

Secuenciación de nueva generación (NGS) para el diagnóstico molecular y selección de dianas terapéuticas en enfermedades oncológicas

Ficha de evaluación de tecnologías sanitarias nuevas y emergentes

Informes de evaluación de tecnologías sanitarias

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD



Red Española de Agencias de Evaluación
de Tecnologías y Productos Sanitarios de Nueva Tecnología de Salud



Generalitat
de Catalunya

Salut/

Agència de Qualitat i Avaluació
Sanitàries de Catalunya

Secuenciación de nueva generación (NGS) para el diagnóstico molecular y selección de dianas terapéuticas en enfermedades oncológicas

Ficha de evaluación de tecnologías sanitarias nuevas y emergentes

Informes de evaluación de tecnologías sanitarias

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN

Secuenciación de nueva generación (NGS) para el diagnóstico molecular y selección de dianas terapéuticas en enfermedades oncológicas / Laura Colàs-Campàs, Lúcia Blanco-Silvente, Mireia Espallargues-Carreras. Ministerio de Sanidad. 2021.—96 p; 24 cm.—
(Colección: Informes, estudios e investigación / Ministerio de Sanidad. Ficha de Evaluación de Tecnologías Sanitarias Nuevas y Emergentes)

1. Diagnóstico molecular 2. Cáncer -- Aspectos moleculares

I. España. Ministerio de Sanidad II. Cataluña. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya

II. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya

Para citar este informe:

Colàs-Campàs L, Blanco-Silvente L, Espallargues M. Secuenciación de nueva generación (NGS) para el diagnóstico molecular y selección de dianas terapéuticas en enfermedades oncológicas. Madrid: Ministerio de Sanidad. Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya; 2021. (Colección: Informes, estudios e investigación / Ministerio de Sanidad. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias).

© Ministerio de Sanidad

© Generalitat de Catalunya. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya.

Editan:

Ministerio de Sanidad

Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya.

Maquetación: Entitat Autònoma del Diari Oficial i de Publicacions

Diseño: Ministerio de Sanidad

Nipo: 133-21-016-4

Este documento puede ser reproducido parcial o totalmente para su uso no comercial, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

Secuenciación de nueva generación (NGS) para el diagnóstico molecular y selección de dianas terapéuticas en enfermedades oncológicas

Ficha de evaluación de tecnologías sanitarias nuevas y emergentes

Informes de evaluación de tecnologías sanitarias

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
de Tecnologías y Productos de Intervención en Salud



**Generalitat
de Catalunya** Salut/

Agència de Qualitat i Avaluació
Sanitàries de Catalunya

Información preliminar

Autoría

Laura Colàs. Doctora por el programa en Salud (Universitat de Lleida). Ejecución y redacción del proyecto. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya.

Lídia Blanco. Doctora por el programa en Biología molecular, Biomedicina y Salud (Universitat de Girona). Ejecución y redacción del proyecto. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya.

Mireia Espallargues. Doctora en Medicina y Cirugía, especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública. Coordinación y supervisión general. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC).

Coordinación

Coordinación científica: Mireia Espallargues. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya.

Coordinación administrativa: Arantxa Romero. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Agradecimientos

Esta ficha de evaluación ha sido sometida a un proceso de revisión externa. Esta colaboración se ha asociado a un compromiso escrito de ausencia de conflicto de intereses. La Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya agradece al Dr. Jose Palacios Calvo, Jefe del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid, su colaboración y comentarios aportados.

Este documento ha sido realizado por la Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS) en el marco de la financiación del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social para el desarrollo de las actividades del Plan anual de Trabajo de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS, aprobado en el Pleno del Consejo Interterritorial del SNS de 4 de marzo de 2019 (conforme al Acuerdo del Consejo de Ministros de 13 de diciembre de 2019).

Este documento es una ficha de Evaluación de Tecnologías Sanitarias Nuevas y Emergentes. Su objetivo es proporcionar la información disponible que permita que la evaluación pueda llevarse a cabo en una fase temprana de la aparición de una técnica, tecnología o procedimiento, que se prevé que va a tener impacto en la calidad de vida y en el sistema sanitario. Se contribuye así a facilitar la toma de decisiones sobre la incorporación de las tecnologías nuevas y emergentes en el sistema sanitario, cuando corresponda llevarla a cabo.

ÍNDICE

RESUMEN	13
EXECUTIVE SUMMARY	15
RESUM EN CATALÀ	17
DATOS GENERALES	19
DESARROLLO Y USO DE LA TECNOLOGÍA	33
IMPORTANCIA SANITARIA DE LA CONDICIÓN CLÍNICA O LA POBLACIÓN A LA QUE SE APLICA	41
REQUERIMIENTOS PARA USAR LA TECNOLOGÍA	45
RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA	51
IMPACTOS	59
DIFUSIÓN E INTRODUCCIÓN ESPERADA DE LA TECNOLOGÍA	63
INVESTIGACIÓN EN CURSO Y RECOMENDACIONES	65
REFERENCIAS	71
ANEXOS	81

Índice de tablas

Tabla 1. Especificaciones técnicas y aplicaciones del equipamiento actualmente disponible en el mercado que utiliza la tecnología de NGS.	25
Tabla 2. Listado de fármacos antineoplásicos que requieren previamente a su uso la identificación de la diana terapéutica (15).	29
Tabla 3. Centros y hospitales españoles con laboratorios genéticos acreditados y registrados en la base de datos EuroGentest con las pruebas diagnósticas que realizan mediante NGS.	34
Tabla 4. Comparación de la secuenciación mediante el método de Sanger y tecnologías NGS (22).	38
Tabla 5. Comparativa entre los costes de la secuenciación del genoma, exoma y de paneles de genes (líneas somática y germinal).	49

Índice de figuras

Figura 1. Evolución del coste de la secuenciación del ADN. Se observa una disminución del coste de secuenciación de una megabase a partir de la implementación de las tecnologías de NGS entre 2005 y 2008.	21
---	----

GLOSARIO

ADN: ácido desoxirribonucleico

ALK: *Anaplastic Lymphoma Kinase* (cinasa del linfoma anaplásico)

ARN: ácido ribonucleico

CE-IVD: Conformité Européenne – Invitro Diagnostic Medical Devices

DALY: *Disability-Adjusted Life Year* (años perdidos por enfermedad)

ddNTP: dideoxinucleótidos

ELSI: programa de implicaciones éticas, legales y sociales

FCC/IC: Federal Communications Commission – Industry Canada

ISO: International Organization for Standardization

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

NCT: ClinicalTrials.gov identifier

NGS: Next-Generation Sequencing (secuenciación de nueva generación)

NICE: National Institute of Care Excellence

Pb: pares de bases

PCR: Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa)

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica

SNC: Sistema Nervioso Central

SNS: Sistema Nacional de Salud

WES: Whole Exome Sequencing

RESUMEN

Durante la última década se han logrado grandes avances en las tecnologías de secuenciación del ADN para el análisis genético. Actualmente, se encuentran en el mercado diferentes tecnologías denominadas “Next-generation sequencing” (NGS, por sus siglas en inglés) que permiten secuenciar el genoma completo, las regiones codificantes (exomas) y determinados genes seleccionados *a priori* mediante paneles de genes. Hasta hace poco, la mayoría de las secuenciaciones rutinarias en clínica se realizaban con el método de Sanger. Sin embargo, este presenta una serie de limitaciones que dificultan su mantenimiento en la práctica habitual. En primer lugar, este método únicamente permite secuenciar una región diana determinada, de manera que el análisis de grandes o diferentes regiones requiere una gran inversión económica y de tiempo. En segundo lugar, su sensibilidad es a menudo insuficiente para determinar, por ejemplo, variaciones somáticas en muestras tumorales que se encuentran en una subpoblación específica y en bajos niveles. Estas limitaciones pueden solventarse con tecnologías basadas en NGS, pues realizan una secuenciación más rápida, sensible y completa. Dado que su función principal es obtener múltiples secuencias cortas de forma paralela y simultánea, su aplicación podría reducir el coste y el tiempo. Actualmente, esta tecnología se aplica en estudios genéticos prenatales y postnatales, en patologías hereditarias no oncohematológicas y en patologías oncológicas hereditarias y no hereditarias.

En el campo de la oncología, las tecnologías NGS juegan un papel importante, pues tanto la incidencia como la prevalencia del cáncer siguen una tendencia al alza. En nuestro país, diferentes equipamientos NGS se encuentran establecidos en algunos centros y hospitales. Si bien el contenido de la cartera de genética recogido en el anexo III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización, no detalla cada una de las pruebas concretas que se incluyen en la cartera común de servicios, la NGS es una técnica genética disponible en muchas comunidades autónomas. Su uso podría ser de gran ayuda en la identificación de posibles alteraciones genéticas relevantes para el diagnóstico, el pronóstico o la selección del abordaje terapéutico más adecuado para cada paciente en función del perfil tumoral. En este contexto, el objetivo del presente informe es evaluar la evidencia disponible en términos de seguridad, eficacia o efec-

tividad, coste económico e impactos de las tecnologías basadas en NGS en pacientes con enfermedad oncológica o predisposición hereditaria al cáncer.

Con el fin de lograr el objetivo se revisó, de manera sistemática, la literatura médica. Se identificaron 119 estudios potenciales, de los cuales 15 cumplieron con los criterios de inclusión establecidos. En relación con la seguridad, no se identificó ningún estudio que hubiera investigado variables relacionadas con el uso de las tecnologías NGS para el diagnóstico, el pronóstico y/o la selección de las dianas terapéuticas en pacientes con cáncer. En cuanto a la eficacia diagnóstica, los 15 estudios identificados utilizaron paneles de genes. De estos, 5 estudios investigaron el cáncer de colon, 2 el cáncer de mama y ovario hereditarios, 2 el cáncer de pulmón, 1 el melanoma y 5 las enfermedades oncohematológicas. Globalmente, los resultados de capacidad diagnóstica de la tecnología NGS son favorables y cuentan con una elevada concordancia con el método Sanger. No se identificaron datos de efectividad clínica, aunque sí 7 estudios coste-efectividad de los paneles de genes para el diagnóstico y selección de dianas terapéuticas. De estos, 5 reportaron que la secuenciación NGS en combinación con la terapia sugerida por sus resultados era coste-efectiva.

Los estudios identificados presentan resultados favorables sobre la eficacia diagnóstica de los paneles de genes basados en NGS, concretamente para aquellos síndromes de predisposición hereditaria al cáncer o enfermedades oncológicas para las cuales se requiere secuenciar un número considerable de genes relacionados con la patología. Sin embargo, la evidencia sobre la efectividad clínica de los paneles NGS sigue siendo escasa. Se sugiere que el método de Sanger continuaría siendo el más apropiado cuando es necesario secuenciar un único gen. En cuanto a los costes, la evidencia disponible es sugestiva de que la realización de análisis basados en NGS en cáncer debe llevarse a cabo en un número elevado de pacientes para obtener una reducción significativa de los costes. Cabe destacar también que se ha identificado un vacío de información sobre el uso de las técnicas de secuenciación del genoma y del exoma. Por lo tanto, serían necesarios estudios que evalúen su eficacia tanto diagnóstica como clínica para determinar si su implementación en la práctica podría ser relevante.

EXECUTIVE SUMMARY

During the last decade, great advances have been made in DNA sequencing technologies for genetic analysis. Currently, different technologies called “Next-generation sequencing” (NGS) are on the market allowing to sequence the entire genome, the coding regions (exomes) and certain genes selected a priori by means of gene panels. Until recently, most routine clinical sequencing was performed with the Sanger method. However, this method presents a series of limitations that make it difficult to maintain it in routine practice. First, this method only allows the sequencing of a specific target region, so the analysis of large or different regions requires a large investment of time and money. Second, its sensitivity is often insufficient to determine, for example, somatic variations in tumour samples that are found in a specific subpopulation and at low levels. These limitations can be solved with technologies based on NGS, since they perform a faster, more sensitive and complete sequencing. Since its main function is to obtain multiple short sequences in parallel and simultaneously, its application could reduce cost and time. Currently, this technology is applied in prenatal and postnatal genetic studies, in hereditary non-oncohematological diseases and in hereditary and non-hereditary oncological diseases.

In the field of oncology, NGS technologies play an important role as both the incidence and prevalence of cancer follow an upward trend. In our country, different NGS equipment are established in some centres and hospitals. Although the content of the genetics portfolio included in Annex III of Royal Decree 1030/2006, of September 15, which establishes the portfolio of common services of the National Health System and the procedure for updating it, does not detail each of the specific tests included in the common portfolio of services, the NGS is a genetic technique available in many Autonomous Communities. Its use could be of great help in identifying possible genetic alterations relevant to the diagnosis, prognosis or selection of the most appropriate therapeutic approach for each patient based on the tumour profile. In this context, the objective of this report is to evaluate the available evidence in terms of safety, efficacy or effectiveness, economic cost and impacts of NGS-based technologies in patients with oncological disease or hereditary predisposition to cancer.

In order to achieve the objective, the medical literature was systematically reviewed. 119 potential studies were identified, 15 of which met the established inclusion criteria. Regarding safety, no study was identified that

had investigated variables related to the use of NGS technologies for diagnosis, prognosis and/or selection of therapeutic targets in cancer patients. In terms of diagnostic efficacy, the 15 studies identified used gene panels. Of these, 5 studies investigated colon cancer, 2 hereditary breast and ovarian cancer, 2 lung cancer, 1 melanoma, and 5 oncohematological diseases. Overall, the results of the diagnostic capacity of the NGS technology are favourable and have a high concordance with the Sanger method. No clinical effectiveness data were identified, although there were 7 cost-effectiveness studies of the gene panels for the diagnosis and selection of therapeutic targets. Of these, 5 reported that NGS sequencing in combination with the therapy suggested by its results was cost-effective.

The studies identified present favourable results on the diagnostic efficacy of the NGS-based gene panels, specifically for those syndromes of hereditary predisposition to cancer or oncological diseases for which it is required to sequence a considerable number of genes related to the pathology. However, the evidence on the clinical effectiveness of NGS panels remains limited. It is suggested that Sanger's method would continue to be the most appropriate when a single gene needs to be sequenced. Regarding costs, the available evidence suggests that NGS-based analyses in cancer should be carried out in a large number of patients to obtain a significant reduction in costs. It should also be noted that an information gap has been identified on the use of genome and exome sequencing techniques. Therefore, studies evaluating its diagnostic and clinical efficacy would be necessary to determine whether its implementation in practice could be relevant.

RESUM EN CATALÀ

Durant l'última dècada s'han aconseguit grans avenços en les tecnologies de seqüenciació de l'ADN per a l'anàlisi genètica. Actualment, es troben al mercat diferents tecnologies denominades "Next-generation sequencing" (NGS, per les seves sigles en anglès) que permeten seqüenciar el genoma complet, les regions codificantes (exomes) i determinats gens seleccionats a priori mitjançant plafons de gens. Fins fa poc, la majoria de les seqüenciacions rutinàries en clínica es realitzaven amb el mètode de Sanger. Tanmateix, aquest presenta una sèrie de limitacions que dificulten el seu manteniment a la pràctica habitual. En primer lloc, aquest mètode únicament permet seqüenciar una regió diana determinada, de manera que l'anàlisi de grans o diferents regions requereix una gran inversió econòmica i de temps. En segon lloc, la seva sensibilitat és sovint insuficient per determinar, per exemple, variacions somàtiques en mostres tumorals que es troben en una subpoblació específica i en baixos nivells. Aquestes limitacions poden resoldre's amb tecnologies basades en NGS, ja que realitzen una seqüenciació més ràpida, sensible i completa. Atès que la seva funció principal és obtenir múltiples seqüències curtes de forma paral·lela i simultània, la seva aplicació podria reduir el cost i el temps.

Actualment, aquesta tecnologia s'aplica en estudis genètics prenatals i postnatales, en patologies hereditàries no oncohematològiques i en patologies oncològiques hereditàries i no hereditàries.

En el camp de l'oncologia, les tecnologies NGS juguen un paper important, ja que tant la incidència com la prevalença del càncer segueixen una tendència a l'alça. Al nostre país, diferents equipaments NGS es troben establerts en alguns centres i hospitals. Si bé el contingut de la cartera de genètica recollit a l'annex III del Reial Decret 1030/2006, de 15 de setembre, pel qual s'estableix la cartera de serveis comuns del Sistema Nacional de Salut i el procediment per a la seva actualització, no detalla cada una de les proves concretes que s'inclouen a la cartera comuna de serveis, la NGS és una tècnica genètica disponible en moltes comunitats autònomes. El seu ús podria ser de gran ajuda en la identificació de possibles alteracions genètiques rellevants per al diagnòstic, el pronòstic o la selecció de l'abordatge terapèutic més adequat per a cada pacient en funció del perfil tumoral. En aquest context, l'objectiu del present informe és avaluar l'evidència disponible en termes de seguretat, eficàcia o efectivitat, cost econòmic i impactes de les

tecnologies basades en NGS en pacients amb malaltia oncològica o predisposició hereditària al càncer.

A fi d'aconseguir l'objectiu es va revisar, de manera sistemàtica, la literatura mèdica. Es van identificar 119 estudis potencials, dels quals 15 van complir els criteris d'inclusió establerts. En relació amb la seguretat, no es va identificar cap estudi que hagués investigat variables relacionades amb l'ús de les tecnologies NGS per al diagnòstic, el pronòstic i/o la selecció de les dianes terapèutiques en pacients amb càncer. Quant a l'eficàcia diagnòstica, els 15 estudis identificats van utilitzar plafons de gens. D'aquests, 5 estudis van investigar el càncer de còlon, 2 el càncer de mama i ovari hereditaris, 2 el càncer de pulmó, 1 el melanoma i 5 les malalties oncohematològiques. Globalment, els resultats de capacitat diagnòstica de la tecnologia NGS són favorables i compten amb una elevada concordança amb el mètode Sanger. No es van identificar dades d'efectivitat clínica, encara que sí 7 estudis cost-efectivitat dels plafons de gens per al diagnòstic i selecció de dianes terapèutiques. D'aquests, 5 van reportar que la seqüenciació NGS en combinació amb la teràpia suggerida pels seus resultats era cost-efectiva.

Els estudis identificats presenten resultats favorables sobre l'eficàcia diagnòstica dels plafons de gens basats en NGS, concretament per a aquelles síndromes de predisposició hereditària al càncer o malalties oncològiques per a les quals es requereix seqüenciar un nombre considerable de gens relacionats amb la patologia. Tanmateix, l'evidència sobre l'efectivitat clínica dels panels NGS continua sent escassa. Se suggereix que el mètode de Sanger continuaria sent el més apropiat quan és necessari seqüenciar un únic gen. Quant als costos, l'evidència disponible és suggestiva que la realització d'anàlisis basades en NGS en càncer s'ha de dur a terme en un número elevat de pacients per obtenir una reducció significativa dels costos. Es pot destacar també que s'ha identificat un buit d'informació sobre l'ús de les tècniques de seqüenciació del genoma i de l'exoma. Per tant, serien necessaris estudis que avaluïn la seva eficàcia tant diagnòstica com clínica per determinar si la seva implementació a la pràctica podria ser rellevant.

DATOS GENERALES

Fabricante o distribuidor del producto

Durante la última década se han logrado grandes avances en las tecnologías de secuenciación, un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es determinar el orden de los nucleótidos (A, C, G y T) en un oligonucleótido de ADN o ARN. Actualmente se encuentran en el mercado diferentes tecnologías de secuenciación clasificadas dentro de las denominadas “Next-generation sequencing” (NGS, por sus siglas en inglés) o de segunda generación. Estas tecnologías son Ion Torrent™, comercializada por la empresa ThermoFisher (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) y basada en la detección de protones liberados durante el proceso de polimerización o replicación del ADN, e Illumina® sequencing technology, comercializada por la empresa Illumina (San Diego, California, Estados Unidos) y que está basada en secuenciación por síntesis con nucleótidos marcados con fluorocromos y terminadores reversibles^a. Dentro de las tecnologías NGS también destaca la 454, comercializada por la compañía Roche (Basilea, Suiza) y cuyo funcionamiento se basa en la detección quimioluminiscente del pirofosfato liberado durante la elongación de la cadena complementaria de ADN (uno de los 3 procesos de transcripción de ADN: iniciación, elongación y terminación). Además, también destaca la SOLiD™ (Support Oligonucleotide Ligation Detection), comercializada por la empresa Life Technologies (Carlsbad, California, Estados Unidos), que se basa en la secuenciación por ligación con oligonucleótidos marcados. No obstante, estas dos últimas tecnologías (la 454 y SOLiD™) se encuentran actualmente en desuso. Las tecnologías basadas en NGS permiten secuenciar tanto el genoma completo como las regiones codificantes (exomas) y determinados genes previamente seleccionados mediante paneles de genes^b.

a Permite secuenciar de forma paralela a gran escala de miles de millones de fragmentos de ADN y detectar bases individuales cuando se incorporan a cadenas de ADN en crecimiento.

b Test genéticos que engloban genes implicados en una misma patología. Se utilizan cuando el fenotipo del paciente es claro y su causa puede tener origen en múltiples genes. Pueden incluir desde dos genes a cientos.

Breve descripción de la tecnología evaluada

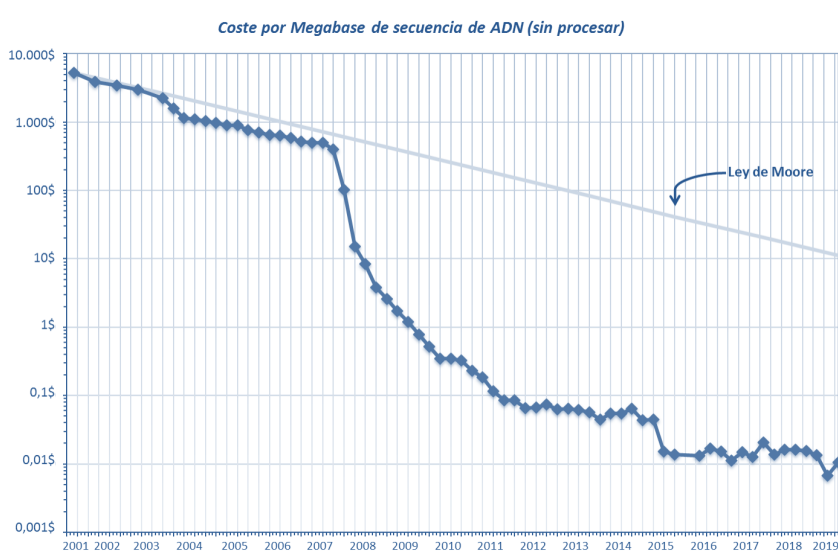
El término “secuenciación” se utiliza generalmente para cualquier técnica diseñada con la finalidad de determinar el orden de los nucleótidos en una molécula de ácidos nucleicos. La genética clínica se encarga de la identificación de las variaciones de la línea germinal en el ADN para el diagnóstico de enfermedades hereditarias o de base genética, haciendo de la secuenciación uno de los procedimientos habituales para la identificación de estas variaciones. Cada vez más, la oncología médica utiliza los resultados derivados de las técnicas de secuenciación con el objetivo de identificar variaciones somáticas o variaciones de secuencia específicas en tumores. La presencia o ausencia de variaciones somáticas ofrece información que puede ser de gran ayuda para el diagnóstico y/o pronóstico de diferentes enfermedades. Además, la identificación de estas variaciones de la línea somática afecta a las opciones de tratamiento, ya que muchos de ellos van dirigidos a variaciones, mutaciones, genes o vías metabólicas específicas (1).

Hasta hace poco, la mayoría de las secuenciaciones rutinarias se realizaban mediante el método Sanger. La secuenciación de Sanger o secuenciación de primera generación (2) ha sido la tecnología de secuenciación utilizada durante más de tres décadas. Esta se basa en el empleo de dideoxynucleótidos (ddNTP) que carecen del grupo hidroxilo del carbono 3'. Estos grupos se marcan fluorescentemente de manera que, cuando uno de estos nucleótidos se incorpora a una cadena de ADN en crecimiento, esta no puede continuar elongándose. Esto sucede porque la enzima ADN polimerasa necesita un grupo terminal 3' OH para añadir el siguiente nucleótido y el ddNTP incorporado carece de este grupo hidroxilo. Así, la enzima ADN polimerasa añadirá nucleótidos hasta que, aleatoriamente, agregue un ddNTP en lugar de uno normal. A partir de ese momento, no es posible agregar más nucleótidos y la cadena termina con el nucleótido ddNTP. Este proceso se repite cientos de números de veces, lo que garantiza la incorporación mínima de un ddNTP por cada uno de los nucleótidos que forman la cadena de ADN. Mediante este proceso se obtienen fragmentos de diferentes longitudes marcados con un pigmento fluorescente en su extremo, el cual será iluminado por un láser una vez cada fragmento finalice la electroforesis capilar en gel y se revelará el nucleótido incorporado. Con esta técnica, se llevó a cabo el Proyecto Genoma Humano (secuenciación completa del genoma humano), el cual tuvo un coste de unos 2.047 millones de euros y costó más de una década en secuenciarse.

La secuenciación de primera generación presenta ciertas limitaciones que dificultan su mantenimiento en la práctica clínica rutinaria. El método Sanger únicamente permite secuenciar una región diana de determinada longitud. Por este motivo, la secuenciación de grandes o diferentes regiones

requiere una gran inversión económica y de tiempo. A parte, la sensibilidad de esta técnica es a menudo insuficiente para identificar variaciones somáticas en muestras de tumores ya que, muchas veces, estas se encuentran únicamente en una subpoblación de células tumorales y en bajos niveles (3). Estos obstáculos llevaron al desarrollo de nuevas tecnologías para abordar la necesidad de una secuenciación más rápida, sensible y completa. Así, entre 2005 y 2008, empezaron a comercializarse las primeras tecnologías de NGS, también conocidas como técnicas de secuenciación masiva en paralelo (4). Su principal función es realizar múltiples secuencias cortas de forma paralela gracias a la inmovilización de las reacciones en una superficie sólida, produciendo así millones de lecturas al mismo tiempo y reduciendo los costes (5) (Figura 1).

Figura 1. Evolución del coste de la secuenciación del ADN. Se observa una disminución del coste de secuenciación de una megabase a partir de la implementación de las tecnologías de NGS entre 2005 y 2008.



En este contexto, se han desarrollado diferentes plataformas basadas en NGS. Todas ellas presentan el mismo proceso general, que comprende la preparación de la muestra o preparación de las librerías (paso en el que el ADN del paciente, utilizado como plantilla, se purifica, se amplifica y se fragmenta), seguido de un aislamiento físico de los fragmentos de ADN por su unión a una superficie sólida. Los datos de secuencia se generan en estos pequeños fragmentos mientras que los resultados electrónicos se alinean

computacionalmente contra un genoma o secuencia de referencia. La combinación de los detalles técnicos específicos es lo que distingue las diferentes tecnologías de secuenciación y determina el tipo de datos que se producen a partir de cada plataforma (6). Las principales diferencias entre los ultrasecuenciadores de NGS se hallan en la técnica empleada para la preparación de las librerías y en el protocolo utilizado para la propia secuenciación.

Según la técnica empleada en la preparación del ADN, distinguimos entre:

- PCR en emulsión
 - Su principio básico es la dilución y compartimentación de moléculas plantilla de ADN en gotas de agua en una emulsión aceite-agua. Cada gota contiene una molécula plantilla única y funciona como un reactor de micro-PCR (7). Dentro de este método se encuentran los secuenciadores 454 (Roche), los secuenciadores de la plataforma SOLiD™ (Applied Biosynthesis) y los secuenciadores Ion PGM e Ion PROTON (ThermoFisher).
- PCR en puente
 - En este tipo de PCR los fragmentos se amplifican a partir de cebadores unidos a una superficie sólida (8). Los secuenciadores de la plataforma Illumina® (Illumina®) requieren de este método para la preparación del ADN a secuenciar.

Según el método empleado en la secuenciación, distinguimos entre:

- Secuenciación por pirosecuenciación
 - Se basa en la detección quimioluminiscente del pirofosfato liberado durante la elongación de la cadena complementaria de ADN, lo que permite la rápida determinación de secuencias a tiempo real. A pesar de que el coste por carrera es relativamente caro, es capaz de ofrecer lecturas relativamente largas (alrededor de 700 pb), en un período de tiempo más o menos corto. Sin embargo, es poco sensible en la detección de homopolímeros. Este tipo de secuenciación la presentan los secuenciadores 454 (Roche).
- Secuenciación por ligación
 - Se utiliza la enzima ADN ligasa para identificar el nucleótido presente en una posición dada en una secuencia de ADN. Este método no utiliza la enzima ADN polimerasa para crear una segunda cadena, sino que utiliza una enzima ligasa para determinar la secuencia subyacente de la molécula de ADN objetivo. Esta técnica es propia del secuenciador SOLiD™ (ThermoFisher).

- Secuenciación por síntesis
 - Se aplica la amplificación clonal *in vitro* por medio de un PCR en puente. Los fragmentos a secuenciar se preparan con adaptadores en los extremos para permitir que sus cadenas desnaturalizadas puedan unirse a una superficie sólida. Así se enriquecen por medio de una amplificación tipo puente, lo que genera *clusters* de cadenas del mismo fragmento con el fin de amplificar la señal generada por los nucleótidos fluorescentes incorporados a la cadena en crecimiento. De esta forma, se pueden detectar por una cámara mientras que este proceso tiene lugar de forma cíclica. Los secuenciadores de la plataforma Illumina® (Illumina) son los que utilizan este tipo de secuenciación.
- Secuenciación por semiconductores
 - Se diferencia de las otras secuenciaciones ya que carece de un sistema óptico de detección de señales. En este caso, se trata de un chip que contiene un sistema integrado de detección electroquímica, el cual mide la variación de pH detectada en un sistema CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor) por la liberación de un protón (H⁺) durante la incorporación de un nucleótido en la hebra complementaria del ADN a secuenciar. Esta técnica se encuentra en los secuenciadores Ion PGM e Ion PROTON (ThermoFisher).

Actualmente en España, los equipamientos más comunes en los laboratorios biomédicos son MiSeq Personal Sequencer de Illumina®, con certificado NRT EIC61010-1, con marcado CE y aprobado por FCC/IC; y PGM/Ion Proton Life Tech de Ion Torrent™, con marcador CE-IVD para el equipo PGM. Mientras que Ion Torrent™ utiliza la PCR en emulsión para la preparación de las librerías y la secuenciación del ADN por semiconductores, Illumina® utiliza la PCR en puente para la preparación de las librerías y la secuenciación del ADN se realiza mediante síntesis. En la Tabla 1 se encuentran recogidos los distintos secuenciadores actualmente disponibles en el mercado, que corresponden a las tecnologías Ion Torrent™ e Illumina®.

Los diferentes equipamientos y técnicas de NGS nos permiten secuenciar cada uno de los nucleótidos del ADN de un individuo o regiones más pequeñas del genoma. Por lo tanto, la tecnología NGS puede realizar (9):

- Secuenciación completa del genoma
 - La secuenciación completa supone unos costes elevados. Este tipo de secuenciación será de gran interés y preferencial a la secuenciación de los exomas a medida que se consiga disminuir los costes y se avance en el conocimiento de la función del ADN no

codificante en las enfermedades humanas. Actualmente, esta secuenciación se utiliza principalmente en el ámbito de la investigación y no tanto en el contexto clínico.

- Secuenciación de los exomas
 - Los exomas contienen las regiones que codifican para proteínas y representan entre el 1,5 y el 2 % de todo el genoma. Su secuenciación se basa en la idea de que el 85 % de las mutaciones conocidas y relacionadas con alguna patología se encuentran en ellos. Este enfoque reduce los costes, así como el almacenamiento de datos comparado con la secuenciación completa del genoma. El principal inconveniente de la secuenciación de los exomas respecto a la del genoma completo es que podrían perderse una o varias variantes patogénicas en una región no codificante del genoma. Por este motivo, la secuenciación completa se podría utilizar cuando la secuenciación de los exomas no revele el diagnóstico definitivo de la patología de interés.
- Paneles de genes dirigidos

Los paneles de genes proporcionan información de un número limitado de genes previamente determinados (generalmente entre 10 y 200). Su uso es apropiado cuando es necesario secuenciar diferentes genes en concreto para realizar el diagnóstico. Se encuentran comercializados paneles de genes asociados a cáncer hereditario o diseñar un panel con los genes de interés. Los paneles de genes han demostrado su utilidad en muchos tipos de cáncer, especialmente en aquellos casos con más de una variación genética en la línea germinal o somática responsables de la enfermedad.

Cabe destacar que la tercera generación de secuenciación, también conocida como long-read sequencing (10), se encuentra en fase de desarrollo. Esta se basa en la utilización de la secuenciación masiva de forma paralela y, a diferencia de las NGS, se utilizan moléculas de ADN individuales como plantilla en lugar de ADN amplificado. Por lo tanto, la secuenciación de tercera generación eliminaría los posibles errores introducidos en la secuencia de ADN durante su proceso de amplificación. La cuarta generación de secuenciación, conocida como in-situ sequencing, se encuentra también en desarrollo y se basa en secuenciar los ácidos nucleicos directamente en las células o en las muestras de estudio (11).

Tabla 1. Especificaciones técnicas y aplicaciones del equipamiento actualmente disponible en el mercado que utiliza la tecnología de NGS.

Equipamiento sec.	Casa comercial	Método sec.	Longitud máx.	Máx. lecturas	Output máx.	Aplicaciones clave	Tiempo secuenciación
Ion GeneStudio S5 System	Thermo Fisher Scientific	Secuenciación por semiconductores	200-600 bp	2 – 80 m.	0,3 – 15 Gb	*paneles por cada chip	19 h
Ion GeneStudio S5 Plus System	Thermo Fisher Scientific	Secuenciación por semiconductores	200-600 bp	2 - 130 m.	0,3 – 30 Gb	*paneles por cada chip	10,5-11,5 h
Ion GeneStudio S5 Prime System	Thermo Fisher Scientific	Secuenciación por semiconductores	200-600 bp	2 – 130 m.	0,3 - 50 Gb	*paneles por cada chip	8,5 h
Ion Proton System	Thermo Fisher Scientific	Secuenciación por semiconductores	200 bp	60 – 80 m.	1 – 10 Gb	Secuenciación completa del genoma, secuenciación del exoma, secuenciación del transcriptoma, análisis de número de copias, secuenciación de ChIP, secuenciación de ARN dirigida.	2 – 4 h
Ion Personal Genome Machine (PGM) System	Thermo Fisher Scientific	Secuenciación por semiconductores	35-400 bp	400 mil - 5,5 m.	30 Mb – 2 Gb	Secuenciación de ADN dirigida, análisis de número de copias, secuenciación de ARN dirigida, secuenciación de ARN de pequeño tamaño, secuenciación microbiana de novo, investigación de tipificación bacteriana, investigación de tipificación viral, secuenciación de ChIP, análisis de metilación, verificación de SNP y genotipado por secuenciación.	2,3 - 7,3 h
iSeq 100 System (Benchtop)	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x150 bp	4 m.	1,2 Gb	Secuenciación de genoma completo de pequeño tamaño, secuenciación de genes dirigida, secuenciación de amplicones de largo alcance, perfil de expresión de genes dirigida, análisis de miARN y ARN pequeño tamaño.	9 - 17,5 h
MiniSeq System (Benchtop)	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x150 bp	25 m.	7,5 Gb	Secuenciación de genoma completo de pequeño tamaño, secuenciación de genes específicos, perfil de expresión de genes específicos, secuenciación metagenómica 16S, secuenciación de amplicones de largo alcance, análisis de miARN y ARN de pequeño tamaño, secuenciación de amplicones de largo alcance.	4 – 24 h
MiSeq System (Benchtop)	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x300 bp	25 m.	15 Gb	Secuenciación de genoma completo de pequeño tamaño, secuenciación de genes específicos, secuenciación metagenómica 16S, secuenciación de genes específicos, secuenciación de amplicones de largo alcance, análisis de miARN y ARN de pequeño tamaño, análisis de interacción ADN-proteína.	4 – 55 h
NextSeq Series (Benchtop)	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x150 bp	400 m.	120 Gb	Secuenciación de genoma completo, secuenciación del exoma, secuenciación completa del transcriptoma, secuenciación genética dirigida, perfil de expresión génica con secuenciación de ARNm, perfil de expresión génica dirigida, secuenciación de amplicones de largo alcance, análisis de miARN y ARN de pequeño tamaño, análisis de interacción ADN-proteína, secuenciación de metilación, secuenciación metagenómica 16S.	12 – 30 h

Equipamiento sec.	Casa comercial	Método sec.	Longitud máx.	Máx. lecturas	Output máx.	Aplicaciones clave	Tiempo secuenciación
NextSeq Series (production-scale sequencers)	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x150 bp	400 m.	120 Gb	Secuenciación de genoma completo, secuenciación de genes dirigida, perfil de expresión génica con secuenciación de ARNm, análisis de miARN y ARN pequeño, secuenciación de exoma, secuenciación de transcriptoma completo, análisis de interacción de ADN-proteína, secuenciación de metilación, secuenciación metagenómica 16S.	12 - 30 h
HiSeq 4000 System	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x150 bp	5 bases	1500 Gb	Secuenciación del exoma, secuenciación dirigida de genes, secuenciación del genoma completo, perfil de expresión génica con secuenciación de ARNm, análisis de miARN y ARN de pequeño tamaño, análisis de interacción ADN-proteína, secuenciación de metilación, secuenciación metagenómica 16S.	<1 - 3,5 días
NovaSeq 6000 System	Illumina	Secuenciación por síntesis	2x250 bp	20 bases	6000 Gb	Secuenciación de genoma completo, secuenciación de exoma, secuenciación de genes específicos, secuenciación de metilación, secuenciación de genes específicos, perfil de expresión génica con secuenciación de ARNm, análisis de miARN y ARN de pequeño tamaño, análisis de interacción ADN-proteína, secuenciación metagenómica 16S.	13 – 44 h

bp: pares de bases (*base pair*); m.: millones; Gb: gigabase; Mb: megabase; h: horas.

Población diana

Pacientes con predisposición hereditaria al cáncer o con alguna enfermedad oncológica candidatos a prueba genética mediante secuenciación con técnicas NGS para el diagnóstico, el pronóstico y la selección de dianas terapéuticas.

Descripción de la patología a la que se aplica la tecnología

La tecnología NGS se utiliza para detectar mutaciones en cualquier enfermedad o trastorno de base genética. La NGS se aplica en estudios genéticos prenatales y postnatales, en patologías hereditarias no oncohematológicas, en patologías oncológicas hereditarias y no hereditarias y en farmacogenómica (12,13).

En cuanto a las enfermedades oncológicas hereditarias (línea germinal), la NGS se aplicaría para el diagnóstico del carácter hereditario de la neoplasia en (14):

- Cáncer gástrico difuso hereditario
- Cáncer medular de tiroides familiar
- Carcinoma de colon hereditario no asociado a poliposis
- Carcinoma de mama y de ovario
- Feocromocitoma familiar
- Feocromocitoma/paraganglioma familiar
- Leiomiomatosis hereditaria y cáncer renal
- Melanoma familiar
- Neoplasia endocrina múltiple tipo 1
- Neoplasia endocrina múltiple tipo 2A
- Neoplasia endocrina múltiple tipo 2B
- Poliposis adenomatosa familiar
- Poliposis adenomatosa familiar atenuada
- Retinoblastoma
- Síndrome de Cowden
- Síndrome de Li-Fraumeni
- Síndrome de Lynch
- Síndrome de Peutz-Jeghers
- Síndrome de Von Hippel Lindau
- Síndrome de Wagr

En pacientes con cáncer asociado a alteraciones genéticas de la línea germinal, el uso de las NGS aportaría información pronóstica y preventiva, incluso en algunos casos información profiláctica por la realización, por ejemplo, de mastectomías en cáncer de mama hereditario o colectomías en pacientes con predisposición hereditaria al cáncer de colon. Concretamente, en el cáncer de ovario hereditario, el uso de las NGS con intención predictiva se limita al tratamiento con inhibidores de PARP.

La aplicación de la tecnología NGS en las enfermedades oncológicas no hereditarias (línea somática) se aplica para identificar factores diagnósticos, pronósticos o predictivos, según el caso, en diversos tipos tumorales como (14):

- Cáncer de colon
- Cáncer de endometrio
- Cáncer de mama
- Cáncer de ovario
- Cáncer de pulmón
- Cáncer de vejiga
- Cáncer renal no papilar
- Carcinoma medular de tiroides
- Carcinoma papilar de tiroides
- Glioblastoma
- Glioma bajo grado
- Gliomas
- Hepatoblastoma
- Leucemia linfática crónica
- Leucemia linfoblástica aguda
- Leucemia linfoblástica aguda-T
- Leucemia mieloblástica aguda
- Leucemia linfoide crónica tipo B
- Linfomas
- Linfoma anaplásico
- Linfoma anaplásico de células grandes, linfoma CD30+
- Linfoma B difuso de células grandes
- Linfoma de Burkitt
- Linfoma del manto
- Linfoma folicular
- Linfoma MALT
- Linfomas tipo B
- Linfomas tipo T
- Liposarcoma mixoide
- Liposarcoma pleomórfico
- Melanoma

- Meningiomas
- Mieloma múltiple y gammopatías monoclonales
- Nefroma mesoblástico celular
- Neoplasias linfoides y mieloides con eosinofilia
- Neuroblastoma
- Oligodendroglioma
- Rbdomiosarcoma alveolar
- Rbdomiosarcoma embrionario
- Sarcoma Ewing
- Sarcoma sinovial
- Síndromes mielodisplásicos
- Síndromes mieloproliferativos crónicos
- Tumor del estroma gastrointestinal

En pacientes con enfermedad oncológica no hereditaria, la NGS también sería aplicable en la identificación de biomarcadores para la selección de dianas terapéuticas. De hecho, algunos fármacos antineoplásicos requieren la realización de un análisis genético previo a su administración. En este caso, el objetivo de la NGS sería determinar si el paciente es candidato a recibir un tratamiento en concreto en función de su perfil tumoral. En la Tabla 2 se muestra un listado de dichos fármacos en relación con la enfermedad oncológica y el procedimiento o prueba genética (15).

Tabla 2. Listado de fármacos antineoplásicos que requieren previamente a su uso la identificación de la diana terapéutica (15).

Enfermedad	Fármaco	Diana terapéutica implicada	Marcadores predictivos implementados
Cáncer de colon	Cetuximab	KRAS	EGFR
	Panitumumab	RAS	
Cáncer de pulmón no microcítico	Afatinib		EGFR
	Atezolizumab	PD-L1, EGFR	ALK, EGFR
	Bevacizumab		EGFR
	Gefitinib		EGFR
	Pembrolizumab	CD274 (PD-L1)	ALK, EGFR

Enfermedad	Fármaco	Diana terapéutica implicada	Marcadores predictivos implementados
Cáncer de mama	Everólimus	ESR	
	Palbociclib	ESR	
	Ribociclib	ESR, PGR	
Cáncer de ovario	Olaparib	BRCA	
Tumores del estroma gastrointestinal	Imatinib	KIT	
Melanoma metastásico	Dabrafenib	BRAF	
	Nivolumab	CD274 (PD-L1)	
	Trametinib	BRAF	
	Vemurafenib	BRAF	
Leucemia linfoblástica aguda	Dasatinib	BCR-ABL1	
	Imatinib	BCR-ABL1	
	Ponatinib	BCR-ABL1 T315I	
Leucemia mieloblástica aguda	Nilotinib	BCR-ABL1	
Leucemia linfoblástica crónica	Venetoclax	Delección 17p o mutación TP53	
Leucemia mieloblástica crónica	Dasatinib	BCR-ABL1	
	Imatinib	BCR-ABL1	
	Ponatinib	T315I	
Síndromes mieloproliferativos/ mielodisplásicos	Imatinib	PDGFRB	

Por otro lado, se ha sugerido que el análisis genético tumoral sería de ayuda a la hora de predecir los beneficios y los riesgos de algunos tratamientos anti-tumorales. A modo de ejemplo, la NGS también se podría utilizar para evaluar, antes del inicio del tratamiento, la sensibilidad a tamoxifeno de las pacientes con carcinoma de mama hormono-dependiente en función de su genotipo del CYP2D6. Asimismo, también se podría predecir la eficacia

y la toxicidad de 5-fluorouracilo en pacientes con diferentes tipos de cáncer según las variantes alélicas de los genes DPYD y TYMP5 que se expresan.

Área de especialización/abordaje

El uso de la tecnología NGS para el diagnóstico genético de síndromes de predisposición hereditaria a cáncer (línea germinal) o enfermedades oncológicas no hereditarias (línea somática), así como la identificación de dianas terapéuticas de algunos fármacos antineoplásicos para el tratamiento del cáncer, se indicaría desde el área de oncología. Además, el procedimiento de la prueba genética implicaría a los servicios de anatomía patológica y genética molecular, así como a las unidades de consejo genético, entre otras.

Dirección web de documentos de referencia publicados

Se ha identificado un informe de evaluación sobre la eficacia de la secuenciación masiva para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades oncohematológicas:

Zoni Matta AC, Martínez López, J. Eficacia de la secuenciación masiva para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades oncohematológicas. Madrid. Ministerio de Sanidad. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid. 2015. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Disponible en: <http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM017998.pdf>

DESARROLLO Y USO DE LA TECNOLOGÍA

Grado de desarrollo y uso de la tecnología

La tecnología NGS está establecida en algunos centros y hospitales de España. Aunque el contenido de la cartera de genética recogido en el anexo III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización, no detalla cada una de las pruebas concretas que se incluyen en la cartera común de servicios, la NGS es una técnica genética disponible en muchas Comunidades Autónomas (15).

Según el último informe sobre los análisis genéticos que se realizan en España, dentro del SNS, la realización de estudios genéticos basados en NGS se prestan, entre otras, a personas con predisposición al cáncer hereditario y para el diagnóstico de la enfermedad oncológica. Sin embargo, no se especifica si la NGS se dispone también para la identificación de dianas terapéuticas a la hora de tomar la decisión terapéutica (15).

A nivel nacional, el análisis genético mediante NGS se lleva a cabo principalmente en los hospitales del sector público (78 %) (16). En la Tabla 3 se presentan los centros y hospitales españoles que cuentan con laboratorios genéticos acreditados y registrados en la base de datos *EuroGentest*^c, en los cuales se aplica la tecnología para el manejo de enfermedades oncológicas (17).

c EuroGentest es un proyecto europeo de la Comisión Europea que pretende armonizar el proceso de pruebas genéticas en toda Europa, desde el muestreo hasta el asesoramiento. El objetivo es garantizar que las pruebas genéticas sean de calidad alta y proporcionen así resultados precisos y fiables para el beneficio de los pacientes.

Tabla 3. Centros y hospitales españoles con laboratorios genéticos acreditados y registrados en la base de datos EuroGentest con las pruebas diagnósticas que realizan mediante NGS.

Comunidad Autónoma	Centro/Hospital	Diagnóstico (genes)*
Andalucía	Hospital Universitario San Cecilio	Cáncer hereditario (panel)
	Hospital Universitario Virgen del Rocío	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)		
Castilla-León	Instituto de Biología y Genética Molecular	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
		Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)
		Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2, BRIP1, PALB2, RAD51C, BARD1, CHECK2)
	IBSAL – Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2, BRIP1, PALB2, RAD51C, BARD1, CHECK2)

Comunidad Autónoma	Centro/Hospital	Diagnóstico (genes)*
Cataluña	Corporació Sanitària Parc Taulí	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
	Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol	Cáncer hereditario de mama y ovario (PALB2)
		Carcinoma pancreático familiar (PALB2)
	Institut Català d'Oncologia	Cáncer hereditario (panel)
		Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C)
		Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6)
		Cáncer gástrico familiar (CDH1)
		Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM)
	Hospital de la Santa Creu i Sant Pau	Cáncer hereditario de mama y ovario (panel)
	Hospital Sant Joan de Déu	Cáncer hereditario (panel)
Hospital Universitari Sant Joan de Reus	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)	
Hospital Universitari Vall d'Hebron	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)	
Comunidad Valenciana	Hospital Clínica Vistahermosa	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
	Hospital Universitario y Politécnico La Fe	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
La Rioja	Hospital San Pedro	Melanoma (panel)
		Cáncer gástrico (panel)
		Cáncer colorrectal (panel)
		Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
		Cáncer de mama y ovario (panel)
		Cáncer pancreático (panel)

Comunidad Autónoma	Centro/Hospital	Diagnóstico (genes)*
Madrid	Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas	Melanoma familiar y cáncer melanoma-pancreático (CDKN2A)
		Carcinoma medular de tiroides (RET exones 5, 8, 10, 13-16)
		Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)
		Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
		Cáncer gástrico familiar (CDH1)
	Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz	Cáncer hereditario (panel)
	Centro de Bioquímica y Genética Clínica	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
Cáncer de colon familiar no asociado a poliposis (MLH1, MSH2, MSH6)		
País Vasco	Hospital Universitario Donostia	Cáncer hereditario de mama y ovario (BRCA1, BRCA2)
	Onkologikoa	Enfermedades neoplásicas raras (panel, qCancer Risk)

(*) No se incluyen técnicas de Whole Exome Sequencing en EuroGentest.

Los paneles de genes dirigidos son la estrategia NGS más frecuentemente utilizada en la práctica clínica. De hecho, los paneles de múltiples genes basados en las recomendaciones de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) son cada vez más utilizados para ciertos síndromes de predisposición hereditaria al cáncer.

Tipo y uso de la tecnología

En el campo de la oncología, la aplicación de la NGS tiene lugar a nivel asistencial. El objetivo de su uso es la identificación de posibles alteraciones genéticas que sean útiles para el diagnóstico, el pronóstico o la selección del abordaje terapéutico más adecuado para cada paciente en función del perfil genético tumoral. Como se ha descrito anteriormente, los paneles de genes son el método NGS más utilizado en la práctica clínica, mientras que

la secuenciación del exoma o del genoma completo se aplica, principalmente, en el ámbito de la investigación. Es importante tener en cuenta que la secuenciación en la práctica clínica únicamente debería realizarse cuando se dispone de una evidencia científica suficiente que relacione la alteración genética con el tipo de cáncer. La aplicación de la NGS puede dar lugar a la identificación de mutaciones para las cuales no se conoce la relación con la enfermedad y, por lo tanto, sería difícil la interpretación de los resultados. Por este motivo, los paneles permiten seleccionar aquellos genes para los cuales se ha reportado su aplicación en la práctica clínica, puesto que para su uso se debe conocer previamente la mutación o alteración genética que se quiere identificar.

Por lo que hace al tipo de muestra biológica utilizada para la secuenciación, para los estudios de predisposición genética se utiliza fundamentalmente una muestra de sangre, la cual es relativamente fácil de obtener, transportar y procesar. No obstante, los estudios de carácter somático se realizan con muestras de tumores, generalmente únicas, sometidas a variaciones pre-analíticas tales como el tiempo de isquemia fría tras extracción, el tiempo y tipo de fijación, el tamaño y el porcentaje de células tumorales, entre otras. Esto hace que su manejo sea más complejo, sobre todo en muestras pequeñas o en algunos tipos de cáncer donde la muestra de tejido es de difícil obtención, como en los casos de tumores cerebrales. El tipo de muestra, por tanto, puede condicionar, en parte, la logística de aplicación de NGS para el estudio de factores predictivos en cáncer. Dadas las limitaciones que presenta la muestra tumoral para su análisis genético, se encuentra en investigación la utilización del ADN tumoral circulante, conocido como biopsia líquida, en pacientes con mutaciones en la línea somática.

Lugar o ámbito de aplicación de la tecnología

Actualmente, en España, el uso de la tecnología NGS es apto para cualquier centro hospitalario que disponga de un laboratorio clínico con el equipamiento necesario para la realización de dichas pruebas sin la necesidad de disponer de ninguna acreditación (véase el apartado “Requerimientos de infraestructura y formación”).

Relación con tecnologías previas

El método de secuenciación de Sanger continua siendo el gold standard para identificar variantes genéticas útiles para el diagnóstico y selección de dianas terapéuticas, con una exactitud de más del 99,99 % para la mayoría

de los genes secuenciados (9). Es por este motivo por lo que los laboratorios clínicos que aplican las tecnologías NGS suelen realizar la secuenciación con Sanger con el fin de confirmar los resultados de las variantes identificadas mediante NGS y evitar falsos positivos (18,19). No obstante, dadas las mejoras continuas en la secuenciación masiva, la validación de los resultados de las pruebas NGS con Sanger se encuentra en discusión (20). Se ha sugerido que la aplicación de la NGS dirigida a un subconjunto de genes específicos presenta igual calidad que la secuenciación mediante Sanger (21). Por lo tanto, las tecnologías basadas en NGS se postulan como una tecnología sustitutiva a la secuenciación convencional.

Tecnología alternativa al uso actual

La tecnología NGS pretende, a largo plazo, sustituir la secuenciación mediante el método de Sanger. En la Tabla 4 se presentan los principales beneficios e inconvenientes de las dos generaciones de secuenciación.

Tabla 4. Comparación de la secuenciación mediante el método de Sanger y tecnologías NGS (22).

	Secuenciación de primera generación Sanger	Secuenciación de segunda generación NGS
Beneficios	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de secuencias largas • Fácil montaje de las diferentes lecturas • Menor profundidad de secuenciación para una buena cobertura • Fácil de analizar • Almacenamiento de datos relativamente pequeño 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada sensibilidad • Alta profundidad de secuenciación • Escalable a todo el genoma • Detecta aberraciones cromosómicas • Detecta variaciones en el número de copias • Bajo coste por base • Pequeña cantidad de material biológico (50 ng) • Tiempo de respuesta rápido

	Secuenciación de primera generación Sanger	Secuenciación de segunda generación NGS
Inconvenientes	<ul style="list-style-type: none"> • Baja sensibilidad • Escalable a pocos genes • No detecta aberraciones cromosómicas • Insensible a la variación en el número de copias • Elevado coste por base • Gran cantidad de material biológico (1-3ug) • Tiempo de respuesta lento 	<ul style="list-style-type: none"> • Secuencias de lectura cortas • Dificultad en el análisis de datos • Se requiere un gran almacenamiento de datos

De acuerdo con las características de los dos procedimientos, la secuenciación de primera generación puede ser una buena opción cuando se pretende estudiar una región pequeña del ADN en un número limitado de genes. En cambio, el uso de las tecnologías NGS se recomienda para el resto de análisis genéticos puesto que son más rentables porque permiten detectar múltiples variantes en áreas específicas del genoma en un mismo análisis. Por lo tanto, las tecnologías NGS se pueden utilizar para secuenciar el genoma completo del paciente o en pequeñas porciones como los exomas o un conjunto de genes previamente seleccionado. La tendencia general es incrementar el uso de paneles de genes específicos para el diagnóstico y la selección de dianas terapéuticas en patologías de base genética. Así se puede decir que, mientras que la secuenciación de Sanger permite analizar un único fragmento del genoma mayor más lentamente, la NGS permite realizar un análisis simultáneo y en paralelo de fragmentos más cortos del genoma. En este contexto, las tecnologías NGS han permitido abaratar los costes de la secuenciación de grandes regiones del genoma, así como el tiempo necesario para la obtención de los resultados (9,10).

No obstante, es importante tener en cuenta que, en algunos casos, los análisis genéticos NGS no son la opción más adecuada puesto que continúa siendo una tecnología cara, laboriosa y a menudo innecesaria. Cuando las patologías de base genética se limitan a uno o pocos genes, el diagnóstico es susceptible de ser realizado mediante secuenciación de Sanger. Por el contrario, sería adecuado considerar los paneles de genes o la secuenciación del exoma si se necesita analizar una gran cantidad de genes. También se debe considerar la secuenciación del exoma o la secuenciación del genoma completo cuando la afección muestra una alta heredabilidad en una familia, cuando se sospecha de una enfermedad de base genética con un elevado

número de genes implicados potenciales o se desconocen los genes responsables (9).

Licencia, reintegro de gastos u otras autorizaciones

La tecnología basada en NGS se encuentra comercializada y en uso en el SNS. A nivel europeo, los productos sanitarios para el diagnóstico *in vitro* se encuentran bajo el Reglamento (UE) 2017/746, publicado el 5 de mayo de 2017, que reemplaza la directiva 98/79/EC del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 1998. Según se establece, este tipo de producto sanitario debe llevar el marcado CE. De esta manera, los Estados miembros pueden poner en el mercado o en servicio de su territorio los productos con este marcaje, siempre y cuando se hayan sometido a una evaluación de su conformidad a las disposiciones específicas de dicha directiva. La citada Directiva 98/79/CE señala las normas armonizadas elaboradas por el Comité Europeo de Normalización (CEN) y el Comité Europeo de Normalización Electrotécnica (CENELEC) para demostrar la conformidad de los productos sanitarios de diagnóstico *in vitro* con los requisitos esenciales.

En España, el Real Decreto de 1662/2000, de 29 de septiembre, sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, constituye el marco reglamentario español por el que se rige la fabricación, importación, certificación, comercialización, puesta en servicio, distribución, publicidad y utilización de los productos sanitarios para el diagnóstico *in vitro*. Este real decreto incorporó, al derecho español, la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 1998, sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Esta permanecerá en vigor hasta el 26 de mayo de 2022, de acuerdo con lo previsto en el artículo 112 del Reglamento (UE) 2017/746, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de abril de 2017, sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, y por el que se derogan la Directiva 98/79/CE y la Decisión 2010/227/UE de la Comisión, salvo las excepciones contempladas en dicho artículo.

IMPORTANCIA SANITARIA DE LA CONDICIÓN CLÍNICA O LA POBLACIÓN A LA QUE SE APLICA

Incidencia y prevalencia

Según los últimos datos del Global Cancer Observatory, en 2018 se estimaron 18,1 millones de nuevos casos de cáncer a nivel mundial (23). Se espera que la incidencia siga una tendencia al alza con un aumento de nuevos casos del 70 %, y se alcanzarían los 29,5 millones en 2040 (24). Del total de casos, entre un 5-10 % presentan un componente hereditario de alta penetrancia. Globalmente, la probabilidad de desarrollar un cáncer entre los 0 y los 79 años es de 1 de cada 3 para los hombres de 1 de cada 5 para las mujeres (25).

En España, el número de casos incidentes de cáncer en 2018 fue de 270.363, siendo los tumores más frecuentes los de mama, próstata, colorrectal, pulmón, vejiga, útero y cutáneos no melanoma. Si la incidencia se ajusta por sexo, el cáncer más frecuentemente diagnosticado en hombres fue el de próstata, seguido de pulmón, colorrectal y vejiga. En el caso de las mujeres, los tumores más comunes fueron en mama, colorrectal, pulmón y útero. En la población infantil (0-14 años), predominaron las leucemias y los tumores en cerebro y sistema nervioso central (SNC).

En cuanto a la prevalencia global estimada a 5 años en 2018, el cáncer de mama ocupa la primera posición seguido de los tumores en colorrectal, próstata, pulmón, tiroides, vejiga, estómago, cérvix, linfoma no Hodgkin y útero. Si se observan los datos de la población española, la prevalencia según el tipo de tumor sigue un patrón ligeramente diferente al de la población global. Mientras que el cáncer de mama se mantiene en cabeza, el cáncer de próstata ocupa la segunda posición por delante del colorrectal. Destaca también que la prevalencia del cáncer de vejiga es mayor que la del cáncer de pulmón y de tiroides.

Carga de la enfermedad

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y la segunda causa de muerte a nivel mundial (IHME, 2018). En 2018, se produjeron alrededor de 9,5 millones de muertes por cáncer y se estima que esta cifra supere los 16,3 millones en 2040. Las tres principales causas fueron los tumores en pulmón (1.761.007 casos), colorrectal (880.792 casos) y estómago (782.685 casos). De los 213,3 millones de años perdidos por enfermedad (DALYs, por sus siglas en inglés), los años de vida perdidos contribuyen en un 98 %, mientras que los años vividos con discapacidad en un 2 %. Las principales causas de muerte por cáncer y DALYs, a nivel global, son los tumores de mama, pulmón, tráquea y bronquios y colorrectal (25).

En 2018 se produjeron, en España, 113.564 muertes por cáncer y se espera alcanzar los 168.063 casos en 2040. El cáncer de pulmón es también el que ocasiona un mayor número de muertes en nuestro país (22.896 casos), seguido de los tumores en páncreas (16.683 casos), mama (6.421 casos), próstata (5.793 casos), vejiga (5.680 casos), estómago (5.609 casos), hígado (5.569 casos), leucemia (3.884 casos) y los tumores de cerebro y del SNC (3.211 casos). Si se ajusta por sexo, los cánceres de pulmón (17.559 casos), colorrectal (10.038) y próstata (5.793 casos) son los más frecuentes en hombres, mientras que en mujeres estas tres posiciones las ocupan el cáncer colorrectal (6.645 casos), mama (6.421 casos) y pulmón (5.337 casos). En línea con los datos de incidencia, las principales causas de muerte por cáncer infantil son la leucemia (58 casos) y los tumores en cerebro y SNC (43 casos).

A nivel global, el número de casos de cáncer ha aumentado un 28 % entre 2006 y 2016. Las causas de este aumento se deben principalmente al envejecimiento de la población (17 %) y al crecimiento poblacional (12 %) (25). Se ha descrito que las técnicas de detección precoz y el aumento de la esperanza de vida contribuyen en parte a este incremento (26). Sin embargo, según los datos del Instituto Nacional de Epidemiología, la tasa de mortalidad en España entre los años 2003 y 2012 por tumores se redujo un 1,32 % y un 0,6 % al año en hombres y mujeres, respectivamente. Esta reducción podría explicarse por las mejoras en la supervivencia como resultado de las actividades preventivas relacionadas con los factores de riesgo modificables, las campañas de diagnóstico precoz y los tratamientos. En relación con esto último, se espera que en los próximos años los avances terapéuticos tengan un mayor efecto sobre la reducción de la mortalidad.

Las enfermedades oncológicas tienen un gran impacto económico y social y son una de las causas principales de ingreso hospitalario (3.599.306 estancias), por detrás de las enfermedades del aparato circulatorio (4.766.949 estancias) y respiratorio (3.886.462 estancias) (26). Según los datos del Instituto Nacional de Seguridad Social (27), en 2015 el 10 % del gasto sanitario

público en España se destinó a los costes asociados al cáncer, con aproximadamente 7.168 millones de euros. El gasto hospitalario representó el 58 % de los costes directos, mientras que el consumo de antineoplásicos y la atención primaria representaron el 36 % y el 6 %, respectivamente. En relación con los costes indirectos, el cáncer fue responsable del 10 % de la incapacidad permanente.

REQUERIMIENTOS PARA USAR LA TECNOLOGÍA

Requerimientos de infraestructura y formación

El uso de la tecnología NGS requiere una formación especializada y continua de los diferentes profesionales implicados, como los médicos especialistas, los asesores genéticos, los genetistas clínicos y los bioinformáticos. Además, el personal técnico debe estar altamente especializado en el manejo y análisis de datos genómicos. En cuanto a la infraestructura, en un escenario ideal los centros donde se llevan a cabo los análisis genéticos deberían estar acreditados por la autoridad sanitaria autonómica o estatal competente, reunir los requisitos de calidad que reglamentariamente se establecen (artículos 55 y 56 de la Ley de Investigación Biomédica 14/2007) y cumplir las normas ISO 15189^d y ISO/IEC 17025^e. Además, deberían contar con la logística necesaria para su correcta realización. No obstante, en la actualidad, las autoridades estatales y autonómicas no requieren tal acreditación para hacer diagnósticos en servicios de Anatomía Patológica, Análisis Clínicos, Bioquímica, entre otros, aunque un gran número de laboratorios poseen dicha acreditación.

Según las recomendaciones europeas, el laboratorio clínico que realiza estudios genéticos mediante NGS debe establecer un proceso de revisión y selección de los genes que se analizarán, siempre de acuerdo con la evidencia disponible sobre la relación entre la alteración genética y la patología de interés. Además, el listado de los genes seleccionados debe elaborarse por un equipo multidisciplinar de expertos. Asimismo, es importante considerar que el laboratorio es el responsable de establecer, a priori, una estrategia

d La norma ISO 15189:2012 contiene todos los requisitos que los laboratorios clínicos que analizan muestras biológicas de origen humano tienen que cumplir para demostrar que: (1) disponen de un sistema de gestión de la calidad, (2) son técnicamente competentes, (3) y son capaces de producir resultados técnicamente válidos.

e La norma ISO/IEC 17025 es una normativa internacional en la que se establecen los requisitos que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración. Esta se aplica por los laboratorios de ensayo y calibración con el objetivo de demostrar que son técnicamente competentes y que sus resultados son veraces.

de análisis dirigida únicamente al gen o genes implicados con el objetivo de minimizar la probabilidad de hallazgos inesperados. En relación con esto último, los paneles de genes son el procedimiento NGS que obtiene un menor número de estos hallazgos, de manera que sería la estrategia más recomendada a la hora de reducir las implicaciones éticas que comporta el uso de esta tecnología (28).

En la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 de 3 de julio se amparan los estudios genéticos, la cual implicaría a la aplicación de la tecnología NGS. En ella se establece que cualquier análisis genético de diagnóstico debe realizarse por prescripción médica y, antes de llevarlo a cabo, los pacientes deben recibir un asesoramiento genético previo a la secuenciación que incluya información adecuada sobre el síndrome de sospecha, en qué consiste el estudio genético, cuáles son los posibles resultados esperados y su significado. Tras ser correctamente informados, los pacientes deberán firmar un consentimiento para proceder al estudio genético. La entrega de los resultados al paciente se debe realizar también bajo un asesoramiento genético posterior a la obtención de los resultados y/o el diagnóstico (29).

En el ámbito del diagnóstico, únicamente deben tenerse en consideración aquellas muestras cuyo resultado de NGS sea de buena calidad. Por este motivo, es esencial definir unos criterios de calidad en función de diferentes factores como el número de lecturas obtenidas, la proporción de regiones duplicadas y la cobertura. Es importante también que el laboratorio diagnóstico genere una base de datos según las medidas de calidad de la plataforma, los análisis y las muestras procesadas. Asimismo, es apropiado recoger las variantes relevantes relacionadas con la plataforma o con los resultados de validación con el fin de agilizar el proceso diagnóstico. Se aconseja que los archivos resultantes se almacenen en un formato estándar (como FASTQ, BAM o VCF) que permita el intercambio de datos con otros laboratorios. Por último, el informe que se obtiene a partir de la secuenciación mediante NGS debe resumir, de forma clara y concisa, los resultados obtenidos, dado que este podrá ser leído tanto por personal experto como no experto en genética. Por lo tanto, se recomienda que el documento contenga información detallada sobre el test realizado y su control de calidad, así como los resultados principales obtenidos junto con la interpretación clínica de los mismos (28,29).

Coste y precio unitario

En la Tabla 5 se presentan los datos hallados sobre los costes de la tecnología basada en NGS. Un estudio realizado en el Reino Unido sobre microcostes, publicado en Julio de 2019 por Schwarze et al (30), reportó las estimaciones

completas y detalladas de los costes de la secuenciación del genoma en la práctica clínica diaria en pacientes con cáncer (incluidos mama, colorrectal, próstata y endometrio). Se estimó que el coste más elevado se correspondía con la adquisición del equipo de secuenciación HiSeq 4000 (Illumina), con un importe de 474.373 £ (547.473,88 €) y un gasto de mantenimiento anual de 55.641 £ (64.215,28 €). Este sistema de secuenciación requiere de dos kits de consumibles: uno de secuenciación por síntesis HiSeq 3000/4000 y otro kit HiSeq Paired End 3000/4000, con un precio estimado de 4.207 £ (4.855,30 €) y 2.597 £ (2.997,20 €), respectivamente. El coste total de la secuenciación del genoma para un caso de cáncer fue de 3420 £/muestra (3.948,05 €). Los consumibles representaron el 72 % del coste total, correspondiente a 2.063,23 £ (2.381,38 €). Los costes del equipo de secuenciación fueron de 307,5 £ (354,88 €), mientras que los del equipamiento necesario para el procesamiento de las muestras previo y posterior a la secuenciación ascendió a 39,56 £ (45,65 €). Por lo que se refiere al personal necesario, su retribución estimada fue de 439,95 £ (508,45 €), suponiendo un tiempo de 7 horas y 41 minutos por muestra únicamente para el análisis bioinformático. Para este cálculo se estableció que un año laboral consta de 44 semanas y la jornada laboral es de 37,5 horas/semana. Hemos de tener en cuenta que existe una variación entre salarios y/o seguros entre los diferentes países. A parte, se estimó que un 20 % del total del precio de la secuenciación por muestra se asociaba a los gastos generales, con justamente 570,07 £ (659,11 €). Estos datos fueron presentados para una media de 399 muestras anuales. Si se reducía el rendimiento a 100 muestras anuales, el coste de la secuenciación incrementaba un 39 %, y si se alcanzaban las 1.000 muestras anuales el coste de la secuenciación se reducía en un 8 % (30).

Otro estudio realizado en Estados Unidos publicado en septiembre del 2015 por Mody (31) presentó los costes estimados de la secuenciación de los exomas en pacientes pediátricos y adultos jóvenes. En este estudio, el coste de la secuenciación en la práctica clínica ascendió a 5.938 \$ (5.394,38 €), incluyendo tanto los reactivos como la mano de obra y el análisis bioinformático. El coste de la preparación de las muestras fue de 146 \$ (132,63 €). El coste de la secuenciación, junto con la preparación de las librerías y el control de calidad, resultó de 3.353 \$ (3.046,03 €). Finalmente, el análisis bioinformático y la elaboración de los resultados supusieron un coste de 922 \$ (837,59 €). El gasto total destinado a personal llegó a los 977 \$ (887,56 €). Cabe destacar que un 10 % de gastos generales (mantenimiento, soporte de compras, electricidad y seguros, entre otros) ascendió a 540 \$ (490,56 €).

Finalmente, otro estudio realizado entre 15 laboratorios genéticos de Francia y publicado en enero del 2018 por Marino et al (32), se centró en el coste del diagnóstico del cáncer utilizando paneles de genes específicos de NGS en la práctica habitual. Siete de los laboratorios se centraron en el aná-

lisis genético somático y 8 en el análisis de la línea germinal oncogenética. Los costes totales se situaron en los 607 € por paciente (± 207 €) para el análisis genético somático y en los 550 € por paciente (± 140 €) para el análisis germinal. La preparación de las muestras supuso la mayor parte del coste de producción debido principalmente a los consumibles, que representaron entre el 81 % y el 97 % de su coste. El laboratorio con un menor coste en la preparación de la muestra utilizó soluciones elaboradas in situ en lugar de las proporcionadas por la casa comercial, mostrando un ahorro de entre el 8 % y el 65 % en esta etapa. El coste de la fase de secuenciación varía entre 24 € y 330 € para el análisis somático genético y entre 18 € y 114 € para el análisis de la línea germinal oncogenética. Esta variación se debió fundamentalmente al equipo de secuenciación utilizado, siendo el Proton Sequencer más económico que el PGM. El gasto asociado al análisis bioinformático se situó entre los 31 € y los 63 € por muestra y se asoció, principalmente, al equipo y el software. También se reportaron gastos asociados a la validación técnica, sin ningún coste en aquellos laboratorios que no confirmaron los resultados de NGS y con 81 € en aquellos que realizaron una validación con Sanger. La validación biológica se situó entre los 12 € y los 41 € para los análisis genéticos somáticos y entre los 26 € y 105 € para los germinales. Por último, los gastos adicionales no relacionados directamente con la NGS representaron entre el 30 % y el 32 %, aproximadamente. Se destacó también que, si se consigue una reducción del 25 % en el coste del equipamiento, se lograría abaratar el coste por paciente en 4 € (607 €-603 €) y en 5 € (550 €-545 €) en el análisis de la línea somática germinal y la oncogenética, respectivamente.

Los datos anteriormente descritos referentes al precio unitario y uso de la tecnología son de referencia. Es importante tener en cuenta que los precios proporcionados por los fabricantes varían entre países e incluso entre hospitales de la misma región, según los acuerdos de compra o cesión previamente establecidos entre la institución y la propia compañía comercial. A parte, estos también dependen del tipo de secuenciación y del número de pacientes estimados que se pueden beneficiar de este servicio al año.

Tabla 5. Comparativa entre los costes de la secuenciación del genoma, exoma y de paneles de genes (líneas somática y germinal).

	Genoma (Schwarze et al 2019) (30)	Exoma (Mody et al 2015) (31)	Paneles de genes (Marino et al 2018) (32)	
Adquisición equipo secuenciación	474.373 £ (3.948,05 €)	-	-	-
Mantenimiento anual equipo	55.641 £ (64.215,28 €)	-	-	-
Secuenciación (por muestra)	3.420 £ (3.948,05 €)	5.938 \$ (5.394,38 €)	607 € (±207 €)	550 € (±140 €)
Consumibles	2.063 £ (2.381,38 €)	3.353 \$ (3.046,03 €)	24 € - 330 €	18 € - 114 €
Equipo	307,5 £ (354,88 €)			
Procesamiento muestras	39,56 £ (45,56 €)	146 \$ (132,63 €)		
Análisis bioinformático	-	922 \$ (837,59 €)	31 € - 63 €	
Validación biológica	-	-	12 € - 41 €	26 € - 105 €
Personal	439,95 £ (508,45 €)	977 \$ (887,56 €)	-	-
Gastos generales	570,07 £ (659,11 €)	540 \$ (490,56 \$)	30-32 %	

RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA

El presente informe se ha centrado en la evidencia disponible acerca de las técnicas de secuenciación, sin considerar otros métodos de determinación o comprobación de alteraciones genéticas (PCR a tiempo real, hibridación in situ...). Por este motivo, los resultados de seguridad, efectividad diagnóstica, efectividad clínica y coste-efectividad de la tecnología NGS se han comparado con los obtenidos mediante el método de secuenciación de Sanger.

Se realizaron dos revisiones sistemáticas independientes con el fin de identificar estudios que hubieran comparado la tecnología NGS con el método de Sanger para el diagnóstico, pronóstico y selección de dianas terapéuticas en pacientes con cualquier tipo de cáncer o con sospecha de enfermedad oncológica hereditaria. La primera revisión bibliográfica se centró en identificar estudios de seguridad, eficacia y/o efectividad de la secuenciación basada en NGS, mientras que con la segunda se pretendió identificar estudios sobre el coste-efectividad de esta tecnología.

Los criterios de inclusión y exclusión de la primera revisión bibliográfica se encuentran detallados en el Anexo 1. Se diseñó una estrategia de búsqueda para cada una de las bases de datos consideradas (Pubmed, Web of Science, Scopus y Cochrane Library) con el objetivo de identificar aquellos estudios que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos (véase el Anexo 2). De las 332 citas identificadas y revisadas por título y resumen, 119 se consideraron potenciales inclusiones, de las cuales se procedió a revisar el texto completo. Finalmente, 15 estudios cumplieron los criterios de inclusión (Anexo 3). Cuatro estudios investigaron síndromes de predisposición hereditaria al cáncer (33–36). Concretamente, 2 estudios estudiaron el cáncer de colon (33,34), 1 estudio investigó el cáncer de mama y ovario (35) y otro, el cáncer de mama (36). En relación con el cáncer no hereditario, se identificaron 11 estudios. De estos, 6 investigaron tumores sólidos (37–42) y 5, enfermedades oncohematológicas (43–47). En particular, 3 estudios en cáncer colorrectal metastásico (37–39), 2 estudios en cáncer de pulmón (40,41), 1 estudio en melanoma (42), 4 estudios en leucemia linfocítica crónica (43–46) y 1 estudio en leucemia mieloide crónica (47). Por último, en lo que respecta a la utilización de la prueba NGS, 6 estudios la emplearon como método

diagnóstico (33–36,43,44), 2 estudios como método diagnóstico y pronóstico (45,46), 5 estudios como método de diagnóstico y selección de diana terapéutica (38–42), 1 estudio como método pronóstico y selección de diana terapéutica (37) y 1 estudio como procedimiento para la selección del tratamiento (47).

La búsqueda para la revisión bibliográfica de los estudios coste-efectividad se realizó en la base de datos PubMed. Los criterios de inclusión y exclusión se encuentran detallados en el Anexo 4. Mediante la estrategia de búsqueda diseñada (véase el Anexo 5), se identificó un total de 45 citas, de las cuales 16 se consideraron potenciales inclusiones. Finalmente, se identificaron 2 revisiones sistemáticas de coste-efectividad publicadas entre los años 2015 y 2019 (48,49). En el periodo 2018-2019, se identificó 1 estudio original no incluido en las revisiones sistemáticas mentadas anteriormente. Finalmente, 7 estudios cumplieron con los criterios de inclusión (50–56) (Anexo 6).

Seguridad

No se ha encontrado ningún estudio sobre la seguridad relacionada con el uso de las tecnologías NGS para el diagnóstico, pronóstico y/o la selección de dianas terapéuticas en pacientes oncológicos o con predisposición hereditaria al cáncer.

Eficacia diagnóstica y efectividad clínica

Los estudios que cumplieron con los criterios de inclusión reportaron datos únicamente relacionados con la eficacia o capacidad diagnóstica de la secuenciación mediante tecnologías basadas en NGS. Los resultados de este apartado del informe se presentan según el tipo de cáncer (ver tablas de evidencia en el Anexo 4). No se identificaron estudios que presentaran datos sobre la efectividad clínica de la tecnología.

Cáncer de colon

Se identificaron 2 estudios (33,34) relacionados con la predisposición al cáncer de colon hereditario. Pritchard et al (33) validaron un panel de múltiples genes relacionados con el cáncer de colon hereditario en pacientes con síndrome de Lynch. Los resultados mostraron una especificidad y una sensibilidad del panel del 99,4 % y 99,1 %, respectivamente, con un valor

predictivo del 99,4 %. Neveling et al (34) secuenciaron el exoma para identificar mutaciones en genes relacionados con la predisposición al cáncer de colon hereditario. Los resultados mostraron que el WES, como método de secuenciación, podría reducir la sensibilidad del test, aunque esta fue igualmente aceptable. Se destacó también que el diagnóstico mediante WES es coste efectivo si se analizan más de 3 genes, mientras que, si únicamente es necesario analizar un gen, es preferible el método de Sanger.

Además, se identificaron 3 estudios (37–39) relacionados con la capacidad diagnóstica de la tecnología NGS en cáncer de colon no hereditario. En el estudio de Ciardiello et al (37) se analizaron mutaciones del gen KRAS para el pronóstico y la selección de la diana terapéutica para el tratamiento con cetuximab en pacientes con cáncer de colon metastásico mediante un panel de genes. Destacaron que la sensibilidad fue mucho mayor con NGS en comparación con Sanger, obteniendo una concordancia de secuenciación entre los dos métodos del 100 %. En el caso de Gao et al (38), se comparó el número de muestras con mutaciones detectadas en KRAS y RAS con NGS y con Sanger para el diagnóstico y selección de la diana terapéutica de los fármacos anti-EGFR. Los resultados mostraron el mismo número de muestras con la mutación con NGS y Sanger, y presentaron una concordancia del 100 %. En el estudio de Udar et al (39) se analizaron los genes RAS para el diagnóstico y la selección de los pacientes candidatos a recibir tratamiento con panitumumab. La concordancia entre los resultados NGS y Sanger fue del 98,7 %.

El número de estudios identificados que han evaluado el uso de la tecnología NGS en pacientes con predisposición al cáncer de colon hereditario es limitado. Por un lado, se sugiere que la secuenciación del exoma puede ser útil a la hora de realizar un diagnóstico diferencial, principalmente cuando es necesario analizar 3 genes o más (34). Por otro lado, el panel de genes se postula como una buena herramienta ya que evita la realización de múltiples test para establecer un diagnóstico (33). En relación con las mutaciones somáticas en el cáncer de colon, los 3 estudios identificados (33,34,37) concluyen que el panel de genes basado en NGS es una prueba eficaz para el diagnóstico del cáncer de colon, así como en la selección de la diana terapéutica.

Todos los estudios identificados fueron comparativos, mientras que únicamente uno de ellos presentó un diseño retrospectivo (33). En total, los 5 estudios identificados relacionados con el cáncer de colon implicaron 791 pacientes, siendo el estudio de Udar et al (39) el que incluyó más de la mitad (441 pacientes). Los resultados reportados por estos estudios presentan concordancia entre ellos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el número de estudios es limitado, por lo que la evidencia disponible es escasa. Además, únicamente un estudio no presentó conflicto de interés (38).

Cáncer de mama y ovario

En cuanto al cáncer de mama y de ovario, se identificaron 2 estudios relacionados con la predisposición hereditaria (35,36). Hwang et al (36) analizaron los genes BRCA1 y BRCA2 en un panel de genes basado en NGS para el diagnóstico del cáncer de mama hereditario. En este caso, se compararon dos plataformas NGS con Sanger, y se encontró un total de hasta 8 resultados discrepantes entre Ion Torrent PGM y Sanger en una muestra de 75 pacientes con sospecha de este tipo de cáncer. En el estudio de Castéra et al (35) se evaluó, de forma prospectiva, el diagnóstico del cáncer hereditario de mama y ovario mediante el uso de un panel de genes que incluía BRCA1 y BCRA2. Los resultados mostraron una especificidad del test NGS del 98,2 % y una sensibilidad del 100 %, con una concordancia con el método de Sanger del 100 %.

Los estudios identificados son observacionales y sin conflicto de interés, de los cuales cabe destacar los resultados reportados por el estudio de Castéra et al (35) por el gran número de muestras analizadas, junto con los resultados reportados con respecto a la especificidad, sensibilidad y concordancia con Sanger.

La evidencia disponible sobre el uso de la tecnología NGS para el diagnóstico del cáncer de mama y ovario hereditarios es escasa. Aun así, los estudios identificados (35,36) sugieren que los paneles de genes NGS son útiles y eficaces en el diagnóstico molecular, tanto del cáncer de mama como del cáncer de mama y ovario hereditarios.

Cáncer de pulmón

Se encontraron 2 estudios (40,41) que evaluaron la identificación de mutaciones mediante la tecnología NGS para el diagnóstico y la selección de dianas terapéuticas de fármacos anti-EGFR inhibidores de la tirosina quinasa en pacientes con cáncer de pulmón. Buttitta et al (40) secuenciaron el gen EGFR de muestras de lavado bronco-alveolar y líquido pleural. Los resultados mostraron una especificidad de la prueba NGS del 100 % y destaca que en muestras con un bajo porcentaje de células tumorales, la tecnología NGS consiguió detectar mutaciones en el 81 % de los casos, frente al 14 % con el método Sanger. En el estudio de Tuononen et al (41) se analizaron mutaciones en los genes EGFR, KRAS y BRAF con un panel de genes. La sensibilidad del test NGS para los genes EGFR, KRAS y BRAF fue del 97,5 %, 98,7 % y 100 %, respectivamente.

Aunque el número de estudios identificados es bajo, los resultados descritos previamente (40,41) dan soporte al uso de la tecnología NGS para el

cribado de mutaciones en los genes relacionados con el cáncer de pulmón. Se sugiere que la NGS es apropiada tanto para el diagnóstico como para la selección de terapias farmacológicas anticancerígenas, dada su elevada sensibilidad y especificidad. Cabe destacar que, con métodos basados en NGS, no solo las muestras sólidas son útiles para detectar mutaciones en EGFR sino también los fluidos de los lavados bronco-alveolares y pleurales (40). No obstante, es importante tener en cuenta que el diseño de estudio de los dos identificados (40,41) fue retrospectivo y que el número de muestras incluidas fue relativamente bajo, concretamente de 129 muestras. En cuanto al conflicto de interés, en uno de ellos los autores declararon no presentarlo (40).

Melanoma

Únicamente se identificó 1 estudio en pacientes con melanoma (42) que cumpliera con los criterios de inclusión establecidos. Bisschop et al (42) compararon la detección de mutaciones en BRAF en pacientes con melanoma de estadio avanzado entre un panel de genes basado en NGS y el método de Sanger para el diagnóstico y selección de la diana terapéutica. Los resultados presentaron un límite de detección del 10 % para la NGS, mientras que con Sanger fue del 20 %. La tasa de error de los dos métodos de secuenciación fue similar, siendo del 5 % con NGS y del 4 % con Sanger. Destacaron también que el material de muestra empleado en el análisis fue menor en la secuenciación con NGS (≥ 10 ng) que con Sanger (100-250 ng). El mismo estudio concluyó que la tecnología NGS permite obtener un perfil tumoral más amplio debido a su alta sensibilidad para detectar mutaciones, lo cual sería útil para la toma de decisiones en cuanto al abordaje terapéutico más adecuado para cada paciente. Cabe destacar que el único estudio identificado (42) presentó un diseño retrospectivo, un bajo número de pacientes incluidos (39 muestras) y conflicto de interés por parte de los investigadores.

Enfermedades oncohematológicas

Se identificaron 5 estudios (43–47) que analizaron mutaciones en diferentes genes relacionados con enfermedades oncohematológicas para el diagnóstico, pronóstico y selección de dianas terapéuticas. De estos estudios, 4 incluyeron pacientes con leucemia linfocítica crónica (43–46). Lionetti et al (43) realizaron un estudio prospectivo donde evaluaron el diagnóstico de la enfermedad mediante la secuenciación NGS del gen NOTCH1. Identificaron un 37,8 % de pacientes con la mutación con NGS y un 6,5 % con Sanger.

Con estos resultados concluyeron que la NGS es altamente sensible ya que permite revelar una fracción considerable de pacientes con la mutación en NOTCH1. En el estudio de Rossi et al (44) se secuenció el gen TP53 para el diagnóstico de la enfermedad, y se encontró una sensibilidad del análisis NGS del 99 %. Mientras que con Sanger se detectó un 9,1 % pacientes con la mutación, la NGS identificó un 14,8 %. Asimismo, el test NGS presentó un límite de detección bajo, inferior al 0,3 %. Los autores sugirieron que la tecnología NGS proporciona un valor añadido a los análisis de TP53 puesto que permite identificar mutaciones de subclones de TP53 entre los pacientes que presentan un riesgo alto de fallo de las terapias convencionales. Por lo tanto, la tecnología NGS permitiría identificar aquellos pacientes candidatos a nuevas estrategias terapéuticas o al trasplante de células madre. McClure et al (45) utilizaron una prueba basada en NGS para el diagnóstico y pronóstico de la leucemia linfocítica crónica mediante la hipermutación somática del gen IGH. Los resultados mostraron el mismo número de pacientes con la mutación mediante NGS y Sanger, lo que daba soporte a la introducción de la tecnología para este análisis genético en los laboratorios de rutina. En el estudio de Sutton et al (46) se empleó un panel de múltiples genes que mostró una concordancia del 100 % con el método de Sanger. Este estudio sugirió que, dada la precisión de la prueba NGS, no sería necesaria la confirmación de sus resultados con Sanger. El único estudio que incluyó pacientes con leucemia mieloide crónica fue Deininger et al (47), donde analizaron el gen BCR-ABL1 con NGS para la selección de la diana terapéutica de ponatinib. El análisis NGS identificó un 39 % de pacientes con la mutación, mientras que con Sanger fue del 51 %. Para mutaciones múltiples, este resultado fue del 23 % con NGS y del 10 % con Sanger. Con estos resultados se concluyó que la secuenciación con técnicas NGS es más sensible en comparación con Sanger. Sin embargo, se destacó que el aumento de la sensibilidad en la detección de mutaciones que ofrece la NGS no tenía ninguna utilidad clínica en términos de predicción de la respuesta a ponatinib en los pacientes con la enfermedad.

Globalmente, los resultados de los estudios identificados en relación con el uso de la tecnología NGS para el diagnóstico y selección de diana terapéutica en pacientes con enfermedades oncohematológicas son positivos. Únicamente se identificó un ensayo clínico (47), mientras que el resto de los estudios presentó un diseño observacional prospectivo (43–46). En total, los 5 estudios identificados en enfermedades oncohematológicas incluyeron 1.118 pacientes. No obstante, se debe tener en cuenta que el número de estudios es limitado, por lo que la evidencia disponible es escasa. Además, algunos de los estudios presentan conflicto de interés (45,47).

Coste-efectividad

Los 7 estudios considerados incluyeron un análisis de coste-efectividad sobre la aplicación de los paneles de genes basados en NGS para el diagnóstico y tratamiento del cáncer (50–56). De estos, 4 estudios reportaron que la secuenciación mediante la tecnología NGS, en combinación con la terapia farmacológica sugerida por sus resultados, era coste-efectiva. Li et al (2017) (52) mostró que la secuenciación mediante un panel de 7 genes en pacientes con riesgo de cáncer de mama hereditario fue coste-efectiva en comparación con las pruebas genéticas centradas únicamente en los genes BRCA1/2. En el estudio de Lu et al (55) se analizó la relación coste-efectividad de la tecnología NGS también con paneles de genes múltiples, en este caso para el cáncer de pulmón de células no pequeñas. El objetivo fue guiar el tratamiento con crizotinib frente a la quimioterapia estándar, y la aplicación del panel de genes resultó ser la opción más coste-efectiva (55). Gallego et al (54) reportaron que el panel de NGS de genes múltiple resultaba más coste-efectivo al compararse con el diagnóstico estándar (en este caso fueron técnicas de inmunohistoquímica seguidas de la secuenciación Sanger) en pacientes con cáncer colorrectal (54). Finalmente, Saito et al (56) compararon un panel de NGS con más de 400 genes en pacientes con cáncer colorrectal metastásico, con la estrategia de no identificar los genes o de analizar únicamente RAS. Se concluyó que, aunque la primera estrategia mencionada era la más costosa, resultó ser la más coste-efectiva.

De los 3 estudios restantes, Li et al (2015) utilizaron un panel NGS de 34 genes en pacientes con melanoma metastásico, y se concluyó que este reducía los costes y mejoraba la ratio coste-año de vida ajustado por calidad (QALY, por sus siglas en inglés), sin especificar si el panel fue coste-efectivo en su estudio (53). El estudio de Wallbillich et al (51) encontró que la aplicación de un panel NGS de 315 genes junto con la terapia dirigida en pacientes con cáncer de ovario resistentes al platino no resultaba coste-efectiva en comparación con la quimioterapia citotóxica estándar. Sin embargo, sugirieron que la reducción del coste de la terapia dirigida (de forma independiente o en combinación con la reducción del coste de la prueba genética con NGS) podría mejorar la atención de los pacientes con cáncer. El estudio de Doble et al (50) utilizó un panel NGS con 10 genes para guiar la cuarta línea de tratamiento del adenocarcinoma de pulmón metastásico. Mostraron que el panel NGS no fue coste-efectivo para seleccionar el tratamiento en estos pacientes. Sin embargo, observaron una tasa de mortalidad inferior en los pacientes con resultado positivo del panel, valores inferiores de utilidad asociados al progreso de la enfermedad y la terapia dirigida. Esto resultó en una reducción de las visitas, y se favoreció así la aplicación del panel de genes

NGS teniendo en cuenta la necesidad de estudios adicionales que analicen estos resultados sugerentes.

De los 7 estudios identificados, únicamente dos no presentaron conflicto de interés (50,51). De estos, son relevantes los resultados reportados por el estudio de Doble et al (50), ya que los datos reflejan la preparación de las muestras, reactivos, secuenciación y computación, mano de obra (patólogo y análisis bioinformático) y los gastos de validación, los cuales serían extrapolables a cualquier tipo de cáncer. Cabe destacar que ninguno de los estudios identificados está realizado en un país europeo, hecho que dificulta la extrapolación de los datos a nuestro país.

La evidencia sobre el coste-efectividad de los paneles de genes NGS es limitada y variable. Los resultados de los estudios identificados dependerían, en gran parte, del tipo de cáncer y de la terapia farmacológica que se administra como resultado de la identificación de la diana terapéutica en el análisis genético con NGS. Es importante tener en cuenta que algunos estudios sugieren que la prueba NGS, junto con el tratamiento, podría mejorar la calidad de vida de los pacientes por una mejora en la ratio coste-QALY y unos valores de utilidad inferiores que resultarían en una reducción en el número de visitas por parte del paciente. Por otro lado, cabe destacar que no se han identificado estudios de coste-efectividad sobre la secuenciación de las regiones exómicas y/o del genoma completo.

IMPACTOS

Impacto en salud

Las tecnologías basadas en NGS podrían tener un impacto positivo en la salud de los pacientes si se secuenciara, en una misma prueba genética, un mayor número de genes relevantes para el diagnóstico y la selección del abordaje terapéutico más apropiado para cada paciente. Esto permitiría un diagnóstico más rápido y un inicio anterior de las intervenciones preventivas o terapéuticas, junto con el asesoramiento por parte del clínico, que puedan mejorar la calidad de vida del paciente e incluso la supervivencia. Actualmente, la cartera de servicios del SNS incluye el cribado del cáncer de mama, el cáncer de cérvix y el cáncer colorrectal en aquellas poblaciones de riesgo. En estos casos, la prueba de cribado no es una prueba genética sino una mamografía para el cáncer de mama, una citología cervical o prueba de detección del virus del papiloma humano (según el intervalo de edad) para el cáncer de cuello de útero y la detección de sangre en heces en el cáncer de colorrectal (57). En el cribado del cáncer de mama, se ha sugerido incorporar la biopsia líquida analizada mediante NGS como método de identificación para mutaciones en PIK3CA y TP53 en pacientes de estadio inicial. La prueba NGS se realizaría después de la mamografía y antes de someterse a procedimientos de diagnóstico invasivos (58).

Si se considera que el análisis genético con tecnología NGS podría ser una prueba válida de diagnóstico precoz del cáncer en un programa de cribado, en primer lugar sería necesario evaluar el cumplimiento de los criterios de Wilson y Junger adaptados a las pruebas genéticas (59). Estos incluyen la valoración de la enfermedad, de la prueba de cribado (en este caso, podrían ser los paneles de genes NGS), del diagnóstico de confirmación y tratamiento y del programa de cribado. Una de las limitaciones relacionadas con la enfermedad podría encontrarse en aquellos cánceres para los cuales se desconoce todavía su perfil mutacional. En cuanto a la prueba de cribado con tecnología NGS, sería necesario conocer su factibilidad y eficiencia, así como la aceptabilidad por parte de la población diana. También sería imprescindible conocer cuál sería el circuito de los pacientes con prueba de cribado positiva en cuanto a las pruebas de confirmación del diagnóstico y posterior tratamiento. Relacionado con esto último, se debería considerar la eficacia de la intervención preventiva o terapéutica disponible que mejore

la supervivencia o la calidad de vida de los pacientes. Finalmente, quedaría pendiente evaluar la factibilidad del programa en su conjunto y poner especial atención en el coste-efectividad de un programa que incluya una prueba de cribado del cáncer basada en tecnología NGS en comparación con los actuales programas de detección precoz. Por otro lado, se debería garantizar el cumplimiento de los requisitos clave para la implementación de los programas de cribado recogidos en el Documento marco sobre cribado poblacional (60).

Impacto ético, social, legal, político y cultural de la implantación de la tecnología

Cada nueva prueba genética que se desarrolla plantea retos en la medicina, la salud pública y la política social con respecto a las circunstancias bajo las cuales debe ser usada, a cómo se implementa y a qué usos se hacen de sus resultados. Al ser las NGS tecnologías que proporcionan información genética de los pacientes, su realización tiene implicaciones a nivel ético. Por este motivo, la técnica NGS más recomendada sería el panel de genes, puesto que presenta una probabilidad menor de obtener hallazgos inesperados en comparación con la secuenciación del exoma o del genoma completo. Por lo tanto, los paneles de genes reducirían las consecuencias éticas y legales más relevantes en cuanto a la autonomía, la confidencialidad y la privacidad (61). También relacionado con los aspectos éticos, se debe considerar el asesoramiento genético para el paciente antes de llevar a cabo el análisis con NGS y también posteriormente, una vez obtenidos los resultados de la prueba (29).

En relación con lo anterior, en 1990 se fundó el programa de implicaciones éticas, legales y sociales (ELSI) como parte integral del Proyecto Genoma Humano (62). La misión del programa ELSI era identificar y abordar los problemas planteados por la investigación genómica que afectarían a las personas, las familias y la sociedad. Este programa se centró en las posibles consecuencias de la investigación genómica en cuatro áreas principales: 1) privacidad e imparcialidad en el uso de la información genética, 2) integración de nuevas tecnologías genéticas, como las pruebas genéticas, en la práctica de la medicina clínica, 3) cuestiones éticas relacionadas con el diseño y la realización de investigaciones genéticas con personas, incluido el proceso de consentimiento informado y 4) educación de los profesionales de la salud, los encargados de formular políticas, los estudiantes y el público sobre la genética y los problemas complejos que resultan de la investigación genómica. La aplicación del programa ELSI en la obtención y el posterior manejo de los datos que se obtienen en los test genéticos basados en NGS

sería de gran interés, puesto que asegurarían un correcto cumplimiento de los principios éticos y legales de los pacientes. Asimismo, serían de ayuda a la hora de implementar estas tecnologías dentro de un marco legal sostenible y beneficioso para el paciente y el SNS.

Por otro lado, los diagnósticos y los abordajes terapéuticos basados en NGS podrían suponer un impacto social y político. La información genética puede generar preguntas sobre la responsabilidad y la elección personales, frente a la determinación del resultado genético y aspectos relacionados con la enfermedad y la salud. Los factores personales, los valores familiares y las creencias culturales y comunitarias determinarán las respuestas a estos problemas. Los resultados de una prueba genética pueden influir en un individuo para cambiar su estilo de vida o comportamiento para reducir así el riesgo o la gravedad de la enfermedad. Otros pueden obviar esta información y no modificar su decisión a pesar de los resultados obtenidos en una prueba genética (63). A nivel político, el problema de salud en el que interfiere la presente tecnología es un tema de primer orden. En esta línea, el Boletín oficial de las Cortes Generales publicó, en febrero del 2019, la ponencia de estudio sobre Genómica y sus recomendaciones, que se han ido debatiendo en el Senado (64). De las recomendaciones, cabe destacar el consenso alcanzado sobre la necesidad de elaborar una Estrategia en Medicina Genómica, Personalizada y de Precisión para el SNS. Por lo tanto, esta tecnología podría jugar un papel importante si se considera la implementación de la medicina personalizada en el territorio español. Por otra parte, se debe considerar que, si la implantación de las tecnologías NGS como pruebas de rutina permite mejorar y agilizar el diagnóstico del cáncer, el número de personas diagnosticadas de cáncer podría verse aumentado. En consecuencia, los sistemas sanitarios deben estar preparados para el manejo de un mayor número de pacientes, sin desmejorar la asistencia sanitaria. Es por este motivo que, previamente a su inclusión en la cartera de servicios, se debería clarificar si los beneficios de esta tecnología son clínicamente relevantes.

En el contexto de los análisis genéticos, pues, es importante tener en cuenta tanto las consideraciones éticas como las legales, las sociales y las políticas sin separarse de las científicas y tecnológicas. Todas ellas, en conjunto, deben integrarse para proporcionar la mejor atención al paciente.

Impacto económico de la tecnología

Los costes directos que derivan de la implantación de esta tecnología se han detallado en el apartado “Coste y precio unitario” del presente informe. En comparación con la secuenciación de Sanger, el coste del análisis basado NGS por muestra sería más elevado (32). No obstante, la tecnología NGS

permite secuenciar un mayor número de genes por muestra, lo que supone un ahorro relativo en costes cuando se secuencian múltiples genes. Se debe considerar que, en la mayoría de los estudios económicos, los resultados se asocian también al coste de un tratamiento farmacológico antineoplásico, ya que su indicación está asociada a los resultados genéticos. Esto acaba dando lugar en algunos estudios a una ratio coste-efectividad elevada (Anexo 8). En este contexto, serían de interés estudios adicionales de eficiencia que comparen la tecnología NGS (ya sea como panel de genes o secuenciación del exoma o genoma) con las técnicas actualmente utilizadas, sin considerar el coste adicional de la terapia que se administra posteriormente como resultado del análisis genético.

Respecto a la organización de los distintos equipos clínicos implicados directamente con la tecnología, sería necesaria la incorporación, la formación y/o la ampliación del equipo encargado del análisis molecular mediante la tecnología NGS, así como de la interpretación de los datos que se derivan. En este último punto sobre el manejo de los datos bioinformáticos es donde se requeriría de una mayor inversión económica.

DIFUSIÓN E INTRODUCCIÓN ESPERADA DE LA TECNOLOGÍA

Se espera que, si la secuenciación mediante los paneles de genes basados en NGS se implementa como procedimiento habitual en el diagnóstico de las enfermedades oncológicas y en la selección de las dianas terapéuticas en los hospitales terciarios de referencia, se conseguirá una reducción de los tiempos y de los costes, siempre y cuando no sea necesaria una confirmación de los resultados con el método de Sanger. Así, tanto el diagnóstico como la decisión terapéutica podrían ser un proceso más ágil en utilizarse dicha tecnología, lo que permitiría un mayor número de manejo de pacientes en un menor tiempo. No obstante, se desconoce cuál podría ser la difusión e introducción de la secuenciación del exoma o del genoma completo puesto que la evidencia es insuficiente.

INVESTIGACIÓN EN CURSO Y RECOMENDACIONES

Investigación en curso

Se han encontrado registrados en clinicaltrials.gov 390 estudios que utilizan la secuenciación NGS en relación con el diagnóstico y el tratamiento del cáncer, de los cuales 46 han sido completados sin figurar todavía resultados. Los objetivos principales de la investigación con NGS se centran en analizar el genoma completo (NCT02281214, NCT01939847) y mutaciones para el desarrollo de terapias efectivas y personalizadas (NCT01118078, NCT01856296), identificar biomarcadores como predictores de la respuesta al tratamiento (NCT01959490, NCT02994888), validar el diagnóstico del cáncer con NGS (NCT03220230, NCT02151747, NCT03046849), realizar el diagnóstico molecular mediante ADN tumoral circulante (ADNtc) (NCT02169349, NCT02827565), realizar análisis moleculares de la enfermedad residual (NCT03491033), estudiar el impacto de los resultados del test NGS en las decisiones clínicas (NCT01851213), incluir los datos obtenidos en herramientas de ayuda a la toma de decisiones (NCT02767700), así como identificar aquellos pacientes candidatos a participar en un ensayo clínico, entre otros. Por lo tanto, diversos estudios en curso están examinando la utilidad de las NGS en la práctica clínica, así como su implementación en las pruebas de rutina.

Guías y directrices

La Estrategia en Cáncer del Sistema Nacional de Salud recoge, en su última actualización, la necesidad de organizar la medicina de precisión en el SNS, haciendo hincapié en la introducción del diagnóstico molecular y los biomarcadores en la cartera de servicios del SNS con equidad en el territorio (65). En este contexto, la tecnología NGS podría jugar un papel importante, pues se postula como primera opción para el diagnóstico, el pronóstico y la

selección de dianas terapéuticas en las enfermedades oncológicas por sus ventajas relacionadas con el tiempo y los costes (64).

El proyecto EuroGentest es una iniciativa de la Comisión Europea y la European Society of Human Genetics que pretende armonizar y garantizar la calidad de los diagnósticos mediante la tecnología NGS. Puesto que los laboratorios pueden aplicar diferentes pruebas genéticas independientemente de las guías de evaluación y validación, se planteó una clasificación de los test NGS según su alcance analítico (28):

- Test Tipo A: el test garantiza un nivel de detección de variantes genéticas > 99 % en las regiones de interés definidas. Para ello, puede utilizar diferentes estrategias, como las técnicas mixtas, que cubren los gaps conocidos o los que no cumplan con los requisitos de calidad necesarios mediante secuenciación Sanger.
- Test Tipo B: el test analiza las regiones de interés con una fiabilidad > 99 % y completa algunos de los fragmentos de secuencia no cubiertos con secuenciación Sanger u otra tecnología complementaria.
- Test Tipo C: el test únicamente garantiza el rendimiento según la secuenciación mediante NGS, sin ofrecer otras técnicas complementarias.

De acuerdo con las directrices europeas, la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), la Asociación Española de Genética Humana y la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio elaboraron un consenso sobre una correcta implementación de los test NGS para el diagnóstico genético de la predisposición al cáncer hereditario (29). En relación con su utilidad clínica y diagnóstica, destacaron que la NGS no debe transferirse a la práctica clínica sin haberse realizado, a priori, una validación aceptable de acuerdo con las guías. Además, el rendimiento del diagnóstico debe considerarse como un primer indicador para su introducción. En cuanto a la clasificación de los test NGS derivada del proyecto EuroGentest, las sociedades españolas destacan la dificultad de su aplicación en la práctica clínica. No obstante, se sugiere que esta clasificación se puede utilizar como referencia a la hora de optar por un grupo u otro test NGS. También concluyen que es importante delimitar el ámbito asistencial de la investigación, de manera que los informes diagnósticos se deben elaborar por laboratorios clínicos acreditados (29).

Además, en relación con la selección de las dianas terapéuticas en pacientes con cáncer se elaboró, a través de un consenso de expertos, la *Scale of Clinical Actionability for molecular Targets* (ESCAT, por sus siglas en inglés). Esta herramienta pretende clasificar las alteraciones genéticas y la selección del tratamiento más adecuado para cada paciente oncológico en

función de la evidencia científica disponible en 6 niveles (66). En el nivel I se incluyen aquellas mutaciones para las cuales se dispone de evidencia robusta, por lo que se pueden implementar en la toma de decisiones sobre las terapias dirigidas. En el nivel II se clasifican las mutaciones que definen una subpoblación de pacientes potencial a ser tratada con una terapia dirigida, pero que requieren de más estudios para conocer su valor clínico. El nivel III contiene las mutaciones para las cuales se dispone de evidencia en otros tipos de tumores u otras mutaciones. En el nivel IV se recogen las mutaciones con únicamente datos preclínicos. En el nivel V se encuentran las mutaciones de las que no resulta un beneficio clínico como tratamiento único, pero podría haber como cotratamiento. Finalmente, en el último nivel se encuentran las mutaciones sin evidencia y, por lo tanto, estas no son aptas para ser implementadas en la práctica clínica (66).

En cuanto a las guías de práctica clínica, cabe destacar que en pocas de ellas aparece la tecnología NGS. En las últimas guías elaboradas por la SEOM no consta la aplicación de la tecnología NGS para el diagnóstico y la selección de dianas terapéuticas, a excepción de algún caso. En la guía sobre el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico, se especifica que las nuevas guías moleculares recomiendan incluir el análisis de los genes ROS-1 y EGFR, así como de BRAF, MET, HER2, KRAS y RET en pacientes de estadio IV mediante NGS (67).

También a nivel nacional, el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos editó la primera guía para el uso de NGS en la práctica clínica. En ella se presentan los genes que se recomienda analizar en pacientes con sospecha de síndrome mielodisplásico o leucemia mielomonocítica crónica, junto con unos criterios de estandarización y calidad para el diagnóstico molecular de estas patologías (68). No obstante, un informe RedETS de 2015 sobre la eficacia de la secuenciación masiva para el diagnóstico de las enfermedades oncohematológicas y su seguimiento concluyó que la evidencia disponible era de calidad baja/moderada e insuficiente en comparación con la prueba de secuenciación de referencia (69). Respecto a las recomendaciones de NGS en guías de sociedades científicas, SEAP/SEOM y SEAP/AEGH han recomendado el uso de NGS para la determinación de mutaciones germinales y somáticas en los genes BRCA1/2 como factor predictivo de respuesta a inhibidores PARP (70,71).

En el ámbito internacional, la guía del National Comprehensive Cancer Network (NCCN, por sus siglas en inglés) sobre el cáncer de colon (72) recomienda la realización de prueba genética para la detección de mutaciones en KRAS, NRAS y BRAF. Sin embargo, no se especifica ningún método en concreto para su identificación. En cuanto al cáncer de pulmón no microcítico, en la guía NCCN figura también que la NGS puede utilizarse para detectar las mutaciones de EGFR, así como otras mutaciones y reordenamientos

genéticos, siempre y cuando las plataformas NGS se hayan diseñado y validado para detectar las alteraciones genéticas de interés (73). En este punto se subraya que la NGS requiere un control de calidad comparable con el de cualquier otra técnica diagnóstica. Sin embargo, la guía del National Institute of Care Excellence (NICE, por sus siglas en inglés) sobre el análisis de mutaciones en EGFR-TK en adultos con cáncer de pulmón no microcítico localmente avanzado o metastásico manifiesta que la evidencia es insuficiente para recomendar el uso de la NGS (74). La guía NCCN de melanoma recomienda la realización de prueba genética en el estadio IV metastásico si se considera administrar un tratamiento dirigido al paciente, sin concretar cuál es la técnica más aconsejable para este análisis. En relación con el cáncer de mama, la American Society of Breast Surgeons recomendó someter a todos los pacientes con diagnóstico de cáncer de mama a una prueba genética de la línea germinal a través de un panel de múltiples genes (75). Para los tumores sólidos pediátricos, el NICE emitió un documento sobre el uso de un panel de genes basado en NGS para estos tipos de cáncer (76). De acuerdo con los resultados de un único estudio, se describe que el panel caracteriza adecuadamente las anormalidades genéticas. No obstante, se especifica que la evidencia es todavía limitada puesto que la tecnología es temprana en su desarrollo. Por último, respecto al uso de NGS en cáncer de pulmón existe una sugerencia de uso cuando se hace un estudio molecular extendido (77).

Recomendaciones

La tecnología NGS se encuentra implementada en algunos de los hospitales y centros españoles que cuentan con laboratorios acreditados de diagnóstico molecular y genético. La utilización de la tecnología NGS se centra en el diagnóstico y en la selección de dianas terapéuticas de ciertos fármacos anticancerígenos que requieren de una prueba genética previamente a su administración, No obstante, no se encuentran muchos datos en cuanto a su implementación.

Por otro lado, los resultados de eficacia diagnóstica de los paneles de genes basados en NGS son favorables y cuentan con una elevada concordancia con el método de secuenciación de Sanger. Por este motivo, se sugiere que los paneles de genes son una buena herramienta para el diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas, concretamente para aquellos síndromes de predisposición hereditaria al cáncer o enfermedades oncológicas para las cuales es necesario secuenciar un número considerable de genes relacionados con la patología. Sin embargo, previamente a su aplicación, se requiere de una evidencia científica suficientemente robusta entre la alteración genética y la patología de interés que justifique su realización, dadas las implica-

ciones éticas que supone la obtención de información del paciente a través de una prueba genética.

La evidencia disponible en cuanto a la efectividad clínica de la tecnología NGS en comparación con el método de referencia es limitada. Únicamente algunos de los estudios de coste-efectividad sugieren que la prueba genética mediante panel de genes NGS, junto con la terapia que se selecciona a partir de los resultados obtenidos, es coste-efectiva. No obstante, existe cierta heterogeneidad entre los estudios, pues el tipo de cáncer y el coste de la terapia farmacológica podrían influir en los resultados. Aunque algún estudio ha sugerido una reducción del número de visitas en aplicarse paneles de genes basados en tecnología NGS, globalmente existe una falta de datos sobre variables clínicamente relevantes en cuanto a su uso, como podrían ser la supervivencia, la calidad de vida, los cambios en la decisión terapéutica o en el manejo del paciente. Por otro lado, actualmente se desconoce cuál es el número de determinaciones NGS necesarias para que su utilización sea coste-efectiva. En este sentido, el coste-efectividad de la tecnología NGS debería analizarse en cada indicación, teniendo en cuenta si se emplea como prueba diagnóstica o prueba de cribado y considerando el coste total del programa de cribado de referencia. Por este motivo, únicamente se recomienda el uso de la tecnología NGS para la identificación de mutaciones para las cuales se dispone de una evidencia científica suficiente que avale la relación entre la alteración genética y el tipo de cáncer, y que se diferencie su uso entre la práctica clínica y la investigación. Además, la identificación de la alteración genética debe ser útil para el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de pacientes con cáncer, incluso para la prevención y pronóstico en aquellos casos con predisposición al cáncer hereditario.

Si se considerara la implementación en el SNS de las pruebas diagnósticas basadas en NGS, se sugiere considerar también el estudio piloto de los paneles de genes como estrategia de prevención secundaria, también dentro de los programas de cribado poblacionales de cáncer y teniendo en cuenta los requerimientos que se encuentran establecidos en la adaptación de los criterios de Wilson y Junger (59). Además, se deberían tener en cuenta también los criterios establecidos en el Documento Marco sobre el cribado poblacional. La incorporación de la tecnología NGS en los programas de cribado poblacional podría ser aplicable en aquellos tipos de cáncer para los cuales está bien descrita la relación entre las alteraciones o mutaciones genéticas y la patología. Para ello, se deberá contar con un análisis previo de la eficacia y del coste-efectividad de la incorporación de esta tecnología a cada uno de los programas de cribado en el marco de la cartera común del SNS.

Finalmente, tal y como se ha descrito, actualmente no existe ningún requerimiento por parte de las autoridades estatales y/o autonómicas para la acreditación de los laboratorios que realizan diagnósticos genéticos. Por

este motivo, se recomienda la implementación de las tecnologías NGS únicamente en los laboratorios de los centros hospitalarios acreditados con la ISO 15189 y la ISO/IEC 17025. Además, se debe contar con un equipo de profesionales especializados en la preparación y secuenciación de las muestras y análisis de los resultados derivados para emitir un diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Duncan DL, Patel NM. Next-Generation Sequencing in the Clinical Laboratory. Chapter 3. En: Coleman WB, Tsongalis GJ. Diagnostic Molecular Pathology. Academic Press; 2017. p. 25-33.
2. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977 Dec;74(12):5463-7.
3. Altimari A, De Biase D, De Maglio G, Gruppioni E, Capizzi E, Degiovanni A, et al. 454 next generation-sequencing outperforms allele-specific PCR, sanger sequencing, and pyrosequencing for routine KRAS mutation analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded samples. Onco Targets Ther. 2013 Aug 5;6:1057-64.
4. Kulski JK. Next-Generation Sequencing — An Overview of the History, Tools, and “Omic” Applications. In: Next Generation Sequencing - Advances, Applications and Challenges. IntechOpen. 2016. DOI: 10.5772/61964. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/next-generation-sequencing-advances-applications-and-challenges/next-generation-sequencing-an-overview-of-the-history-tools-and-omic-applications>
5. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP) [Internet]. Bethesda, MD (USA): National Human Genome Research Institute. National Institutes of Health. [consultado 20 sept 2019]. Disponible en: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>
6. Reuter JA, Spacek DV, Snyder MP. High-throughput sequencing technologies. Mol Cell. 2015 May 21;58(4):586-97.
7. Kubler A. Clinical applications of BCI. IEEE Xplore 2015;1392:1–2. DOI: 10.1109/IWW-BCI.2015.7073033.
8. Anasagasti A, Irigoyen C, Barandika O, López de Munain A, Ruiz-Ederera J. Current mutation discovery approaches in Retinitis Pigmentosa. Vision Res. 2012 Dec 15;75:117-29.

9. Hulick P. Next-generation DNA sequencing (NGS): Principles and clinical applications. *UpToDate*. 2019;8(2):2019. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/next-generation-dna-sequencing-ngs-principles-and-clinical-applications>
10. Bleidorn C. Third generation sequencing: Technology and its potential impact on evolutionary biodiversity research. *Systematics and Biodiversity*. 2016;14(1):1-8. DOI: 10.1080/14772000.2015.1099575
11. Ke R, Mignardi M, Hauling T, Nilsson M. Fourth Generation of Next-Generation Sequencing Technologies: Promise and Consequences. *Human Mutation*. 2016;37(12):1363–7.
12. Kamps R, Brandão RD, Bosch BJ, Paulussen AD, Xanthoulea S, Blok MJ, et al. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 31;18(2):308.
13. Rodríguez-Santiago B, Armengol L. Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal. *Diagnostico Prenat*. 2012;23(2):56–66.
14. Martínez Férrez MI, Beltrán Calvo C. Mapa de análisis genéticos que se realizan en España en el marco del Sistema Nacional de Salud. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA); 2013.
15. Martínez Férrez MI, Beltrán Calvo C. Mapa de análisis genéticos que se realizan en España en el marco del Sistema Nacional de Salud. Actualización. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA); 2018.
16. Hernández-Losa J. Mapa de situación actual de la NGS en España. En: Palacios J, Rojo F, Sanz J, coordinadores. Secuenciación de nueva generación [Ng] en el diagnóstico molecular [ponencia]. Reunión de primavera de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP-IAP), Madrid Madrid, 7-8 de junio de 2008. Disponible en: https://www.seap.es/actualidad/-/asset_publisher/cE93/content/reunion-de-primavera-2018-secuenciacion-de-nueva-generacion-ng-2
17. Eurogentest-Center for Human Genetics. Leuven: University of Leuven. European Commission. Disponible en: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=160>

18. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med*. 2013 Sep;15(9):733-47.
19. Strom SP, Lee H, Das K, Vilain E, Nelson SF, Grody WW, et al. Assessing the necessity of confirmatory testing for exome-sequencing results in a clinical molecular diagnostic laboratory. *Genet Med*. 2014 Jul;16(7):510-5.
20. Beck TF, Mullikin JC; NISC Comparative Sequencing Program, Biesecker LG. Systematic Evaluation of Sanger Validation of Next-Generation Sequencing Variants. *Clin Chem*. 2016 Apr;62(4):647-54.
21. Sikkema-Raddatz B, Johansson LF, de Boer EN, Almomani R, Boven LG, van den Berg MP, van Spaendonck-Zwarts KY, van Tintelen JP, Sijmons RH, Jongbloed JD, Sinke RJ. Targeted next-generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. *Hum Mutat*. 2013 Jul;34(7):1035-42.
22. Badalian-Very G. Personalized medicine in hematology - A landmark from bench to bed. *Comput Struct Biotechnol J*. 2014 Aug 8;10(17):70-7.
23. International Agency for Research on Cancer (IARC). Global Cancer Observatory. *Cancer Today*. Lyon (France): IARC; 2018.
24. International Agency for Research on Cancer (IARC). Global Cancer Observatory. *Cancer Tomorrow*. Lyon (France): IARC; 2018.
25. Fitzmaurice C, Akinyemiju TF, Al Lami FH, Alam T, Alizadeh-Navaei R, Allen C, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol*. 2018;4(11):1553-68.
26. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). *Las cifras del Cáncer en España*. Madrid (SEOM); 2018. p.1-24.
27. Badia X, Tort M. *La carga del cáncer en España*. Barcelona: Consulting O, editor. Barcelona; 2015.

28. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2016;24(1):2–5.
29. Soto JL, Blanco I, Díez O, García Planells J, Lorda I, Matthijs G, et al. Documento de consenso sobre la implementación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer. *Med Clin (Barc).* 2018 Jul 23;151(2):e1-80. e10.
30. Schwarze K, Buchanan J, Fermont JM, Dreau H, Tilley MW, Taylor JM, et al. The complete costs of genome sequencing: a microcosting study in cancer and rare diseases from a single center in the United Kingdom. *Genet Med.* 2020 Jan;22(1):85-94.
31. Mody R, Wu Y, Lonigro R, Cao X, Roychowdhury S, Vats P, et al. Integrative clinical sequencing in the management of children and young adults with refractory or relapsed cancer. *JAMA.* 2015;314(9):913–25.
32. Marino P, Touzani R, Perrier L, Rouleau E, Kossi DS, Zhaomin Z, et al. Cost of cancer diagnosis using next-generation sequencing targeted gene panels in routine practice: a nationwide French study. *Eur J Hum Genet.* 2018 Mar;26(3):314–23.
33. Pritchard CC, Smith C, Salipante SJ, Lee MK, Thornton AM, Nord AS, et al. ColoSeq provides comprehensive lynch and polyposis syndrome mutational analysis using massively parallel sequencing. *J Mol Diagnostics [Internet].* 2012;14(4):357–66.
34. Neveling K, Feenstra I, Gilissen C, Hoefsloot LH, Kamsteeg E-J, Mensenkamp AR, et al. A post-hoc comparison of the utility of sanger sequencing and exome sequencing for the diagnosis of heterogeneous diseases. *Hum Mutat.* 2013 Dec;34(12):1721–6.
35. Castéra L, Krieger S, Rousselin A, Legros A, Baumann J-J, Bruet O, et al. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(11):1305–13.
36. Hwang SM, Lee KC, Lee MS, Park KU. Comparison of ion personal genome machine platforms for the detection of variants in BRCA1 and BRCA2. *Cancer Res Treat.* 2018;50(1):255–64.

37. Ciardiello F, Normanno N, Maiello E, Martinelli E, Troiani T, Piscanti S, et al. Clinical activity of FOLFIRI plus cetuximab according to extended gene mutation status by next-generation sequencing: findings from the CAPRI-GOIM trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2014 Sep;25(9):1756–61.
38. Gao J, Wu H, Wang L, Zhang H, Duan H, Lu J, et al. Validation of targeted next-generation sequencing for RAS mutation detection in FFPE colorectal cancer tissues: comparison with Sanger sequencing and ARMS-Scorpion real-time PCR. *BMJ Open*. 2016 Jan 8;6(1):e009532.
39. Udar N, Lofton-Day C, Dong J, Vavrek D, Jung AS, Meier K, et al. Clinical validation of the next-generation sequencing-based Extended RAS Panel assay using metastatic colorectal cancer patient samples from the phase 3 PRIME study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018 Oct;144(10):2001–10.
40. Buttitta F, Felicioni L, Del Grammastro M, Filice G, Di Lorito A, Malatesta S, et al. Effective assessment of egfr mutation status in bronchoalveolar lavage and pleural fluids by next-generation sequencing. *Clin Cancer Res*. 2013 Feb 1;19(3):691-8.
41. Tuononen K, Mäki-Nevala S, Sarhadi VK, Wirtanen A, Rönty M, Salmenkivi K, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma-superiority of NGS. *Genes Chromosomes Cancer*. 2013 May;52(5):503-11.
42. Bisschop C, Ter Elst A, Bosman LJ, Platteel I, Jalving M, van den Berg A, et al. Rapid BRAF mutation tests in patients with advanced melanoma: comparison of immunohistochemistry, Droplet Digital PCR, and the Idylla Mutation Platform. *Melanoma Res*. 2018 Apr;28(2):96–104.
43. Lionetti M, Fabris S, Cutrona G, Agnelli L, Ciardullo C, Matis S, et al. High-throughput sequencing for the identification of NOTCH1 mutations in early stage chronic lymphocytic leukaemia: biological and clinical implications. *Br J Haematol*. 2014 Jun;165(5):629-39.
44. Rossi D, Khiabani H, Spina V, Ciardullo C, Brusca A, Famà R, et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(14):2139–47.

45. McClure R, Mai M, McClure S. High-throughput sequencing using the ion torrent personal genome machine for clinical evaluation of somatic hypermutation status in chronic lymphocytic leukemia. *J Mol Diagnostics*. 2015;17(2):145–54.
46. Sutton L-A, Ljungstrom V, Mansouri L, Young E, Cortese D, Navrkalova V, et al. Targeted next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia: a high-throughput yet tailored approach will facilitate implementation in a clinical setting. *Haematologica*. 2015 Mar;100(3):370–6.
47. Deininger MW, Hodgson JG, Shah NP, Cortes JE, Kim D-W, Nicolini FE, et al. Compound mutations in BCR-ABL1 are not major drivers of primary or secondary resistance to ponatinib in CP-CML patients. *Blood*. 2016 Feb;127(6):703–12.
48. Tan O, Shrestha R, Cunich M, Schofield DJ. Application of next-generation sequencing to improve cancer management: A review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness. *Clin Genet*. 2018 Mar;93(3):533–44.
49. Phillips KA, Deverka PA, Marshall DA, Wordsworth S, Regier DA, Christensen KD, et al. Methodological Issues in Assessing the Economic Value of Next-Generation Sequencing Tests: Many Challenges and Not Enough Solutions. *Value Heal J Int Soc Pharmacoeconomics Outcomes Res*. 2018 Sep;21(9):1033–42.
50. Doble B, John T, Thomas D, Fellowes A, Fox S, Lorgelly P. Cost-effectiveness of precision medicine in the fourth-line treatment of metastatic lung adenocarcinoma: An early decision analytic model of multiplex targeted sequencing. *Lung Cancer*. 2017 May;107:22–35.
51. Wallbillich JJ, Forde B, Havrilesky LJ, Cohn DE. A personalized paradigm in the treatment of platinum-resistant ovarian cancer - A cost utility analysis of genomic-based versus cytotoxic therapy. *Gynecol Oncol [Internet]*. 2016;142(1):144–9.
52. Li Y, Arellano AR, Bare LA, Bender RA, Strom CM, Devlin JJ. A Multigene Test Could Cost-Effectively Help Extend Life Expectancy for Women at Risk of Hereditary Breast Cancer. *Value Health*. 2017;20(4):547–55.
53. Li Y, Bare LA, Bender RA, Sninsky JJ, Wilson LS, Devlin JJ, et al. Cost Effectiveness of Sequencing 34 Cancer-Associated Genes as an Aid for

- Treatment Selection in Patients with Metastatic Melanoma. *Mol Diagn Ther.* 2015 Jun;19(3):169–77.
54. Gallego CJ, Shirts BH, Bennette CS, Guzauskas G, Amendola LM, Horike-Pyne M, et al. Next-Generation Sequencing Panels for the Diagnosis of Colorectal Cancer and Polyposis Syndromes: A Cost-Effectiveness Analysis. *J Clin Oncol.* 2015 Jun;33(18):2084–91.
 55. Lu S, Yu Y, Fu S, Ren H. Cost-effectiveness of ALK testing and first-line crizotinib therapy for non-small-cell lung cancer in China. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205827.
 56. Saito S, Kameyama H, Muneoka Y, Okuda S, Wakai T, Akazawa K. Cost-effectiveness analysis of the use of comprehensive molecular profiling before initiating monoclonal antibody therapy against metastatic colorectal cancer in Japan. *J Cancer Policy.* 2017;12:61–6.
 57. Cabezas C, Gómez C, Valentín V, Salas D, López R. Informe del grupo de expertos sobre concreción de cartera común de servicios para cribado de cáncer. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2013. p. 7–16.
Disponible en: www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/Cribado/docs/ResumenEjecutivoCribadoCancer.pdf
 58. Rodriguez B, Córdoba G, Aranda A, Álvarez M, Vicioso L, Pérez C, et al. Detection of TP53 and PIK3CA Mutations in Circulating Tumor DNA Using Next-Generation Sequencing in the Screening Process for Early Breast Cancer Diagnosis. *J Clin Med.* 2019;8(8):1183.
 59. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Déry V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: A review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ.* 2008;86(4):317–9.
 60. Grupo de trabajo de la Ponencia de Cribado de la Comisión de Salud Pública. Documento marco sobre cribado poblacional. Madrid: Ministerio de Sanidad y Política Social; 2010.
 61. Institute of Medicine (US) Committee on Assessing Genetic Risks. *Assessing Genetic Risks: Implications for Health and Social Policy.* Andrews LB, Fullarton JE, Holtzman NA, Motulsky AG, editors. Washington (DC): National Academies Press (US); 1994.

62. Langfelder EJ, Juengst ET. Ethical, Legal, and Social Implications (ELSI) Program National Center for Human Genome Research, National Institutes of Health. *Polit Life Sci.* 1993;12(2):273–5.
63. Genetic Alliance; The New York-Mid-Atlantic Consortium for Genetic and Newborn Screening Services. *Understanding Genetics: A New York, Mid-Atlantic Guide for Patients and Health Professionals.* Washington (DC): Genetic Alliance; 2009 Jul 8.
64. Secretaría General del Senado. Ponencia de estudio sobre genómica, constituida en el seno de la Comisión de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (antes denominada Comisión de Sanidad y Servicios Sociales). Madrid: Boletín Oficial de las Cortes Generales-Senado, núm. 341, 13 de febrero de 2019. 133 p.
Disponible en: http://www.senado.es/legis12/publicaciones/pdf/senado/bocg/BOCG_D_12_341_2574.PDF
65. Rodrigo S, de Rueda Á, Fernández G, de Quiroga S. Plan de cáncer en España. Análisis de las necesidades y retos por parte de investigadores, clínicos, sociedades científicas y legisladores. *Rev Esp Econ Salud.* 2018;13(5):789–816.
66. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol.* 2018 Sep 1;29(9):1895-1902.
67. Majem M, Juan O, Insa A, Reguart N, Trigo JM, Carcereny E, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of non-small cell lung cancer (2018). *Clin Transl Oncol.* 2019;21(1):3–17.
68. Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos. Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en síndromes mielodisplásicos y leucemia mielomonocítica crónica. Madrid: Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia; 2017.
Disponible en: <https://www.sehh.es/en/documents/guides-and-documents/122482-guia-de-aplicacion-clinica-de-la-secuenciacion-masiva-en-sindromes-mielodisplasicos-y-leucemia-mielomonocitica-cronica>
69. Zoni Matta AC, Martínez López J. Eficacia de la secuenciación masiva para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades oncohematológicas. Madrid: Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (UETS), Co-

munidad de Madrid. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2015.

70. Palacios J, de la Hoya M, Bellosillo B, de Juan I, Matías-Guiu X, Lázaro C, et al. Mutational Screening of BRCA1/2 Genes as a Predictive Factor for Therapeutic Response in Epithelial Ovarian Cancer: A Consensus Guide from the Spanish Society of Pathology (SEAP-IAP) and the Spanish Society of Human Genetics (AEGH). *Virchows Arch.* 2020 Feb;476(2):195-207.
71. Oaknin A, Guarch R, Barretina P, Hardisson D, González-Martín A, Matías-Guiu X, et al. Recommendations for biomarker testing in epithelial ovarian cancer: a National Consensus Statement by the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol.* 2018;20(3):274–85.
72. Chan E, oncológico Vanderbilt-Ingram Yi-Jen Chen C, Cooper HS, oncológico Fox Chase Paul Engstrom CF, oncológico Fox Chase Peter Enzinger CC, oncológico del Dana-Farber C, et al. Guía de la NCCN: Índice Cáncer de colon: Índice Discusión Centro oncológico integral City of Hope MPH Centro oncológico del Dana-Farber/ Brigham and Women's. 2016; Disponible en: https://www.fundacioneco.es/wp-content/uploads/page/practica-clinica-oncologia/v2-2016_colon-spanish-guide-line.pdf
73. Camps C, coordinador. Cáncer de pulmón no microcítico. Versión. 4.2016. Guía de práctica clínica en oncología de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Edición Europea: España. Disponible: <https://fundacioneco.es/project/guia-de-practica-clinica-en-oncologia-de-la-nccn/>
74. NICE. EGFR-TK mutation testing in adults with locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer Diagnostics guidance [DG9]. London (United Kingdom): National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 14 August 2013. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/guidance/dg9>
75. Manahan ER, Kuerer HM, Sebastian M, Hughes KS, Boughey JC, Euhus DM, Boolbol SK, Taylor WA. Consensus Guidelines on Genetic Testing for Hereditary Breast Cancer from the American Society of Breast Surgeons. *Ann Surg Oncol.* 2019 Oct;26(10):3025-31.

76. NICE. Next-generation sequencing panel for solid tumour cancers in children. Medtech innovation briefing (MIB), 133. London: (United Kingdom): National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 08 January 2018. Disponible en: <https://www.nice.org.uk/advice/mib133>
77. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors guideline from the college of American pathologists, the international association for the study of lung cancer, and the a. Arch Pathol Lab Med. 2018;142(3):321–46.

ANEXOS

Anexo 1. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios sobre seguridad, eficacia y/o efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica.

Criterios de inclusión

- Pacientes con cualquier tipo de cáncer.
- Realización de prueba NGS para el diagnóstico, pronóstico y/o selección de diana terapéutica.
- Comparación de prueba NGS con el método de referencia de secuenciación Sanger.
- Estudios que presenten datos sobre las siguientes variables: número o porcentaje de pacientes con la mutación o mutaciones de interés, número o porcentaje de mutaciones identificadas, especificidad (falsos positivos), sensibilidad (falsos negativos), concordancia (precisión), valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, límite de detección, modificaciones del diagnóstico inicial, cambio en la decisión terapéutica o manejo de los pacientes después de realizar un test NGS.
- Estudios con diseño de ensayo clínico, revisión sistemática, revisión sistemática meta-analítica o estudios comparativos de evaluación diagnóstica.
- Límite de la búsqueda a fecha: septiembre 2019.

Criterios de exclusión

- Estudios que incluyan pacientes con diferentes tipos de cáncer y que no presenten los datos de las variables de interés para cada uno de ellos por separado.
- Estudios que presenten una $N < 30$ (ya sean muestras o pacientes).
- Estudios que comparen la prueba NGS con otras técnicas para identificar mutaciones que no sean secuenciación de Sanger.
- Estudios de investigación para la identificación de nuevas mutaciones relacionadas con la enfermedad oncológica de interés.
- Estudios escritos en idiomas diferentes al inglés, castellano o catalán.

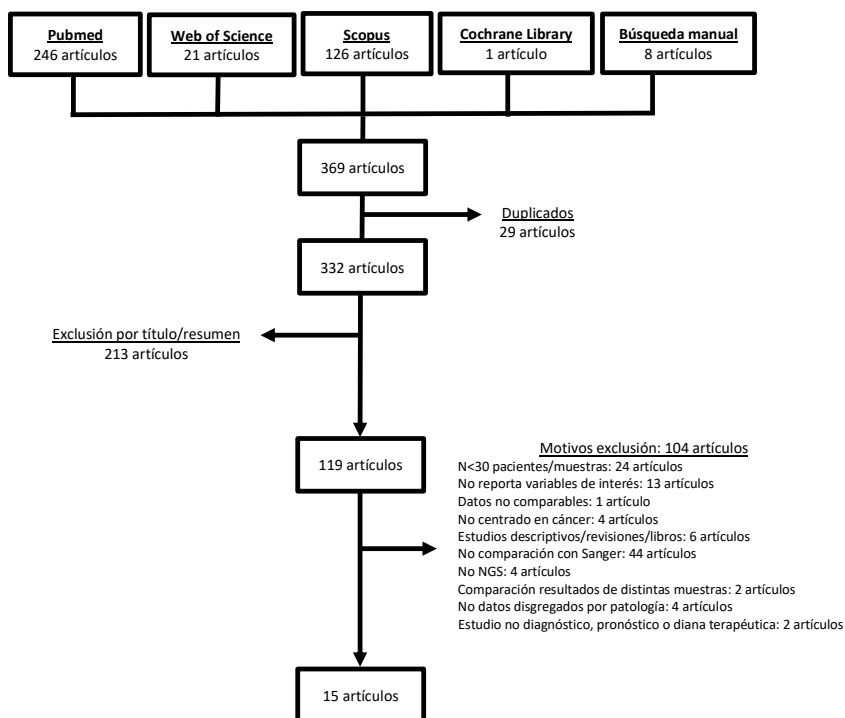
Anexo 2. Estrategias de la búsqueda diseñadas para identificar estudios sobre seguridad, eficacia o efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica en las diferentes bases de datos electrónicas.

MEDLINE (PubMed)	<p>#1 (((next[tiab] OR second[tiab]) AND generat*[tiab] AND sequenc*[tiab]) OR "high-throughput sequencing"[tiab] OR "High-Throughput Nucleotide Sequencing"[Mesh] OR (NGS[tiab]) OR (Mass*[tiab] AND parallel[tiab] AND sequenc*[tiab]) OR ("Illumina" AND sequenc*) OR ("Solexa" AND sequenc*) OR ("Ion Torrent" AND sequenc*) OR ("Ion PGM" AND sequenc*) OR ("Roche 454" AND sequenc*) OR (solid AND sequenc*)))</p> <p>#2 neoplasm* OR cancer OR tumor* OR tumour* OR oncolog* OR carcinoma OR sarcoma OR metast* OR malignan* OR carcinoid*</p> <p>#3 (first[tiab] AND generat*[tiab] AND sequenc*[tiab]) OR Sanger[tiab]</p> <p>#4 randomized controlled trial[pt] OR controlled clinical trial[pt] OR clinical trial[pt] OR random*[title] OR trial*[title]</p> <p>#5 systematic review[title] OR (systematic[title] AND review[title]) OR systematic[sb] OR Cochrane Database Syst Rev[ta] OR "systematic review"[pt] OR Metaanal*[title] OR meta-analysis[title] OR Meta-Analysis[pt]</p> <p>#6 comparative study[pt] OR (comparative[Tiab] AND stud*[Tiab])</p> <p>#1 AND #2 AND #3 AND (#4 OR #5 OR #6)</p>
------------------	---

Web of Science	<p>#1 (next OR second) NEAR/2 generat* NEAR/2 sequenc* OR high-throughput NEAR/2 sequenc* OR NGS OR Mass* NEAR/2 parallel NEAR/2 sequenc* OR ("Illumina" AND sequenc*) OR ("Solexa" AND sequenc*) OR ("Ion Torrent" AND sequenc*) OR ("Ion PGM" AND sequenc*) OR ("Roche 454" AND sequenc*) OR (solid AND sequenc*)</p> <p>#2 neoplasm* OR cancer OR tumor* OR tumour* OR oncolog* OR carcinoma OR sarcoma OR metast* OR malignan* OR carcinoid*</p> <p>#3 (first NEAR/2 generat* NEAR/2 sequenc*) OR Sanger</p> <p>#4 random* OR trial*</p> <p>#5 (systematic NEAR/2 (review OR overview)) OR metaanal* OR meta-anal*</p> <p>#6 (comparative AND stud*)</p> <p>#1 AND #2 AND #3 AND (#4 OR #5 OR #6)</p> <p>#1 AND #2 COMO "TITLE" Y "#3 AND #4 AND #5 AND #6" COMO "TOPIC"</p>
Scopus	<p>(((TITLE-ABS-KEY (((next OR second) W/2 generat* W/2 sequenc*) OR (high-throughput W/2 sequenc*) OR ngs OR (mass* W/2 parallel W/2 sequenc*) OR ("Illumina" AND sequenc*) OR ("Solexa" AND sequenc*) OR ("Ion Torrent" AND sequenc*) OR ("Ion PGM" AND sequenc*)) OR TITLE-ABS-KEY (("Roche 454" AND sequenc*) OR (solid AND sequenc*))))) AND (TITLE-ABS-KEY (neoplasm* OR cancer OR tumor* OR tumour* OR oncolog* OR carcinoma OR sarcoma OR metast* OR malignan* OR carcinoid*)) AND (TITLE-ABS-KEY ((first W/2 generat* W/2 sequenc*) OR sanger))) AND ((TITLE (random* OR trial* OR (systematic W/2 (review OR overview)) OR metaanal* OR meta-anal* OR (comparat* W/2 stud*)) OR KEY (random* OR trial* OR (systematic W/2 (review OR overview)) OR metaanal* OR meta-anal* OR (comparat* W/2 stud*))))</p>

Cochrane Library	<p>#1 (neoplasm* OR cancer OR tumor* OR tumour* OR oncolog* OR carcinoma OR sarcoma OR metast* OR malignan* OR carcinoid*) {Incluyendo términos limitados relacionados}</p> <p>#2 ((next OR second) ADJ2 generat* ADJ2 sequenc*) OR (high ADJ2 throughput ADJ2 sequenc*) OR ngs.ti OR (mass* ADJ2 parallel ADJ2 sequenc*) OR ("Illumina" AND sequenc*) OR ("Solexa" AND sequenc*) OR ("Ion Torrent" AND sequenc*) OR ("Ion PGM" AND sequenc*) OR ("Roche 454" AND sequenc*) OR (solid AND sequenc*) {Incluyendo términos limitados relacionados}</p> <p>#1 AND #2</p>
------------------	---

Anexo 3. Diagrama de flujo de la selección de estudios incluidos sobre seguridad, eficacia y/o efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica.



Anexo 4. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios sobre coste-efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica.

Criterios de inclusión

- Pacientes con cualquier tipo de cáncer.
- Estudios que hubieran realizado un análisis coste-efectividad o coste-beneficio de las tecnologías NGS.
- Revisiones sistemáticas publicadas entre enero de 2015 y septiembre de 2019 y estudios originales publicados entre enero de 2018 y septiembre de 2019.

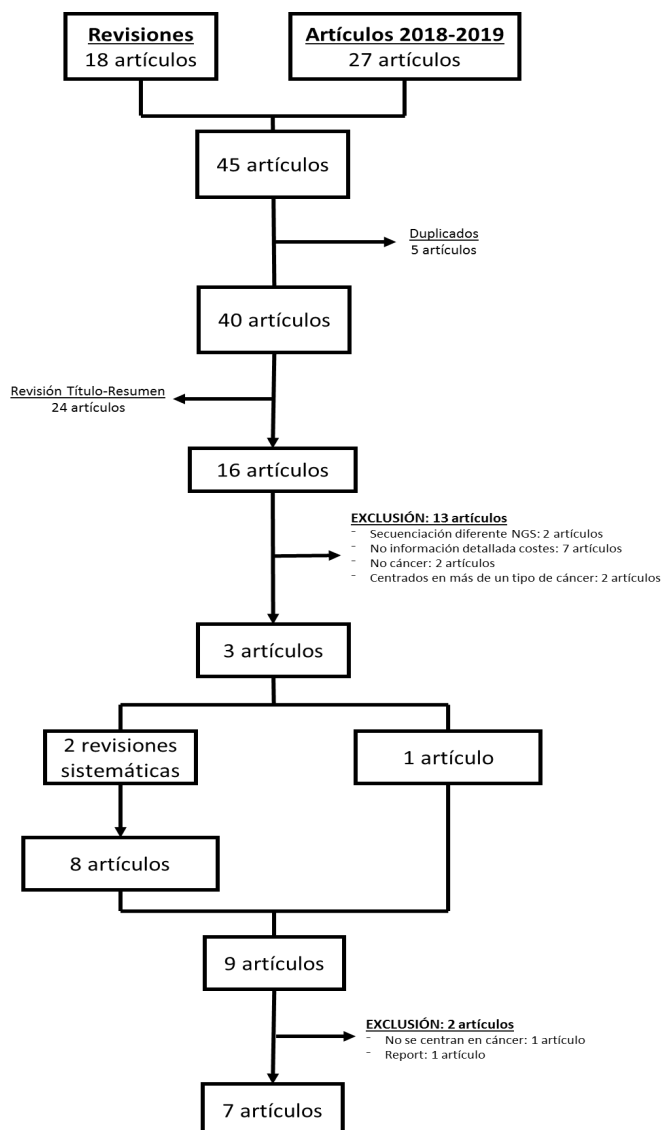
Criterios de exclusión

- Estudios escritos en idiomas diferentes al inglés, castellano o catalán.

Anexo 5. Estrategias de la búsqueda diseñadas para identificar estudios sobre coste-efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica en la base de datos electrónica MEDLINE (PubMed):

MEDLINE (PubMed)	<p>#1 (((next[tiab] OR second[tiab]) AND generat*[tiab] AND sequenc*[tiab]) OR "high-throughput sequencing"[tiab] OR "High-Throughput Nucleotide Sequencing"[Mesh] OR (NGS[tiab]) OR (Mass*[tiab] AND parallel[tiab] AND sequenc*[tiab]) OR ("Illumina" AND sequenc*) OR ("Solexa" AND sequenc*) OR ("Ion Torrent" AND sequenc*) OR ("Ion PGM" AND sequenc*) OR ("Roche 454" AND sequenc*) OR (solid AND sequenc*)))</p> <p>#2 neoplasm* OR cancer OR tumor* OR tumour* OR oncolog* OR carcinoma OR sarcoma OR metast* OR malignan* OR carcinoid*</p> <p>#3 "costs and cost analysis"[MeSH] OR "cost-benefit analysis"[MeSH] OR "cost allocation"[MeSH] OR "cost control"[MeSH] OR "cost of illness"[MeSH] OR "cost savings"[MeSH] OR "cost sharing"[MeSH] OR cost[title] OR costs[title]</p> <p>#1 AND #2 AND #3</p>
------------------	---

Anexo 6. Diagrama de flujo de la selección de estudios incluidos sobre coste-efectividad de la tecnología NGS en pacientes con síndrome de predisposición hereditaria al cáncer o con cualquier enfermedad oncológica.



Anexo 7. Estudios que compararon la secuenciación mediante técnicas de NGS con la secuenciación de Sanger.

Autor	Año	Diseño estudio	Enfermedad	N (muestras o pacientes)	Tipo muestra	Utilización prueba NGS	Técnica NGS	Tecnología NGS	Resultados	Conclusiones	Conflicto interés
Pritchard et al (33)	2012	Estudio prospectivo de validación	Síndrome de Lynch	82 muestras	Sangre periférica	Diagnóstico (síndromes hereditarios cáncer de colon)	Panel de genes	HiSeq (Illumina®)	- Especificidad: 99,4 % - Sensibilidad: 99,1 % - Valor predictivo: 99,4 %	Se reporta y se valida un test NGS exhaustivo y coste efectivo para síndromes hereditarios de cáncer de colon y para evitar múltiples test genéticos costosos para establecer un diagnóstico.	Sí
Neveling et al (34)	2013	Estudio comparativo post-hoc	Cáncer de colon hereditario	35 pacientes	Sólida	Diagnóstico	WES	SOLiDTM (Applied Biosynthesis)	NA	- El diagnóstico mediante WES es coste-efectivo si se analizan más de 3 genes. Para analizar uno o pocos es preferible el método Sanger. - WES sería una herramienta para el diagnóstico diferencial.	NA
Ciardello et al (37)	2014	Estudio comparativo retrospectivo, cohorte multicéntrica nacional	Cáncer colorrectal metastásico	182 pacientes	FFPE	Pronóstico y selección diana terapéutica (quimioterapia estándar plus anti-EGFR cetuximab)	Panel de genes	Ion Torrent PGM (ThermoFisher)	- Sensibilidad: 2 % con NGS, mucho mayor respecto Sanger - Concordancia: 100 %	- La sensibilidad de NGS es mucho mayor que la presentada por Sanger. - Las validaciones mediante secuenciación de Sanger de las mutaciones seleccionadas fueron corroboradas.	Sí
Gao et al (38)	2016	Estudio comparativo retrospectivo	Cáncer colorrectal	51 muestras	FFPE	Diagnóstico y selección diana terapéutica (resistencia tratamiento anti-EGFR cetuximab o panitumumab)	Panel de genes	Ion Torrent PGM (ThermoFisher)	- Concordancia: 100 % - Pacientes/muestras mutación: 13 muestras (25,5 %) con NGS y 13 (25,5 %) con Sanger	- Ion Torrent PGM presenta una mayor especificidad y sensibilidad en la detección de mutaciones que Sanger. - Ion Torrent PGM es una plataforma eficiente en costes y tiempo para el test de múltiples genes relacionados con el cáncer colorrectal.	No

Autor	Año	Diseño estudio	Enfermedad	N (muestras o pacientes)	Tipo muestra	Utilización prueba NGS	Técnica NGS	Tecnología NGS	Resultados	Conclusiones	Conflicto interés
Udar et al (39)	2018	Estudio comparativo retrospectivo. Las muestras provienen de un ensayo clínico	Cáncer colorrectal metastásico	441 muestras	FFPE	Diagnóstico y selección diana terapéutica (anti-EGFR panitumumab)	Panel de genes	MiSeq (Illumina®)	- Sensibilidad: 98,7 %	La tecnología NGS permite realizar análisis rápidos y altamente específicos de regiones genómicas. Respaldan el uso del Panel Extended RAS como diagnóstico complementario para identificar pacientes candidatos a recibir panitumumab.	Sí
Castéra et al (35)	2014	Estudio de evaluación prospectivo	Cáncer hereditario de mama y ovario	168 pacientes	Sangre periférica	Diagnóstico (síndromes hereditarios cáncer de mama y ovario)	Panel de genes	Plataforma GAllx (Illumina®)	- Especificidad: 98,2 % - Sensibilidad: 100 % - Concordancia: 100 %	Los resultado del estudio demuestran la eficiencia de la tecnología NGS en el diagnóstico molecular del cáncer hereditario de mama y ovario.	No
Hwang et al (36)	2018	Estudio de evaluación comparativo	Cáncer de mama	75 pacientes	Sangre	Diagnóstico (síndromes hereditarios cáncer de mama)	Panel de genes	Ion Torrent PGM (ThermoFisher). Dos plataformas: Ion PGM con OTG-snp caller y Ion PGM Dx con Torrent Suite	- Concordancia: 1 resultado discrepante entre Ion PGM/OTG-snp caller y Sanger. 8 resultados discrepantes entre Ion PGM Dx/ Torrent Suite y Sanger	- Ion PGM / OTG-snp caller mostró un rendimiento aceptable con buena concordancia con la secuenciación de Sanger. - Ion PGM Dx / Torrent Suite mostró muchos resultados discrepantes que no son adecuados para su uso en un laboratorio clínico.	No
Buttitta et al (40)	2013	Estudio de evaluación retrospectivo	Cáncer de pulmón	48 muestras	Lavado broncoalveolar y líquido pleural	Diagnóstico y selección diana terapéutica (anti-EGFR TKI)	Secuenciación dirigida	454 (Life Sciences)	- Especificidad: 100 % - Sensibilidad: NGS detecta mutaciones en el 81 % de las muestras (14 % Sanger) y en el 77 % de los casos negativos con Sanger (muestras baja proporción de células tumorales)	- Los fluidos de los lavados broncoalveolares y pleurales se pueden usar de manera efectiva para la detección de mutaciones EGFR por NGS. - Mayor sensibilidad y especificidad de NGS respecto a otros métodos de detección de mutaciones sensibles.	No
Tuononen et al (41)	2013	Estudio comparativo retrospectivo	Carcinoma de pulmón no microcítico	81 muestras	FFPE	Diagnóstico y selección de diana terapéutica	Panel de genes	HiSeq (Illumina®)	- Concordancia: 97,5 %-100 % (según gen secuenciado)	Los resultados dan soporte al uso de NGS para el cribado de mutaciones en este estudio.	NA

Autor	Año	Diseño estudio	Enfermedad	N (muestras o pacientes)	Tipo muestra	Utilización prueba NGS	Técnica NGS	Tecnología NGS	Resultados	Conclusiones	Conflicto interés
Bisschop et al (42)	2018	Estudio comparativo restrospectivo	Melanoma de estadio avanzado	39 pacientes	FFPE	Diagnóstico y selección de diana terapéutica	Panel de genes (15 exones de BRAF)	Ion Torrent (TermoFisher)	- Limite detección: 10 % NGS y 20 % Sanger	La tecnología NGS tiene una elevada sensibilidad, lo que permite proporcionar un perfil tumoral más amplio del individuo, importante para el abordaje terapéutico.	Sí
Lionetti et al (43)	2014	Estudio comparativo prospectivo. Casos registrados en un ensayo clínico multicéntrico.	Leucemia linfocítica crónica	384 pacientes	Sangre periférica	Diagnóstico	Secuenciación de gen único	454 (Life Sciences)	- Pacientes mutación: 145 NGS y 25 Sanger	La tecnología NGS es un método de detección altamente sensible que permite la detección de mutaciones de bajo nivel relevantes para el pronóstico y decisión de estrategias terapéuticas.	No
Rossi et al (44)	2014	Estudio comparativo prospectivo	Leucemia linfocítica crónica	309 pacientes	Sangre periférica	Diagnóstico	Secuenciación de gen único	454 (Life Sciences)	- Pacientes mutación: 46 (14,8 %) NGS y 28 (9,1 %) Sanger - N. mutaciones detectadas: 85 NGS y 35 Sanger	La tecnología NGS proporciona un valor añadido a los análisis de TP53 en LLC para identificar aquellos pacientes que presentarían un alto riesgo de fallo de las terapias convencionales.	No
McClure et al (45)	2015	Estudio comparativo prospectivo	Leucemia linfocítica crónica	50 pacientes	Sangre o médula ósea	Diagnóstico y pronóstico	Secuenciación de gen único	Ion Torrent PGM (ThermoFisher)	- Pacientes mutación: 19 NGS y 19 Sanger - N. mutaciones detectadas: discordancias en cuanto al % de mutaciones identificadas, sin afectar al resultado clínico. Diferencia máxima de mutación: 47 casos (2,2 %)	La evaluación de IGH SHM mediante la tecnología de estudio es factible. Esta tecnología puede ser introducida en los laboratorios clínicos de rutina.	Sí
Sutton et al (46)	2015	Cohorte multicéntrica internacional	Leucemia linfocítica crónica	188 pacientes	Sangre	Diagnóstico y pronóstico	Panel de genes	HiSeq (Illumina®)	- Concordancia: 93 %	La técnica NGS dirigida es precisa, reproducible y adecuada para el cribado de rutina sin la necesidad de confirmación con secuenciación Sanger.	NA

Autor	Año	Diseño estudio	Enfermedad	N (muestras o pacientes)	Tipo muestra	Utilización prueba NGS	Técnica NGS	Tecnología NGS	Resultados	Conclusiones	Conflicto interés
Deininger et al (47)	2016	Ensayo clínico	Leucemia mieloide crónica	267 pacientes	Sangre	Selección de diana terapéutica (TKI ponatinib)	Secuenciación dirigida	Ion Torrent PGM (ThermoFisher)	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibilidad: mayor sensibilidad NGS respecto Sanger - Muestras mutación: 39 % NGS, 51 % Sanger Mutaciones múltiples, 23 % NGS y 10 % Sanger 	<ul style="list-style-type: none"> - La secuenciación mediante técnicas de NGS es más sensible que mediante Sanger - Se ha visto que el aumento de la sensibilidad en la detección de mutaciones por NGS no presenta utilidad en la predicción a la respuesta al tratamiento. 	Sí

NA: No aplica; WES: Whole Exome Sequencing; FFPE: Formalin-Fixed Paraffin-Embedded.

Anexo 8. Estudios que reportaron el coste-efectividad de la tecnología NGS.

Autor	Año	Tipo de estudio	País	Enfermedad	Método secuenciación	Parámetros incluidos en el coste total	Coste de la secuenciación	QALYs	Conclusiones	Conflicto interés
Doble et al (50)	2017	Estudio comparativo de coste-efectividad	Australia	Adenocarcinoma de pulmón metastásico	Panel de 10 genes	Preparación de las muestras, reactivos, secuenciación y computación, mano de obra (patólogo y análisis bioinformático) y los gastos de validación	1000 AUD	485.199 AUD/QALY cuando se compara con los mejores cuidados de apoyo y 489.338 AUD/QALY cuando se compara con quimioterapia estándar	La secuenciación mediante paneles de genes no es coste-efectiva (>200.000 AUD/QALY) en este estudio. No obstante, son necesarios estudios adicionales.	No
Wallbillich JJ et al (51)	2016	Estudio coste-efectividad	Estados Unidos	Cáncer de ovario	Panel de 315 genes	Coste de secuenciación	3.400 \$/caso	479.303 \$/QALY cuando se compara con el tratamiento estándar	- La terapia genómica dirigida no es coste-efectiva (>100,000 \$/QALY) en comparación con el estándar de atención. - La reducción del coste de las terapias dirigidas en un 44 % hace que la estrategia genómica sea coste-efectiva, con un ICER inferior a 100,00 \$/QALY.	No
Li Y et al (52)	2017	Estudio comparativo de coste-efectividad	Estados Unidos	Cáncer de mama	Panel de 7 genes	Coste de secuenciación	2418 \$/caso	17.935-20.628 QALYs (48.328-69.920 \$/QALY)	-El uso de un panel de NGS de siete genes podría extender la esperanza de vida de las mujeres en riesgo de cáncer de mama hereditario, siendo coste-efectivas (<100,000 \$/QALY) a un coste aceptable en comparación con las pruebas genéticas centradas únicamente en los genes BRCA1/2.	Sí
Li Y et al(53)	2015	Estudio de coste-efectividad mediante un modelo de decisión	USA	Melanoma metastásico	Panel de 34 genes	Secuenciación, fármacos para el tratamiento	120.222 \$ (128.965 \$ para un único gen)	166.466 \$/QALY (183.189 \$/QALY para un único gen)	El uso del panel de genes de NGS para la toma de decisiones reduce los costes y mejora la ratio \$/QALY en comparación con el test de mutaciones de un único gen.	Sí
Gallego CJ et al (54)	2015	Estudio de coste-efectividad mediante un modelo de decisión	USA	Cáncer colorrectal	Panel de genes múltiples	Cribado, diagnóstico (incluyendo secuenciación) y atención de salud asociados con el cribado y el tratamiento	2700 dólares/muestra	- Panel de genes de NGS y terapia dirigida 36.500 \$/QALY vs. estándar (IHC+Sanger) - La adición de genes de baja penetración: 77.300 \$/QALY	El uso de un panel NGS de primera línea en este estudio es coste-efectivo (<100,000 \$/QALY).	Sí

Autor	Año	Tipo de estudio	País	Enfermedad	Método secuenciación	Parámetros incluidos en el coste total	Coste de la secuenciación	QALYs	Conclusiones	Conflicto interés
Lu S et al (55)	2018	Estudio de coste-efectividad	China	Cáncer de pulmón de células no pequeñas	Panel de genes	Secuenciación y su preparación, y gastos médicos directos como quimioterapia, medicación concomitante, hospitalización...	NA	- 14.384 \$/ QALY crizonitib con programa de asistencia vs. estrategia control - 174.970 \$/ QALY crizonitib sin programa de asistencia	NGS para guiar el tratamiento con crizotinib es coste-efectivo (<32.000 \$/QALY) cuando se compara con la quimioterapia estándar y cuando se dispone de programa de asistencia al paciente.	Si
Saito S et al (56)	2017	Estudio comparativo de coste-efectividad	Japón	Cáncer colorrectal metastásico	Panel de más de 400 genes	Tratamiento administrado según los resultados de la secuenciación y costes médicos como la secuenciación, análisis sanguíneos, diagnóstico por imagen...	NA	4.260.187 JPY/QALY	Se ha comparado el coste de no testar, screening únicamente de RAS o secuenciación mediante un panel de genes de NGS. Se ha demostrado que, aunque es la estrategia más costosa, es la más coste-efectiva (6 millones JPY/QALY).	NA

NA: No aplica; TGP: Target Gene Panel; WGS: Whole Genome Sequencing; WES: Whole Exome Sequencing; QALY: Quality-Adjusted Life Year.

