



איגוד סיסטיק פיברוזיס בישראל CF-ע"ר

CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION OF ISRAEL CF

# The Annual Israeli CF Society Meeting Oct 2013

## Genetic Tests for Partners of CF patients

Ori Inbar, PhD

A father to a 8 year old  
boy with CF

Chairperson, the Israeli  
CF Foundation

Disclaimer: this presentation is not a genetic/medical counseling

As of today there are 1949 mutations in the CF gene ~85% cause the disease

<b>Mutation Type</b>	<b>Count</b>	<b>Frequency %</b>
Missense	774	40.40
Frameshift	306	15.97
Splicing	226	11.80
Nonsense	161	8.40
In frame in/del	38	1.98
Large in/del	49	2.56
Promoter	15	0.78
Sequence variation	269	14.04
Unknown	78	4.07

And every few weeks more mutations are gathered

[www.genet.sickkids.on.ca/cftr/Home.html](http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/Home.html)

## Distribution of the mutation in the CF gene (worldwide)

Name of Mutation	Frequency	(%)	Population with the highest prevalence
<b>F508Del</b>	28,948	<b>(66.0)</b>	
G542X	1,062	(2.4)	Spanish
<b>G551D</b>	717	<b>(1.6)</b>	English
N1303K	589	(1.3)	Italian
<b>W1282X</b>	536	<b>(1.2)</b>	Jewish-Askhenazi
R553X	322	(0.7)	German
621+1G->T	315	(0.7)	French-Canadian
1717-1G->A	284	(0.6)	Italian
R117H	133	(0.3)	
R1162X	125	(0.3)	Italian

# The distribution of the mutations depends upon the ethnic origin

For example, Ashkenazi Jews:

Mutation	Worldwide	Ashkenazi Jews
F508Del	70%	28%
W1282X	1%	48%

Ashkenazi	
W1282X	125 (48)
$\Delta$ F508	73 (28)
G542X	23 (9)
3849+10Kb C→T	15 (6)
N1303K	9 (3)
1717-1 G→A	2 (1)
S549R	
D1152H	
W1089X	
Q359K/T360K	
G85E	
405+1 G→A	
Unknown	14 (5)
Total	261 (100%)

CF is the most common life threatening genetic disease in all Israeli ethnic origins. It is not an Ashkenazi Jews disease

**Carrier frequencies in Israeli Jews from the following origins:**

- 1:25 Greece and Bulgaria
- 1:26 Georgia and Libya
- 1:29 Ashkenazi
- 1:33 Turkey
- 1:35 Tunis
- 1:47 Egypt and Yemen

**Carrier frequencies in Israeli Arabs is 1:26**

There are more than 300,000 carriers in Israel

**Kerem et al 1997**

Worldwide:

Average carrier frequency:

US - 1:30

Europe - 1:25

Hispanic - 1:46

Africans - 1:65

Asians - 1:90

# CF is not an Ashkenazi Jews disease, but the standard Israeli genetic panel provides reliable results only for Ashkenazi Jews

- The standard Israeli genetic panel for Jews has only 14 mutations

Jews Ethnic Origin	Carrier Frequency	Coverage by Genetic Panel
Greece	1:25	Unknown
Bulgaria	1:25	Unknown
Libya	1:26	91%
Georgia	1:26	88%
Ashkenazi	1:29	95%
Turkey	1:33	90%
Egypt	1:47	50%
Yemen	1:47	0%
Iraq	>1:67	Unknown

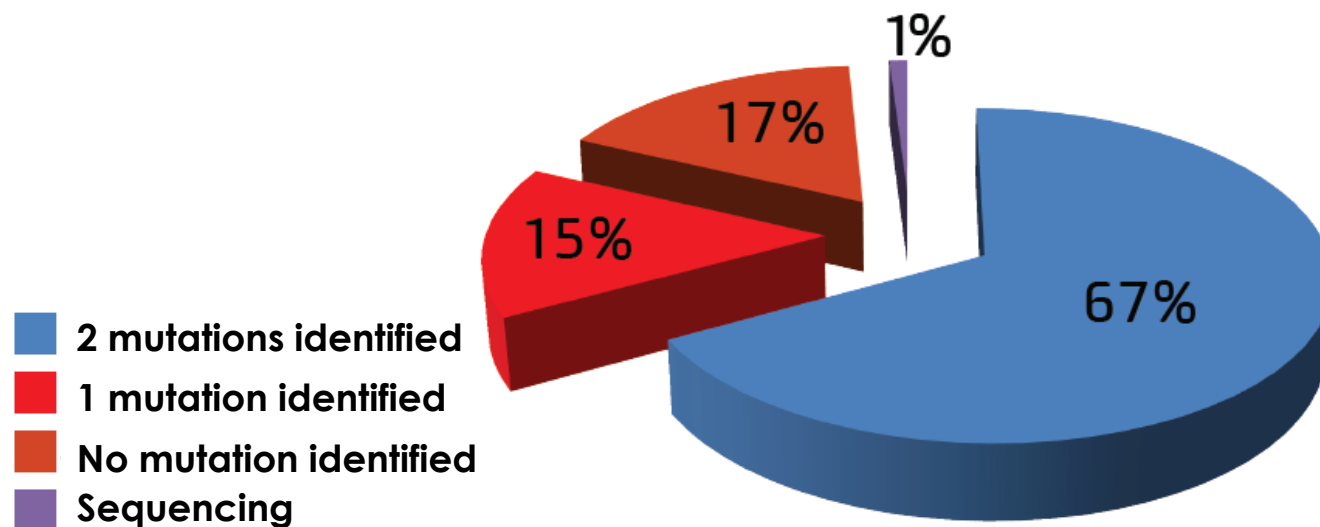
Carrier Frequency amongst Arabs in Israel is 1:26.

On 2008 a 9 mutation panel was designed, including 4 families specific mutations

Coverage of the panel is unknown

# The standard genetic tests in Israel are not effective: Sensitivity < 70%

**Distribution of 502 CF patients that underwent the genetic testing**

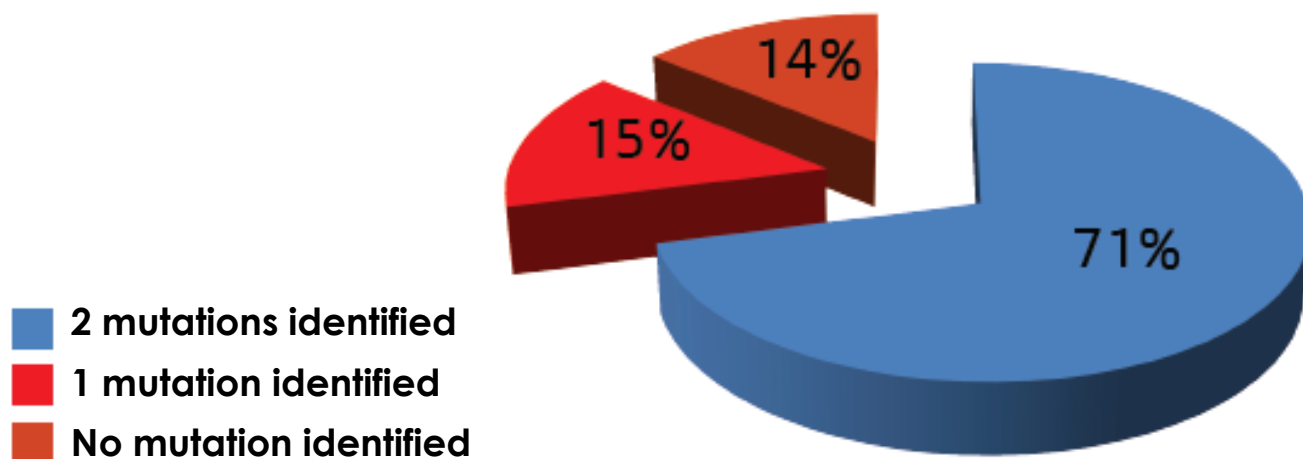


**Based on the 2009 Israeli CF Registry**

In newly diagnosed patients the picture stays the same:

The sensitivity of the genetic test is ~70%

**Distribution of 94 CF patients that diagnosed between 2004 and 2011**



Stefler et al, 2013



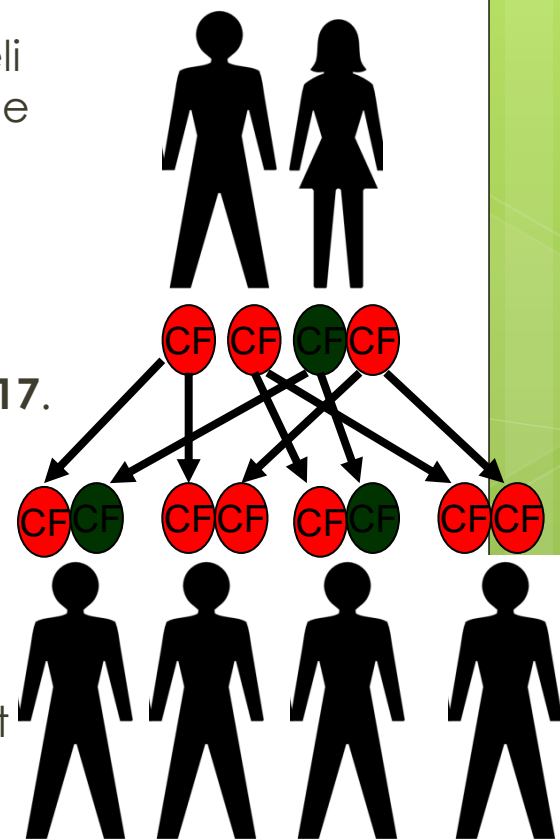
# Genetic Counseling

- CF physicians have a legal right to provide genetic counseling for CF.
- CF physicians usually practice their right in two cases:
  - Partners of CF patients
  - Couples that one of the parents is a carrier (either from the family of a CF patient or from the all population carrier screenings )

**Let's do the math...**

# What are the chances of a CF patient and his/her partner to have a CF child following negative results of standard genetic testing: the typical case

- One of the parent has CF and the other has the Israeli carrier frequency average and the average coverage by the genetic test:
- Carrier frequency **1:35**, coverage **70%**
- Therefore, the chances of the partner to be a carrier even though he/she were negative is:  $1:35 \times 0.3 = 1:117$ .
- The chance for CF child is half of the above: **1:234**
- What is the meaning of this frequency?
- As a reference we may use the chances of two Ashkenazi Jews to have a CF child even if they do not take the genetic tests, which is: **1:3,300**.
- There for the hazard for the CF patient and his/her partner is **14 times larger**



## What if the CF partner will perform sequencing of the CFTR gene?

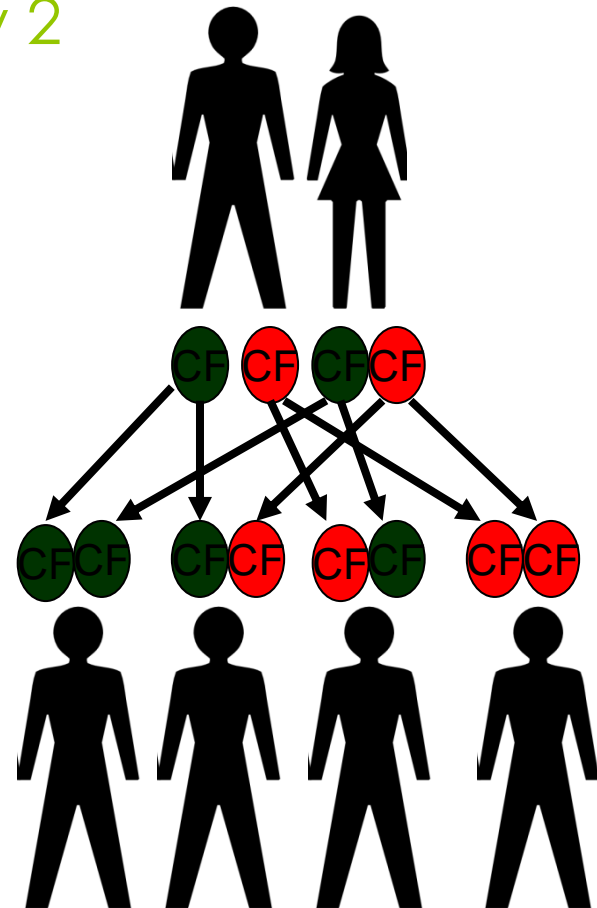
- Sequencing can detect at least **98%** of all mutation no matter what is the ethnic origin. (according to one of the genetic clinical labs it is 99.7%)
- Therefore, if the partner will perform sequencing the chances of him/her of being a carrier drops down to: **1:1,750** =  $1:35 \times 0.02$
- And the chances for CF child goes down to **1: 3,500** =  $0.02 \times 1:35 \times 0.5$
- The sequencing will lower the chances by **15 times** in relation to the ones on the standard genetic test which was: **1:234**

What are the chances of a CF patient and his/her partner to have a CF child following negative results of standard genetic testing: a few examples

Partner ethnic origin	Carrier frequency	Coverage of genetic panel	Chances of being a carrier	Chances for CF child	Chances for CF child after sequencing	Fold change
Typical	1:35	70%	1:117	1:234	1:1,350	15
Georgia	1:26	88%	1:217	1:434	1:1,260	9
Morocco/ Syria	1:31 1:42	85% 0%	(1:207/1:42) 1:125	1:250	1:12,500	50
Ashkenazi	1:29	95%	1:580	1:1160	1:2900	2.5

And what is the case when a family with a known carrier comes to counseling?  
The same results... divided by 2

- Let's assume that one of the parents is a known carrier
- In the Typical case, the chances of the other partner to be a carrier even though he/she were negative in the standard panel is:  $1:35 \times 0.3 = 1:117$ .
- The chance for CF child is **quarter** of the above:  $1:468$

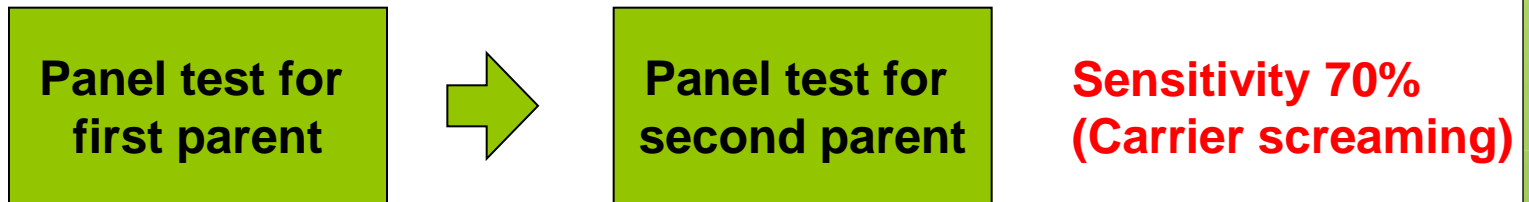


And what is the case when a family with a known carrier comes to counseling?  
 The same results... divided by 2

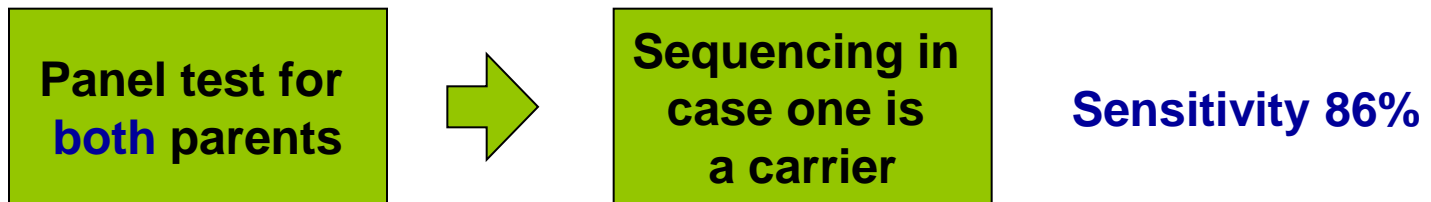
Partner ethnic origin	Carrier frequency	Coverage of genetic panel	Chances of being a carrier	Chances for CF child	Chances for CF child after sequencing	Fold change
Typical	1:35	70%	1:117	1:468	1:2,700	15
Georgia	1:26	88%	1:217	1:868	1:2,520	9
Morocco/ Syria	1:31 1:42	85% 0%	(1:207/1:42) 1:125	1:500	1:25,000	50
Ashkenazi	1:29	95%	1:580	1:2320	1:5,800	2.5

# What can be done today in the case of carrier screening?

## Current protocol



## Alternative protocol

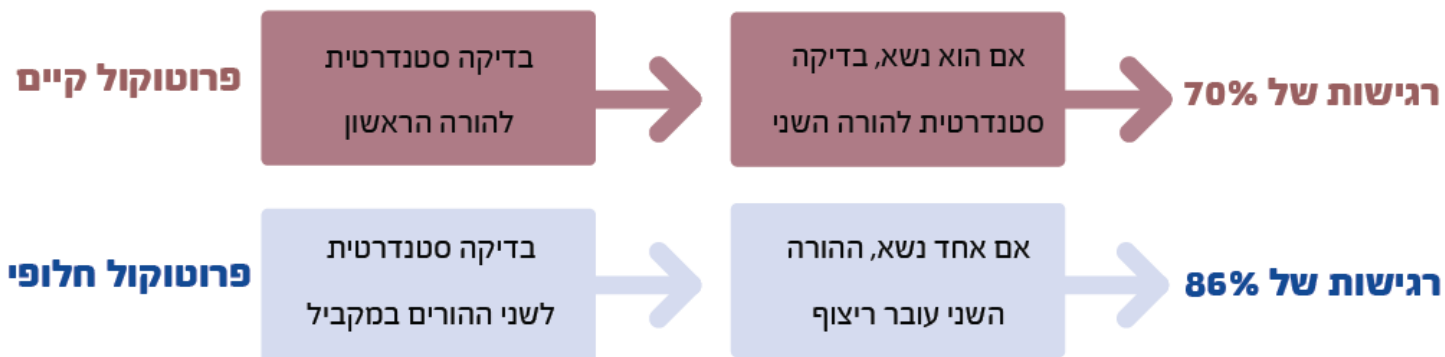


## מה ניתן לעשות?

יש בארץ מעל 200 חולי CF ללא גנטיקה מלאה. לאחר שיאותרו המוטציות ניתן יהיה להעלות את הרגישות של הפאנל הנוכחי. אולם עד אז שימוש בפרוטוקול הבא עשוי להעלות את הרגישות של ההליך מכ- 70% לכ- 86%:

### פרוטוקול חילופי

שני ההורים עוברים את בדיקת הסקר במקביל. אם אחד ההורים מתגלה כנשא, השני עובר בדיקת ריצוף של גן ה-CF (למעט, אולי המקרה שבו ההורה השלילי הוא 100% אשכנזי)





# פרשנות של בדיקות הריצוף

## הערות בנוגע לפרוטוקול החלופי

1. לאחר הבדיקה במקביל של שני ההורים, הסיכון של ההורים ללידה של ילד חולה CF, צריך להיות מחושב. לאחר הסברת הסיכון להורים, יש להציג את האפשרויות להתמודד עם הסיכון, הכולל את הצגת בדיקת הריצוף. יש לחשב בכמה מפחיתה בדיקת הריצוף את הסיכון לילד חולה, וכן להסבר על מגבלות השיטה (הערה 3).
2. ככל הנראה, עיקר הבעיה ברגישות הבדיקה הגנטית הסטנדרטית הוא בנבדקים שאינם אשכנזים. וכמו כן, הבדיקות הגנטיות הנוכחיות אמינות ברמה גבוהה באיתור נשאים למוטציות הנכללות בפאנל. לבדיקות הנוכחיות יש ספציפיות גבוהה ככל הנראה מעל 99%.
3. בנוגע לבדיקת הריצוף: היא אינה מגלה את כל המוטציות הידועות, אלא רק כ- 98% מהן. כמו כן, חשוב לדעת, שלעיתים מתגלה בריצוף מוטציה שלא יודעים האם היא גורמת או שהיא שינוי פולימורפי שאינו גורם למחלה. למרות סייגים, התמונה הכוללת היא שברוב המקרים ריצוף הגן יתן תשובה חד משמעית באמינות גבוהה.

● התפלגות המוטציות בבסיס הנתונים

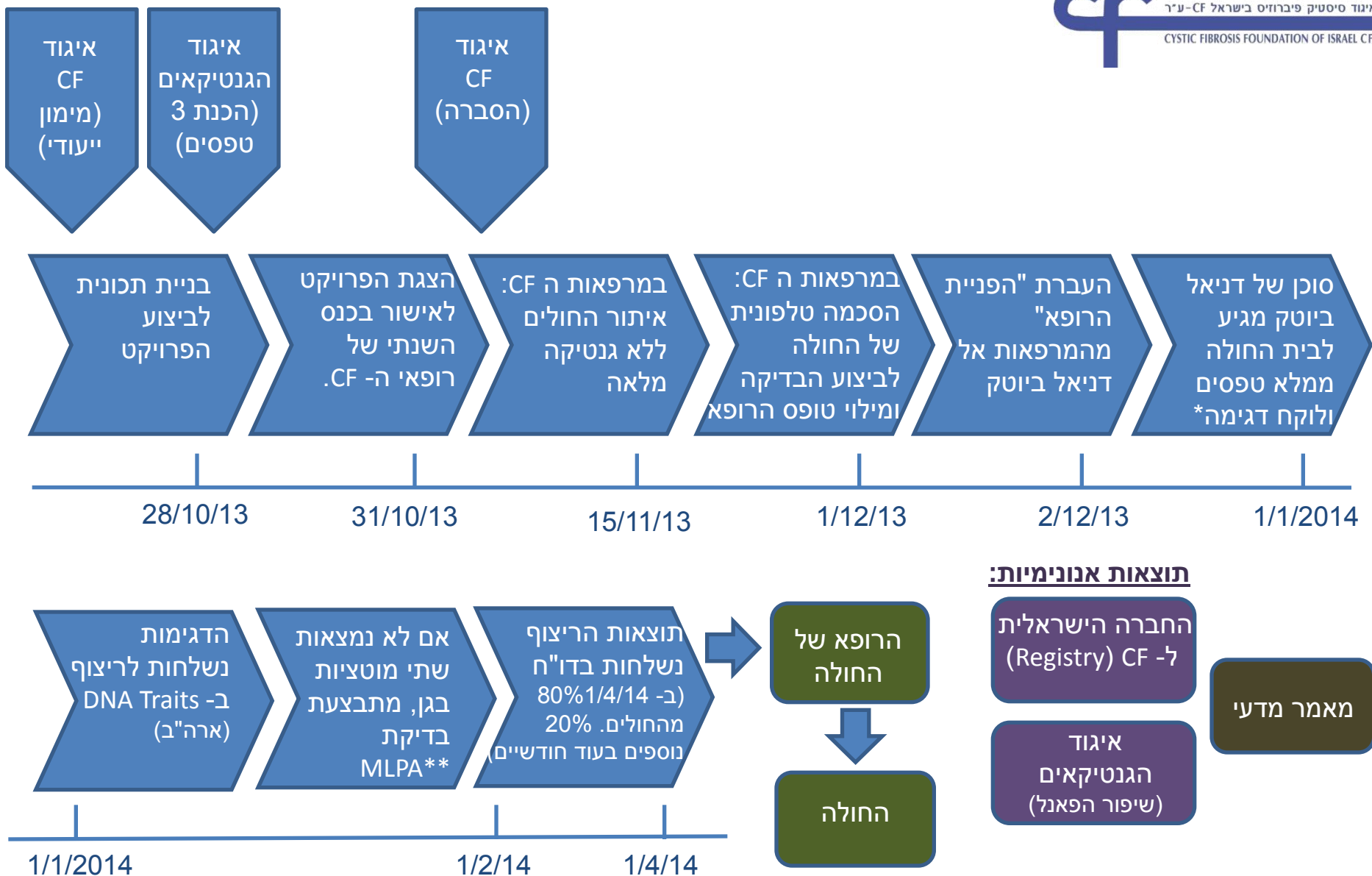
● הוספת דוגמאות ומקרים

# האם הפאנל המורחב של 31 מוטציות מוריד את הסיכון: בפשטות לא!

הסבר ●

## קלידקו והחולים בארץ

- יש כיום בארץ 655 חולי CF מאובחנים
- בבסיס הנתונים של חולי ה CF משנת 2009 יש את תוצאות הבדיקות הגנטיות של 502 חולים:
- כמה חולים יש עם G551D? – **אפס!**
- ב- 1995 G551D הוצא מהפאנל הסטנדרטי.
- כמה חולים יש ללא גנטיקה מלאה (שלא ידועות שתי המוטציות שלהם)? – מעל **30%!**
- למעשה יש היום כ- 220 חולים ללא גנטיקה מלאה. 2 עד 20 מתוכם צפויים להיות עם המוטציה G551D.
- לגבי 10 המוטציות מ- class III הנבדקות היום בניסויים קליניים ע"י Vertex – בבסיס הנתונים משנת 2009 יש 10 חולים.
- לפני כשבועיים ורטקס הגישה בקשה ל- FDA לאשר את קלידקו לכל החולים מ- class III (G178R, S549N, S549R, G551S, G970R, ) (G1244E, S1251N, S1255P, G1349D).



\* סוכן של לדניאל ביוטק מתאם פגישה בבית החולה. לוקח דגימת DNA מחלל הפה ומסייע במילוי שני טפסים ע"י החולה/משפחה (טופס הסכמה מדעת, וטופס פרטים נוספים הקשורים במוצא). צופים שבחודשיים הסוכנים יגיעו ל 80% מהחולים (1/4/2014). במשך חודשיים נוספים הסוכנים אמורים להגיע ל- 100% מהחולים כך שהפרויקט אמור להסתיים ב 1/6/2014.

\*\* Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification שיטה שיכולה לאתר מוטציות שריצוף רגיל לא מאתר, כגון חסר של אקסון שלם.

**תודה רבה**

**שאלות?**