

Vedlegg til leger: Cystisk fibrose 139-variantanalyse

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Genetisk testing og cystisk fibrose

Cystisk fibrose (CF) er en kronisk sykdom som påvirker flere organsystemer, spesielt lungene og mage-tarmkanalen. Det er den mest vanlige livstruende, autosomale, recessive sykdommen i USA og skyldes arv av en defekt kopi av *CFTR*-genet (cystisk fibrose transmembran ledeevneregulator) fra begge foreldre, som inneholder genetiske mutasjoner^{1,2}. Vanligvis diagnostiseres personer med CF gjennom nyfødtscreening og bekreftelse ved testing av klorid i svette i toårsalder³. Per dags dato er over 1900 varianter i *CFTR*-genet identifisert, men kun et relativt lite undersett av disse variantene er klinisk vist og funksjonelt verifisert å fremkalle cystisk fibrose⁴. En variant (noen ganger kalt «mutasjon» når den fremkaller sykdom) er en genetisk endring som identifiseres som avvikende fra den normale (eller «villtype») referansesekvensen som den sammenlignes med. *CFTR*-varianter kan være sykdomsfremkallende, ha varierende klinisk konsekvens, være godartede eller ha ukjent signifikans. De som har varierende klinisk konsekvens, kan fremkalle CF kun under visse betingelser eller være assosiert med CF-relaterte tilstander.

Hva er forventet levetid for pasienter med cystisk fibrose i USA?

Levetid og livskvalitet for en person som lever med CF, er svært avhengig av mange ulike faktorer, inkludert sykdommens alvorlighetsgrad og tidspunktet for oppstart av behandling. Det er viktig å merke seg at ikke alle *CFTR*-mutasjoner vil fremkalle alvorlig sykdom. Mange har en mild grad av CF, mens andre har moderat eller alvorlig sykdom. Data fra den amerikanske CF-foreningens pasientregister, som samler helsestatistikk fra pasienter behandlet ved institusjoner godkjent av den amerikanske CF-foreningen, viser at mer enn 47 % av CF-pasienter i USA er over 18 år, og at median total overlevelse per nå er 38,3 år⁵.

Epidemiologi for cystisk fibrose

CF er en av de mest vanlige autosomale, recessive genetiske sykdommene^{6,7}. Den har en estimert sykdomsinsidens på én av 2000 til 4000 levendefødte barn og en utbredelse på ca. 30 000 personer i USAs populasjon⁸. CF forekommer med ulik frekvens i populasjoner med forskjellig etnisitet og rase: én av 3000 kaukasiske, én av 9200 latinamerikanske, én av 10 900 indianere, én av 15 000 afrikansk amerikanske og én av 31 000 asiatisk amerikanske^{8,9}.

Genetisk testing og bærerundersøkelse for cystisk fibrose

Bærertesting kan brukes til å bestemme om noen har en genetisk variant i *CFTR*-genet. Testing er begrenset til de variantene som er kjent for å fremkalle sykdom. Hvis begge foreldrene har en sykdomsfremkallende variant, har barnet 25 % sannsynlighet for å arve begge genene og dermed utvikle sykdommen. Bærerdeteksjonsrater er avhengig av den enkelte personens rase og etnisitet, fordi mange mutasjoner er observert kun hos visse etniske grupper. Mer enn 10 millioner amerikanere er bærere av én mutasjon i *CF*-genet. Nåværende estimater for *CFTR*-mutasjonsbærerfrekvens etter etnisitet i USA, basert på en kohort med 364 890 personer henvist for bærertesting uten familiehistorikk med CF, står i [Tabell 1](#).

Tabell 1 Generell mutasjonsbærefrekvens for cystisk fibrose i ulike etniske grupper i USA¹⁰

Etnisk gruppe	Observert bærefrekvens
Afrikansk amerikansk	1 av 84
Ashkenazi-jødisk	1 av 29
Asiatisk	1 av 242
Kaukasisk	1 av 28
Latinamerikansk	1 av 59
Jødisk	1 av 32
Fra Midtøsten	1 av 91
Indianer	1 av 70
Sør-asiatisk	1 av 118
Annen etnisitet	1 av 111
Annen etnisitet: > 1 etnisitet	1 av 34
Annen etnisitet: delvis afrikansk amerikansk	1 av 56
Annen etnisitet: delvis kaukasisk	1 av 32
Annen etnisitet: delvis latinamerikansk	1 av 51
Ikke oppgitt	1 av 37
Alle personer	1 av 38

Genetiske testpaneler

CF-testing for genetiske mutasjoner kan variere betraktelig mellom laboratorier og avhenger av den spesifikke testen anvendt av laboratoriet. Noen laboratorier begrenser dekningen til de 23 panetriske CF-variantanbefalingene fra 2004 American College of Medical Genetics (ACMG)¹¹ og 2011 American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)¹², mens andre inkluderer ytterligere vanlige og sjeldnere varianter, som finnes i populasjoner med flere etnisiteter^{2,5,10,13}. Variantene inkludert i det ACMG-anbefalte panelet ble opprinnelig valgt basert på deres utbredelse i den generelle populasjonen i USA og kjent assosiasjon med moderat til alvorlig sykdom.

Den kliniske validiteten til disse variantene inkludert i cystisk fibrose 139-variantanalysen ble basert på informasjon innsamlet og publisert av CFTR2-prosjektet^{14,15}. CFTR2-prosjektet har forbindelser til den opprinnelige databasen over cystisk fibrose-mutasjoner (nå kalt CFTR1), som er forbeholdt innsamling av varianter identifisert i *CFTR*-genet for det internasjonale miljøet for CF-forskning. CFTR2 er et internasjonalt samarbeid mellom forskere, leger og registre innenfor cystisk fibrose, og man har som mål å kategorisere alle varianter funnet i en database over 39 696 pasienter med CF i henhold til pasientenes sykdomsfremkallende status: sykdomsfremkallende, mutasjoner med varierende klinisk konsekvens (MVCC), mutasjoner av ukjent signifikans og ikke-CF-fremkallende (dvs. godartet eller nøytral)^{14,15}. Klassifikasjonen av disse variantene er basert på kliniske data (dvs. natriumkloridnivåer, lungefunksjon og bukspyttkjertelfunksjon), in vitro-funksjonsstudier (dvs. CFTR-proteinsyntese, modning, ekspresjon, funksjon og kloridledeevne) og studier av gjennomslagskraft (ved bruk av tilsynelatende friske og fertile fedre til CF-pasienter for å studere eventuelle *CFTR*-varianter som forekommer på allelen og som ikke ble overført til deres sønner)¹⁴. Per september 2013 hadde CFTR2-prosjektet identifisert over 160 varianter som forekommer med en frekvens på > 0,01 % hos personer med CF, og av disse ble 134 unike varianter (basert på endringer i nukleotidnivå og tilsvarende 129 varianter i CFTR2-databasen) klassifisert som CF-fremkallende^{14,15}.

Cystisk fibrose 139-variantanalysens funksjoner

Testing med cystisk fibrose 139-variantanalysen utføres på DNA ekstrahert fra en fullblodprøve. Analysen tester for: 134 CF-fremkallende varianter, én ACMG-anbefalt panelvariant (R117H, klassifisert som MVCC (Mutation of Varying Clinical Consequence (mutasjon av varierende klinisk konsekvens)) av CFTR2), én betinget rapportert modifierende variant (PolyTG/PolyT) og tre betinget rapporterte godartede varianter (I506V, I507V, F508C)¹⁶, noe som gir totalt 139 rapporterte varianter.

De 134 CF-fremkallende variantene samsvarer med 129 CF-fremkallende varianter i CFTR2-databasen. CFTR2-databasen inkluderer fem CF-fremkallende varianter, og for hver av disse kan den samme endringen i proteinnivå skyldes to distinkte nukleotidendringer [f.eks. S466X(C>A) og S466X(C>G)]. Disse fem variantene er oppført etter aminosyrekodonet i CFTR2-databasen (f.eks. S466X), mens analysen rapporterer hver enkelt variant [f.eks. S466X(C>A) og S466X(C>G)]. Listen over 139-varianter rapportert av cystisk fibrose 139-variantanalysen står i [Tabell 2](#).

Tabell 2 Oversikt over cystisk fibrose 139-variantanalysens varianter

[Oppført etter genomisk koordinat. **Fet skrift**=ACMG-23, *Kursiv*=betinget rapportert, **=validert med syntetiske prøver]

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	

† Klassifisert i CFTR2-databasen¹⁵ som en CF-fremkallende variant, mens Sosnay-publikasjonen¹⁴ klassifiserer varianten som ubestemt.

Databaseklassifikasjonen er nyere og gjenspeiler gjennomført funksjonell testing, som ikke var tilgjengelig på tidspunktet for Sosnay-publikasjonen.

Bruken av en test som detekterer alle disse variantene, er forventet å detektere minst 95,4 % av CF-fremkallende alleler hos pasienter med CF i CFTR2-prosjektets pasientkohort. I tillegg vil bruk av dette panelet for par som har risiko for å få barn med cystisk fibrose, øke deteksjonsraten til ~91 %, sammenlignet med 72 % ved bruk av det ACMG-anbefalte panelet med 23 varianter¹⁴. Disse estimatene er imidlertid avhengig av variantfordistribusjon og -frekvens etter variabilitet i geografisk utbredelse og etnisitet.

Testindikasjon

- ▶ Denne testen er beregnet for evaluering av bærerstatus for 139 klinisk relevante varianter av *CFTR*-genet, inkludert varianter anbefalt i 2004 av ACMG¹¹ og i 2011 av ACOG¹².
- ▶ Denne testen er beregnet for bruk hos voksne i reproduktiv alder.
- ▶ Denne testen er beregnet for bekreftende diagnostisk testing av nyfødte og barn.
- ▶ Denne testen er beregnet for bruk som en innledende test for å bistå i diagnostiseringen av personer med mistenkt cystisk fibrose.



FORSIKTIG

Denne testen er ikke beregnet for nyfødtscreening, fosterdiagnostikk, testing før innsetting av embryo eller som eneste grunnlag for diagnostikk.

- ▶ Cystisk fibrose 139-variantanalysen er kun tilgjengelig på rekvisisjon.

Testens ytelsesegenskaper

Testytelsen er basert på sammenligninger med to referansemeter, Sanger-sekvensering og en validert PCR-analyse, for å verifisere analysens nøyaktighet for deteksjon av de 139 variantene. Fordi mange av analysens varianter er sjeldne, var det ikke mulig å innhente kliniske prøver av alle varianter. Derfor ble nøyaktighet for deteksjon av enkelte varianter etablert ved bruk av syntetiske prøver som besto av komplekse plasmidkonstruksjoner blandet med villtype-DNA for å simulere heterozygote prøver. Analysen identifiserte nøyaktig varianter i alle prøver med > 99,99 % total nøyaktighet. Gjennom en reproduktibilitetsstudie utført ved tre laboratorier viste analysen reproduktibilitet for både positiv (99,77 %) og negativ (99,88 %) variantdeteksjon.

Veiledning til resultattolkning

Testresultatene skal tolkes i sammenheng med kliniske funn, familiehistorikk og andre laboratoriedata. Molekylær testing vil kanskje ikke detektere alle mulige mutasjoner som fremkaller CF. Et negativt resultat utelukker ikke at personen kan ha en ikke-identifisert mutasjon i *CFTR*-genet. Denne testen skal anvendes med annen tilgjengelig laboratorieinformasjon og klinisk informasjon. Alle kliniske tolkninger av detekterte varianter

skal gjøres av en godkjent molekylær patolog, klinisk molekylær genetiker eller tilsvarende. Det anbefales at legen som rekvirerer testen, rådfører seg med en godkjent medisinsk genetiker eller genetisk konsulent. Pasienter anbefales også å rådføre seg med en genetisk konsulent. Du kan få mer informasjon fra Cystic Fibrosis Foundation (www.cff.org), Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) (www.cftr2.org) og American College of Medical Genetics (www.acmg.net).

Testens begrensninger

- ▶ Oppnådde resultater skal brukes og tolkes i sammenheng med en full klinisk evaluering.
- ▶ Produktet er utformet for å identifisere et spesifikt undersett av kjente varianter i *CFTR*-genet, men inkluderer ikke alle identifiserte varianter i *CFTR*-genet. Hvis en variant ikke identifiseres, er det derfor ikke noen garanti for at andre *CFTR*-varianter ikke forekommer i prøvene som analyseres.
- ▶ Betinget rapportering er anbefalt av ACMG/ACOG for fire varianter som er ansett som problematiske i tolkningen grunnet kompleksiteten i assosiasjonen med andre varianter. De betinget rapporterte variantene i cystisk fibrose 139-variantanalysen består av polyTG/polyT-regionen (som rapporteres når R117H-varianten identifiseres) og de godartede variantene I506V, I507V og F508C¹⁶ (rapportert når en homozygot F508del eller I507del identifiseres).



MERK

Fordi dette er en sekvenseringsbasert analyse, er det ikke noen interferens med F508del- eller I507del-rapportering for de tre godartede polymorfismene. Derfor vil det ikke bli gjort noen korrigeringer av det detekterte resultatet.

- ▶ Analysen kan ikke bestemme om retningen på PolyTG/PolyT-varianten er cis/trans i forhold til R117H-varianten. For pasienter med en R117H-variant bør det utføres ytterligere testing for å bestemme om en PolyTG/PolyT-variant, som kan påvirke den kliniske fenotypen (f.eks. 12-13(TG) eller 5T), er i cis/trans-retning i forhold til R117H-varianten.
- ▶ Varianter identifisert av denne analysen har varierende frekvens i forskjellige populasjoner.
- ▶ Selv om vi vet mye om sykdommens alvorlighetsgrad for noen av variantene, er det begrenset informasjon om andre varianter, og denne informasjonen er basert på et begrenset antall rapporterte kliniske tilfeller.
- ▶ For de variantene som ble validert kun ved hjelp av syntetiske prøver (Tabell 2), er det anbefalt at laboratoriet verifiserer forekomsten av slike varianter gjennom en annen validert metode før resultater rapporteres. Kontakt testlaboratoriet for å etablere testprosedyren.
- ▶ Laboratoriefeil forekommer sjelden, men kan forekomme. Underliggende forskjeller i en pasients DNA eller andre analytiske faktorer kan påvirke analysens ytelse og føre til feil eller manglende betegnelser.

Referanser

- 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. Tilgjengelig på www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250. Oppdatert 19. februar 2008.
- 3 U.S. National Newborn Screening Status Report genes-r-us.uthscsa.edu/sites/genes-r-us/files/nbsdisorders.pdf Oppdatert 6. januar 2013.
- 4 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). www.genet.sickkids.on.ca/app. [Elektronisk] September 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 [Elektronisk] Desember 2012.
- 10 Rohlfes 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. [Elektronisk] September 2013.
- 16 Grody WW, Cutting GR, Klinger KW, Richards CS, Watson MS, Desnick RJ. (Mars/april 2001) Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genetics in Medicine* 3(2): 149–154.

Patenter og varemerker

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

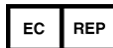
Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

AMPure, Beckman og Beckman Coulter er varemerker eller registrerte varemerker for Beckman Coulter, Inc.

Kontaktinformasjon



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Nederland

Australsk sponsor

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