

Orvosoknak szóló tájékoztató: Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálata

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA

A cisztás fibrózis genetikai vizsgálata

A cisztás fibrózis (CF) krónikus betegség, amely több szervrendszert, különösen a tüdőt és az emésztőrendszert érinti. Ez a leggyakoribb életveszélyes autoszomális recesszív rendellenesség az Egyesült Államokban; oka a cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia receptor (*CFTR*) gén hibás, genetikai mutációt tartalmazó példányának öröklése mindkét szülőtől^{1,2}. A CF-et általában újszülöttkori szűrővizsgálattal diagnosztizálják, és a verejték kloridkoncentrációjának vizsgálatával igazolják legkésőbb két éves korban³. Eddig a *CFTR* gén több mint 1900 variánsát azonosították, azonban csak egy viszonylag kis részükben történt klinikai és funkcionális igazolás és annak megállapítása, hogy cisztás fibrózist okoz⁴. A variáns (más néven „mutáció”, ha betegséget okoz) olyan genetikai változás, amely a normális („vad típusú”) szekvenciától eltérőként azonosítható. A *CFTR* variánsai lehetnek betegséget okozó, változó klinikai következményekkel járó, jóindulatú, illetve ismeretlen jelentőségű variánsok. A változó klinikai következményekkel járó variánsok csak bizonyos körülmények között okoznak CF-et, vagy társulnak CF-fel összefüggő állapotokhoz.

Mennyi a cisztás fibrózisban szenvedő betegek várható élettartama az Egyesült Államokban?

Az, hogy egy személy mennyi ideig és milyen életminőségben élhet CF-fel, számos különböző tényezőtől függ, többek között a betegség súlyosságától és a kezelés megkezdésének időpontjától. Fontos megjegyezni, hogy nem minden *CFTR*-mutáció vezet súlyos betegséghez. Sok betegnél enyhe, míg másoknál mérsékeltén súlyos vagy súlyos CF áll fenn. A CF Foundation alapítvány által akkreditált intézményekben kezelt betegek információit tartalmazó nyilvántartás adatai szerint az Egyesült Államokban a CF-ben szenvedő betegek több mint 47%-a legalább 18 éves, és a jelenlegi teljes túlélés medián értéke 38,3 év⁵.

A cisztás fibrózis epidemiológiája

A CF az egyik leggyakoribb autoszomális recesszív genetikai rendellenesség^{6,7}. A betegség becsült incidenciája 2000-4000 élveszületésből egy, prevalenciája pedig az Egyesült Államokban körülbelül 30 000 személy⁸. A CF különböző etnikai populációkban különböző gyakorisággal fordul elő: 1/3000 kaukázusi; 1/9200 latin-amerikai; 1/10 900 amerikai őslakos; 1/15 000 afroamerikai; 1/31 000 ázsiai származású amerikai^{8,9}.

A cisztás fibrózis genetikai vizsgálata és hordozószűrése

A hordozók vizsgálatával megállapítható, hogy egy személy hordozza-e a *CFTR* gén genetikai variánsát. Csak azoknak a variánsoknak a vizsgálata történik, amelyekről ismert, hogy betegséget okoznak. Ha mindkét szülő hordoz betegséget okozó variánst, akkor a gyermek 1:4 valószínűséggel mindkét variánst örökli, és így kialakul a betegség. A hordozók felismerési aránya függ a személyek etnikai hovatartozásától, mivel számos mutáció csak bizonyos etnikai csoportoknál figyelhető meg. Az Amerikai Egyesült Államok lakosságából több mint 10 millióan hordozzák a CF-gén valamelyik mutációját. Az 1. táblázat tartalmazza a *CFTR*-mutáció hordozási gyakoriságának aktuális becsült értékei etnikai hovatartozás szerint az Egyesült Államokban, 364 890 olyan személy adatai alapján, akiket hordozói vizsgálatra utaltak, és családi anamnézisükben nem szerepelt CF.

1. táblázat: A cisztás fibrózis mutációja hordozásának gyakorisága az Egyesült Államokban élő különböző etnikai csoportokban¹⁰

Etnikai csoport	Hordozás megfigyelt gyakorisága
Afroamerikai	1:84
Askenázi zsidó	1:29
Ázsiai	1:242
Kaukázusi	1:28
Latin-amerikai	1:59
Zsidó	1:32
Közel-keleti	1:91
Amerikai őslakos	1:70
Dél-ázsiai	1:118
Egyéb etnikai hovatartozás	1:111
Egyéb etnikai hovatartozás: egynél több etnikai csoportba tartozó	1:34
Egyéb etnikai hovatartozás: részben afroamerikai	1:56
Egyéb etnikai hovatartozás: részben kaukázusi	1:32
Egyéb etnikai hovatartozás: részben latin-amerikai	1:51
Nincs megadva	1:37
Minden személy összesítve	1:38

Genetikai vizsgálati panelek

A CF genetikai mutációinak vizsgálata nagymértékben eltérő lehet az egyes laboratóriumokban, és a laboratórium által használt vizsgálati módszertől függ. Egyes laboratóriumok csak az American College of Medical Genetics (ACMG) 2004. évi ajánlásában¹¹ és az American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 2011. évi ajánlásában¹² szereplő 23, minden etnikumban előforduló variáns jelenlétét vizsgálják, míg mások további gyakori és ritkább variánsokat is vizsgálnak, amelyek etnikailag változatosabb populációkban fordulnak elő^{2,5,10,13}. Az ACMG által ajánlott panelben szereplő variánsokat eredetileg az amerikai általános lakosságban való előfordulási gyakoriságuk és a közepesen súlyos vagy súlyos betegséggel való ismert kapcsolatuk alapján választották ki.

A Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálatban szereplő variánsok klinikai validitása a CFTR2 Project^{14,15} által összegyűjtött és közzétett információkon alapul. A CFTR2 Project kapcsolódik az eredeti Cystic Fibrosis Mutations Database (mai elnevezése CFTR1) adatbázishoz, amelynek célkitűzése a *CFTR* gén azonosított variánsainak összegyűjtése a nemzetközi kutató közösség számára. A CFTR2 a cisztás fibrózissal foglalkozó kutatók, klinikusok és nyilvántartások közötti nemzetközi együttműködés, amelynek célja a 39 696 CF-betegből álló adatbázisban talált összes variáns besorolása a betegséget okozó jellemzőik szerinti következő csoportokba: betegséget okozó, változó klinikai következményekkel járó (MVCC), ismeretlen jelentőségű, illetve CF-et nem okozó (jóindulatú vagy semleges) variánsok^{14,15}. E variánsok osztályozása klinikai adatokon (pl. nátrium-klorid szint, tüdőfunkció és hasnyálmirigy-funkció), in vitro funkcionális vizsgálatokon (pl. CFTR fehérje szintézise, érése, expressziója, működése és a klorid áteresztése), valamint penetrancia-vizsgálatokon (CF-ben szenvedő betegek látszólag egészséges és termékeny apáinál az érintett fiaikra nem öröklődő allélon található *CFTR* -variánsok vizsgálata) alapul¹⁴. 2013 szeptemberéig a CFTR2 projekt keretében több mint 160 olyan variánst azonosítottak, amelyek > 0,01%-os gyakorisággal fordulnak elő CF-ben szenvedő személyekben, amelyek közül 134 egyedi variánst (nukleotidszintű változások alapján, a CFTR2 adatbázis 129 variánsának felelnek meg) CF-et okozónak minősítettek^{14,15}.

A Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálat jellemzői

A Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálat teljesvér-mintából kivont DNS-en történik. A vizsgálat a következőket vizsgálja: 134 cisztás fibrózist okozó variáns; egy, az ACMG által ajánlott panelvariáns (R117H, amelyet a CFTR2 változó klinikai következményekkel járó mutációnak (MVCC) minősít); egy feltételesen bejelentett módosító variáns (PolyTG/PolyT); illetve három feltételesen bejelentett jóindulatú variáns (I506V, I507V, F508C)¹⁶; összesen 139 bejelentett variáns.

A 134 cisztás fibrózist (CF) okozó variáns megfelel a CFTR2 adatbázisban szereplő 129 CF-et okozó variánsnak. A CFTR2 adatbázis öt CF-et okozó variánst tartalmaz, amelyek esetében ugyanaz a fehérjeszint-változás alakulhat ki két különböző nukleotidváltozás [pl. S466X(C>A) és S466X(C>G)] miatt. Ez az öt variáns a CFTR2 adatbázisban az aminosavkód szerint van felsorolva (pl. S466X), míg a vizsgálat különböző mutációként jelenti az egyes variánsokat [pl. S466X(C>A) és S466X(C>G)]. A Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálat által jelentett 139 variáns listáját a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálat; a variánsok összefoglalása

[Genomikus koordináta szerinti sorrendben; **félkövér** = ACMG-23; *dőlt betűs* = feltételesen jelentett; ** = szintetikus mintákkal validálva]

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	

† A CFTR2 adatbázisban¹⁵ CF-et okozó variánsként van besorolva, míg Sosnay közleménye¹⁴ a variánst bizonytalanul minősíti. Az adatbázisban aktuálisabb az osztályozás, és tükrözi a befejezett funkcionális tesztelést, amely Sosnay közleményének idején még nem állt rendelkezésre.

Az összes ilyen variánst kimutató vizsgálat várhatóan a CFTR2 projektben részt vevő, CF-ben szenvedő betegeknek a CF-et okozó allélok legalább 95,4%-át kimutatja. A tisztás fibrózisos gyermek születése szempontjából veszélyeztetett párok felismerési aránya e panel használatával ~91%, míg az ACMG által ajánlott 23 variánst tartalmazó panel használatával a párok 72%-a¹⁴. Ezek a becslések azonban a variánsok földrajzi és etnikai változékonysága szerinti eloszlásától és gyakoriságától függenek.

A vizsgálat javallata

- ▶ Ez a vizsgálat a tisztás fibrózis transzmembrán konduktancia szabályozó gén (*CFTR*) 139 klinikailag releváns variánsának hordozói státuszának értékelésére szolgál, beleértve az ACMG¹¹ által 2004-ben és az ACOG¹² által 2011-ben ajánlott variánsokat is.
- ▶ Ez a vizsgálat reprodukív korú felnőtteknél való alkalmazásra szolgál.
- ▶ Ez a vizsgálat újszülöttek és gyermekek körében megerősítő diagnosztikai vizsgálatként való alkalmazásra szolgál.
- ▶ Ez a vizsgálat első vizsgálatként való alkalmazásra szolgál gyaníthatóan tisztás fibrózisban szenvedő személyek diagnosztizálásához.



FIGYELEM!

Ez a vizsgálat nem szolgál önmagában diagnosztikai célra, újszülöttkori szűrésre, magzati diagnosztikai vizsgálatra vagy preimplantációs vizsgálatra.

- ▶ A Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálat csak orvosi rendelvényre kapható.

A vizsgálat teljesítményjellemzői

Két referencia-módszerrel, a Sanger-féle kétirányú szekvenálással és egy validált PCR-vizsgálattal összehasonlítva értékelték a vizsgálat teljesítményét, vagyis a pontosságát a 139 variáns kimutatásában. A vizsgálatban szereplő számos variáns ritkasága miatt nem volt lehetséges valamennyi variánsra vonatkozóan klinikai mintát beszerezni. Ezért a heterozigóta minták szimulálása érdekében vad típusú DNS-sel kevert komplex plazmidkonstrukciókból álló szintetikus minták segítségével állapították meg bizonyos variánsok kimutatásának pontosságát. A vizsgálat pontosan azonosította az összes mintában jelen lévő variánsokat > 99,99%-os általános pontossággal. A három használati helyszínen végzett reprodukálhatósági vizsgálat során bebizonyosodott, hogy a vizsgálat reprodukálható mind a pozitív variánsok (99,77%), mind a negatív variánsok (99,88%) kimutatására.

Útmutató az eredmények értelmezéséhez

A vizsgálati eredményeket a klinikai leletek, a családi anamnézis és az egyéb laboratóriumi adatok összefüggésében kell értelmezni. A molekuláris vizsgálatok nem feltétlenül mutatják ki a CF kialakulásához vezető összes lehetséges mutációt. A negatív eredmény nem zárja ki annak lehetőségét, hogy a személynél a *CFTR* génben azonosítatlan mutáció van jelen. Ezt a vizsgálatot a többi rendelkezésre álló laboratóriumi és klinikai információval együtt kell használni. A variánsok minden klinikai értelmezését szakvizsgálóval rendelkező klinikai molekuláris patológusnak, klinikai molekuláris genetikusnak vagy ezzel egyenértékű képesítésű szakembernek kell végeznie. A vizsgálatot rendelő orvosnak ajánlott szakvizsgálóval rendelkező klinikai orvosi genetikussal vagy genetikai tanácsadóval konzultálnia. A betegeknek ajánlott genetikai tanácsadóval konzultálniuk. További tájékoztatás kapható a következő szervezetektől: Cystic Fibrosis Foundation (www.cff.org), Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) (www.cftr2.org) és American College of Medical Genetics (www.acmg.net).

A vizsgálat korlátozásai:

- ▶ Az eredményeket a klinikai kivizsgálás minden adatának összefüggésében kell értelmezni.
- ▶ A terméket úgy tervezték, hogy a *CFTR* gén ismert variánsainak egy meghatározott részhalmazát azonosítsa, de nem tartalmazza a *CFTR* génben azonosított összes variánst. Ezért ha nem azonosítható egy variáns, az nem garantálja, hogy az elemzett mintákban nincs jelen másféle *CFTR*-variáns.
- ▶ Az ACMG/ACOG négy olyan variáns esetében ajánlotta a feltételes jelentéstételt, amelyek értelmezése problematikusnak tekinthető a más variánsokkal való társulásuk bonyolultsága miatt. A feltételesen jelentendő variánsok a Cisztás fibrózis 139 variáns vizsgálatban a polyTG/polyT régióból (amelyet akkor leletez, ha az R117H variánst azonosítja) és az I506V, I507V és F508C¹⁶ jóindulatú variánsokból (amelyeket akkor leletez, ha homozigóta F508del vagy I507del variánst azonosítanak) állnak.



MEGJEGYZÉS

Mivel szekvenálással történik a vizsgálat, az F508del vagy I507del jelenléte nem befolyásolja a három jóindulatú polimorfizmus jelentését. Ezért nem történik a kimutatott eredmény korrekciója.

- ▶ A vizsgálat nem tudja meghatározni, hogy a PolyTG/PolyT variáns cisz vagy transz irányban van-e az R117H variánshoz képest. Az R117H variánssal rendelkező betegek esetében további vizsgálatokat kell végezni annak megállapítására, hogy a klinikai fenotípust befolyásoló PolyTG/PolyT variáns (pl. 12-13(TG) vagy 5T) cisz vagy transz helyzetben van-e az R117H variánshoz képest.
- ▶ Az ezzel a vizsgálattal azonosított variánsok gyakorisága eltérő a különböző betegpopulációkban.
- ▶ Egyes variánsok esetében sokat lehet tudni a betegség súlyosságáról, míg mások esetében kevés a jelentett klinikai eset, és ezért korlátozott az ismeretek mennyisége.
- ▶ Azon variánsok esetében, amelyeket csak szintetikus mintákon validáltak (2. táblázat), ajánlott, hogy a laboratórium az eredmények jelentése előtt egy másik validált módszerrel ellenőrizze a variáns jelenlétét. Vegye fel a kapcsolatot a vizsgáló laboratóriummal a vizsgálati eljárásuk megállapítása érdekében.
- ▶ A laboratóriumi vizsgálatok eredménye hibás lehet, bár ez ritkán fordul elő. A páciens DNS-ében rejlő különbségek vagy más analitikai tényezők befolyásolhatják a vizsgálat teljesítményét, és következésképpen az azonosítások létrejöttét vagy elmaradását eredményezhetik.

Hivatkozások

- 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. Available at www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250. Updated February 19, 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. [Online] 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, 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] December 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. [Online] September 2013.
- 16 Grody WW, Cutting GR, Klinger KW, Richards CS, Watson MS, Desnick RJ. (March/April 2001) Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genetics in Medicine* 3(2): 149–154.

Módosítási előzmények

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
Dokumentumszám: 15052172 v03	2021. augusztus	Módosítási előzményeket tartalmazó táblázat hozzáadása. Az európai uniós meghatalmazott képviselő címének frissítése.

Szabadalmak és védjegyek

A jelen dokumentum és annak tartalma az Illumina, Inc. és annak leányvállalatai („Illumina”) tulajdonát képezi, és kizárólag a jelen dokumentumban ismertetett termék(ek) szerződésszerű működtetéséhez használható. Egyéb célokra nem használható. A dokumentum és annak tartalma az Illumina előzetes írásos engedélye nélkül ettől eltérő célokra nem használható és forgalmazható, továbbá semmilyen formában nem kommunikálható, hozható nyilvánosságra vagy reprodukálható. Az Illumina a jelen dokumentummal nem biztosít licenct a termék vásárlójának a harmadik felek szabadalmi, védjegyjogi, szerzői jogi, szokásjogi vagy egyéb oltalom alatt álló jogosultságaihoz.

A jelen dokumentumban szereplő utasításokat a kvalifikált és megfelelően képzett személyzetnek szigorúan be kell tartania az itt ismertetett termék(ek) megfelelő és biztonságos használata érdekében. A termék(ek) használata előtt a felhasználó köteles átolvasni és értelmezni a jelen dokumentumban leírtakat.

AZ ITT SZEREPLŐ INFORMÁCIÓK ELOLVASÁSÁNAK VAGY AZ UTASÍTÁSOK BETARTÁSÁNAK ELMULASZTÁSA ESETÉN A TERMÉK (EK) MEGSÉRÜLHETNEK, ILLETVE SZEMÉLYI SÉRÜLÉS KÖVETKEZHET BE, IDEÉRTVE A FELHASZNÁLÓKAT ÉS MÁSOKAT IS, ILLETVE EGYÉB ANYAGI KÁROK KÖVETKEZHETNEK BE. EZENFELÜL ILYEN ESETEKBE A TERMÉK(EK)RE VONATKOZÓ GARANCIA ÉRVÉNYÉT VESZTI.

AZ ILLUMINA SEMMIFÉLE FELELŐSSÉGET NEM VÁLLAL AZ ITT BEMUTATOTT TERMÉK(EK) HELYTELEN HASZNÁLATÁBÓL FAKADÓ KÁROKÉRT (AZ ALKATRÉSZEKET ÉS A SZOFTVERT IS IDEÉRTVE).

© 2021 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a www.illumina.com/company/legal.html oldalon.

Az AMPure, a Beckman és a Beckman Coulter a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei.

Elérhetőségek



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Hollandia

Ausztrál szponzor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Ausztrália