

| Muestra | Nombre de la HGVS (o ubicación sin HGVS) | Nombre de la variante | Resultados totales | | Llamadas coincidentes | | | Total (todos los centros) | | % de coincidencia |
|---------|--|--------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|----------|----------|--------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas [€] | Llamadas incorrectas | |
| 77 | c.489+1G>T | 621+1G>T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.1581A>G | E527E | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.1680-1G>A | 1812-1 G>A | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.2562T>G | T854T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.312delA | 444delA | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.3870A>G | P1290P | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | c.4389G>A | Q1463Q | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 79 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 79 | c.220C>T | R74W | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 79 | c.2562T>G | T854T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 79 | c.3808G>A | D1270N | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | c.-8G>C | 117120141 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | c.1521_1523delCTT | F508del | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | c.1657C>T | R553X | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | c.2562T>G | T854T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | c.1521_1523delCTT | F508del | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | c.1652G>A | G551D | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | c.2562T>G | T854T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | c.4389G>A | Q1463Q | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | c.1040G>C | R347P | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | c.1521_1523delCTT | F508del | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | c.4272C>T | Y1424Y | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |

| Muestra | Nombre de la HGVS (o ubicación sin HGVS) | Nombre de la variante | Resultados totales | | Llamadas coincidentes | | | Total (todos los centros) | | % de coincidencia |
|--|--|--------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|----------|----------|--------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas [€] | Llamadas incorrectas | |
| 83 | c.-4G>C | 11720145 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 83 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 83 | c.1521_1523delCTT | F508del | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 83 | c.350G>A | R117H | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | c.1408G>A | V470M | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | c.1519_1521delATC | I507del | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | c.2562T>G | T854T | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | c.4389G>A | Q1463Q | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 |
| Total de todas las variantes (coincidencia positiva)** (incluyendo datos de Poli-TG/Poli-T de la Tabla 25) | | | 2580 | 7740 | 2562 | 2553 | 2565 | 37 | 23 | 99,22 |
| Total de todas las cepas salvajes (coincidencia negativa) | | | 2871132 | 8613396 | 2865930 | 2855526 | 2865932 | 26006 | 2 | 99,70 |
| Total de todas las cepas salvajes y variantes (coincidencia total) | | | 2873712 | 8621136 | 2868492 | 2858079 | 2868497 | 26043 | 25 | 99,70 |

[€] No se volvieron a analizar las muestras.

[^] Un duplicado de cada una de las muestras 5 y 75 presentó un índice de llamada del 0 %. Investigaciones adicionales indicaron que es posible que las muestras no se hubiesen añadido a la placa de muestras antes de la preparación de bibliotecas.

* Tras su revisión, se comprueba que el operador ha podido alternar las muestras 9 y 10 antes de la preparación de bibliotecas.

** Excluidas las variantes de Poli-TG/Poli-T, la coincidencia positiva fue del 99,60 %.

Tabla 25 Reproducibilidad de Poli-TG/Poli-T para el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística

| Panel | Muestra | Genotipo | N.º de resultados | | Llamadas coincidentes | | | Total de todos los centros | | % de coincidencia |
|-------|---------|-----------------------|-------------------|----------------------|-----------------------|----------|----------|----------------------------|-------------------------|----------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas | Llamadas incorrectas | |
| A | 1 | (TG)12(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 2 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 3 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 4 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| A | 5 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 5 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |

| Panel | Muestra | Genotipo | N.º de resultados | | Llamadas coincidentes | | | Total de todos los centros | | % de coincidencia |
|-------|---------|-----------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|----------|----------|----------------------------|----------------------|-------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas | Llamadas incorrectas | |
| A | 6 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 7 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 8 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 9 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 10 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 11, 39 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 12, 40 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 13 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 14 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 15 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 5 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| A | 16 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 17, 41 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 18, 42 | (TG)10(T)9/(TG)12(T)5 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 19 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 20, 43 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 21, 44 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 22 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 23 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 24, 45 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 25 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 26 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 27, 46 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 11 | 12 | 12 | 0 | 1 | 97,22 % |
| A | 28 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 29 | (TG)10(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 6 | 4 | 4 | 4 | 0 | 77,78 % |
| A | 30 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 31 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |

| Panel | Muestra | Genotipo | N.º de resultados | | Llamadas coincidentes | | | Total de todos los centros | | % de coincidencia |
|-------|---------|-----------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|----------|----------|----------------------------|----------------------|-------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas | Llamadas incorrectas | |
| A | 32 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 33 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| A | 34 | (TG)11(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 35 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 36 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 37 | (TG)11(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| A | 38 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 47, 85 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 48, 86 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 11 | 11 | 12 | 2 | 0 | 94,44 % |
| B | 49, 87 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 50, 88 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 51, 89 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 52 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 53, 90 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 54, 91 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 55, 92 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)7 | 12 | 36 | 12 | 12 | 12 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 56 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 57 | (TG)12(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 58 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 59 | (TG)11(T)7/(TG)12(T)7 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| B | 60 | (TG)9(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 61 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 62 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| B | 63 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 64 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| B | 65 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |

| Panel | Muestra | Genotipo | N.º de resultados | | Llamadas coincidentes | | | Total de todos los centros | | % de coincidencia |
|--|---------|-----------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|----------|----------|----------------------------|----------------------|-------------------|
| | | | Por centro | Todos los centros | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Ausencia de llamadas | Llamadas incorrectas | |
| B | 66 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 67 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 68 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 69 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 70 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 71 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 72 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 5 | 6 | 5 | 2 | 0 | 88,89 % |
| B | 73 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 74 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 75 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 5 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| B | 76 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 77 | (TG)10(T)9/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 78 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 5 | 6 | 6 | 1 | 0 | 94,44 % |
| B | 79 | (TG)10(T)7/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 80 | (TG)11(T)7/(TG)11(T)9 | 6 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 0% |
| B | 81 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)9 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 82 | (TG)10(T)9/(TG)11(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 83 | (TG)10(T)9/(TG)12(T)5 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| B | 84 | (TG)10(T)7/(TG)10(T)7 | 6 | 18 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 100 % |
| Total de variantes de Poli-TG/Poli-T (coincidencia positiva) | | | 552 | 1656 | 537 | 540 | 543 | 17 | 19 | 97,83 % |

* Las 18 muestras fueron coincidentes entre ellas, pero no coincidieron con la secuenciación bidireccional de Sanger.

Extracción de ADN

Se evaluaron tres métodos de extracción comercializados utilizados con frecuencia (extracción de bolas magnéticas, precipitación por alcohol y aislamiento de la columna de filtrado de silicio) con sangre total anticoagulada con EDTA K₂. Durante el estudio, se utilizó un total de 14 muestras de sangre. Dos muestras eran de cepa salvaje, mientras que las demás muestras contaban con genotipos únicos que representaban nueve variantes diferentes, entre las que se incluían variantes excepcionales y comunes. Para la variante Poli-TG/Poli-T, se incluyeron las muestras con (T)5-9 y (TG)10-12. Dos operadores diferentes comprobaron independientemente los tres métodos de extracción de ADN. Cada operador llevó a cabo tres experimentos por método de extracción. Cada operador realizó cada una de las extracciones en días diferentes. La concentración de ADN y el índice de A260/A280 de las muestras de ADNg extraídas se determinaron mediante espectrometría. El tamaño de muestras total para cada método de extracción en el estudio fue de 168 (14 muestras, 2 operadores/métodos de extracción, 3 experimentos/operador y 2 duplicados/muestra de ADNg extraída).

| Método de extracción | Número de muestras analizadas | Índice de llamada | Exactitud | Índice de muestras del primer paso* |
|--|-------------------------------|-------------------|-----------|-------------------------------------|
| Precipitación por alcohol | 168 | >99,99 % | >99,99 % | 100 % |
| Aislamiento de la columna de filtrado de silicio | 168 | >99,99 % | >99,99 % | 100 % |
| Extracción de bolas magnéticas | 168 | >99,99 % | >99,99 % | 100 % |

* Porcentaje de muestras con un índice de llamada superior al 99 % en el primer experimento.

Entrada de ADN

El rango de entrada de ADN del ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística se evaluó llevando a cabo un estudio de dilución en serie con 14 muestras de ADN representativas que contenían 16 variantes únicas de la fibrosis quística. Cada muestra se evaluó por duplicado en nueve niveles de entrada de ADN que oscilaban entre 1250 ng y 1 ng (1250 ng, 500 ng, 250 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng, 10 ng, 5 ng y 1 ng). Para determinar la precisión, se compararon los genotipos de muestras con los datos de secuenciación bidireccional de Sanger y las deleciones se compararon con un ensayo de PCR. Los niveles 1250 ng y 25 ng se establecieron como el límite superior e inferior para la entrada de ADN respectivamente, ya que arrojaron un índice de muestra de primer paso del 95 % o superior, sin llamadas incorrectas (100 % de precisión y de índice de llamada).

Las entradas de ADN de 1250 ng, 250 ng y 100 ng se volvieron a analizar con cuatro muestras de ADN representativas y, al menos, 20 duplicados por nivel de entrada de ADN de cada muestra ($n = 4 \times 20 = 80$ muestras), mientras que el límite inferior de 25 ng se analizó con 14 muestras y 20 duplicados de cada muestra ($n = 14 \times 20 = 280$ muestras). La precisión y el índice de muestra del primer paso fueron del 100 % en todos los niveles de entrada de ADN.

Sustancias interferentes

Para evaluar el impacto de las sustancias interferentes en el sistema de fibrosis quística MiSeqDx de Illumina, se calificó el rendimiento del ensayo en presencia y ausencia de posibles sustancias interferentes. En el estudio, se analizaron 16 muestras de sangre total con genotipos de fibrosis quística únicos. Se analizaron cuatro sustancias interferentes endógenas (bilirrubina, colesterol, hemoglobina y triglicéridos) añadiéndolas a las muestras de sangre antes de la extracción de ADN. En la tabla siguiente se muestran los límites de concentración de cada sustancia. Asimismo, para evaluar la interferencia resultante de la extracción de sangre (extracción breve), se añadió EDTA a las muestras de sangre y, para evaluar la interferencia resultante de la preparación de muestras, se añadió el tampón de lavado final del método de aislamiento de la columna de filtrado de silicio al ADN genómico purificado.

El ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística arrojó un índice de llamada del 100 % con todas las muestras analizadas, así como una reproducibilidad del 100 % en las llamadas de genotipo entre muestras en presencia y ausencia de sustancias interferentes. No se observaron interferencias relacionadas con sustancias interferentes exógenas o endógenas.

Para evaluar el impacto de la interferencia del cebador de índice del multiplexado, se llevó a cabo un estudio de la contaminación cruzada con dos muestras, cada una de ellas con genotipos homocigóticos únicos en cuatro posiciones genómicas diferentes, y dos cebadores de índice respectivos. No se observaron cambios en las llamadas de variantes con niveles de contaminación inferiores al 40 %. El genotipo de la muestra pasó a ser heterocigótico cuando los niveles de contaminación eran iguales o superiores al 40 %.

| Sustancia de prueba | Número total de duplicados | Concentración comprobada en sangre (límite superior) | Concentración comprobada en sangre (límite inferior) | Índice de llamada |
|---------------------|----------------------------|--|--|-------------------|
| Bilirrubina | 16 | 684 µmol/l | 137 µmol/l | 100 % |
| Colesterol | 16 | 13 mmol/l | 2,6 mmol/l | 100 % |
| Hemoglobina | 16 | 2 g/l | 0,4 g/l | 100 % |
| Triglicéridos | 16 | 37 mmol/l | 7,4 mmol/l | 100 % |
| EDTA | 16 | 7,0 mg/ml | 2,8 mg/ml | 100 % |

Equivalencia de rendimiento con el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística MiSeqDx de Illumina

El ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística TruSight (TruSight CFCS) utiliza los mismos reactivos y el mismo flujo de trabajo de preparación de bibliotecas que el ensayo de fibrosis quística de MiSeqDx de Illumina (MiSeqDx CFCS). TruSight CFCS utiliza el kit de reactivos MiSeqDx v. 3, mientras que MiSeqDx CFCS usa reactivos de secuenciación incluidos con el ensayo. Para demostrar la equivalencia entre TruSight CFCS y MiSeqDx CFCS, se compararon los resultados de nueve experimentos de TruSight CFCS con un solo experimento de MiSeqDx CFCS como referencia. Los experimentos de TruSight CFCS se llevaron a cabo a un rendimiento de 96 muestras (el máximo rendimiento de muestras para TruSight CFCS) y los de MiSeqDx CFCS a un rendimiento de 48 muestras (el máximo rendimiento de muestras para MiSeqDx CFCS). Las fuentes de variabilidad incluidas en los experimentos de TruSight CFCS incluían tres eventos de preparación de bibliotecas (cada uno con un lote único de TruSight Cystic Fibrosis), tres operadores, tres instrumentos MiSeqDx y tres lotes del kit de reactivos MiSeqDx v. 3.

La llamadas de variantes de los experimentos de TruSight CFCS se compararon con las llamadas realizadas por el experimento de MiSeqDx CFCS. Se incluyeron 47 muestras únicas en cada experimento de TruSight CFCS, con dos o tres réplicas por muestra (95 muestras de ADN y un NTC por experimento). En el caso del experimento de MiSeqDx CFCS, se secuenciaron las mismas 47 muestras como Singleton (47 muestras de ADN + 1 NTC por experimento). El panel de muestras estaba compuesto de muestras de ADN de Coriell extraídas de estirpes celulares inmortalizadas e incluía muestras que representaban cada alelo de las 23 variantes de ACMG, variantes de delección/inserción (incluidas las inserciones y delecciones en regiones homopoliméricas e inserción con delección en la misma región), variantes homocigóticas, variantes heterocigóticas compuestas, una de las delecciones dirigidas de gran tamaño, variantes de Poli-TG/Poli-T, variantes de nucleótido único y una muestra sin variantes detectadas. El resumen de resultados por genotipo aparece en la [Tabla 26](#). La concordancia entre ensayos por tipo de variante aparece en la [Tabla 27](#). La coincidencia general total entre ensayos era de >99,99 %.

Tabla 26 Rendimiento de las llamadas de variantes del ensayo de variantes de CFCS de FQ TruSight en comparación con el ensayo de variantes de CFCS MiSeqDx

| | | Ensayo de secuenciación clínica de FQ MiSeqDx | | | | Total |
|--|----------------------|---|--------------|----------------|----------------------|-----------|
| | | Variante HOM | Variante HET | Estado natural | Ausencia de llamadas | |
| Ensayo de secuenciación clínica de FQ TruSight | Variante HOM | 551 | - | - | - | 551 |
| | Variante HET | - | 2664 | - | - | 2664 |
| | Estado natural | - | - | 4 426 182 | - | 4 426 182 |
| | Ausencia de llamadas | - | - | 58 | - | 58 |
| | Total | 551 | 2664 | 4 426 420 | - | 4 429 455 |

Tabla 27 Rendimiento por tipo de variante del ensayo de secuenciación clínica de FQ TruSight en comparación con el ensayo de secuenciación clínica de FQ MiSeqDx

| Tipo de variante | Llamadas correctas | Llamadas incorrectas | Ausencia de llamadas | Acuerdo con el ensayo de secuenciación clínica de fibrosis quística MiSeqDx |
|--------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|---|
| SNV | 2684 | 0 | 0 | 100,00 % (2684/2684) |
| DEL | 18 | 0 | 0 | 100,00 % (18/18) |
| DIV | 513 | 0 | 0 | 100,00 % (513/513) |
| Poli-TG/Poli-T | 847 | 1 | 3 | 99,88 % (847/851) |
| Ninguno (estado natural) | 4 426 182 | 0 | 58 | 100,00 % (4 426 182/4 426 240) |
| Total | 4 430 244 | 1 | 61 | >99,99 % (4 430 244/4 430 306) |

Se ha observado una sola llamada que no concordaba entre TruSight CFCS y MiSeqDx CFCS. La llamada incorrecta en concreto era una variante Poli-TG/Poli-T. La [Tabla 28 en la página 92](#) presenta un resumen de la concordancia Poli-TG/Poli-T.

Tabla 28 Rendimiento de las llamadas de variantes Poli-TG/Poli-T del ensayo de secuenciación clínica de FQ TruSight en comparación con el ensayo de secuenciación clínica de FQ MiSeqDx

| | | Tabla del ensayo de secuenciación clínica de FQ MiSeqDx | | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|----------|
| | | (TG)10 (T)7/ (TG)10 (T)7 | (TG)10 (T)7/ (TG)10 (T)9 | (TG)10 (T)7/ (TG)12 (T)5 | (TG)10 (T)7/ (TG)12 (T)7 | (TG)10 (T)9/ (TG)10 (T)9 | (TG)10 (T)9/ (TG)12 (T)5 | (TG)11 (T)7/ (TG)10 (T)7 | (TG)11 (T)7/ (TG)10 (T)9 | (TG)11 (T)7/ (TG)11 (T)7 | (TG)11 (T)7/ (TG)12 (T)7 | (TG)12 (T)5/ (TG)12 (T)5 | Ausencia de llamadas | Total |
| Ensayo de secuenciación clínica de FQ TruSight | (TG)10(T)7/ (TG)10(T)7 | 50 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 50 |
| | (TG)10(T)7/ (TG)10(T)9 | - | 189 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 189 |
| | (TG)10(T)7/ (TG)12(T)5 | - | - | 18 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 18 |
| | (TG)10(T)7/ (TG)12(T)7 | - | - | - | 18 | - | - | - | - | - | - | - | - | 18 |
| | (TG)10(T)9/ (TG)10(T)9 | - | - | - | - | 72 | - | - | - | - | - | - | - | 72 |
| | (TG)10(T)9/ (TG)12(T)5 | - | - | - | - | - | 17 | - | - | - | - | - | - | 17 |
| | (TG)11(T)7/ (TG)10(T)7 | - | - | - | - | - | - | 126 | - | - | - | - | - | 126 |
| | (TG)11(T)7/ (TG)10(T)9 | - | - | - | - | - | - | - | 249 | - | - | - | - | 249 |
| | (TG)11(T)7/ (TG)11(T)7 | - | - | - | - | - | - | - | - | 72 | - | - | - | 72 |
| | (TG)11(T)7/ (TG)12(T)7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 36 | - | - | 36 |
| | (TG)12(T)5/ (TG)12(T)5 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 |
| | Ausencia de llamadas | - | - | - | - | - | - | - | 3 | - | - | - | - | 3 |
| | Total | | 50 | 189 | 18 | 18 | 72 | 18 | 126 | 252 | 72 | 36 | - | - |

Referencias

- 1 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. *Genetics in Medicine* 6(5): 387–391.
- 2 Committee on Genetics. (Abril de 2011) The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee Opinion. Update on Carrier Screening for Cystic Fibrosis 486: 1–4.
- 3 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.
- 4 Moskowitz SM, Chmiel JF, Steman DL, Cheng E, Gibson RL, et al. (2008) Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genetics in Medicine* 10(12):851–868.
- 5 Moskowitz SM, Chmiel JF, Steman DL, Cheng E, Cutting GR. CFTR-related disorders. Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington; 2008. Disponible en www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250. [En línea]. Actualizado el 19 de febrero de 2008.
- 6 Katkin JP. (2012) Cystic fibrosis: Clinical manifestations and diagnosis. Disponible en www.uptodate.com. [En línea] 7 de diciembre de 2012.
- 7 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.
- 8 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry: Annual Data Report 2010.
- 9 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). Disponible en www.genet.sickkids.on.ca/app. [En línea] Agosto de 2013.
- 10 Rohlf EM, Zhou Z, Heim R, Nagan N, Rosenblum L, et al. (2011) Cystic Fibrosis Carrier Testing in an Ethnically Diverse US Population. *Clinical Chemistry*; 57(6): 841–848.
- 11 Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). Disponible en www.cftr2.org. [En línea]. Agosto de 2013.
- 12 The Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2) Project. Disponible en www.nacconference.org/art/plenaryarchives/2011.Cutting.pdf. [En línea]. Presentado por Gary Cutting en representación del proyecto CFTR2 en la 25.ª conferencia anual de fibrosis quística norteamericana (25th Annual North American Cystic Fibrosis Conference [NACFC]) patrocinada por la fundación para la fibrosis quística Cystic Fibrosis Foundation. 4 de noviembre de 2011. Anaheim, CA.
- 13 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. *Nature Genetics* 45 (10): 1160–1167.
- 14 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.
- 15 Castellani C, Cuppens H, Macek H Jr, Cassiman JJ, Kerem E, et al. (2008) Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cystic Fibrosis* 7:179–196.
- 16 Pratt VM, Caggana M, Bridges C, Buller AM, DiAntonio L, et al. (Mayo de 2009) Development of Genomic Reference Materials for Cystic Fibrosis Genetic Testing. *Journal of Molecular Diagnostics* 11(3): 186–193.
- 17 Amos J, Feldman GL, Grody WW, Monaghan K, Palomaki GE, et al. (Edición de 2008 revisada en marzo de 2011) American College of Medical Genetics Standards and Guidelines for Clinical Genetic Laboratories.
- 18 Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al. (2013) ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genetics in Medicine*. *Genetics in Medicine* 15(9): 733–747.

Patentes y marcas comerciales

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.

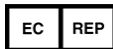
AMPure, Beckman y Beckman Coulter son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc.

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.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Países Bajos

Patrocinador australiano

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

Etiquetado de productos

Consulte la clave de símbolos de su kit en support.illumina.com para acceder a una referencia completa de símbolos que podrían aparecer en etiquetas y envases de productos.