polyTG/polyT (qui est signalée lorsque le variant R117H est identifié) et les variants bénins I506V, I507V et F508C¹⁶ (signalés lorsqu'une mutation I507del ou F508del homozygote est identifiée).



REMARQUE

Étant donné qu'il s'agit d'un test basé sur le séquençage, il n'existe aucune interférence avec la signalisation de la mutation F508del ou I507del en raison des trois polymorphismes bénins. Par conséquent, aucune correction n'est apportée au résultat détecté.

- Le test ne permet pas de déterminer si l'orientation du variant PolyTG/PolyT est en cis/trans sur le variant R117H. Pour les patients présentant un variant R117H, des tests supplémentaires doivent être effectués pour déterminer si un variant PolyTG/PolyT, qui peut affecter le phénotype clinique (p. ex., 12-13(TG) ou 5T), présente une orientation cis/trans sur le variant R117H.
- Les variants identifiés par le biais de ce test varient en fréquence parmi les différentes populations.
- Si l'on connaît davantage de renseignements concernant la gravité de la maladie pour certains des variants, pour d'autres, ces renseignements sont limités et sont basés sur un nombre limité de cas cliniques signalés.
- Pour ces variants qui ont été validés uniquement par le biais d'échantillons synthétiques (Tableau 2), il est recommandé au laboratoire de vérifier la présence de tels variants par le biais d'une autre méthode validée avant de transmettre les résultats. Communiquez avec votre laboratoire de test pour connaître sa procédure de test.
- Les erreurs commises par les laboratoires sont rares, mais cela peut se produire. Les différences sous-jacentes dans l'ADN d'un patient ou d'autres facteurs d'analyse peuvent avoir une incidence sur les performances du test. Il est ainsi possible de créer des définitions ou d'en rater certaines.

Références

- 1 Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, et coll. (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 à l'adresse www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250. Mise à jour le 19 février 2008.
- 3 U.S. National Newborn Screening Status Report genes-r-us.uthscsa.edu/sites/genes-r-us/files/nbsdisorders.pdf Mis à jour le 6 janvier 2013.
- 4 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). www.genet.sickkids.on.ca/app. [Online] septembre 2013.
- 5 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry: Annual Data Report 2010.
- 6 www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002052.html.
- 7 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 [Online] décembre 2012.
- 10 Rohlfs EM, Zhou Z, Heim R, Nagan N, Rosenblum L, et coll. (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 coll. (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 coll. (2013) Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet.* 2013 Oct; 45(10) : 1160-7.
- 15 Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). www.cftr2.org. [Online] septembre 2013.
- 16 Grody WW, Cutting GR, Klinger KW, Richards CS, Watson MS, Desnick RJ. (Mars/avril 2001) Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genetics in Medicine* 3(2) : 149–154.

Brevets et marques de commerce

Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et ses sociétés affiliées (« Illumina ») et sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et/ou communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de son copyright, ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant d'utiliser ces produits.

LE MANQUEMENT À LIRE COMPLÈTEMENT ET À SUIVRE EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES POURRA CAUSER DES DOMMAGES AUX PRODUITS, DES BLESSURES AUX PERSONNES, UTILISATEURS OU AUTRES, ET DES DOMMAGES AUX AUTRES BIENS.

ILLUMINA N'ASSUME AUCUNE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION ABUSIVE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LES PIÈCES OU LES LOGICIELS).

© 2017 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Illumina, Genetic Energy, MiSeqDx, Powered by Illumina, la couleur citrouille et la conception de bases en flux sont des marques de commerce d'Illumina, Inc. ou de ses sociétés affiliées aux États-Unis ou dans d'autres pays. Tous les autres noms, logos et marques de commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.

AMPure, Beckman et Beckman Coulter sont des marques déposées ou des marques de commerce de Beckman Coulter, Inc.

Coordonnées



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californie 92122 États-Unis

+ (1) 800 809 ILMN (4566)

+ (1) 858 202 4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Cambridge Limited

Chesterford Research Park, Little Chesterford

Saffron Walden, CB10 1XL

ROYAUME-UNI