

# TruSight™ Cystic Fibrosis

Una solución de la secuenciación de nueva generación para diagnóstico *in vitro* autorizada por la FDA que combina un amplio panel de variantes de fibrosis quística validadas funcionalmente y relevantes desde un punto de vista clínico que proporciona una perspectiva completa del gen *CFTR*.

## Puntos destacados

- **Dos ensayos reunidos en un único flujo de trabajo**  
Un flujo de trabajo de preparación de bibliotecas permite a los usuarios realizar dos ensayos preexistentes para analizar la fibrosis quística (FQ)
- **Cobertura completa de las variantes del *CFTR***  
El panel de variantes étnicamente diversas y la secuenciación completa del gen *CFTR* permiten cubrir las variantes clínicamente relevantes
- **Productividad flexible**  
Preparación eficiente de bibliotecas que proporciona una versátil productividad de 24 a 96 muestras por experimento
- **Resultados precisos y de fácil interpretación**  
Resultados muy precisos y reproducibles presentados en un informe claro y conciso



**Figura 1: TruSight Cystic Fibrosis:** TruSight Cystic Fibrosis combina ensayos ya existentes en un solo kit para mejorar la versatilidad y la productividad de las muestras.

## Introducción

La fibrosis quística (FQ) afecta aproximadamente a 70 000 niños y adultos en todo el mundo.<sup>1</sup> La enfermedad aparece cuando una persona hereda dos variantes que causan la enfermedad en el trans del gen del receptor transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*). Millones de personas son portadoras de un solo gen mutado y no presentan ningún síntoma. Muchas de estas personas, a las que se denomina portadores, desconocen su mutación y el riesgo de transmitir el gen de la fibrosis quística a su descendencia. Se calcula que la frecuencia de portadores es del 3 % de la población solo en los Estados Unidos.<sup>2</sup>

La fibrosis quística afecta a una población diversa y la mayor incidencia se observa en las personas de ascendencia caucásica.<sup>3</sup> El diagnóstico y el tratamiento precoz de la FQ puede mejorar la supervivencia y la calidad de vida.<sup>4</sup> Sin embargo, los métodos actuales de prueba de la FQ se centran en las variantes del *CFTR* que se encuentran más frecuentemente en personas de origen caucásico, con lo que pueden perderse variantes que causan FQ de otros espectros demográficos de posible relevancia clínica. El resultado es que las familias tienen que soportar largos períodos al tener que someterse a otras pruebas genéticas y que los pacientes pueden recibir con retraso el tratamiento que necesitan.

Para afrontar estos desafíos, Illumina proporcionaba el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística de MiSeq™Dx y el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística MiSeqDx. Estos ensayos fueron las primeras pruebas de diagnóstico *in vitro* de secuenciación de nueva generación (NGS) para la fibrosis quística aprobadas y autorizadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. (FDA, Food and Drug Administration). Estos ensayos previos se han aunado en una única solución de NGS de prueba de la fibrosis quística: TruSight Cystic Fibrosis (Figura 1).

## TruSight Cystic Fibrosis aúna los ensayos de FQ existentes

TruSight Cystic Fibrosis combina el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística de MiSeqDx y el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística de MiSeqDx en un único kit para proporcionar más versatilidad y productividad de las muestras,

junto a reactivos de secuenciación actualizados, todo ello conservando idéntico flujo de trabajo, especificaciones del producto y rendimiento que los ensayos originales. Como parte de la integración en TruSight Cystic Fibrosis, los ensayos ahora se denominan ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight y ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight.

## Flujo de trabajo integrado

TruSight Cystic Fibrosis integra ambos ensayos en un único flujo de trabajo de prueba de la FQ (figura 2). Los clientes deciden qué ensayo realizar al principio de la prueba seleccionando el módulo de análisis correspondiente en Local Run Manager (LRM). A continuación, los usuarios preparan las bibliotecas de muestras, las cargan en el instrumento MiSeqDx para la secuenciación y analizan los datos con el software adecuado.

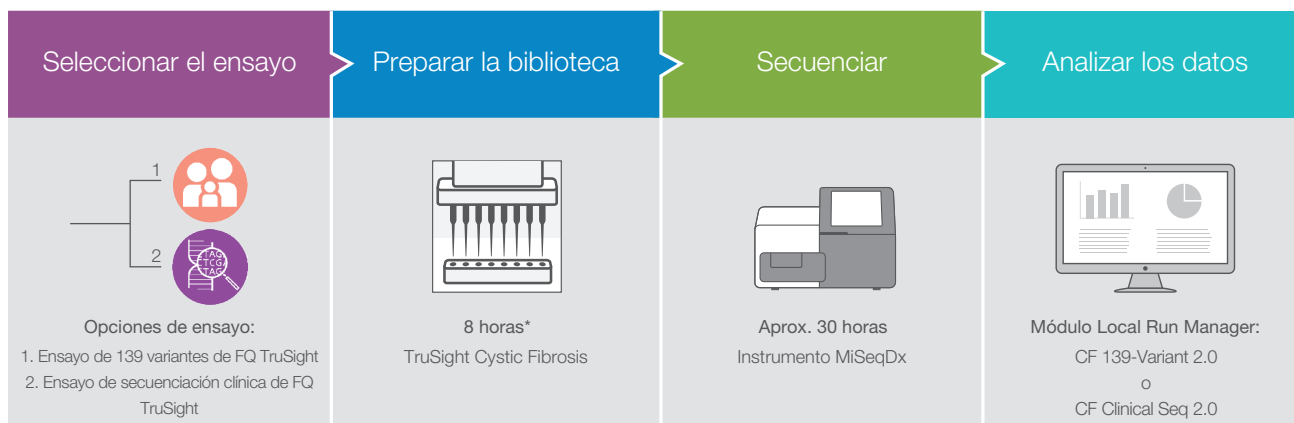
Para determinar mejor qué ensayo es el más adecuado para los objetivos de la prueba, los usuarios deben tener en cuenta lo siguiente:

- **Ensayo de 139 variantes de la fibrosis quística TruSight:** detecta con precisión 139 variantes de *CFTR*<sup>5</sup> clínicamente relevantes (tabla 1).
- **Ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight:** secuencia todas las regiones de codificación de proteínas y los límites intrón/exón (figura 3) y ofrece una perspectiva completa del gen del *CFTR*.

Para obtener más información, consulte la [Declaración de uso previsto](#) o lea el prospecto del envase.

## Configuración optimizada del kit

TruSight Cystic Fibrosis conserva el mismo flujo de trabajo, especificaciones de producto, calidad de los datos y rendimiento que el ensayo de fibrosis quística de 139 variantes MiSeqDx y el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística MiSeqDx. TruSight Cystic Fibrosis tiene una configuración modular y reactivos de preparación de bibliotecas y reactivos de secuenciación que se venden por separado, para poder seleccionar en el pedido los componentes necesarios.



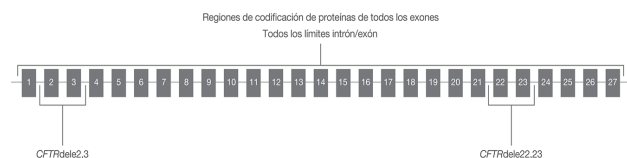
**Figura 2: Flujo de trabajo de TruSight Cystic Fibrosis:** TruSight Cystic Fibrosis proporciona un flujo de trabajo optimizado e integrado que incluye la preparación de la biblioteca, la secuenciación y análisis de los datos y la creación de informes de los ensayos de secuenciación clínica de 139 variantes de fibrosis quística TruSight. \* El tiempo de preparación de la biblioteca depende del rendimiento de la muestra y puede ser distinto.

Asimismo, TruSight Cystic Fibrosis utiliza el kit de reactivos MiSeqDx v3, que mejora la química de la secuenciación por síntesis (SBS), produce grupos más densos y mayores longitudes de lectura, y obtiene una mayor productividad de las muestras. El kit TruSight Cystic Fibrosis proporciona flexibilidad con el mismo kit, que se puede utilizar cuatro veces para procesar 24 muestras por experimento, o una sola vez para procesar 96 muestras en un único experimento. Todos los reactivos se proporcionan en un cómodo envase y listos para usar, lo que reduce el tiempo de participación activa y mejora la uniformidad de todas las pruebas.

**Tabla 1: El ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight ofrece un panel completo de variantes de CFTR clínicamente relevantes**

Mutaciones de la lista ACMG-23 recomendadas para el cribado de la FQ		
R347P	1717-1G>A	3849+10kbC>T
G85E	G542X	W1282X
R117H	G551D	711+1G>T
621+1G>T	R553X	R560T
R334W	2184delA	1898+1G>A
A455E	2789+5G>A	N1303K
I507del	3120+1G>A	R1162X
F508del	3659delC	

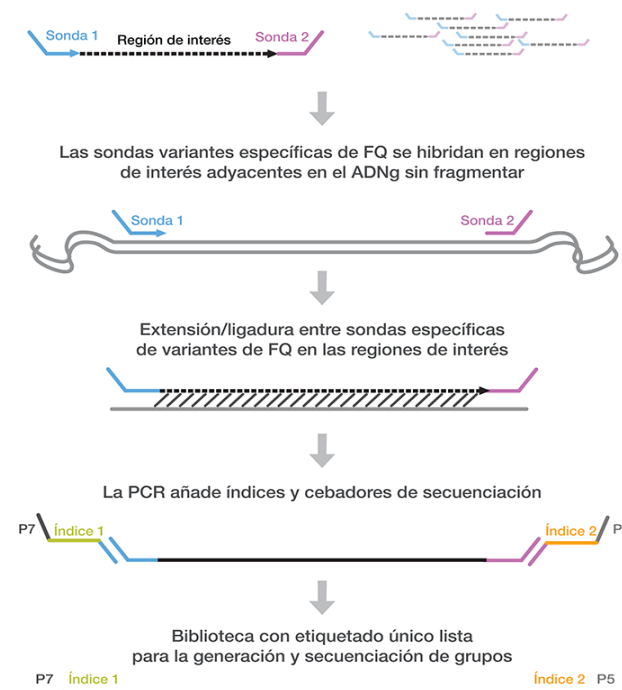
En la lista solo se incluye un subconjunto de las variantes incluidas en el ensayo. Para ver la lista completa de variantes del ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight, visite [www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis](http://www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis).



**Figura 3: Regiones del CFTR secuenciadas con el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight.** Las regiones del CFTR secuenciadas por el ensayo incluyen regiones de codificación de proteínas en todos los exones, límites intrón/exón, aproximadamente 100 nt de secuencia adyacente en las UTR 5' y 3', dos mutaciones intrónicas profundas (1811+1.6kbA>G, 3489+10kbC>T), dos grandes deleciones (CFTRdele2,3, CFTRdele22,23) y la región Poly-TG/Poly-T.

### Eficiente preparación de bibliotecas que aumenta la productividad

La preparación de la biblioteca se inicia con 250 ng de ADN genómico (ADNg) aislado de una muestra de sangre. El ADN se mezcla con un grupo de sondas de oligonucleótidos. Cada sonda incluye una secuencia diseñada para capturar la variante indicada y una secuencia del adaptador utilizada en una reacción de amplificación posterior. Las sondas se hibridan con el ADN, una previa y otra posterior a las variantes de CFTR específicas (figura 4). Una reacción de extensión-ligadura patentada se extiende por la región de interés, seguida de la ligadura, para unir las dos sondas. Esta reacción crea una hebra de cadena molde, lo que aporta al ensayo una especificidad excelente (tabla 2).



**Figura 4: Química de TruSight Cystic Fibrosis.** TruSight Cystic Fibrosis permite el multiplexado de hasta 96 muestras en un único experimento. Tanto el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight como el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight utilizan el mismo proceso químico para crear bibliotecas de secuenciación de alta calidad.

Para aumentar el número de muestras analizadas en un único experimento de secuenciación, las bibliotecas individuales se “etiquetan” con un identificador o índice exclusivos. Estos índices específicos de la muestra se añaden a cada cadena molde de extensión-ligadura en un paso de amplificación PCR. El producto de la reacción final incluye las variantes del *CFTR* junto con los adaptadores de secuenciación e índices necesarios para secuenciar con el instrumento MiSeqDx. Mediante una estrategia de secuenciación automatizada de cuatro lecturas, se identifican todas las muestra marcadas para análisis individuales sucesivos. Con este enfoque, la identificación de la muestra es muy precisa y se conserva la alta integridad del ensayo. En el caso de TruSight Cystic Fibrosis, se pueden agrupar 24-96 muestras y analizarlas en una celda de flujo MiSeqDx v3, tanto para el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística como para el ensayo de secuenciación clínica TruSight en un único experimento de secuenciación.

## Resultados muy precisos y de fácil interpretación

Los resultados de TruSight Cystic Fibrosis se presentan de una forma fácil de leer para que un genetista molecular certificado o su equivalente puedan interpretarlos con facilidad. Los informes de ambos ensayos incluyen el nombre del ensayo, el ID de muestra, la identificación de la variante, los genotipos y la tasa de llamadas de cada muestra (para que una muestra se considere válida, el  $\geq 99$  % de las posiciones deben tener llamadas). El ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight también proporciona el tipo de variante, la frecuencia alélica, las coordenadas genómicas y la profundidad de secuenciación de cada variante identificada. Aparte de los informes generados por el software Local Run Manager, los usuarios pueden acceder a archivos de datos sin procesar para almacenarlos como proceda.

Tabla 2: Rendimiento de TruSight Cystic Fibrosis

Ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight			
Característica	CP <sup>a</sup>	CN <sup>b</sup>	CT <sup>c</sup>
Precisión	100 %	>99,99 %	>99,99 %
Reproducibilidad	99,77 %	99,88 %	99,88 %
Ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight			
Característica	CP <sup>a</sup>	CN <sup>b</sup>	CT <sup>c</sup>
Precisión	99,66 %	>99,99 %	>99,99 %
Reproducibilidad	99,22 %	99,70 %	99,70 %

a. La coincidencia positiva (CP) es el número de muestras con llamadas de variantes coincidentes dividido por el número total de muestras con esa variante, según se identificó con el método de referencia.

b. Se calculó la coincidencia negativa (CN) en todas las posiciones de cepa salvaje (CS) dividiendo el número de posiciones de cepa salvaje coincidentes por el número total de posiciones de esta, según se identificó con los métodos de referencia.

c. La coincidencia total (CT) se calculó en todas las posiciones conocidas dividiendo el número de posiciones de cepa salvaje y de las variantes coincidentes por el número total de posiciones conocidas, tal y como se determina en los métodos de referencia.

## Resumen

TruSight Cystic Fibrosis ofrece un kit de nueva configuración que combina el ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight y el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight (anteriormente denominados como ensayos de FQ MiSeqDx) en una única solución. TruSight Cystic Fibrosis conserva el mismo flujo de trabajo, especificaciones de producto, calidad de los datos y rendimiento que el ensayo de fibrosis quística de 139 variantes MiSeqDx y el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística MiSeqDx. El ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight combina un panel ampliado de 139 variantes con la avanzada tecnología NGS. El ensayo proporciona resultados precisos para una población étnicamente diversa y mejora la detección de las parejas en riesgo de tener descendencia afectada por la enfermedad. Si se desea una perspectiva más amplia de la FQ, el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight permite secuenciar el gen del *CFTR* y tener una visión genética integral que no pueden proporcionar los paneles de genotipado molecular estándar. Los datos adicionales evitan el sesgo demográfico y permiten detectar de forma precisa dos deleciones grandes, dos mutaciones intrónicas profundas e indels en las regiones homopoliméricas. TruSight Cystic Fibrosis proporciona una solución integrada para realizar la prueba de FQ que permite a los médicos detectar variantes conocidas antes de analizar el gen del *CFTR* en búsqueda de nuevas mutaciones.

## Información adicional

Para obtener más información acerca de TruSight Cystic Fibrosis, visite [www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis.html](http://www.illumina.com/TruSightCysticFibrosis.html).

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
TruSight Cystic Fibrosis	20036925
Instrumento MiSeqDx	DX-410-1001
Kit de reactivos MiSeqDx v. 3	20012552

## Versátil plataforma de NGS para pruebas de diagnóstico in vitro

Además, aparte de TruSight Cystic Fibrosis, hay disponible un creciente cartera de ensayos de diagnóstico *in vitro* aprobados y autorizados por la FDA para utilizarse con el instrumento MiSeqDx:

- **Kit de amplicones personalizados TruSeq™Dx:** Un kit validado y regulado por la FDA con certificación CE-IVD que permite que los laboratorios clínicos puedan diseñar ensayos de NGS personalizados.
- **Praxis™ Extended RAS Panel:** El primer diagnóstico *in vitro* de NGS aprobado por la FDA para evaluar mutaciones RAS en el cáncer colorrectal y determinar la idoneidad del paciente para el tratamiento con Vectibix.

## Declaraciones de uso previsto

### Uso previsto del ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight

El ensayo de 139 variantes de fibrosis quística TruSight de Illumina es un sistema cualitativo de diagnóstico *in vitro* utilizado para detectar simultáneamente 139 mutaciones y variantes de interés clínico del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*) que provocan la enfermedad de fibrosis quística en el ADN genómico aislado de las muestras de sangre humana completa periférica. Las variantes incluyen las recomendadas en 2004 por el American College of Medical Genetics (ACMG)<sup>6</sup> y las recomendadas en 2011 por el American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG).<sup>7</sup> La prueba está diseñada para el cribado de portadores en adultos en edad reproductiva, en pruebas de diagnóstico de confirmación de recién nacidos, y niños y como prueba inicial para ayudar en el diagnóstico de personas con posibles síntomas de fibrosis quística. Los resultados de esta prueba pueden ser interpretados por un genetista molecular clínico acreditado o equivalente y deben utilizarse con el resto de la información clínica y de laboratorio disponible. Esta prueba no está indicada para el cribado de recién nacidos, pruebas diagnósticas fetales, pruebas previas a implantaciones o fines de diagnóstico independientes. La prueba está diseñada para su uso en el instrumento MiSeqDx de Illumina.

### Uso previsto del ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight

El ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight de Illumina es un sistema de diagnóstico *in vitro* de secuenciación selectiva que resecuencia las regiones de codificación de proteínas y los límites intrón/exón del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*) en el ADN genómico aislado de muestras de sangre humana completa periférica obtenidas en K2EDTA. La prueba detecta variantes de nucleótido único, así como pequeñas indels en la región secuenciada, e identifica asimismo dos mutaciones intrónicas profundas y dos deleciones de gran tamaño. La prueba está diseñada para su uso en el instrumento MiSeqDx de Illumina.

La prueba se ha diseñado para utilizarse como ayuda en el diagnóstico de personas con síntomas de fibrosis quística. Este ensayo resulta más apropiado cuando el paciente presenta una fibrosis quística atípica o no clásica o cuando otros paneles de mutaciones no han podido identificar las mutaciones causantes. Los resultados de la prueba los debe interpretar un especialista certificado en genética molecular clínica o un homólogo y se deben utilizar junto con otra información disponible como, por ejemplo, los síntomas clínicos, otras pruebas diagnósticas y los antecedentes familiares. Esta prueba no está indicada para pruebas diagnósticas fetales, pruebas previas a implantaciones, de evaluación de portadores, de evaluación de recién nacidos o de cribado de la población, ni con fines de diagnóstico independientes.

## Referencias

1. Cystic Fibrosis Foundation. [www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/](http://www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/). Consultado por última vez el 10 de noviembre de 2019.
2. Strom CM, Crossley B, Buller-Buerkle A, et al. Cystic fibrosis testing 8 years on: lessons learned from carrier screening and sequencign analysis. *Genet Med*. 2011;13(2):166–172.
3. Mirtajani SB, Farnia P, Hassanzad M, et al. Geographical distribution of cystic fibrosis; the past 70 years of data analysis. *Biomed and Biotech Res J*. 2017;1(2):105–112.
4. Rock MJ, Levy H, Zaleski C, Farrell PM. Factors accounting for a missed diagnosis after newborn screening. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46(12):1166–1174.
5. Clinical and Functional Translation of CFTR. [www.cftr2.org](http://www.cftr2.org). Consultado por última vez el 10 de noviembre de 2019.
6. Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet*. 2013;45:1160–1167.
7. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, et al. Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genet Med* 2004;6(5):387–391.
8. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. ACOG Committee Opinion No. 486: Update on carrier screening for cystic fibrosis. *Obstet Gynecol*. 2011;117(4):1028–1031.

Illumina • 1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1 858 202 4566 • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, visite [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Doc # 1000000121536 v00 ESP QB9188

