

Prospecto para el médico: 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 sistemas de órganos, especialmente a los sistemas pulmonar y digestivo. Es el trastorno autosómico recesivo potencialmente mortal más común en los Estados Unidos y se produce al heredar una copia defectuosa del gen del receptor de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*) de cada progenitor que contiene mutaciones genéticas^{1,2}. Por lo general, el diagnóstico de las personas con FQ suele realizarse mediante programas de detección en recién nacidos que se confirman con análisis de cloruro en sudor a la edad de dos años³. Hasta la fecha, se han identificado más de 1900 variantes en el gen *CFTR*; sin embargo, solo un subconjunto relativamente pequeño de dichas variantes se ha verificado clínica y funcionalmente y se ha determinado que causan fibrosis quística⁴. Una variante (a veces denominada "mutación" cuando causa una enfermedad) es un cambio genético que se identifica como diferente de la secuencia de referencia normal (o "en estado natural") con la que se compara. Las variantes de *CFTR* pueden causar enfermedades de diferentes consecuencias clínicas, benignas o de importancia desconocida. Las que tienen consecuencias clínicas variables pueden causar FQ solo en determinadas circunstancias, o estar asociadas a afecciones relacionadas con la FQ.

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

La duración y la calidad de vida de una persona con FQ depende en gran medida de muchos y diversos factores, entre los que se incluye la gravedad de la enfermedad y el momento en el que se inicia el tratamiento. Es importante tener en cuenta que no todas las mutaciones de *CFTR* dan lugar a una enfermedad grave. Muchas personas padecen un caso leve de FQ, mientras que otras pueden presentar casos moderados o graves. Los datos del registro de pacientes de la Fundación para la fibrosis, que realiza un seguimiento de las estadísticas sanitarias de los pacientes tratados en centros de atención acreditados por esta, indican que más del 47 % de las personas con FQ en EE. UU. tienen 18 años o más y que la mediana de la supervivencia global actual es de 38,3 años⁵.

Epidemiología de la fibrosis quística

La FQ es uno de los trastornos genéticos autosómicos recesivos más comunes^{6,7}. Tiene una incidencia estimada de uno entre 2000 a 4000 nacidos vivos y una prevalencia de aproximadamente 30 000 personas en la población estadounidense⁸. La FQ se da en diferentes etnias y razas con distintas frecuencias: uno de cada 3000 blancos, uno de cada 9200 estadounidenses de origen hispano, uno de cada 10 900 indios estadounidenses, uno de cada 15 000 estadounidenses de raza negra y uno de cada 31 000 estadounidenses de raza oriental^{8,9}.

Pruebas genéticas y detección de portadores de fibrosis quística

Se pueden utilizar pruebas de los portadores para determinar si una persona tiene una variante genética en su gen *CFTR*. Las pruebas se limitan a aquellas variantes que se sabe que causan enfermedades. Si ambos progenitores tienen una variante que causa la enfermedad, el hijo tiene una posibilidad entre cuatro de heredar ambos genes y de desarrollar, de esa manera, la enfermedad. Las tasas de detección de portadores dependen

de la raza y el origen étnico de la persona, ya que muchas mutaciones se observan únicamente en determinados grupos étnicos. Más de 10 millones de estadounidenses son portadores de una mutación del gen de FQ. En la **Tabla 1** se proporcionan los cálculos actuales de frecuencia de portadores de la mutación de *CFTR* por origen étnico 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.¹⁰

Grupo étnico	Frecuencia de portadores observada
Afroamericano	1 de 84
Judío asquenazí	1 de 29
Asiática	1 de 242
Blanco	1 de 28
Hispano	1 de 59
Judío	1 de 32
De Oriente Medio	1 de 91
Nativo americano	1 de 70
Sudasiático	1 de 118
Otro origen étnico	1 de 111
Otro origen étnico: > 1 origen étnico	1 de 34
Otro origen étnico: mitad afroamericano	1 de 56
Otro origen étnico: mitad caucásico	1 de 32
Otro origen étnico: mitad hispano	1 de 51
No se indica	1 de 37
Todos los individuos	1 de 38

Paneles de pruebas genéticas

Las pruebas FQ para mutaciones genéticas pueden variar mucho entre los diferentes laboratorios y dependen en gran medida de las pruebas utilizadas en estos. Algunos paneles limitan su cobertura a la recomendación de 23 variantes panétnicas de FQ del American College of Medical Genetics (ACMG, colegio estadounidense de genética médica)¹¹ de 2004 y el American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG, colegio estadounidense de obstetras y ginecólogos)¹² de 2011, mientras que otros incluyen variantes comunes y otras menos frecuentes que se encuentran en poblaciones de mayor diversidad étnica^{2,5,10,13}.

Las variantes incluidas en el panel recomendado por el ACMG originalmente se seleccionaron en función de su prevalencia en la población general de EE. UU. y su asociación conocida con la enfermedad de moderada a grave.

La validez clínica de estas variantes incluidas en el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística se basó en la información recopilada y publicada por el proyecto CFTR2^{14,15}. El proyecto CFTR2 está vinculado a la base de datos original de mutaciones de fibrosis quística (denominada ahora CFTR1), que recopila para la comunidad internacional de investigación de la FQ las identificadas variantes en el gen *CFTR*. El proyecto CFTR2 es una colaboración internacional entre investigadores de la fibrosis quística, médicos y registros que colaboran para clasificar todas las variantes encontradas en una base de datos de 39 696 pacientes con FQ en función del estado causante de la enfermedad: causantes de la enfermedad, mutaciones de consecuencias clínicas variables (MVCC) o mutaciones de importancia desconocida y que no causan FQ (es decir, benignas o neutras)^{14,15}. La clasificación de estas variantes se basa en datos clínicos (esto es, en los niveles de cloruro de sodio, en la función pulmonar y en la función pancreática), en estudios funcionales in vitro (esto es, síntesis de proteínas del CFTR, maduración, expresión, función y conductancia de cloruro) y en estudios de penetrancia. (utilizando padres aparentemente sanos y fértiles de pacientes con FQ para estudiar cualquier variante de *CFTR* que ocurra en el alelo que no se transmite a sus hijos afectados)¹⁴. A partir de septiembre de 2013, el proyecto

CFTR2 ha identificado más de 160 variantes que aparecen con una frecuencia de > 0,01 % en personas con FQ, de las que 134 variantes únicas (basadas en cambios a nivel de nucleótido y correspondientes a 129 variantes de la base de datos de CFTR2) han sido clasificadas como causantes de FQ^{14,15}.

Características del ensayo de 139 variantes de fibrosis quística

El análisis con el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística se realiza en el ADN extraído de una muestra de sangre completa. 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 (Poly-TG/Poly-T) y tres variantes benignas descritas de forma secundaria (I506V, I507V y F508C)¹⁶ 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). En la [Tabla 2](#) se puede consultar la lista de 139 variantes descritas en el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística.

Tabla 2 Resumen de variantes del ensayo de 139 variantes de fibrosis quística

[Listadas por el orden de coordenadas genómicas; **Negrita** = ACMG-23; *Cursiva* = Se comunica condicionalmente;

** = Validado con muestras sintéticas]

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>Poli-TG/Poli-T</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**	<i>I506V</i>
G330X	S549R (c.1647T>G)	G970R**	<i>I507V</i>
R334W	S549N	3120G>A	<i>F508C</i>
I336K	G551D	3120+1G>A	

† Clasificado en la base de datos de CFTR²¹⁵ como una variante que provoca la FQ, mientras que el artículo de Sosnay¹⁴ 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.

Se espera que el uso de una prueba que detecte todas estas variantes detecte al menos el 95,4 % de los alelos que causan FQ en pacientes con FQ de la cohorte de pacientes del proyecto CFTR2. Asimismo, la tasa de detección de parejas en riesgo de tener un hijo con fibrosis quística debería aumentar en aproximadamente el 91 % de las parejas con el uso de este panel, en comparación con el 72 % de las parejas con el uso del panel de 23 variantes recomendado por ACMG¹⁴. No obstante, estas estimaciones dependen de la distribución y de la frecuencia de las variantes en función de la variabilidad geográfica y étnica.

Indicación de la prueba

- ▶ Esta prueba se ha diseñado para evaluar el estado del portador de 139 variantes clínicamente relevantes del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*), incluidas las variantes recomendadas en 2004 por el ACMG¹¹ y en 2011 por el ACOG¹².
- ▶ Esta prueba se ha diseñado para ser utilizada en adultos en edad reproductiva.
- ▶ Esta prueba se ha diseñado para confirmar el diagnóstico en recién nacidos y niños.
- ▶ La prueba se ha diseñado para utilizarse como ayuda inicial en el diagnóstico de personas de las que se sospecha que padecen fibrosis quística.



PRECAUCIÓN

Esta prueba no está indicada para el cribado de recién nacidos, pruebas diagnósticas fetales, pruebas previas a implantaciones o con fines de diagnóstico independientes.

- ▶ El uso del ensayo de 139 variantes de fibrosis quística requiere la correspondiente receta.

Características de rendimiento de la prueba

El rendimiento de la prueba se basó en comparaciones con dos métodos de referencia: la secuenciación bidireccional de Sanger y un ensayo de PCR validado, con objeto de verificar la precisión del ensayo a la hora de detectar las 139 variantes. Dado lo poco frecuente de muchas de las variantes incluidas en el ensayo, no fue factible obtener muestras clínicas para todas ellas. En consecuencia, la precisión de la detección de algunas variantes se estableció utilizando muestras sintéticas, que constaban de construcciones de plásmidos complejas combinadas con ADN en estado natural para simular muestras heterocigóticas. El ensayo fue capaz

de identificar con precisión las variantes presentes en todas las muestras con una precisión global de > 99,99 %. Mediante un estudio de reproducibilidad realizado con los usuarios de tres centros, se demostró que el ensayo es reproducible tanto para la detección de la variante positiva (99,77 %) como de la variante negativa (99,88 %).

Guía de interpretación de resultados

Los resultados de la prueba deben interpretarse en el contexto de los hallazgos clínicos, los antecedentes familiares y otros datos del laboratorio. Puede ser que las pruebas moleculares no detecten todas las posibles mutaciones que producen FQ. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de que la persona sea portadora de una mutación no identificada en el gen *CFTR*. Esta prueba debe utilizarse conjuntamente con otra información clínica y de laboratorio que esté disponible. Todas las interpretaciones clínicas de las variantes detectadas las debe realizar un patólogo molecular certificado, un genetista molecular clínico, o equivalente. Es recomendable que el médico que solicite la prueba consulte con un genetista médico clínico certificado o con un asesor en genética. Asimismo, se recomienda a los pacientes que se asesoren a través de un asesor en genética. Se puede obtener más información a través de Cystic Fibrosis Foundation (www.cff.org), Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) (www.cftr2.org) y American College of Medical Genetics (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 *CFTR* y no incluye todas las variantes identificadas en él. Por lo tanto, la no identificación de una variante no garantiza que no existan otras variantes del *CFTR* en las muestras que se analizan.
- ▶ ACMG/ACOG recomiendan la presentación de informes condicionales para cuatro variantes que, a causa de la complejidad de su asociación con otras variantes, se consideran problemáticas a la hora de ser interpretadas. Las variantes comunicadas condicionalmente en el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística constan de la región Poly-TG/Poly-T (que se comunica si se identifica la variante R117H) y las variantes benignas I506V, I507V y F508C¹⁶ (comunicadas cuando se identifica un F508del o un I507del homocigótico) .



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 Poly-TG/Poly-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 PoliyTG/Poly-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.
- ▶ Aunque se sabe bastante sobre la gravedad de la enfermedad en algunas de las variantes, en otras la información es limitada y se basa en un número limitado de casos clínicos comunicados.
- ▶ En el caso de las variantes que se han validado únicamente a través de muestras sintéticas (Tabla 2), es recomendable que el laboratorio verifique la presencia de estas variantes con otro método homologado antes de comunicar los resultados. Póngase en contacto con el laboratorio que realiza la prueba para establecer el procedimiento de esta.
- ▶ Aunque es poco frecuente, en los laboratorios pueden producirse errores. Las diferencias subyacentes en el ADN de un paciente u otros factores analíticos pueden afectar al rendimiento del ensayo y provocar, en consecuencia, que se realicen llamadas o que se pierdan.

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, Stemen 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. Actualizado el 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 Updated January 06, 2013.
- 4 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). 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.
- 7 www.nlm.nih.gov/medlineplus/geneticdisorders.html.
- 8 Moskowitz SM, Chmiel JF, Stemen 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 [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.* 2013 Oct; 45(10): 1160-7.
- 15 Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). 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 o 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 EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS Y DAÑOS EN OTROS BIENES Y QUEDARÁ ANULADA TODA GARANTÍA APLICABLE AL PRODUCTO.

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

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Para obtener información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

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
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Países Bajos

Patrocinador australiano

Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia