Plataforma para el análisis de ARN, ADN o proteínas como biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de tratamientos

Platform to analyse RNA, DNA or proteins as biomarkers in the diagnosis, prognosis and assessment of treatments

Detección Temprana de Tecnologías Nuevas y Emergentes en la RedETS

Ficha de evaluación deTecnologías nuevas y emergentes

AQuAS

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN

MINISTERIO DE SANIDAD
Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud
Generalitat de Catalunya
Salut/
Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya

Plataforma para el análisis de ARN, ADN o proteínas como biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de tratamientos

Platform to analyse RNA, DNA or proteins as biomarkers in the diagnosis, prognosis and assessment of treatments

Ficha de evaluación deTecnologías nuevas y emergentes

AQuAS

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN

MINISTERIO DE SANIDAD
Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud
Generalitat de Catalunya
Salut/
Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya

Plataforma para el análisis de ARN, ADN o proteínas como biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de tratamientos / Edurne Gallastegui Calvache, Joan Segur Ferrer). Ministerio de Sanidad. 2021.—67 p; 24 cm.— (Colección: Informes, estudios e investigación / Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias)

1. Marcadores biológicos 2. Enfermedades-diagnóstico 3. Enfermedades-tratamiento

I. España. Ministerio de Sanidad
II. Cataluña. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya
III. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya

Para citar este informe:
Gallastegui-Calvache E, Segur-Ferrer J. Plataforma para el análisis de RNA, DNA o proteínas como biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de tratamientos. Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya; 2021 (Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias). 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).

© 2021 Ministerio de Sanidad
© 2021 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.

Corrección y maquetación: Àrea de comunicación AQuAS
Diseño: Ministerio de Sanidad
Nipo: en tramitación

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

Plataforma para el análisis de ARN, ADN o proteínas como biomarcadores en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de tratamientos

Platform to analyse RNA, DNA or proteins as biomarkers in the diagnosis, prognosis and assessment of treatments

Ficha de evaluación deTecnologías nuevas y emergentes

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 tendrá un 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.

Información preliminar

Autoría

Edurne Gallastegui Calvache. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Joan Segur Ferrer. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Otros participantes

Antoni Parada Martínez. Documentalista. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya; CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).

Coordinación

Dirección científica: Rosa Maria Vivanco Hidalgo. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Supervisión metodológica: Maria-Dolors Estrada Sabadell. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya. CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).

Coordinación técnica: Lidia Blanco Silvente. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS), Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores y las autoras 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.

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 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 28 de octubre de 2020 (conforme al Acuerdo del Consejo de Ministros de 9 de diciembre de 2020).

Agradecimientos

Este informe de evaluación ha sido sometido 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. Emilio Alba Conejo, oncólogo jefe del Servicio de Oncología Médica de la Universidad de Málaga, su colaboración y los comentarios aportados.

Índice

Resumen 9

English Summary 11

Resum en català 13

I. Datos generales 15

I.1. Compañía comercial o elaboradora del producto 15

I.2. Breve descripción de la tecnología evaluada 15

I.3. Población diana 17

I.4. Descripción de la patología a la que se aplica la tecnología 17

I.5. Área de especialización/abordaje 18

I.6. Dirección web de documentos de referencia publicados 18

II. Desarrollo y uso de la tecnología 21

II.1. Grado de desarrollo y uso de la tecnología 21

II.2. Tipo y uso de la tecnología 21

II.3. Lugar o ámbito de aplicación de la tecnología 21

II.4. Relación con tecnologías previas 22

II.5. Tecnología alternativa en uso actual 22

II.6. Aportación de la nueva tecnología en relación a la tecnología en uso actual 27

II.7. Licencia, reintegro de gastos u otras autorizaciones 27

III. Importancia sanitaria de la condición clínica o la población a la que se aplica 29

III.1. Incidencia y prevalencia 29

III.2. Carga de la enfermedad 31

IV. Requerimientos para usar la tecnología 33

IV.1. Requerimientos de infraestructura y formación 33

IV.2. Coste y precio unitario 33

V. Evidencia sobre la aplicación de la tecnología 35

V.1. Descripción de los estudios incluidos 35

V.2. Calidad de los estudios incluidos 35

V.3. Resultados de los estudios incluidos 37

V.3.1. Resultados sobre seguridad 37

V.3.2. Resultados sobre capacidad diagnóstica 37

V.3.3. Resultados sobre evaluación económica 41

V.3.4. Resultados sobre aspectos técnicos y organizativos 42

VI. Valoración del impacto de la tecnología 43

VI.1. Impacto en salud 43

VI.2. Impacto ético, social, legal de la tecnología 44

VI.3. Impacto organizativo de la tecnología 45

VI.4. Impacto económico de la tecnología 46

VII. Difusión e introducción esperada de la tecnología 47

VIII. Investigación en curso y recomendaciones 49

VIII.1. Investigación en curso 49

VIII.2. Guías y directrices 49

VIII.3. Puntos claves 49

Referencias 51

Anexos 55

Anexo 1. Estrategias de búsqueda bibliográfica utilizadas en las diferentes bases de datos electrónicas. 55

Anexo 2. Criterios de inclusión y exclusión 57

Anexo 3. Diagrama de flujo de la selección de los estudios incluidos 58

Anexo 4. Evaluación de la calidad de la evidencia 59

Anexo 5. Tablas de evidencia de los estudios incluidos 60

Tabla 5.1 Tablas de evidencia de los estudios incluidos en referencia a enfermedades oncológicas 60

Tabla 5.2 Tablas de evidencia de los estudios incluidos en referencia a enfermedades no oncológicas 65

Anexo 6. Estudios en marcha sobre nCounter® 67

Resumen

La utilización de los biomarcadores juega un papel cada día más importante en el diagnóstico clínico de enfermedades. El primer paso para el desarrollo de este tipo de diagnóstico es la identificación de uno o varios biomarcadores asociados a un proceso biológico normal o patológico, paso tras el cual se lleva a cabo su validación como biomarcador fiable, relevante y específico. La biología molecular basada en biomarcadores genómicos, transcriptómicos, proteómicos o metabolómicos ayuda a este diagnóstico en lo que es conocido como medicina de precisión. Esta medicina se centra en la identificación y validación de un gran número de biomarcadores para predecir el curso de una enfermedad, monitorizar la evolución de la enfermedad, identificar diferentes subpoblaciones de pacientes, así como predecir y monitorizar la respuesta de los pacientes a las diferentes terapias. En el diagnóstico tradicional del cáncer se han observado ciertas mitaciones referentes a la predicción de la progresión tumoral o frente a la respuesta del tratamiento. Los biomarcadores estan revolucionando estas etapas, mostrándose como una alternativa para el diagnóstico, pronóstico, predicción de respuesta al tratamiento o identificación de potenciales dianas de nuevas terapias.

La tecnología nCounter® Nanostring (a partir de ahora denominada tecnología nCounter®) se utiliza en diagnóstico clínico y en investigación. Esta tecnología permite detectar ADN, ARN y proteínas mediante la detección molecular directa sin amplificación del material genético. La tecnología nCounter® se basa en la detección digital de un código de barras molecular que está codificado por colores y que está ligado a una sonda específica para el biomarcador de interés. Estos complejos específicos que se forman, se inmovilizan y orientan para su posterior escaneado mediante un microscopio de fluorescencia automático. Los análisis con esta tecnología permiten estudiar varias vías de señalización y un total de 800 genes, cada vez con más minoría de manipulación por parte del técnico y con una obtención más rápida de los resultados.

Con el objetivo de evaluar la tecnología nCounter®, se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura en la base de datos Pubmed en el periodo temporal entre 2015 y marzo de 2021. La finalidad de esta revisión sistemática fue identificar los estudios de diagnóstico, pronóstico y tratamiento en pacientes con indicaciones oncológicas y no oncológicas de cualquier edad en los que hubieran comparado la tecnología nCounter® con otras técnicas existentes (inmunohistoquímica, FISH, RT-qPCR, RT-PCR, entre otras). Las variables de resultado consideradas en la literatura incluída y que fueron analizadas fueron en relación a la validez y robustez diagnóstica en las muestras de pacientes, más concretamente, la sensibilidad y especificidad, la concordancia y la correlación entre la tecnología nCounter® y su comparador correspondiente. Los diseños de estudio que se buscaron fueron revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados, estudios observacionales (de pruebas diagnósticas, entre otros) y evaluaciones económicas.

Se identificaron un total de 316 estudios potenciales, de los cuales 29 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidos en este informe. 22 estudios de los 29 estaban relacionados con indicaciones oncológicas y los 7 restantes estaban relacionados con indicaciones no oncológicas. Todos los estudios encontrados tienen un diseño observacional y analizan la capacidad diagnóstica a nivel de validez y robustez de la tecnología nCounter® frente a sus comparadores. No se identificaron estudios que hubiesen realizado análisis de coste-efectividad de esta tecnología respecto a sus comparadores en la base de datos Pubmed.

Globalmente, los resultados de la capacidad diagnóstica de la tecnología nCounter® son equiparables y cuentan con una alta sensibilidad/especificidad, correlación y concordancia entre esta técnica y sus comparadores. Este hecho, sumado a que esta tecnología pueda analizar diferentes tipos de materiales, sea más rápida que otras técnicas cuando se analizan varios biomarcadores a la vez, no necesite de amplificación del material genético y se puedan crear paneles específicos para diagnóstico, pronóstico o para favorecer el tratamiento mediante medicina personalizada de precisión se plantee como una técnica alternativa viable a las técnicas habituales, tales como FISH, immunohistoquímica, RT-qPCR o RT-PCR. Aun así, cabe mecionar que muchos de los estudios encontrados en la revisión sistemática se llevaron a cabo en laboratorios de investigación en los que utilizaban muestras antiguas de pacientes ya diagnosticadas y que no se encontraron estudios sobre la utilidad clínica de la tecnología nCounter®. Sería necesario contar con nuevos estudios en los que se utilizaran la tecnología nCounter® y su comparador para poder evaluar tanto la eficiencia como la utilidad clínica y los aspectos técnicos tales como tiempos de realización

de las técnicas respecto a los costes, personal necesario para realizar los ensayos y cantidades de biomarcadores que se pueden analizar, por tal de considerar el valor que pueda aportar al Sistema de Salud. Cabe destacar que actualmente sólo existe marcado CE y FDA para la prueba diagnóstica Prosigna™, prueba que se basa en la tecnología nCounter® y que se utiliza para el pronóstico del cáncer de mama.

English Summary

The use of biomarkers plays an important role in the clinical diagnosis of diseases. The first step in the development of this type of diagnosis is the identification of one or more biomarkers associated with a normal or pathological biological process. Afterwards, they are validated as a reliable, relevant and specific biomarkers. Molecular biology based on genomic, transcriptomic, proteomic or metabolomics biomarkers supports this diagnosis in what is known as precision medicine. This medicine focuses on the identification and validation of a large number of biomarkers in order to predict the course of a disease, monitor disease progression, identify different subpopulations of patients, as well as predict and monitor patients' response to different therapies. In traditional cancer diagnostics, certain limitations have been observed regarding the prediction of tumour progression or treatment response. Biomarkers are revolutionising these stages as they are considered an alternative for the diagnosis, prognosis and prediction of response treatment. What is more, they are also an alternative for the identification of potential targets for new therapies.

The nCounter® Nanostring technology (hereafter nCounter® technology) is used in clinical diagnosis and research. This technology makes it possible to detect DNA, RNA and proteins by direct molecular detection without the amplification of genetic material. The nCounter® technology is based on the digital detection of a molecular barcode that is colour-coded and linked to a specific probe attached to the biomarker. These specific complexes are immobilised and oriented for subsequent scanning by an automated fluorescence microscope. Analyses with this technology not only make it possible to study several signalling pathways and 800 genes, but also have fewer manipulations by the technician and faster results.

In order to evaluate the nCounter® technology, a systematic literature review was conducted in the Pubmed database in the period between 2015 and March 2021. The purpose of this systematic review was to identify diagnostic, prognostic and treatment studies in patients with oncological and non-oncological indications of any age in which nCounter® technology was compared to other existing techniques (immunohistochemistry, FISH, RT-qPCR, RT-PCR, among others). The outcome variables considered were related to the validity and diagnostic robustness in patient samples, more specifically, in the sensitivity and specificity, concordance and correlation between the nCounter® technology and its corresponding comparator. The study designs were systematic reviews, randomised clinical trials, observational studies (of diagnostic tests, among others) and economic evaluations.

There were 316 potential studies identified, in which 29 met the inclusion criteria and were included in this report. From those included in this report, 22 studies were related to oncological indications and the remaining 7 studies were related to non-oncological indications. All the studies were observational and they analysed the diagnostic capability at the level of validity and robustness of the nCounter® technology against its comparators. No studies were identified in the Pubmed database that had performed cost-effectiveness analyses of this technology with respect to its comparators.

Overall, the results of the diagnostic capacity of the nCounter® technology are comparable and have a high sensitivity/specificity, correlation and concordance between this technique and its comparators. It is important to highlight that this technology can analyze different types of materials and it is faster than other techniques when several biomarkers are analyzed at the same time. What is more, this technology does not require amplification of the genetic material and specific panels can be created for its diagnosis, prognosis or to favor treatment through personalized precision medicine. These previous features make it a viable alternative technique to the usual ones such as FISH, immunohistochemistry, RT-qPCR or RT-PCR. However, many of the studies were conducted in research laboratories and they used old samples from already diagnosed patients. Moreover, no studies on the clinical utility of nCounter® technology were found. Considering this, further comparative studies would be necessary to evaluate both the efficiency and clinical utility, and other technical aspects such as time of performance in relation to costs, personnel needed to perform the assays and the quantity of biomarkers that can be analyzed. This would help in order to consider the value it can bring to the Health System. It should be noted that there is only CE and FDA marking for the Prosigna™ diagnostic test, which is based on nCounter® technology and is used for breast cancer prognosis.

Resum en català

L'ús de biomarcadors juga un paper cada dia més important en el diagnòstic clínic de malalties. El primer pas per desenvolupar aquest tipus de diagnòstic és la identificació d'un o més biomarcadors associats a un procés, ja sigui biològic normal com patològic. Seguidament, es du a terme la seva validació com biomarcador fiable, rellevant i específic. La biologia molecular basada en biomarcadors genòmics, transcriptòmics, proteòmics o metabolòmics ajuda en aquest diagnòstic en el que és conegut com medicina de precisió. Aquesta medicina es centra en la identificació i validació d'un gran número de biomarcadors per predir el curs d'una malaltia, monitoritzar l'evolució de la malaltia, identificar diferents subpoblacions de pacients, així com predir i monitoritzar la resposta dels pacients a les diferents teràpies. En el diagnòstic tradicional del càncer, s'han observat certes limitacions referents a la predicció de la progressió tumoral o davant la resposta del tractament. Els biomarcadors estan revolucionant aquestes etapes, mostrant-se com una alternativa pel diagnòstic, pronòstic, predicció de resposta al tractament o identificació de potencials dianes de noves teràpies.

La tecnologia nCounter® Nanostring (a partir d'ara denominada tecnologia nCounter®) s'utilitza en el diagnòstic clínic i a la investigació. Aquesta tecnologia permet detectar ADN, ARN i proteïnes mitjançant la detecció molecular directa sense ampliació del material genètic. La tecnologia nCounter® es basa en la detecció digital d'un codi de barres molecular que està codificat per colors i que està lligat a una sonda especifica pel biomarcador d'interès. Aquests complexes específics que es formen, s'immobilitzen i s'orienten pel seu posterior escanejat, mitjançant un microscopi de florescència automàtic. Les anàlisis amb aquesta tecnologia permeten estudiar diferents vies de senyalització i un total de 800 gens, cada vegada amb més minoria de manipulació per part del tècnic i amb una obtenció més ràpida dels resultats.

Amb l'objectiu d'avaluar la tecnologia nCounter®, es va dur a terme una revisió sistemàtica de la literatura a la base de dades Pubmed, en el període temporal entre 2015 y març de 2021. La finalitat d'aquesta revisió sistemàtica va ser identificar els estudis de diagnòstic, pronòstic i tractament en pacients amb indicacions oncològiques i no oncològiques de qualsevol edat, en els que s'hagués comparat la tecnologia nCounter® amb altres tècniques existents (immunohistoquímica, FISH, RT-qPCR, RT-PCR, entre altres). Les variables de resultat, considerades i analitzades a la literatura inclosa, van ser en relació a la validesa i vigor diagnòstica de les mostres dels pacients, més concretament, la sensibilitat i especificitat, la concordança i la correlació entre la tecnologia nCounter® i el seu comparador corresponent. Els dissenys d'estudi que es van cercar van ser revisions sistemàtiques, assaigs clínics aleatoritzats, estudis observacionals (de proves diagnòstiques, entre altres) i avaluacions econòmiques.

Es van identificar un total de 316 estudis potencials, dels quals 29 van complir amb els criteris d'inclusió i van ser inclosos en aquest informe. 22 estudis dels 29 estaven relacionats amb indicacions oncològiques i els 7 restants estaven relacionats amb indicacions no oncològiques. Tots els estudis que es van trobar tenen un disseny observacional i analitzen la capacitat diagnòstica a nivell de validesa i vigor de la tecnologia nCounter® davant dels seus comparadors. No es van identificar estudis que haguessin realitzat anàlisis de cost-efectivitat d'aquesta tecnologia respecte els seus comparadors a la base de dades Pubmed.

Globalment, els resultats de la capacitat diagnòstica de la tecnologia nCounter® són equiparables i compten amb una alta sensibilitat/especificitat, correlació i concordança entre aquesta tècnica i els seus comparadors. Aquest fet, sumat a que aquesta tecnologia pot analitzar diferents tipus de materials, sigui més ràpida que altres tècniques quan s'analitzen diferents biomarcadors a la vegada, no necessiti d'ampliació de material genètic i es puguin crear panells específics pel diagnòstic, pronòstic o per afavorir el tractament mitjançant medicina personalitzada de precisió, es planteja com una tècnica alternativa viable a les tècniques habituals com ara FISH, immunohistoquímica, RT-qPCR o RT-PCR. Tanmateix, és important mencionar que molts dels estudis trobats a la revisió sistemàtica es van dur a terme a laboratoris d'investigació en els que s'utilitzaven mostres antigues de pacients ja diagnosticades. Tampoc es van trobar estudis en els que s'utilitzessin la tecnologia nCounter® i el seu comparador per poder avaluar tant l'eficiència com la utilitat clínica i els aspectes com el temps de realització de les tècniques respecte el cost, personal necessari per realitzar els assaigs i quantitat de biomarcadors que es poguessin analitzar, per tal de considerar el valor que pugui aportar al Sistema de Salut. És important destacar que, actualment, només existeix la marca CE i FDA per la prova diagnostica de Prosigna™, prova que es basa en la tecnologia nCounter® i que s'utilitza pel pronòstic del càncer de mama.

I. Datos generales

I.1. Compañía comercial o elaboradora del producto

NanoString Technologies (Seattle, Washington, U.S.A) es la compañía encargada del desarrollo y fabricación de la tecnología nCounter® Nanostring, tanto de la plataforma y el software como de los reactivos y sondas para su uso.

Nanostring Technologies recibió el marcado CE en 2012 y la aprobación de la "Food and Drug Administration" (FDA) estadounidense en 2013, por su ensayo pronóstico de firma genética para detectar el cáncer de mama llamado Prosigna™. Este ensayo se basa en la firma de expresión génica PAM50 ("Prediction Analysis of Microarray 50"), la cual mide los niveles de expresión génica de 50 genes relacionados con cáncer de mama (1). Prosigna™ utiliza la tecnología nCounter® Nanostring para estudiar el perfil de expresión génica del cáncer de mama y clasificarlo en cuatro subtipos moleculares pronósticos (luminal A, luminal B, HER2 enriquecido o de tipo basal), para así guiar al especialista sobre la decisión del tratamiento. También informa del riesgo de recurrencia (ROR) en función del subtipo molecular en el que se ha clasificado el tumor de mama, junto con las variables clínicas de interés de cada paciente (1).

I.2. Breve descripción de la tecnología evaluada

La tecnología nCounter® es una plataforma que permite analizar ARN, ADN o proteínas, permitiendo el estudio de biomarcadores relacionados con enfermedades. Realiza una detección molecular digital de forma directa, sin la necesidad de amplificación del material. La tecnología nCounter® ofrece una gran capacidad de multiplexado debido a las características de su funcionamiento, lo cual disminuye el número de reacciones necesarias. También es una técnica rápida que necesita poca manipulación por parte del investigador, características que permiten tener los resultados en un periodo de tiempo corto.

La tecnología nCounter® se caracteriza por un sistema de sonda dual, la cual está formada por una sonda de captura específica de la molécula diana y una sonda informadora, que contiene un código único de colores formado por seis unidades de fluorocromos, de cuatro colores diferentes (rojo, amarillo, azul y verde) (Figura 1). Este código de colores es un código de barras específico de una molécula única de interés que se puede contar individualmente sin la necesidad de amplificación, de manera que se logra medir la cantidad real de moléculas diana existentes en una muestra. El hecho que cada sonda informadora (con su código de barras único) se pueda unir únicamente a una molécula específica permite analizar múltiples moléculas diana en una sola reacción (1,2).

Figura 1. Estructura formada por la molécula diana, la sonda de captura (capture probe) y la sonda informadora (reporter probe) con el código de barras formado por fluorocromos.

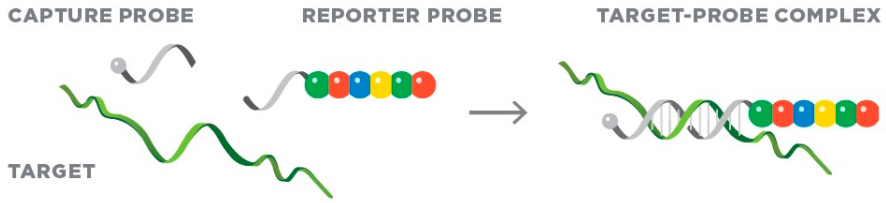


Imagen disponible en el sitio web SelectScience www.selectscience.net

Los ensayos mediante el uso de la tecnología nCounter® incluyen 3 pasos principales (Figura 2):

1) Hibridación: La muestra se mezcla con las diferentes sondas informadoras y de captura. Cada molécula diana se hibrida directamente con su sonda informadora correspondiente, que contie ne un código de barras único, y con la sonda captura, que permite que el complejo sonda-diana se inmovilice para su escaneo en pasos posteriores.
2) Purificación e inmovilización: Se elimina el exceso de sondas de captura y sondas informado ras mediante lavados. Los complejos sonda-diana se unen, inmovilizan y alinean mediante un campo eléctrico para facilitar el escaneo de los códigos de barras de colores.
3) Cuenteo y análisis: Se analizan y recopilan los datos. Cada código de barras codificado por co lores representa una única molécula diana. Los niveles de la molécula diana se miden contando el número de veces que se detecta el código de barras único.

Figura 2. Pasos principales durante los ensayos mediante la tecnología nCounter®. Imagen obtenida en la web de Nanostring (www.nanostring.com)

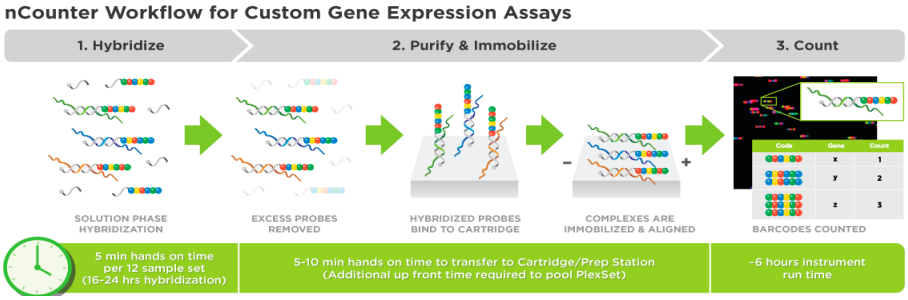


Imagen disponible en el sitio web Nanostring www.selectscience.net

Esta tecnología de códigos de barras del nCounter® puede hibridar directamente en muchos tipos diferentes de moléculas diana. Por ello, tiene un gran número de aplicaciones en diferentes ámbitos:

- Expresión génica:
  - Se pueden detectar tránscritos de expresión de ARN mensajero (ARNm), tanto a nivel de paneles pre-diseñados (placas específicas para detectar genes relacionados con cáncer, rutas inmunológicas, inflamatorias, neurodegenerativas, entre otros) como a través de la posibilidad de diseñar paneles personalizados para detectar las moléculas de interés.
- Se puede detectar niveles de micro ARN (miARN), tanto solo miARN como miARN y ARNm en una misma muestra.
  - Es posible detectar niveles de ARN no codificante (lncARN de sus siglas en inglés, “long non coding RNA”), cuyo panel puede combinarse con ARNm para un análisis simultáneo o para estudiar interacciones lncARN-proteínas.
- Detección de ADN:
  - Se pueden realizar análisis de variación de número de copias (CNV) y variación de un único nucleótido (SNV).
  - Nos permite realizar ChIP-String, que es el estudio de cómo el ADN interacciona con las proteínas para regular la expresión génica.
- Detección de proteínas: Se pueden realizar tanto ensayos de expresión de proteínas como detección de proteínas fosforiladas. También permite la cuantificación simultánea, en la misma muestra de proteínas y genes de expresión.

I.3. Población diana

Pacientes oncológicos y no oncológicos afectados por algún tipo de enfermedad en la que los biomarcadores sean necesarios para su diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Se analizarán estudios con muestras de pacientes de cualquier edad, aunque los resultados no se presentarán por separado.

I.4. Descripción de la patología a la que se aplica la tecnología

La detección de biomarcadores, mediante la tecnología nCounter®, es aplicable para cualquier enfermedad en la que los biomarcadores jueguen un papel importante en su diagnóstico in vitro, pronóstico y tratamiento. No obstante, actualmente se está utilizando mayoritariamente en pacientes con enfermedades oncológicas. A nivel oncológico, las enfermedades que se analizan en los estudios incluidos en este informe son las siguientes:

- Cáncer de mama
- Meduloblastoma
- Sarcoma
- Cáncer gástrico avanzado
- Cáncer de pulmón
- Leucemia mieloide aguda
- Leucemia linfoblástica aguda
- Leucemia linfoblástica de células B
- Glioma pediátrico de bajo grado
- Linfoma difuso de células B grandes
- Tumores sólidos
- Cáncer de colon
- Carcinoma de células escamosas en cuello y cabeza

Aunque las enfermedades oncológicas sean las que más se hayan analizado mediante la tecnología nCounter®, cualquier enfermedad cuyo diagnóstico o pronóstico (y posterior tratamiento) pueda determinarse mediante biomarcadores sería una enfermedad diana que podría analizarse mediante esta tecnología. En este informe, las siguientes patologías no oncológicas son objeto de estudio en los estudios encontrados:

- Infección respiratoria aguda pediátrica
- Interferonopatías
- Rechazo de aloinjerto
- Fibrosis quística
- Nódulos tiroideos indeterminados
- COVID-19

Así pues, el estudio de los biomarcadores genéticos, proteómicos o transcriptómicos mediante la tecnología nCounter® permite definir las firmas de las diferentes patologías. Estas firmas ayudan al diagnóstico o pronóstico de las enfermedades, basándose en su fenotipo molecular. Esto proporciona información que puede ser utilizada de forma traslacional en la práctica clínica, contribuyendo al diagnóstico temprano, a la prevención selectiva y al tratamiento de los pacientes. Este tipo de estudio también podría fomentar el estudio de tratamientos personalizados de los pacientes.

I.5. Área de especialización/abordaje

El uso de la tecnología del nCounter® para la detección de biomarcadores estaría indicado dentro de los laboratorios de diagnóstico in vitro de centros sanitarios y hospitales, abarcando tanto enfermedades oncológicas como no oncológicas. El hecho de que esta tecnología esté relacionada con pruebas genéticas, requeriría la implicación de los servicios de genética molecular, así como las unidades de consejo genético, entre otras. Esta tecnología también se utiliza en laboratorios de investigación.

I.6. Dirección web de documentos de referencia publicados

En relación a la tecnología nCounter®, todos los informes que se han encontrado son en relación al ensayo Prosigna™ para cáncer de mama. Es decir, no se ha identificado ningún informe sobre nCounter y sobre su uso en enfermedades oncológicas (no cáncer de mama mediante Prosigna™) y no oncológicas de las que se conoce su biomarcador o biomarcadores.

De los informes sobre el ensayo Prosigna™ en cáncer de mama, destacar el elaborado en el marco de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud (RedETS), ya que puede utilizarse como aproximación de la tecnología nCounter®. A continuación, se detalla la ficha bibliográfica y el enlace de este informe:

- Título: Plataformas genómicas de segunda generación para el pronóstico del cáncer de mama: EndoPredict® y Prosigna™. Revisión Sistemática.
- Autores: Carmen Beltrán Calvo, Rebeca Isabel Gómez, Isabel María Martínez Férez
- Año de publicación: 2015.
- Años de búsqueda de estudios: 1996 - Octubre 2014
- Agencia: AETSA (Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía)
- Web: https://redets.sanidad.gob.es/productos/buscarProductos.do?metodo=detalle&id=637

Se identificaron otros 4 informes referentes al ensayo Prosigna™ mediante la búsqueda de informes de evaluación completos en la página web de INAHTA (International Network of Agencies for Health Technology Assessment), que se describen a continuación:

- Gene Expression Profiling Tests for Early-Stage Invasive Breast Cancer: A Health Technology Assessment.
    - Año: 2020
    - Fuente: Ontario Health
    - Web: https://database.inahta.org/article/18821
    - ID de referencia INAHTA: 32018000396
- Tumour profiling tests to guide adjuvant chemotherapy decisions in early breast cancer: a systematic review and economic analysis.
    - Año: 2019
    - Fuente: NIHR Healt Hechnology Assesment programme
    - Web: https://database.inahta.org/article/18702
    - ID de referencia INAHTA: 32018000261
- Prosigna Gene Signature to Assess Expected Benefit from Chemotherapy in Breast Cancer. Assessment of manufacturer's submission.

- Año: 2019
- Fuente: Norwegian Institute of Public Health (NIPH)
- Web: https://database.inahta.org/article/19222
- ID de referencia INAHTA: 32018000779

- Report: the use of EndoPredict and Prosigna for early invasive breast cancer.

  - Año: 2018
  - Fuente: Institut national d'excellence en sante et en services sociaux (INESSS)
  - Web: https://database.inahta.org/article/19481
  - ID de referencia INAHTA: 32018000995

II. Desarrollo y uso de la tecnología

II.1. Grado de desarrollo y uso de la tecnología

La tecnología nCounter® está presente en laboratorios de investigación y en centros hospitalarios de todo el estado español, tal y como puede verse por la presencia de artículos publicados que utilizan esta tecnología. En el presente informe se ha contactado con Diagnóstica Longwood, empresa distribuidora de la tecnología nCounter® en España, que ha proporcionado datos sobre el uso de esta tecnología. En España, hay un total de 20 centros hospitalarios o centros de investigación que tienen la tecnología nCounter®. Su distribución según comunidades autónomas es la siguiente: 7 en Cataluña, 5 en Andalucía, 4 en Madrid, 1 en Valencia, 1 en Galícia, 1 en Aragón y 1 en Castilla León.

La tecnología nCounter® dispone de marcado CE (2012) y autorización por la FDA (2013), solo para la prueba para la detección de cáncer de mama (detección de 50 genes específicos-PAM50), cuyo nombre comercial es Prosigna™. Aunque en la página web de Prosigna™ se detallan los centros españoles que hacen uso de esta tecnología, esta información está desactualizada según la empresa Diagnóstica Longwood, empresa distribuidora de Nanostring Technologies en España.

II.2. Tipo y uso de la tecnología

La casa comercial Nanostring Technologies especifica en su manual de uso que la tecnología nCounter® está pensada para ser utilizada como diagnóstico in vitro (3). Se considera el diagnóstico in vitro como "toda técnica utilizada para realizar una determinada prueba diagnóstica en un tubo de ensayo o, en general, en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo" y se considera un producto sanitario de diagnostico in vitro a "cualquier producto sanitario que consista en un reactivo, producto reactivo, calibrador, material de control, kit, instrumento, aparato, pieza de equipo, programa informático o sistema, utilizado solo o en combinación, destinado por el fabricante a ser utilizado in vitro para el estudio de muestras procedentes del cuerpo humano, incluidas las donaciones y tejidos, única o principalmente con el fin de proporcionar información sobre los procesos fisiológicos o patológicos, deficiencias, predisposición a una dolencia, compatibilidad con receptores, predicción o supervisión de la respuesta a las medidas terapéuticas" (4).

La aplicación actual de la tecnología nCounter® es la identificación de biomarcadores específicos de ARN, ADN o proteína en enfermedades tanto oncológicas como no oncológicas, resaltando sobre todo las oncológicas. Esta tecnología se caracteriza por ser no invasiva y su misión principal es la de proporcionar información a los profesionales y a los pacientes sin causarle ningún riesgo al paciente. Su apoyo sería necesario para la mayor parte de los diagnósticos, pronósticos y tratamientos.

II.3. Lugar o ámbito de aplicación de la tecnología

Actualmente, en España, el uso de la tecnología nCounter® es apto para cualquier centro médico o centro hospitalario terciario que disponga de un laboratorio clínico y que tenga el equipamiento necesario para llevar a cabo dicha tecnología (véase el apartado "Requerimientos de infraestructura y formación"). Se utiliza principalmente en laboratorios clínicos, así como en laboratorios de investigación.

II.4. Relación con tecnologías previas

Actualmente, las cuatro técnicas que se utilizan ampliamente en el diagnóstico molecular in vitro mediante biomarcadores son el FISH (hibridación fluorescente in situ, de sus siglas en inglés), la IHC (inmunohistoquímica, de sus siglas en inglés), la RT-qPCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa seguida por una PCR a tiempo real o Real Time PCR) y la RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa seguida por una PCR convencional).

Hoy en día, la tecnología nCounter® se está utilizando mayoritariamente como una técnica complementaria a estas técnicas (entre otras, especificadas en el siguiente apartado). Sin embargo, el número de estudios que ya utilizan únicamente la tecnología nCounter® va en aumento, por lo que esta tecnología podría llegar a sustituir las técnicas actuales. Actualmente la tecnología nCounter® precisa de más estudios de validación antes de su aplicación clínica (5), y sería necesaria la obtención del marcado CE de los diferentes paneles de indicaciones oncológicas y no oncológicas antes de su uso.

II.5. Tecnología alternativa en uso actual

Como se ha comentado en el apartado anterior, el FISH, la IHC, la RT-qPCR y la RT-PCR son técnicas que se utilizan ampliamente en el diagnóstico molecular in vitro por su capacidad en la detección de biomarcadores. La literatura analizada durante este informe detectó 12 estudios que utilizan FISH como comparador de la tecnología nCounter®, 14 que utilizan IHC, 8 que utilizan RT-qPCR y 4 que usan RT-PCR, encontrándose casos en los que se utilizan varios comparadores en un mismo estudio.

Existen también microarrays de expresión que se utilizan para detectar la expresión del genoma, transcriptoma o exoma de miles de genes de forma simultánea. Durante la revisión de la literatura de este informe, se han encontrado tres estudios que utilizan el microarray Affymetrix GeneChip como comparador a la tecnología nCounter®. También se analizó un estudio cuyo comparador fue la plataforma FilmArray®, un panel específico para linfomas llamado FusionPlex y un estudio que utilizó RNA-seq como comparador.

A continuación, se describen cada una de las técnicas mencionadas:

FISH

La técnica de FISH ("Fluorescence in situ hybridization" o hibridación fluorescente in situ) consiste en la utilización de sondas de ADN marcadas con fluorescencia para marcar y visualizar la secuencia complementaria de este ADN en la muestra a analizar. Gracias a la hibridación de la sonda fluorescente con el ADN correspondiente de la muestra, se puede visibilizar, distinguir y estudiar las diferentes zonas cromosómicas de núcleos en metafase o interfase, así como anomalías que puedan tener (aneuploidías, microdelecciones, duplicaciones, inversiones, entre otros). Existen varios tipos de sondas según lo que se quiere detectar: sondas centroméricas (marcan toda la región del centrómero), sondas de pintado cromosómico (librería de sondas que abarcan todo el cromosoma) y las sondas de secuencia única (locus específico) que marcan regiones cromosómicas muy concretas.

La detección de las moléculas fluorescentes puede ser mediante un marcado directo (la sonda tiene el fluorocromo que será detectado al microscopio) o bien un marcado indirecto (la sonda no es fluorescente, pero se puede detectar con anticuerpos fluorescentes que se unirán a ella y amplificarán la señal fluorescente).

La técnica de FISH se realiza en 4 pasos: desnaturalización, hibridación, detección de la sonda y análisis (Figura 3). Durante la desnaturalización del ADN, se separa la doble cadena para facilitar el acceso de la sonda. El siguiente paso de hibridación consiste en añadir la sonda marcada con una molécula fluorescente para que hibride con las zonas específicas de interés del ADN desnaturalizado de la muestra. A continuación, se visualiza la muestra preparada bajo un microscopio de fluorescencia durante la fase de detección de la sonda. Por último, se analizan las muestras marcadas con la sonda fluorescente.

Figura 3. Representación de los pasos llevados a cabo durante la técnica de FISH. tring.com)

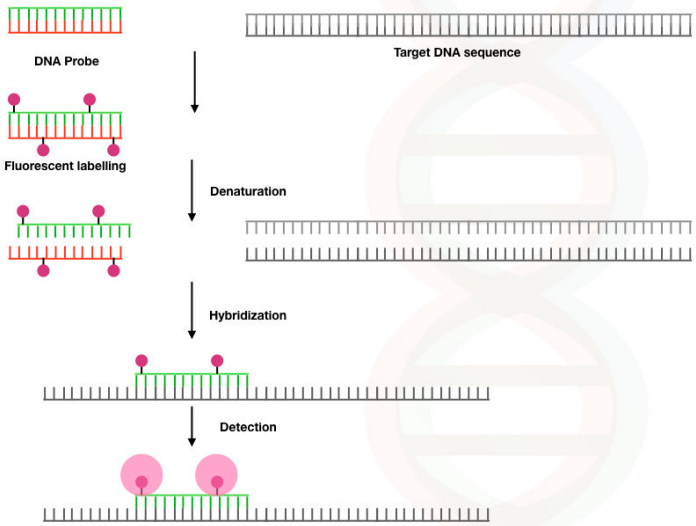


Imagen disponible en: Ratan ZA. Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. Cureus. 2017;9(6):e1325. DOI 10.7759/cureus.132
https://www.cureus.com/articles/7529-application-of-fluorescence-in-situ-hybridization-fish-technique-for-the-detection-of-genetic-aberration-in-medical-science

Se encontraron 11 estudios durante la realización de este informe en los que se utilizaba la técnica de FISH como comparador de la tecnología nCounter®.

IHC

La técnica de la IHC ("immunohistochemistry" o inmunohistoquímica) es una técnica que tiene por objetivo detectar y amplificar un antígeno específico, generalmente de una proteína, dentro de una muestra tisular o celular. Para conseguir este objetivo, se utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales específicos de la proteína que quiere detectarse. Estos anticuerpos se unen al antígeno de la proteína, creándose una unión antígeno-anticuerpo. Estos anticuerpos primarios pueden estar marcados directamente con enzimas o fluorocromos (método directo) o bien puede necesitarse un anticuerpo secundario marcado con enzimas o fluorocromos, que se una al anticuerpo primario (método indirecto) (Figura 4). El método indirecto es mucho más común ya que permite la amplificación de la señal y su mejor visualización, aunque puede aumentar el ruido de fondo que pueden generar los anticuerpos, empeorándose la calidad de la imagen y la interpretación de los resultados.

Figura 4. Representación del método de IHC directo vs indirecto.

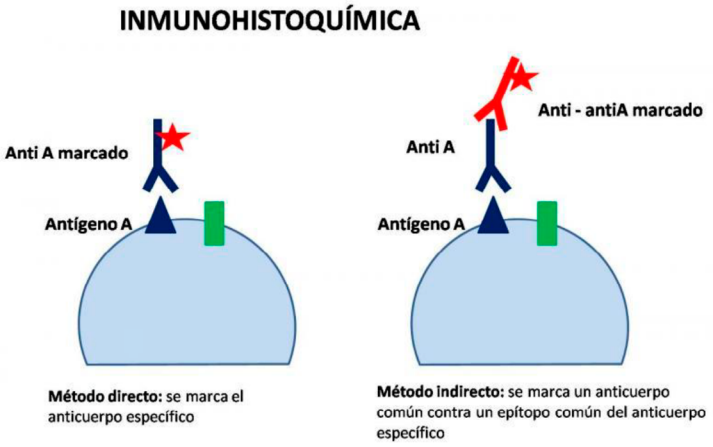


Imagen procedente de: Laboratorio de Inmunología Clínica. Inmunohistoquímia [Presentación]. Asuncion (Paraguay): Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Asunción (UNA)
https://inmunologiaclinicalabfcquna2016.files.wordpress.com/2016/05/inmunohistoquimica.pdf

En el caso que el anticuerpo esté conjugado con una enzima, debe procederse a la reacción enzimática que permitirá la visualización de la unión antígeno-anticuerpo. Se consigue un complejo sustrato-anticuerpos-enzima unido al lugar donde se encuentre el sustrato y, mediante la activación de la enzima con la adición de su sustrato, se genera un producto identificable donde se encuentre el complejo. En el caso que el anticuerpo esté conjugado a un fluorocromo, la IHC podrá analizarse mediante un microscopio de fluorescencia.

Durante la realización de este informe, se encontraron 10 estudios en los que se utilizaba la técnica de IHC como comparador de la tecnología nCounter®.

RT-qPCR

La RT-qPCR ("Real-time polymerase chain reaction", reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real o PCR a tiempo real) es una técnica comúnmente utilizada para medir la expresión génica. La característica principal de esta técnica es que el producto de la amplificación de la PCR se cuantifica de forma absoluta simultáneamente a su amplificación, es decir, los datos se van recopilando durante el proceso de la PCR y no sólo al finalizar. Así pues, cuanto mayor sea el número de copias de inicio del ADN objetivo, antes se observará un aumento significativo en la detección.

Los pasos a realizar durante la PCR a tiempo real pueden verse en la Figura 5. En resumen, el primer paso para la detección de la expresión génica es la conversión del ARN mensajero (ARNm) de cadena simple extraído del tejido o de las células a ADN complementario (ADNc). Este proceso es conocido como transcripción reversa. El ADNc que se genera se usará como molde durante la PCR a tiempo real. A este ADN molde se le añaden los reactivos para generar la reacción de PCR, entre los que hay una sustancia marcada con un fluoróforo que permitirá controlar y medir la tasa de generación de uno o más productos específicos en un termociclador provisto de sensores de fluorescencia. Los dos tipos de fluoróforos más utilizados son:

1. Fluoróforos inespecíficos (por ejemplo, el sistema SYBR Green): Este fluoróforo sólo se detecta cuando está unido a un ADN de doble cadena, como, por ejemplo, durante el producto de amplificación de una PCR.
2. Sondas gen-específicas (por ejemplo, el sistema Taqman): Estas sondas específicas de cada gen están unidas a dos fluoróforos, un reportero unido al extremo 5' y un apagador unido al extremo 3'. Si los dos fluoróforos están cerca, el reportero está apagado. En el caso de que haya amplificación del ADNc, los fluoróforos se separan y se observa la señal de fluorescencia.

Durante el proceso, se produce un anillamiento de la sonda al ADN, una amplificación del ADN, una des-

naturalización del ADN de doble creado durante esta amplificación y se vuelve a empezar el proceso con el anillamiento de la sonda al ADN. Tras una repetición de X veces de este proceso, se analiza el resultado de la amplificación.

Figura 5. Representación de la RT-qPCR.

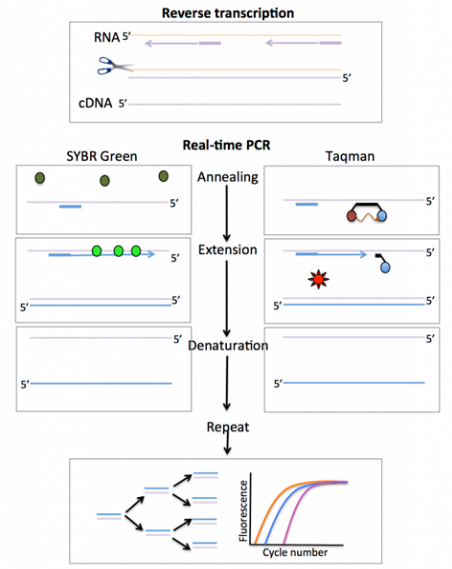


Imagen procedente de: EMBL-EBI. Real-time PCR. Hinxton (United Kingdom): European Molecular Biology Laboratory-European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI). https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/functional-genomics-ii-common-technologies-and-data-analysis-methods/real-time-pcr/

Durante la realización de este informe, se encontraron 8 estudios en los que se utilizaba la técnica RT-qPCR como comparador de la tecnología nCounter®.

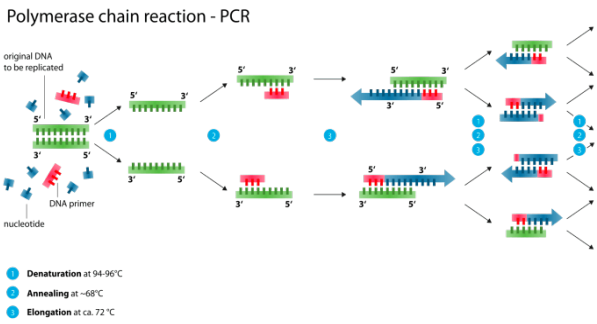
RT-PCR

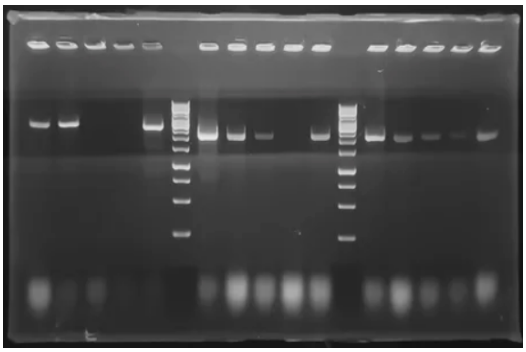
La RT-PCR (Retrotranscripción seguida por una PCR convencional) es una técnica comúnmente utilizada para analizar la expresión de genes. A diferencia de la RT-qPCR explicada en el apartado anterior (y su mayor diferencia), la amplificación de la PCR se cuantifica al finalizar la técnica, dificultando el análisis fino de cantidad de tránscritos diferencial entre genes. Este tipo de técnica se utiliza principalmente para comparar presencia o ausencia de un gen o genes.

La técnica de RT-PCR empieza con una retrotranscripción del ARNm a ADNc, de igual forma que se realiza en la RT-qPCR (ver apartado anterior "RT-qPCR"). No obstante, a continuación se lleva a cabo una PCR convencional, que finaliza con la visualización del ADN en un gel de agarosa (Figura 6). La PCR empieza con una separación de la doble hélice de ADN tras calentar el ADN a una temperatura de 95ºC, temperatura a la que se separan las dos cadenas (proceso de desnaturalización). A continuación, los cebadores se unen a los lugares específicos complementarios a las cadenas senzillas de ADN de la región que van a amplificar (proceso de alineamiento). Por último, se sintetiza una nueva cadena en sentido 5' a 3' a una temperatura de 72º, temperatura óptima para el funcionamento del ADN polimerasa (proceso de extensión del ADN). Este primer ciclo de la PCR se repite sucesivamente hasta un número determinado de ciclos y en cada nuevo ciclo se amplifica simultáneamente la región de interés de las dos cadenas complementarias. Los productos de ADN generados aumentan su concentración de forma exponencial ya que cada copia generada se utiliza de molde en los siguientes ciclos. Al finalizar todos los ciclos, la muestra de la PCR se corre en un gel de agarosa que contiene algun agente intercalante de ADN para su posterior visualización.

Imagen procedente de: Tankeshwar A. Polymerase Chain Reaction (PCR): Steps, Types, Applications. Microbe Online. Last updated on July 22nd, 2021.

Figura 6. Representación de la PCR





https://microbeonline.com/polymerase-chain-reaction-pcr-steps-types-applications/

Durante la realización de este informe, se encontraron 4 estudios en los que se utilizaba la técnica de RT-PCR como comparador de la tecnología nCounter®.

Microarray de expresión: Affymetrix GeneChip

Un microarray es una plataforma comúnmente utilizada para estudiar expresión génica. Es muy útil para estudios de expresión, mapeo de genes y cribado de mutaciones a gran escala, ya que se caracteriza por permitir el análisis de centenares de genes simultáneamente y así ofrecer una imagen clara de la expresión génica en toda la célula/tejido de estudio.

Se encontraron 3 estudios que utilizaron el microarray Affymetrix GeneChip como comparador, más concretamente el Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 GeneChip, el cual analiza la expresión génica de todo el genoma humano en cada muestra y en un único array. Es capaz de analizar la expresión relativa de más de 47.000 tránscritos y variantes génicas mediante 54.000 conjuntos de sondas y 1,3 millones de oligonucleótidos distintivos.

FilmArray®

El sistema FilmArray® es un sistema de PCR multiplex y cuantitativo que integra la preparación, amplificación, detección y análisis de las muestras. En este sistema se usan varios paneles de diagnóstico aprobados por la FDA y con el marcado CE. El sistema FilmArray® permite realizar pruebas simultáneas para bacterias, virus, levaduras, parásitos y/o genes de resistencia a antibióticos. Está diseñado para utilizarse con paneles que analizan los grupos de patógenos más comunes.

En el estudio incluido en este informe se utilizó concretamente el BioFire FilmArray® PCR System, el cual incluye ensayos de PCR para 4 genes estimulados por interferón.

FusionPlex (panel de linfoma)

Panel que permite detectar e identificar genes de fusión, mutaciones puntuales y niveles de expresión en 125 genes claves asociados a varios tipos de linfoma, mediante Anchored Multiplex PCR. El estudio se realiza a partir de ARN extraído de varios tipos de muestra de partida, incluyendo las FFPE ("formalin-fixed paraffin-embedded"). Permite la detección de SNVs, inserciones y delecciones y cualquier fusión génica que contenga al menos uno de los genes del panel. El análisis e interpretación de resultados se realiza en el software específico Archer Analysis.

Durante la realización de este informe, se encontró un único estudio en el que se utilizaba el panel de linfoma de FusionPlex como comparador de la tecnología nCounter®.

RNA-seq

La RNA-seq ("secuenciación del ARN") es una tecnología de secuenciación de nueva generación de alto rendimiento que cuantifica la presencia de ARN mensajero en una muestra biológica y que se utiliza habitualmente en estudios del transcriptoma celular. Concretamente, la RNA-seq permite evaluar los tránscritos resultantes del splicing alternativo, modificaciones post-transcripcionales, fusiones génicas, mutaciones, polimorfismos y cambios en niveles de expresión génica, entre otros. Tiene un ruido de fondo muy bajo y, este hecho, sumado a su amplio rango de detección, permite que sea factible detectar tránscritos muy poco abundantes dentro de las muestras. También se caracteriza por unos altos niveles de precisión y reproducibilidad de los resultados.

Durante la realización de este informe, se encontró un único estudio en el que se utilizaba el RNA-seq como comparador de la tecnología nCounter®.

II.6. Aportación de la nueva tecnología en relación a la tecnología en uso actual

Dado que la tecnología nCounter® muestra una sensibilidad, especificidad, concordancia y correlación equiparables a sus comparadores (véase el apartado "Resultados de los estudios incluidos"), el principal beneficio del uso de esta tecnología sería en relación a sus características organizativas, en especial, la potencial disminución del tiempo necesario para la detección de un alto número de biomarcadores (no aplicaría en el caso de enfermedades monogénicas). Serían necesarios estudios específicos sobre variables organizativas y técnicas, pero varios estudios incluidos en este informe reportaban experiencias de los investigadores que sugerían una disminución considerable del análisis de los biomarcadores (véase el apartado "Resultados sobre aspectos técnicos y organizativos").

II.7. Licencia, reintegro de gastos u otras autorizaciones

Según el manual de la tecnología nCounter®, esta tecnología está pensada para ser utilizada en diagnóstico in vitro. 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 Directiva 98/79/CE señala las normas 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. Ésta 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.

Como se ha descrito anteriormente, la prueba de Prosigna™ (PAM50) basada en la tecnología nCounter® se encuentra comercializada en Europa con la marca CE desde 2012 y tiene la aprobación de la FDA estadounidense desde 2013.

III. Importancia sanitaria de la condición clínica o la población a la que se aplica

III.1. Incidencia y prevalencia

Enfermedades oncológicas

Incidencia

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad del mundo. La International Agency for Research on Cancer estimó que en el año 2018 se diagnosticaron unos 18,1 millones de cánceres en el mundo. Esta agencia ha estimado que en el año 2020 se diagnosticaron aproximadamente 19,3 millones de casos nuevos en el mundo (últimos datos disponibles a nivel mundial estimados dentro del proyecto GLOBOCAN). Sin embargo, sabemos que la pandemia de la COVID-19 ha afectado el número de diagnósticos de cáncer en muchos países por lo que probablemente el número real de cánceres diagnosticados en 2020 habrá sido menor. Las estimaciones a nivel mundial indican también que el número de casos nuevos aumentará en las dos próximas décadas a 30,2 millones de casos nuevos al año en 2040 (6). Los tumores más frecuentemente diagnosticados en el mundo en el año 2020 fueron los de mama (que ocupa la primera posición), pulmón, colon y recto, próstata y estómago, todos ellos con más de un millón de casos (6).

En España, el cáncer es también una de las principales causas de morbi-mortalidad. El número de cánceres diagnosticados en España en el año 2021 se estima que alcanzará los 276.239 casos, según los cálculos de REDECAN, un número muy similar al del año 2020 (6). Sin embargo, igual que a nivel mundial, la realidad puede ser ligeramente diferente ya que esta estimación no incluye el posible efecto de la pandemia de la COVID-19. Por ejemplo, a causa de la pandemia de la COVID-19 los programas de cribado de cáncer se vieron afectados en mayor o menor grado por lo que, con toda probabilidad, el número de cánceres colorrectales y de mama finalmente diagnosticados en 2020 fue menor al esperado. Todavía no está claro cómo todo esto afectará al número de diagnósticos de cáncer del año 2021. Así pues, las estimaciones de incidencia deben entenderse como la incidencia que habría este año 2021 si no hubiera habido factores que hubieran alterado o todavía alteraran las posibilidades diagnósticas del sistema sanitario (6). Los cánceres más frecuentemente diagnosticados en España en 2021 serán los de colon y recto (43.581 nuevos casos), próstata (35.764), mama (33.375), pulmón (29.549) y vejiga urinaria (20.613). A mucha distancia, los siguientes cánceres más frecuentes serán los linfomas no hodgkinianos (9.055), y los cánceres de cavidad oral y faringe (8.188), páncreas (8.697), estómago (7.313), riñón (7.180), cuerpo uterino (6.923) e hígado (6.590) (6).

Prevalencia

En términos de prevalencia a nivel mundial (5 años, ambos sexos y todas las edades), los datos del "Global Cancer Observatory" (https://gco.iarc.fr/today/home) muestran unos mayores resultados de casos de prevalencia en China (9.294.006 casos), seguida de Estados Unidos (8.432.938 casos), India (2.720.251 casos), Japón (2.710.728 casos) y Alemania (2.188.176 casos). En España, la prevalencia es de 858.220 casos a los 5 años.

Los tumores más prevalentes en la población general española para el año 2018 (prevalencia a los 5 años, ambos sexos, todas las edades) fueron el cáncer de mama (129,928 casos), próstata (106,941), colorectal (105,714), vejiga (59,019), pulmón (28,833), útero (25,723), linfoma no-Hodgkin (23,098), riñón (21,584), tiroides (19,130) y melanoma (18,181) (7).

Enfermedades no oncológicas

A continuación, se describe brevemente la incidencia y prevalencia de las enfermedades no oncológicas referidas anteriormente (infección respiratoria aguda pediátrica, interferonopatías, rechazo de aloinjerto, fibrosis quística, nódulos tiroideos indeterminados, COVID-19).

Según la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), aproximadamente una de cada cuatro consultas de la población infantil en Atención Primaria está relacionada con síntomas respiratorios. Durante el primer año de vida, las infecciones del tracto inferior y la bronquiolitis son las más prevalentes siendo el VRS (virus respiratorio sincitial) el agente causal más frecuente de bronquiolitis. El aumento de supervivencia en niños prematuros y en enfermedades que anteriormente causaban una muerte temprana, hace que exista una mayor población susceptible de infecciones respiratorias. Segun el Sistema de Vigilancia de la gripe en España (SVGE), la tasa de incidencia global de gripe notificada superó el umbral basal (52,6 casos por 100.000 habitantes) en la semana 1/2020 (del 30 de diciembre de 2019 al 5 de enero de 2020), alcanzándose el pico máximo de incidencia de gripe en la semana 5/2020 (del 27 de enero al 2 de febrero de 2020) con 270,3 casos por 100.000 habitantes (8). Las tasas de incidencia de gripe tomaron de nuevo valores pre-epidémicos a partir de la semana 11/2020, tal y como puede observarse en la Figura 7.

Figura 7. Tasa de incidencia semanal de gripe y número de detecciones virales. Temporada 2019-2020 (8).

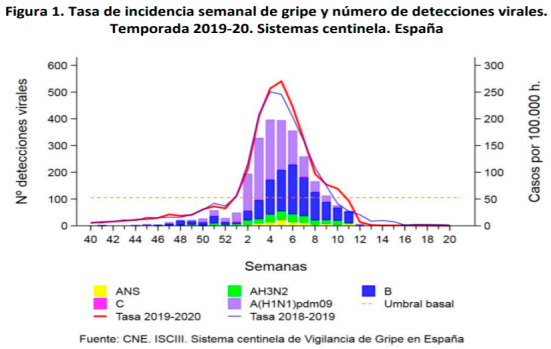


Imagen procedente de: Centro Nacional de Epidemiología (CNE). Informe de Vigilancia de la Gripe en España. Temporada 2019-2020 (Desde la semana 40/2019 hasta la semana 20/2020). Madrid: Instituto de Salud Carlos III.

https://vgripe.isciii.es/documentos/20192020/InformesAnuales/Informe_Vigilancia_GRIPE_2019-2020_03092020.pdf

Las interferonopatías son un grupo de enfermedades raras (aproximadamente 13 entidades) que se agrupan en la categoría de interferonopatía tipo I (enfermedades reumatológicas raras). Según Orphanet (https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Classif.php?lng=EN&data_id=156&PatId=25134&search=Disease_Classif_Simple&new=1), se estima por cada entidad una prevalencia inferior a los 5 casos por cada 10.000 habitantes.

Por lo que se refiere al rechazo de aloinjerto, todas las personas que han sido sometidas a un transplante presentan riesgo de rechazo. En el caso del trasplante renal, el trasplante de órgano más frecuente con 2700 trasplantes en 2020, la incidencia de rechazo agudo se estima entre un 1 y un 21% y, al cabo de un año, puede ser entre el 3 y el 12 % (9).

En cuanto a la fibrosis quística, es una enfermedad autosómica recesiva que afecta 1 caso por cada 3000-8000 nacidos vivos (10).

Se estima que la incidencia de nódulos tiroideos aumenta con la edad, con una frecuencia de diagnóstico por palpación en consulta entre el 4-8%, aumentando hasta el 20-67% con el uso de técnicas ecográficas. Se ha estimado que el riesgo de desarrollar un nódulo tiroideo a lo largo de la vida es del 15% (11).

En cuanto a la enfermedad producida por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19), hay un total de 264 millones de casos en todo el mundo y 5,17 millones a nivel de España a fecha de diciembre de 2021 (12).

III.2. Carga de la enfermedad

Enfermedades oncológicas

Según los últimos datos del "Global Cancer Observatory" (https://gco.iarc.fr/today/home), el cáncer es una de las causas principales de muerte en todo el mundo con casi 10 millones de fallecimientos en 2020.

A nivel mundial, el cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de mortalidad del mundo, con aproximadamente 9,9 millones de muertes relacionadas con cáncer en el año 2020, de acuerdo con los datos proporcionados por la International Agency for Research on Cancer (IARC). Igual que pasa con la incidencia, la estimación de la mortalidad por cáncer a nivel mundial de la IARC tendrá errores debido a la pandemia de la Covid-19. Así pues, estas estimaciones de la mortalidad deben entenderse como la mortalidad que se estima que habría habido en 2020 si no hubiera habido la pandemia de la COVID-19 (6).

Al igual que con la incidencia, se espera un incremento de la mortalidad en los próximos años, estimándose en más de 16 millones en 2040. En España, se estima que la mortalidad por cáncer se incrementará de 113.000 casos en 2020 a más de 160.000 en 2040 (6).

Globalmente, la supervivencia neta a 5 años del diagnóstico de los pacientes diagnosticados en el periodo 2008-2013 en España, fue de 55,3% en los hombres y de 61,7% en las mujeres. Estas diferencias en la supervivencia global entre sexos se deben probablemente a que determinados tumores son más frecuentes en un sexo que en otro, ya que las diferencias más importantes en supervivencia se deben al tipo tumoral (junto con el estadio al diagnóstico) (6). La supervivencia de los pacientes con cáncer de España es similar a la de los países de nuestro entorno. Se estima que se ha duplicado en los últimos 40 años y es probable que, aunque lentamente, continúe aumentando en los próximos años (6).

Las enfermedades oncológicas tienen un gran impacto económico y social, siendo una de las causas principales de ingreso hospitalario. El cáncer genera una alta carga de incapacidad temporal y permanente, estimándose unos costes totales anuales de más de 7.000 millones € en 2019, lo que supone el 10% del gasto sanitario español o lo que es lo mismo el 0.66% del PIB. Los costes directos suman un total de 4.818 millones € (según datos de 2015); de los cuales 2.797 millones € corresponden a gastos hospitalarios; 1.717 millones € a fármacos antineoplásicos; y 304 millones € a la asistencia primaria. En referencia a los costes indirectos, su valoración alcanzó los 639 millones € (13).

Enfermedades no oncológicas

Las infecciones del tracto respiratorio inferior son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Según un estudio realizado en 2016 sobre la carga mundial de estas enfermedades en 195 países, hubo cerca de 2,38 millones de muertes por enfermedades relacionadas con las vías respiratorias inferiores, lo que convierte a esta patología en la sexta causa principal de mortalidad para todas las edades y la principal causa de muerte entre los niños menores de 5 años (14).

No se ha encontrado información sobre la carga de la enfermedad de las interferonopatías.

En relación al rechazo de aloinjerto, y más concretamente en el caso del transplante renal, la supervivencia del paciente después del rechazo es <40% en los pacientes que sobreviven 10 años después del reinicio de la diálisis. Las enfermedades cardiovasculares son la causa más importante de muerte en los pacientes que regresan a la diálisis después del rechazo del aloinjerto (aproximadamente un 36%), pero las muertes por sepsis son más comunes durante este período que durante cualquier otro intervalo (17%) (15).

La enfermedad pulmonar con bronquiectasia progresiva y supuración de las vías respiratorias sigue siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística (16). En un estudio que analizó la mortalidad poblacional atribuida a la fibrosis quística durante 36 años en España, datos que se obtuvieron del Instituto Nacional de Estadística, se identificaron un total de 1002 muertes en las que la fibrosis quística se citó como la causa principal de la muerte entre 1981 y 2016 en España (17). Las tasas de mortalidad ajustadas por edad disminuyeron un -0,95% por año entre 1981 y 2016. La edad promedio de muerte por FQ aumentó debido a la caída anual de la mortalidad de los menores de 25 años (-3,77% hombres, -2,37% mujeres) y un aumento en mayores de 75 años (3,49%) (17).

En los últimos años, las pruebas moleculares mediante aspiraciones con agujas finas han cambiado la forma

de gestionar los nódulos tiroideos con citología indeterminada. Un patrón benigno en las pruebas moleculares disminuye significativamente el riesgo de malignidad en nódulos tiroideos indeterminados. A nivel de nódulos tiroideos malignos, la tasa de mortalidad por cáncer de tiroides es de 0,2 por 100.000 en hombres y de 0,52 por 100.000 en mujeres (18). No se ha encontrado información específica sobre la mortalidad en relación a los nódulos tiroideos indeterminados.

A nivel de Covid-19, ha habido un total de 5,22 millones de muertes en todo el mundo y 88.080 en España, a fecha de diciembre de 2021 (12).

IV. Requerimientos para usar la tecnología

IV.1. Requerimientos de infraestructura y formación

El uso de la tecnología nCounter® requiere unos conocimien¬tos especializados y experiencia en el campo de la biología molecular y celular. También es necesaria una formación previa del personal en la utilización de la propia tecnología. Es por esta razón que, según el manual de la tecnología nCounter®(3), debe ser únicamente utilizado por profesionales que estén adecuadamente formados.

Para llevar a cabo un análisis mediante la tecnología nCounter® se necesita:

- Analizador digital: Instrumento de adquisición de los datos, el cual está totalmente automatizado. Necesidad de obtención, tanto del instrumento como del software.
- Estación de preparación de muestras: Instrumento de procesamiento de muestras, totalmente automatizado. Necesidad de obtención, tanto del instrumento como del software.
- Cajas de reactivos y consumibles: Contienen todo el material necesario para llevar a cabo los ensayos.
- Códigos de barras moleculares específicos de cada gen a analizar y códigos de barras de los controles.

IV.2. Coste y precio unitario

Se han obtenido los costes de la tecnología nCounter® mediante la empresa Diagnostica Longwood, distribuidora de Nanostring en España a mes de noviembre de 2021. La información sobre los costes detallados de los diferentes paneles y otros reactivos está disponible en AQuAS bajo petición.

En relación al equipo nCounter® (tanto el analizador digital como la estación de preparación de muestras), con un año de garantía del fabricante, los costes son:

- nCounter® MAX (sólo para investigación): 405.400€
- nCounter® FLEX (investigación, pero con posibilidad de activarlo para uso diagnóstico): 425.800€

Los paneles de expresión génica para detectar las diferentes indicaciones tienen un coste entre 3.000 y 7.000€ cada 12 muestras. Existe un panel de ADN para detectar 87 genes relacionados con cáncer (amplificados o deleccionados en procesos tumorales) y tiene un coste de 2784,15€ cada 12 muestras.

A nivel de aplicaciones personalizadas para detectar ADN:

- Las sondas con los códigos de barras personalizados para detectar CNVs (Copy Number Variations), tienen un coste de 140€ por sonda (con un pedido mínimo de 50 sondas) para 48 muestras. Estos costes por sonda disminuyen según se compran sondas para analizar un número mayor de muestras, llegando hasta un precio de 1.162€ por sonda para 2.304 muestras.
- Las sondas personalizadas para analizar ChIP-String detectan cadenas dobles de ADN enriquecidas mediante la técnica de ChIP (Chromatin Immunoprecipitation). Estas sondas tienen el mismo coste que las sondas personalizadas para detectar CNVs.

V. Evidencia sobre la aplicación de la tecnología

Para el presente informe se ha realizado una revisión sistemática de la literatura acerca de la tecnología nCounter® con la indicación de método de detección de biomarcadores con finalidades diagnósticas, pronósticas y predictivas (en relación al tratamiento) de enfermedades oncológicas como no oncológicas. Los comparadores han sido las tecnologías existentes descritas anteriormente que tuvieran por objetivo la detección de biomarcadores. No se incluyeron los estudios sobre el test genético Prosigna™.

La estrategia de búsqueda aplicada se llevó a cabo en Pubmed y abarcó el periodo temporal entre 2015 y 2021. Para más detalle sobre la estrategia de búsqueda, véase el Anexo 1. Dicha búsqueda identificó un total de 316 estudios únicos que fueron evaluados mediante la lectura por pares del título y resumen por parte de dos revisores de forma independiente, siguiendo los criterios de inclusión y exclusión detallados en el Anexo 2. De los 316 estudios únicos, 44 se consideraron potenciales inclusiones, los cuales se procedió a revisar a texto completo.

V.1. Descripción de los estudios incluidos

Finalmente, 29 estudios cumplieron los criterios de inclusión y son los que se evalúan en este informe. El diagrama de flujo de la selección de los estudios puede verse en el Anexo 3.

Veintidós de los 29 estudios incluidos están relacionados con algún tipo de enfermedad oncológica: estudios de cáncer de mama (19–23), meduloblastomas (24,25), sarcomas (26,27), cáncer gástrico avanzado (28,29), cáncer de pulmón (30–32), leucemia mieloide aguda (33,34) y leucemia linfoblástica aguda (33), leucemia linfoblástica de células B (35), glioma pediátrico de bajo grado (36), linfoma difuso de células B grandes (37), tumores sólidos (38), cáncer de colon (39) y carcinoma de células escamosas en cuello y cabeza (40). Los otros 7 estudios restantes están relacionados con enfermedades no oncológicas diversas: infección respiratoria aguda pediátrica (41,42), interferonopatías (43), rechazo de aloinjerto (44), fibrosis quística (45), nódulos tiroideos indeterminados (46) y COVID-19 (47).

Veinticinco de los 29 estudios incluidos son en población adulta, 4 estudios en población infantil (35,36,41,42) y 2 utilizan muestras tanto de población adulta como infantil (24,47).

En relación a los comparadores de la tecnología nCounter®, son los siguientes (en algunos casos, se pueden llegar a utilizar varios comparadores en el mismo estudio):

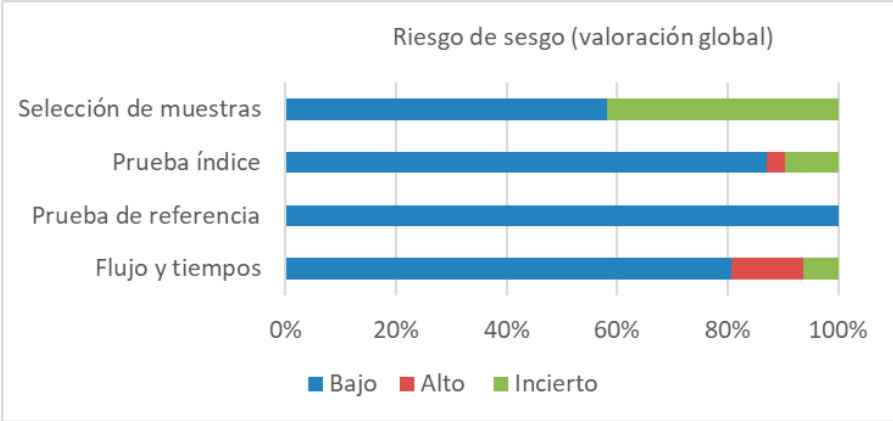
- FISH: 11 estudios (19,21,38,25,26,28,30–33,36)
- IHC: 10 estudios (21–26,28–30,32)
- RT-qPCR: 8 estudios (21,34,40–44,46)
- RT-PCR: 4 estudios (26,27,32,35)
- Microarray de expresión Affymetrix GeneChip: 3 estudios (20,39,40)
- FilmArray®: 1 estudio (47)
- FusionPlex: 1 estudio (37)
- RNA-seq: 1 estudio (45)

Los estudios encontrados hacen referencia al diagnóstico de las enfermedades anteriormente descritas.

V.2. Calidad de los estudios incluidos

Los estudios incluidos en el presente informe presentan datos de sensibilidad/especificidad, correlación y concordancia sobre el diagnóstico de diversas enfermedades (oncológicas y no oncológicas) mediante la tecnología nCounter®. Con el fin de evaluar la calidad metodológica de estos estudios, se utilizó la herramienta QUADAS-2 (48), mediante la cual se analizaron una serie de preguntas en referencia al riesgo de sesgo y la aplicabilidad (Anexo 4). Sus resultados se presentan a continuación.

En relación a la valoración global de la calidad metodológica de los estudios incluidos, los resultados se muestran en la Figura 8. Cabe destacar que un 41,4% de los estudios tienen riesgo de sesgo incierto en referencia a la selección de muestras (20,22,46,47,26,27,31,34,38,39,41,44). Esto es debido principalmente a la falta de información sobre cómo se seleccionan las muestras y si se evitaron exclusiones inapropiadas, ya que las muestras provienen de archivos de los hospitales (bases de muestras). Referente a la prueba índice, un 6,9% de los estudios tuvieron un riesgo de sesgo incierto (30,44) y un 3,4%, un riesgo de sesgo alto (26), éste último debido a que se conocían los resultados del comparador al analizar los resultados con la tecnología nCounter®. A nivel de prueba de referencia, el 100% de los estudios mostraron riesgo de sesgo bajo. Por último, en relación al riesgo de sesgo debido al flujo y tiempos, se valoró con un riesgo de sesgo alto el 13,8% de los estudios (23,26,30,44) y un 6,9% con sesgo incierto (19,47). Los motivos de estos riesgos se relacionaban con el hecho de no haberse realizado la intervención en el mismo intervalo que el comparador (es decir, desconocer este dato) o bien por no aplicarse el mismo comparador en todas las muestras. En referencia a la preocupación sobre la aplicabilidad, todos los estudios mostraron un riesgo bajo.



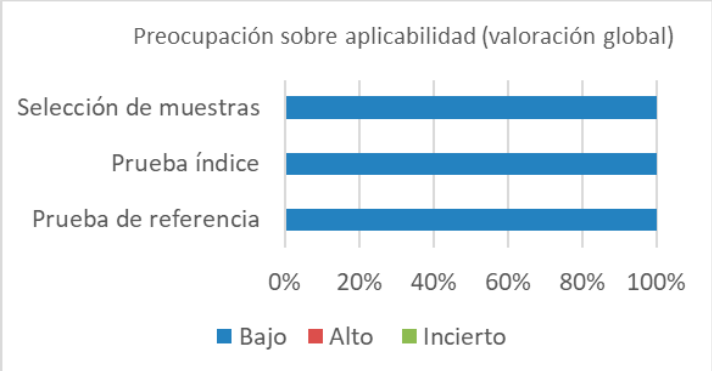


Figura 8. Resultados de la evaluación de la calidad de los estudios (riesgo de sesgo y aplicabilidad) que han analizado la sensibilidad/especificidad, concordancia y la correlación de la tecnología nCounter® como prueba para detectar enfermedades oncológicas y no oncológicas.

En relación a la valoración por indicación (grupos de patología: oncológica vs no oncológica) de la calidad metodológica de los estudios incluidos, los resultados se muestran en la figura 9 (enfermedades oncológicas) y en la figura 10 (enfermedades no oncológicas).

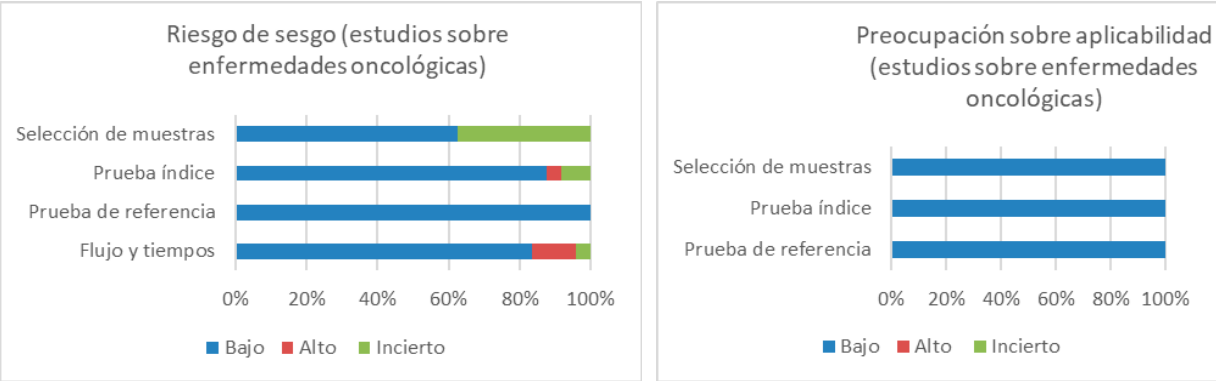


Figura 9. Resultados de la evaluación de la calidad de los estudios (riesgo de sesgo y aplicabilidad) que han analizado la sensibilidad/especificidad, concordancia y la correlación de la tecnología nCounter® como prueba para detectar enfermedades oncológicas.

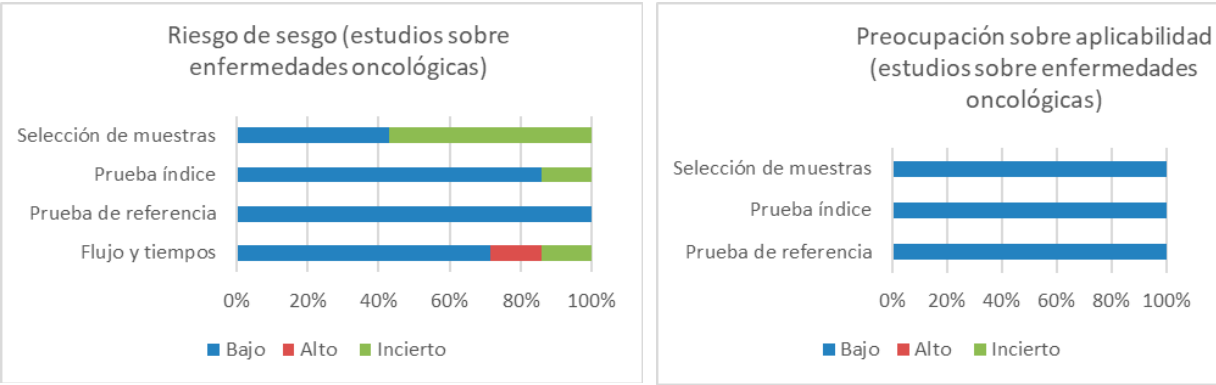


Figura 10. Resultados de la evaluación de la calidad de los estudios (riesgo de sesgo y aplicabilidad) que han analizado la sensibilidad/especificidad, concordancia y la correlación de la tecnología nCounter® como prueba para detectar enfermedades no oncológicas.

V.3. Resultados de los estudios incluidos

V.3.1. Resultados sobre seguridad

No se ha encontrado ningún estudio sobre la seguridad relacionada con el uso de la tecnología nCounter® para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de pacientes oncológicos y no oncológicos de cualquier edad.

V.3.2. Resultados sobre capacidad diagnóstica

En los estudios que cumplieron los criterios de inclusión de este informe, se reportaron datos relacionados con la capacidad diagnóstica de la tecnología nCounter® en comparación con otras técnicas (IHC, FISH, RT-qPCR, RT-PCR, Affymetrix GeneChip, FimArray®, FusionPlex y RNA-seq) para detectar biomarcadores moleculares. Las variables de resultado analizadas son sensibilidad/especificidad, concordancia y correlación. Estas variables fueron selecionadas en este informe por la autora EG. Estos resultados se obtuvieron de muestras de pacientes, la gran mayoría ya estaban diagnosticados previamente.

Los resultados de los diferentes estudios se han estructurado según enfermedades oncológicas y no oncológicas. Las tablas de evidencia de los estudios pueden verse en el Anexo 5, tablas 5.1 (oncológicas) y 5.2 (no oncológicas). A continuación, los resultados están estructurados según variables de resultado y según las diferentes indicaciones específicas. Por último, si hay estudios con las mismas indicaciones específicas, están separados según comparador.

Resultados para enfermedades oncológicas

Las variables de resultado analizadas en estos estudios fueron la sensibilidad/especificidad, la concordancia y la correlación entre la tecnología nCounter® y sus comparadores correspondientes (IHC, FISH, RT-qPCR, RT-PCR, Affymetrix GeneChip y FusionPlex). Se encontraron un total de 22 estudios.

Sensibilidad/especificidad

Número de estudios incluidos:
Se encontraron un total de 10 estudios en los que reportaran variables de resultado referentes a sensibilidad y especificidad (19,24,26,28,29,32–36).
Tipo de cáncer:
Los tipos de cáncer analizados fueron cáncer de mama (9,1%), meduloblastoma (9,1%), leucemia linfoblástica de células B (9,1%), sarcoma (9,1%), cáncer de pulmón avanzado de células pequeñas (9,1%), glioma pediátrico de bajo grado (9,1%), cáncer gástrico avanzado (18,2%), leucemia mieloide aguda (18,2%) y leucemia linfoblástica aguda (9,1%).
Tipo de muestra:
Las muestras analizadas fueron mayoritariamente FFPE ("formalin-fixed paraffin-embedded", muestras fijadas con formalina e incluidas posteriormente en parafina) (en 8 de los 11 estudios), aspirado de médula ósea (en 2 de los 11 estudios), muestras de sangre periférica (en 1 de los 11 estudios) y muestras frescas y congeladas del tumor (en 1 de los 11 estudios).
Comparador:
A nivel de comparador, en 5 estudios utilizaron IHC, en 6 estudios utilizaron FISH, en 1 usaron RT-qPCR y en 3 estudios utilizaron RT-PCR.
Resultados:
Los resultados de los 10 estudios pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.1. En resumen, se muestran un total de 21 porcentajes de sensibilidad y especificidad reportados en los estudios en los que se usaron IHC, FISH, RT-qPCR y RT-PCR como comparadores. A nivel de sensibilidad, 12 estudios (57,1%) mostraron valores de sensibilidad entre 90-100%, 6 resultados estuvieron entre el 70-90% (28,6%) y 3 resultados (14,3%) por debajo del 70%. A nivel de especificidad, 15 resultados (71,4%) obtuvieron valores entre 90 y 100%, 6 resultados (28,6%) estuvieron por encima de 70%, aunque por debajo de 90%, y ningun estudio mostró resultados por debajo del 70%. En estos estudios se concluye que la tecnología nCounter® es una prueba válida y robusta, con mayoritariamente valores altos de sensibilidad y especificidad, valores esperables para una prueba diagnóstica.

Concordancia

Número de estudios incluidos:
Un total de 12 estudios mostraron resultados sobre concordancia (20,21,37,38,25,27–32,34).
Tipo de cáncer:
Los tipos de cáncer estudiados fueron cáncer de mama (16,6%), cáncer de pulmón (25%), cáncer gástrico avanzado (16,6%), linfoma difuso de células B grandes (8,3%), tumores sólidos (8,3%), meduloblastoma (8,3%), sarcoma (8,3%) y leucemia mieloide aguda (8,3%).
Tipo de muestra:
Las muestras utilizadas en estos estudios fueron mayoritariamente FFPE (en 11 de los 12 estudios), muestras frescas y congeladas del tumor (en 2 de los 12 estudios) y muestras de médula ósea (en 1 de los 12 estudios).
Comparador:
Referente al comparador, en 6 estudios utilizaron IHC, en 6 estudios utilizaron FISH, en 2 estudios utilizaron

RT-qPCR, en 2 estudios utilizaron RT-PCR, en un estudio usaron el panel de linfoma FusionPlex y en un estudio Affymetrix GeneChip.

Resultados:

Los resultados de los 12 estudios pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.1. En resumen, se muestran un total de 23 porcentajes de concordancia, los cuales pueden dividirse en 10 resultados (43,5%) entre 90-100%, 9 resultados (39,1%) entre 80-90% y 3 (13,04%) por debajo del 80%. Globalmente, se puede observar una alta concordancia entre los resultados obtenidos por la tecnología nCounter® y el comparador utilizado en cada estudio.

Correlación

Número de estudios incluidos:

Durante la búsqueda bibliográfica, se localizaron 4 estudios que reportaron información sobre la correlación entre la tecnología nCounter® y su comparador (22,23,39,40).

Tipo de cáncer:

Estos 4 estudios analizaban muestras de cáncer de mama (50%), cáncer de colon (25%) y carcinoma de células escamosas en cuello y cabeza (25%).

Tipo de muestra:

Las muestras más utilizadas fueron FFPE (en 3 de los 4 estudios), aunque también se analizaron muestras de aspiración con aguja fina (en 1 de los 4 estudios) y muestras frescas y congeladas de tumores de colon (en 1 de los 4 estudios).

Comparador:

En referencia al comparador, se utilizaron IHC en 2 estudios, Affymetrix GeneChip en 2 estudios y RT-qPCR en 1 estudio.

Resultados:

Los resultados de los 4 estudios pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.1. En resumen, los 8 resultados reportados fueron descritos mediante el coeficiente de correlación de Spearman. En uno de los estudios, el valor de correlación osciló entre 0,69 y 0,88 según el gen analizado. En 3 resultados, el valor de la correlación estuvo por encima del 0,82 y en el resto estuvo por debajo de este valor y por encima del 0,465. En todos los casos, la correlación fue positiva, mostrándose correlaciones consideradas entre moderadas y altas.

Resultados para enfermedades no oncológicas

Las variables de resultado analizadas en estos estudios fueron la sensibilidad/especificidad, la concordancia y la correlación entre la tecnología nCounter® y sus comparadores correspondientes (RT-PCR, la plataforma FilmArray® y RNA-seq). Se encontraron un total de 7 estudios.

Sensibilidad/especificidad

Número de estudios incluidos:
Se encontró un único estudio en el que reportaran resultados referentes a sensibilidad y especificidad (41).
Tipo de enfermedades:
Se estudiaron infecciones respiratorias agudas pediátricas.
Tipo de muestra:
Las muestras que utilizaron fueron aspirados nasofaríngeos.
Comparador:
Utilizaron la RT-qPCR como comparador de la tecnología nCounter®.
Resultados:
Los resultados obtenidos pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.2. Mostraron unos valores de sensibilidad entre 74,3% y 77,6% y unos valores de especificidad entre 97,8% y 98,4%, al analizar genes relacionados con virus sincitiales respiratorios, reportándose una buena especificidad y una sensibilidad aceptable al comparar la tecnología nCounter® con el RT-qPCR.

Concordancia

Número de estudios:
Durante la búsqueda bibliográfica, se encontraron un total de 3 estudios en los que se mostraron resultados referentes a concordancia (41,42,46).
Tipo de enfermedades:
Dos de estos estudios analizaban infecciones respiratorias agudas pediátricas (66,6%). El tercer estudio evaluó nódulos tiroideos indeterminados (33,3%).
Tipo de muestra:
En los estudios sobre infecciones respiratorias, se utilizaron muestras de aspirados narofaríngeos. En el estudio sobre nódulos tiroideos indeterminados se utilizaron muestras de FFPE.
Comparador:
En los 3 estudios, el comparador que se utilizó fue la RT-qPCR.
Resultados:
Los resultados de los 3 estudios pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.2. En resumen, se muestran un total de 5 resultados referentes a la concordancia, 4 de ellos expresados en porcentajes de concordancia y uno con valores calculados mediante coeficiente kappa de Cohen. A nivel de porcentaje de concordancia, todos los resultados mostraron valores entre 86,2% y 96,9%, mostrando que la tecnología nCounter® es precisa y robusta al comparar con la técnica de RT-qPCR. En el caso del estudio en el que evaluaron la concordancia mediante coeficiente kappa de Cohen (en el que también se tiene en cuenta el acuerdo que ocurre por azar), se obtuvo un valor del coeficiente de 0,56, valor que muestra una concordancia moderada.

Correlación

Número de estudios:
Un total de 5 estudios mostraron resultados sobre coeficientes de correlación (41,43–45,47).
Tipo de enfermedades:
Estos 5 estudios analizaban muestras de Covid-19, infección respiratoria aguda pediátrica, interferonopatías, rechazo de un aloinjerto mediado por anticuerpos y fibrosis quística (muestras respiratorias).

Tipo de muestra:
Las muestras utilizadas en estos estudios fueron dispares, utilizándose muestras de suero/plasma (en 1 de los 5 estudios), aspirados nasofaríngeos (en 1 de los 5 estudios), sangre total (en 1 de los 5 estudios), FFPE (en 1 de los 5 estudios) y muestras de esputos (en 1 de los 5 estudios).
Comparador:
En referencia al comparador, se utilizaron RT-qPCR en 3 estudios, la plataforma FilmArray® en 1 estudio y RNA-seq en 1 estudio.
Resultados:
Los resultados de los 5 estudios pueden verse en el Anexo 5, tabla 5.2. En resumen, los 5 resultados fueron descritos mediante el coeficiente de correlación de Pearson y el coeficiente de determinación (R2). En referencia al coeficiente de Pearson, se reportaron resultados de 0,44, 0,487, 0,73 y 0,996, observándose correlaciones entre moderadas y altas entre la tecnología nCounter® y el comparador. A nivel del coeficiente de determinación, los 3 resultados que se reportaron fueron de 0,77, 0,83 y 0,8698, habiendo buena correlación entre ambas técnicas.

V.3.3. Resultados sobre evaluación económica

No se ha encontrado ningún estudio económico sobre la tecnología nCounter® en indicaciones oncológicas y no oncológicas. Algunos estudios encontrados durante la selección de artículos aportan información sobre temas relacionados con costes y experiencias de los investigadores de la tecnología nCounter® de una forma narrativa (26,30). Aun así, se decide reportar la información sobre costes y experiencias de los investigadores que proporcionan en estos dos estudios:

- En Chang et al (26) reportaron un análisis de costes entre la tecnología nCounter® y FISH, basado en la experiencia de los investigadores. El coste de un ensayo con la tecnología nCounter®, en el que se evalúan 174 variantes de fusión génica, es comparable al coste de un análisis de FISH. Por otro lado, cuando se distribuyeron seis casos por carrera con la tecnología nCounter®, el técnico tardó 1,2 horas por caso, en comparación con un tiempo estimado de 4 horas por caso para realizar la técnica del FISH. Por lo tanto, el coste total por muestra para la tecnología nCounter® es menor que el coste de una sola ejecución del FISH, y más teniendo en cuenta que a menudo se necesita analizar múltiples genes mediante FISH para llegar a un diagnóstico. Así pues, los autores concluyen que la tecnología nCounter® parece ser más coste-efectiva para el diagnóstico molecular.
- En Evangelista et al (30) se documenta información comparativa entre la tecnología nCounter®, FISH, IHC y RT-qPCR a nivel de costes generales de los reactivos y costes del hardware y software que se necesita en las diferentes técnicas. Aunque se concluye que la tecnología nCounter® es muy flexible en la construcción de paneles customizados, es una técnica fiable, precisa y con alta reproducibilidad, los autores comentan que tiene un alto coste a nivel de adquisición y mantenimiento de la plataforma, los cuales han sido limitados en Latinoamérica. Por otro lado, el coste de los reactivos es comparable a la RT-qPCR. Además, son más baratos que la técnica de FISH, pero no en comparación con IHC.

V.3.4. Resultados sobre aspectos técnicos y organizativos

A continuación, se reporta evidencia sobre aspectos técnicos encontrados de forma narrativa en cinco de los estudios incluidos en el presente informe. En estos estudios se presenta dicha información basándose en las experiencias de los investigadores obtenidas durante la experimentación.

- En Ryall et al. (36), se miden tránscritos de fusión y duplicaciones en glioma pediátrico. Los autores comentan que los resultados de la técnica de FISH a menudo se basan en la confianza y experiencia del investigador, lo que puede conducir a resultados erróneos no intencionales o no concluyentes en casos con patrones de señal complejos de difícil interpretación. En estos casos, pueden ser necesarias pruebas secundarias que son costosas y que requieren mucho tiempo. Estas pruebas no son necesarias en el caso de la utilización de la tecnología nCounter®.
- El estudio de Evangelista et al. (30) aborda aspectos de resolución y de dificultad del procedimiento técnico entre nCounter®, FISH, IHC y RT-qPCR. La tecnología nCounter® muestra ser la mejor opción, juntamente con la IHC, en muestras de calidad baja (debido a no tener sesgo hacia la amplificación y errores de secuencia). En relación al tiempo necesario para realizar la técnica y para analizar los resultados (tiempo de ejecución), la tecnología nCounter® se presenta como la técnica más rápida. A nivel de interpretación de los resultados, la tecnología nCounter® y la RT-qPCR son las que presentan una mayor facilidad para el análisis, seguidas por la IHC y el FISH. A nivel de resolución de la técnica, los autores presentan la tecnología nCounter® como la mejor en relación a la precisión a bajas concentraciones, precisión cuantitiva y detección de variantes.
- En Chang et al. (26) se compararon la tecnología nCounter® y la técnica de FISH en muestras de pacientes con sarcoma, detectando tránscritos de fusión. Los investigadores reportan una mejor aproximación a la detección de genes de fusión gracias a los paneles de la tecnología nCounter®, en comparación con la necesidad de ejecutar múltiples pruebas individuales utilizando FISH. En segundo lugar, reportan que la tecnología nCounter® mejora significativamente el tiempo de respuesta, lo cual permite una caracterización rápida y completa de los genes de fusión.
- En el estudio de Bouzas et al. (41), analizan la transcripción del virus sincitial respiratorio en aspirados nasofaríngeos durante la infección respiratoria aguda pediátrica. Los investigadores comparan el tiempo de respuesta en referencia a los costes de la tecnología nCounter vs la RT-qPCR. Considearando un lote de 12-24 muestras, el tiempo de respuesta para la tecnología nCounter® es de 24-36 horas (tiempo de manipulación del técnico/investigador de 30 minutos, resultados de todo el panel de genes respiratorios) respecto a 4 horas (tiempo de manipulación del técnico/investigador de una hora y media, análisis de dos genes: RSV-A y RSV-B). El coste por muestra es de 55 euros para la tecnología nCounter® y 50-70 euros para la RT-qPCR. Los investigadores comentan que la utilización de la RT-qPCR suele ser en los casos en los que el tamaño de muestras es pequeño y proponen la tecnología nCounter® como una opción válida en tamaños de muestra más grandes y cuando se necesita un menor tiempo de respuesta, como sería en el caso de los laboratorios de alta capacidad de rendimiento.
- En el estudio de Leal et al. (22) llevan a cabo una comparativa entre la tecnología nCounter® e IHC en cáncer de mama. En este estudio, los investigadores reportan que, aunque el coste de la tecnología nCounter® probablemente evite que reemplace la IHC cuando se analizan un número pequeño de biomarcadores, puede ser una buena opción en protocolos de investigación clínica en los que se analice un gran número de biomarcadores y, particularmente, en el caso de analizar marcadores fosforilados.

Aun así, se necesitaría disponer de más estudios en los que se analicen específicamente variables como los tiempos requeridos para realizar las diferentes técnicas, el personal necesario para llevarlas a cabo o las muestras que se pueden analizar en referencia al tiempo que se tarda en realizarlas.

VI. Valoración del impacto de la tecnología

V.1. Impacto en salud

El impacto en salud principal de la tecnología nCounter® es la utilización de biomarcadores como método de diagnóstico, pronóstico y apoyo al tratamiento de las diferentes indicaciones en las que los biomarcadores juegan un papel importante. Un biomarcador en cáncer se define como la alteración molecular y celular de un tejido o de un proceso biológico que proporciona información acerca del comportamiento presente o futuro del proceso canceroso (49). El diagnóstico tradicional del cáncer, basado en los análisis morfológicos de biopsias del tumor, presenta limitaciones en cuanto a la predicción de la posible progresión del tumor o frente a la respuesta al tratamiento. Frente a esta aproximación empírica al diagnóstico del tumor, se ha visto que los biomarcadores se presentan como una alternativa para el diagnóstico, pronóstico, predicción de respuesta al tratamiento o identificación de potenciales dianas de nuevas terapias, ya que presentan la capacidad de poder realizar un diagnóstico más "preciso" del cáncer y han revolucionado la taxonomía de los cánceres ofreciendo clasificaciones moleculares mucho más precisas (49).

Cabe destacar que un biomarcador que se utilice para estudios de salud humana debe estar validado y, por tanto, es necesario un proceso de selección y aprobación mediante un estudio completo (especificidad, fiabilidad, sensibilidad, exactitud, precisión...) (50). La WHO-ICPS (International Classification for Patient Safety) define todos los factores necesarios para el proceso de selección y validación de los biomarcadores, entre los que destacan la identificación del proceso biológico de interés y la relación entre el biomarcador y el efecto a evaluar, la realización de exámenes, la estandarización de un protocolo que garantice un adecuado nivel de calidad y control y la predicción del riesgo, entre otros (49). También existe un gran número de biomarcadores "posibles" en la literatura científica cuyo objetivo es predecir la posible respuesta a un tratamiento en cáncer o los posibles efectos adversos del mismo (49). Así pues, para la utilización de biomarcadores, es necesario tener suficiente evidencia sobre su relación con las patologías y pasar por un proceso de aprobación posterior.

Es de especial mención que en 2019 se publicó un informe de evaluación llevado a cabo por AETSA en el que se realizó una actualización de las pruebas genéticas que se realizan en España dentro del marco del Sistema Nacional de Salud (51). En este informe, se listan todas las pruebas genéticas presentes en la Cartera de Servicios según comunidades autónomas (excepto la comunidad de Canarias, que no respondió al cuestionario online) y las técnicas genéticas disponibles (todas las comunidades autónomas excepto Baleares, Canarias, Cantabria y Galicia). En relación a los comparadores principales de la tecnología nCounter®, se puede comprobar que la técnica de FISH está presente en todas las comunidades autónomas, la RT-PCR se utiliza en 8 comunidades de las 13 analizadas y ni la IHC ni la RT-qPCR se utilizan en ninguna comunidad. En relación a las pruebas genéticas, se listan las enfermedades para las cuales se tiene una prueba dentro de la Cartera de Servicios, separadas según patologías hereditarias no oncohematológicas o patologías oncohematológicas. Esta lista podría ser una buena base de consulta para conocer los genes que se utilizan para el diagnóstico de diferentes patologías. Estos genes serían los que se deberían analizar en los paneles específicos de la tecnología nCounter®.

Respecto a la patología no oncológica, el potencial impacto que podría tener esta tecnología sería en relación a la cantidad de muestras que podría procesar y la rapidez en obtener el diagnóstico en patologías infecciosas respiratorias, por ejemplo, acortando los tiempos de resultado en caso de brotes epidémicos o de aquellos casos que necesiten una rápida confirmación para iniciar el tratamiento.

También podría tener un impacto indirecto en salud al favorecer la investigación sobre la patogénesis de diferentes enfermedades, al disponer de diferentes paneles, como las que recientemente se están desarrollando para la conocer el daño causado por la infección por SARS-CoV-2, a la espera de su validación clínica (https://www.nanostring.com/?s=covid).

VI.2. Impacto ético, social, legal de la tecnología

Aspectos éticos y sociales

Las pruebas genéticas suponen retos para la medicina, la salud pública y la política social con respecto a las circunstancias bajo las cuales deben ser usadas, a cómo se implementan y a qué usos se hacen de sus resultados. Mediante la utilización de la tecnología nCounter® se pueden realizar pruebas genéticas diagnósticas y, por esta razón, su utilización tiene implicaciones a nivel ético y social relacionadas con la indicación.

La aplicación de paneles específicos de genes mediante la tecnología nCounter® disminuye la probabilidad de obtener hallazgos genéticos inesperados, en comparación con otras técnicas que obtengan información genética del exoma o del genoma completo. Aun así, los comparadores de la tecnología nCounter® estarían analizando la misma carga genética en las muestras de los pacientes, así que no se observaría ninguna diferencia a nivel del impacto ético de las diferentes técnicas.

Cabe mencionar que en 1990 se fundó el programa de implicaciones éticas, legales y sociales (ELSI) como parte del Programa Genoma Humano (52), cuyo objetivo era identificar y abordar los problemas planteados por la investigación genómica que afectaba a personas, familias y la sociedad. Este programa se centró en las posibles consecuencias de la investigación genómica en 4 áreas: privacidad e imparcialidad en el uso de la información genética, integración de nuevas tecnologías genéticas (como las pruebas genéticas en la práctica de la medicina clínica, cuestiones éticas relacionadas con el diseño y la realización de investigaciones genéticas con personas y 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 posterior manejo de los datos que se obtienen mediante la tecnología nCounter®, 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.

Referente a la confidencialidad de los resultados genéticos, una razón de esta preocupación es cómo de lucrativo puede ser para las empresas que ofrecen los servicios de pruebas genéticas el vender a terceros los datos genéticos recopilados de las personas que se han realizado las pruebas.

Por otro lado, los diagnósticos basados en la tecnología nCounter 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 (53). 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 (54). De las recomendaciones, cabe destacar el consenso alcanzado sobre la necesidad de tener una Estrategia en Medicina Genómica, Personalizada y de Precisión para el SNS. Recientemente, el Departament de Salut de Catalunya ha incluido la oncología de precisión en la cartera de servicios, para determinar de forma más específica los tratamientos de cáncer. Más concretamente, se ha incluido en el sistema sanitario catalán lo que se conoce como diagnóstico molecular del cáncer como medio para la oncología de precisión. Esta oncología de precisión mejora el estudio de marcadores de diagnóstico, pronóstico y de las propias enfermedades tumorales y permite determinar las alteraciones genéticas que definen la vulnerabilidad de los tumores a determinados tratamientos y, en consecuencia, permite determinar un tratamiento más específico respecto las características moleculares y genéticas de los tumores para los pacientes con cáncer en que este prodecimiento esté indicado de acuerdo con la evidencia disponible. El objetivo es que todos los pacientes oncológicos puedan beneficiarse, siempre que para su tipo de tumor esté disponible. Por lo tanto, la tecnología nCounter® podría jugar un papel importante dentro de la implementación de esta medicina de precisión personalizada. Por otra parte, se debe considerar que si la implementación de la tecnología nCounter® permite 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 deberían llevar a cabo estudios clínicos que clarifiquen si la tecnología nCounter® aporta beneficios reales en este sentido.

Así pues, en el contexto de los análisis genéticos, es de vital importancia tener en cuenta tanto las consideraciones éticas como las legales, sociales y políticas sin perder la visión de las consideraciones científicas y tecnológicas. Todo ello, en conjunto, debe integrarse para proporcionar la mejor atención al paciente.

Aspectos legales

En España, existe el marco legal de la Investigación Biomédica (Ley 14/2007) (55), el cual sienta las bases jurídicas para impulsar una investigación biomédica de calidad y competitiva en el entorno europeo, con las mayores garantías éticas y de seguridad para los ciudadanos. El reto de esta legislación es ofrecer un marco normativo para abordar las situaciones en materia de biomedicina, como por ejemplo la investigación con muestras biológicas humanas o los análisis genéticos. Todo ello garantizando la protección de los derechos de las personas que pudieran resultar afectadas por la investigación (55,56). La medicina y la biología proporcionan rápidos y contínuos avances que pueden suponer un riesgo para los derechos y las libertades del ser humano, pero son avances que suponen un indiscutible beneficio para la sociedad. Consciente de ello, el Consejo de Europa estableció en un Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina, los límites a la evolución de la biomedicina, que los Estados firmantes deberían trasponer a sus legislaciones internas. Esto fue para proteger al ser humano en su dignidad y su identidad, garantizando el respeto a los derechos y libertades fundamentales, especialmente al de su integridad en relación a la aplicación de la biología y la medicina (56).

En el Título V de la Ley 14/2007 sobre Invetigación Biomédica, se tratan los análisis genéticos, las muestras biológicas y los biobancos. Los objetivos de este Título son establecer lo requisitos que deben cumplir las instituciones y las personas que realicen los análisis genéticos y traten o almacenen datos genéticos de carácter personal y muestras biológicas, velar por el correcto empleo de las muetras biológicas para la investigación biomédica, establecer los requisitos que deben cumplir los biobancos para su creción y funcionamiento y asegurar la gratuidad en todo el proceso de donación, cesión, almacenaje y utilización de muestras biológicas tanto para los sujetos fuente como para los depositantes, sin perjuicio de la compensación de los costes (55).

VI.3. Impacto organizativo de la tecnología

Entre las características de la propia tecnología nCounter®, cabe destacar algunas que la hacen más ventajosa ante sus principales comparadores (FISH, IHC, RT-qPCR y RT-PCR):

- Es una técnica más rápida que sus comparadores cuando se analizan un alto número de biomarcadores, con el consecuente ahorro de tiempo.
- Disminuye la manipulación necesaria por parte del técnico y los errores de manipulación. Alta automatización del proceso técnico y disminución del tiempo de manejo por parte del técnico (hands-on).
- No necesita amplificar la muestra, disminuyendo los errores introducidos durante la amplificación y la dificultad de estandarizar la muestra.
- Puede detectar muestras con poco material, ahorrando la cantidad de muestra y pudiéndose detectar muestras en las que la calidad es baja. Este límite de detección bajo es una gran ventaja que ayuda a la tecnología nCounter® a detectar no solo el ADN y el ARN, sino también otro tipo de material genético más concreto (miARN, snARN, otras formas de ácidos nucleicos, genes degradados o poco abundantes), y le otorga un valor potencial a la tecnología en el desarrollo de nuevos biomarcadores para el diagnóstico de enfermedades.
- Tiene una mayor resolución de las muestras y el tipo de resultados obtenidos facilita el análisis de los resultados.

Estas características favorecen una reducción del tiempo necesario para llevar a cabo el diagnóstico de los pacientes, siempre y cuando se analicen varios biomarcadores de una misma vez. Una gran ventaja del sistema nCounter® es la posibilidad de crear paneles de genes específicos para indicaciones en concreto. Con estos paneles

se analizan un número elevado de biomarcadores de una vez por cada muestra de la que se disponga, ventaja que también se vería reflejada en una menor cantidad de muestra necesaria. En cada pocillo del panel se cargaría una muestra de un paciente, pudiéndose analizar muestras de varios pacientes cada vez y un número elevado de biomarcadores de cada muestra. En el caso de tener indicaciones cuyo diagnóstico o pronóstico se analiza mediante una serie de genes, o bien el hecho de poder crear paneles específicos para conocer el mejor tratamiento personalizado para los pacientes (medicina de precisión), la tecnología nCounter® supondría una mejora frente a sus comparadores. En estos casos, la reducción del tiempo que supondría la utilización de la tecnología nCounter® tendría un impacto organizativo y un impacto asistencial al poder diagnosticar un número mayor de biomarcadores y de pacientes. Este hecho es favorecedor mayoritariamente en hospitales/centros sanitarios que tengan laboratorios de diagnóstico de alto rendimiento y que analicen un alto número de muestras, en los que se promovería una decisión terapéutica más rápida. En el caso de analizarse un único gen, como sería el caso del diagnóstico o pronóstico de enfermedades monogénicas, la tecnología nCounter® no sería óptima ya que no serían necesarios los paneles con varios biomarcadores. Aun así, se necesitarían más estudios específicos en relación a los tiempos, costes y cantidad de biomarcadores analizados de una sola vez, tanto en el caso de utilizar la tecnología nCounter® como sus comparadores para corroborar estos aspectos.

Respecto a la organización de los equipos clínicos implicados directamente con la tecnología, sería necesaria la incorporación de la tecnología nCounter® (tanto el dispositivo como el software y reactivos) en los hospitales/centros médicos/centros de diagnóstico y la formación y/o la ampliación del equipo encargado del análisis clínico molecular.

VI.4. Impacto económico de la tecnología

Como se ha comentado anteriormente, no se ha encontrado ningún estudio de eficiencia en relación a la tecnología nCounter®. Por lo tanto, se requieren estudios de coste-efectividad que consideren el precio de mercado, los costes añadidos y la inversión en recursos humanos, entre otros en referencia a la tecnología nCounter®.

Aún así, los estudios que hacen referencia a temas económicos y técnicos de forma narrativa y que tienen en cuenta las experiencias de los investigadores, sugieren que el mayor impacto económico se vería reflejado en la creación de los paneles específicos para los biomarcadores de las diferentes indicaciones. El hecho de poder crear paneles de múltiples biomarcadores que podrían ayudar tanto al diagnóstico como al pronóstico y a realizar planes de tratamientos específicos de precisión, disminuiría los costes necesarios en comparación con técnicas en las que se pueden analizar un número muy reducido de biomarcadores cada vez. El hecho de necesitar una menor cantidad de muestra en cada ensayo, también repercutiría positivamente en los costes, disminuyendo el número de muetras que se necesitan extraer de los pacientes o extracciones sucesivas por finalización de las muestras. Por último, el hecho de necesitar una menor cantidad de tiempo de manipulación por parte del técnico/investigador se vería reflejado en una disminución en la cantidad de personal necesaria en los laboratorios.

VII. Difusión e introducción esperada de la tecnología

Actualmente, la evidencia disponible sobre la tecnología nCounter® es mayoritariamente en referencia a estudios de diagnóstico clínico in vitro e investigación molecular. Aun así, los datos de sensibilidad/especificidad, concordancia y correlación encontrados en la evidencia disponible sobre la tecnología nCounter® parecen concluir que, aunque esta técnica es mayoritariamente complementaria a las técnicas actuales, a medio-largo plazo podría llegar a sustituir las tecnologías existentes. Por ejemplo, si la detección de biomarcadores mediante la tecnología nCounter® se implementa como procedimiento habitual en el diagnóstico tanto de enfermedades oncológicas como no oncológicas, se espera que se conseguirá una reducción de los tiempos y de los costes. Así, tanto el diagnóstico como la decisión terapéutica posterior, podría ser un proceso más ágil en utilizarse dicha tecnología. Aun así, se necesitarían ensayos específicos en los que analizaran esta tecnología con sus comparadores en referencia al número de muestras que se pueden analizar, el tiempo necesario y los costes requeridos en función de las muestras y el tiempo.

Se desconoce cuál podría ser la difusión e introducción de la tecnología nCounter® puesto que la evidencia es insuficiente.

VIII. Investigación en curso y recomendaciones

VIII.1. Investigación en curso

Se han encontrado un total de 29 estudios en marcha al buscar el término nCounter® en clinicaltrials.gov a fecha de noviembre de 2021, en los cuales se utiliza este tipo de tecnología en las investigaciones que se llevan a cabo (Anexo 6). De estos estudios, 16 de ellos son sobre enfermedades oncológicas (55,2%) y el resto sobre enfermedades no oncológicas (44,8%), entre las que destacan enfermedades respiratorias y enfermedades relacionadas con trasplantes. Del total de 29 estudios, 8 de ellos aparecen como estudios completados, aunque sólo en dos de ellos hay resultados publicados en la web. En estos dos estudios, se utiliza la tecnología nCounter® para medir niveles de transcripción de genes sin utilizar ningún otro tipo de tecnología como control.

VIII.2. Guías y directrices

No se han encontrado guías ni directrices en relación a la utilización de la tecnología nCounter® en todas sus indicaciones y todos los usos, que es el objetivo de este informe. Aún así, se han encontrado guías en referencia al ensayo Prosigna™ y su indicación en cáncer de mama que podrían utilizarse como aproximación de la tecnología nCounter®:

- En la guía de práctica clínica de la SEOM (Sociedad Española de Oncología Médica) sobre cáncer de mama en estadíos tempranos de 2018 (57) se describe ProsignaTM como un ensayo para evaluar el pronóstico de pacientes con cáncer de mama temprano, basándose en la expresión génica, juntamente con otros ensayos como Oncotype DX, Mammaprint o EndoPredict (57).
- Según la guía de práctica clínica de la ASCO/CAP (American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists) sobre los tests del receptor de estrógenos (ER) y progesterona (PR) en cáncer de mama, se plantean la pregunta sobre si son aceptables otros ensayos de expresión del receptor de estrógenos para identificar pacientes que puedan beneficiarse de la terapia endocrina (58). En esta guía se comenta que algunos ensayos de paneles de expresión génica ya se han incorporado a los algoritmos de tratamiento estándar para cánceres ER-positivos (diagnosticados mediante inmunohistoquímica), como herramientas útiles para evaluar la probabilidad de beneficio clínico ofrecido por la quimioterapia junto a la terapia endocrina. Algunos ensayos clínicos entre los que podemos encontrar a ProsignaTM, también ofrecen información de pronóstico respecto al riesgo de recurrencia en pacientes tratados con terapia endocrina, y han mejorado la capacidad de comprender el comportamiento biológico del cáncer de mama ER-positivo según la definición estándar obtenida mediante inmunohistoquímica.
- En la guía de práctica clínica de la ESMO (European Society for Medical Oncology) sobre el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del cáncer de mama temprano (guía actualizada en 2019), se describe a ProsignaTM como un perfil de expresión génica (entre otros como MammaPrint, Oncotype DX, Endopredict o Breast Cancer Index) que se puede utilizar para conseguir un pronóstico adicional y/o información predictiva para complementar la evaluación de la patología (59).

VIII.3. Puntos claves

- La tecnología nCounter® se enmarca dentro del campo de la detección de los biomarcadores y es una tecnología que se puede utilizar para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades, tanto oncológicas como no oncológicas, que puedan detectarse mediante el análisis de biomarcadores moleculares, mayoritariamente, a nivel de expresión génica.
- Se consultó en la base de datos Pubmed y se seleccionaron los estudios sobre la tecnología nCounter® en usos diagnósticos, pronósticos o de evaluación del tratamiento de cualquier tipo de indicación, encontrándose evidencia mayoritariamente sobre su uso como método de detección de biomarcadores en

el diagnóstico en el que se centra esta evaluación. Se excluye de la búsqueda el ensayo Prosigna™ como método para detección del cáncer de mama.

- Se incluyeron un total de 29 estudios de diseño observacional y con un riesgo de sesgo bajo. Muchos de estos estudios fueron realizados en laboratorios de investigación en los que las muestras ya estaban diagnosticadas y se validaban mediante la utilización de la tecnología nCounter® y se comparaban con otras técnicas de uso habitual.
- Los estudios incluidos muestran una sensibilidad, especificidad, concordancia y correlación equiparables a la tecnología nCounter® en comparación con los comparadores de los estudios incluidos, tanto en enfermedades oncológicas como no oncológicas, que se complementan con sus buenas características técnicas de utilización en el laboratorio. Cabe destacar que algunos de los comparadores de este estudio tienen una validez analítica y clínica limitada, especialmente los microarrays de expresión.
- La tecnología nCounter® puede detectar diferentes tipos de patologías cuyo diagnóstico o pronóstico pueda ser estudiado mediante biomarcadores. Aun así, en los estudios incluidos, hay pocos estudios sobre un mismo tipo de cáncer o enfermedad no oncológicas (13 tipos diferentes de tumores en los 22 estudios incluidos o 6 tipos de enfermedades no oncológicas en los 7 estudios incluidos). Como limitaciones, no hay estudios clínicos aleatorizados de la tecnología nCounter® con su comparador que demuestren la eficacia de la tecnología (todos los estudios encontrados son observacionales), no hay paneles que tengan el marcado CE y aprobación FDA (exceptuando el test Prosigna™ para cáncer de mama), y faltarían estudios sobre eficiencia, demostrar la validez clínica de la tecnología y llevar a cabo análisis en que se comparen los tiempos, número de muestras/pacientes y costes de la tecnología nCounter® en relación al número de biomarcadores analizados.

Referencias

1. Tsang H-F, Xue VW, Koh S-P, Chiu Y-M, Ng LP-W, Wong S-CC. NanoString, a novel digital color-coded barcode technology: current and future applications in molecular diagnostics. Expert Rev Mol Diagn. 2017;17(1):95–103.
2. Geiss GK, Bumgarner RE, Birditt B, Dahl T, Dowidar N, Dunaway DL, et al. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs. Nat Biotechnol. 2008 Mar;26(3):317–25.
3. N FA, Uu WAEE. Manual de usuario de nCounter ® Dx Analysis System. 2017. p. 1–103.
4. FENIN. El Diagnóstico In Vitro hoy. Un cambio de paradigma en la calidad de vida y el proceso de atención a los pacientes. Madrid: Federación de Empresas de Tecnología Sanitaria (FENIN); 2018. Disponible en: https://www.fenin.es/documents/document/370
5. Eastel JM, Lam KW, Lee NL, Lok WY, Tsang AHF, Pei XM, et al. Application of NanoString technologies in companion diagnostic development. Expert Rev Mol Diagn. 2019 Jul;19(7):591–8.
6. Sociedad Española de Oncologia Médica. Cifras del Cáncer en España 2021. Madrid: Sociedad Española de Oncologia Médica (SEOM); 2021. 36 p.
7. Sociedad Española de Oncologia Médica. Las cifras del cáncer en España 2020 - Hombres. Madrid: Sociedad Española de Oncologia Médica (SEOM); 2020. Disponible en: https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf
8. Centro Nacional de Epidemiología. Informe de Vigilancia de la Gripe en España Temporada 2019-2020 (Desde la semana 40/2019 hasta la semana 20/2020). Madrid: Instituto de Salud Carlos III. 2020:1–35. Disponible en: https://vgripe.isciii.es/documentos/20192020/InformesAnuales/Informe_Vigilancia_GRIPE_2019-2020_03092020.pdf
9. Hart A, Singh D, Brown SJ, Wang JH, Kasiske BL. Incidence, risk factors, treatment, and consequences of antibody-mediated kidney transplant rejection: A systematic review. Clin Transplant. 2021;35(7):1–12.
10. Sojo A, Escobar H. Fibrosis quística; Protocolos Diagnosticos y Terapéuticos en Pediatría. Asoc Española Pediatría. 2005;10:99–110.
11. Martínez G, Torres A, García C, Fernández J. Recomendaciones para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del nódulo tiroideo. Madrid: Saedyn; 2016. Disponible en: https://www.saedyn. es/wp-content/uploads/2018/04/GDV-Libro-Nódulo-Tiroideo-SAEDYN-DEFINITIVO.pdf
12. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. Lancet Infect Dis. 2020;20(5):533–4.
13. Díaz-Rubio E. Cancer in Spain: situation in 2019. An Ranm. 2019;136(01):25–33.
14. Troeger C, Blacker B, Khalil IA, Rao PC, Cao J, Zimsen SRM, et al. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Infect Dis. 2018;18(11):1191–210.
15. Fiorentino M, Gallo P, Giliberti M, Colucci V, Schena A, Stallone G, et al. Management of patients with a failed kidney transplant: what should we do? Clin Kidney J. 2020;14(1):98–106.
16. Chalmers JD. Cystic fibrosis lung disease and bronchiectasis. Lancet Respir Med. 2020;8(1):12–4.
17. Villaverde-Hueso A, Sánchez-Díaz G, Molina-Cabrero FJ, Gallego E, de la Paz MP, Alonso-Ferreira V. Mortality due to cystic fibrosis over a 36-year period in spain: Time trends and geographic variations. Int J Environ Res Public Health. 2019;16(1):1–12.
18. Expert's corner: a personal approach. Controversies in medicine: Thyroid nodules "head or tails". 2016;18(70):55–7.
19. Luo J, Liu S, Leung S, Gru AA, Tao Y, Hoog J, et al. An mRNA Gene Expression-Based Signature to Identify FGFR1-Amplified Estrogen Receptor-Positive Breast Tumors. J Mol Diagn. 2017;19(1):147–61.
20. Delmonico L, Attiya S, Chen JW, Obenauer JC, Goodwin EC, Fournier M V. Expression Concordance of 325 Novel RNA Biomarkers between Data Generated by NanoString nCounter and Affymetrix GeneChip. Dis Markers. 2019;2019:1940347.
21. Hyeon J, Cho SY, Hong ME, Kang SY, Do I, Im YH, et al. NanoString nCounter® Approach in Breast Cancer: A Comparative Analysis with Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction, In Situ Hy-

bridization, and Immunohistochemistry. J Breast Cancer. 2017 Sep;20(3):286–96.
22. Leal MF, Haynes BP, MacNeill FA, Dodson A, Dowsett M. Comparison of protein expression between formalin-fixed core-cut biopsies and surgical excision specimens using a novel multiplex approach. Breast Cancer Res Treat. 2019;175(2):317–26.
23. Franzén B, Kamali-Moghaddam M, Alexeyenko A, Hatschek T, Becker S, Wik L, et al. A fine-needle aspiration-based protein signature discriminates benign from malignant breast lesions. Mol Oncol. 2018 Sep;12(9):1415–28.
24. D'Arcy CE, Nobre LF, Arnaldo A, Ramaswamy V, Taylor MD, Naz-Hazrati L, et al. Immunohistochemical and nanoString-Based Subgrouping of Clinical Medulloblastoma Samples. J Neuropathol Exp Neurol. 2020 Apr;79(4):437–47.
25. Kaur K, Jha P, Pathak P, Suri V, Sharma MC, Garg A, et al. Approach to molecular subgrouping of medulloblastomas: Comparison of NanoString nCounter assay versus combination of immunohistochemistry and fluorescence in-situ hybridization in resource constrained centres. J Neurooncol. 2019 Jul;143(3):393–403.
26. Chang KTE, Goytain A, Tucker T, Karsan A, Lee C-H, Nielsen TO, et al. Development and Evaluation of a Pan-Sarcoma Fusion Gene Detection Assay Using the NanoString nCounter Platform. J Mol Diagn. 2018 Jan;20(1):63–77.
27. Sheth J, Arnoldo A, Zhong Y, Marrano P, Pereira C, Ryall S, et al. Sarcoma Subgrouping by Detection of Fusion Transcripts Using NanoString nCounter Technology. Pediatr Dev Pathol. 2019;22(3):205–13.
28. Ahn S, Hong M, Van Vrancken M, Lyou YJ, Kim ST, Park SH, et al. A nCounter CNV Assay to Detect HER2 Amplification: A Correlation Study with Immunohistochemistry and In Situ Hybridization in Advanced Gastric Cancer. Mol Diagn Ther. 2016 Aug;20(4):375–83.
29. Kim ST, Do I-G, Lee J, Sohn I, Kim K-M, Kang WK. The NanoString-based multigene assay as a novel platform to screen EGFR, HER2, and MET in patients with advanced gastric cancer. Clin Transl Oncol. 2015 Jun;17(6):462–8.
30. Evangelista AF, Zanon MF, Carloni AC, de Paula FE, Morini MA, Ferreira-Neto M, et al. Detection of ALK fusion transcripts in FFPE lung cancer samples by NanoString technology. BMC Pulm Med. 2017 May;17(1):86.
31. Rogers T-M, Arnau GM, Ryland GL, Huang S, Lira ME, Emmanuel Y, et al. Multiplexed transcriptome analysis to detect ALK, ROS1 and RET rearrangements in lung cancer. Sci Rep. 2017 Feb;7:42259.
32. Reguart N, Teixidó C, Giménez-Capitán A, Paré L, Galván P, Viteri S, et al. Identification of ALK, ROS1, and RET fusions by a multiplexed mRNA-based assay in formalin-fixed, paraffin-embedded samples from advanced non-small-cell lung cancer patients. Clin Chem. 2017;63(3):751–60.
33. Akhter A, Mughal MK, Elyamany G, Sinclair G, Azma RZ, Masir N, et al. Multiplexed automated digital quantification of fusion transcripts: comparative study with fluorescent in-situ hybridization (FISH) technique in acute leukemia patients. Diagn Pathol. 2016 Sep;11(1):89.
34. Hu D, Zhou W, Wang F, Shu SM, Fan LL, He J, et al. Development of a NanoString assay to detect leukemogenic fusion transcripts in acute myeloid leukemia. Int J Lab Hematol. 2016 Dec;38(6):663–73.
35. Zhong Y, Beimnet K, Alli Z, Arnoldo A, Kowalski PE, Somers GR, et al. Multiplexed Digital Detection of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia Fusion Transcripts Using the NanoString nCounter System. J Mol Diagn. 2020 Jan;22(1):72–80.
36. Ryall S, Arnoldo A, Krishnatry R, Mistry M, Khor K, Sheth J, et al. Multiplex Detection of Pediatric Low-Grade Glioma Signature Fusion Transcripts and Duplications Using the NanoString nCounter System. J Neuropathol Exp Neurol. 2017 Jul;76(7):562–70.
37. Crotty R, Hu K, Stevenson K, Pontius MY, Sohani AR, Ryan RJH, et al. Simultaneous Identification of Cell of Origin, Translocations, and Hotspot Mutations in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using a Single RNA-Sequencing Assay. Am J Clin Pathol. 2020. doi: 10.1093/ajcp/aqaa185.
38. Heydt C, Ruesseler V, Pappesch R, Wagener S, Haak A, Siebolts U, et al. Comparison of in Situ and Extraction-Based Methods for the Detection of ROS1 Rearrangements in Solid Tumors. J Mol Diagn. 2019 Nov;21(6):971–84.
39. Chen X, Deane NG, Lewis KB, Li J, Zhu J, Washington MK, et al. Comparison of Nanostring nCounter ® Data on FFPE Colon Cancer Samples and Affymetrix Microarray Data on Matched Frozen Tissues. PLoS One. 2016;11(5):e0153784.
40. Schmidt S, Linge A, Grosser M, Lohaus F, Gudziol V, Nowak A, et al. Comparison of GeneChip, nCoun-

ter, and Real-Time PCR-Based Gene Expressions Predicting Locoregional Tumor Control after Primary and Postoperative Radiochemotherapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. J Mol Diagn. 2020 Jun;22(6):801–10.
41. Bouzas ML, Oliveira JR, Queiroz A, Fukutani KF, Barral A, Rector A, et al. Diagnostic accuracy of digital RNA quantification versus real-time PCR for the detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates from children with acute respiratory infection. J Clin Virol. 2018 Sep;106:34–40.
42. Fukutani KF, Nascimento-Carvalho CM, Van der Gucht W, Wollants E, Khouri R, Dierckx T, et al. Pathogen transcriptional profile in nasopharyngeal aspirates of children with acute respiratory tract infection. J Clin Virol. 2015 Aug;69:190–6.
43. Pescarmona R, Belot A, Villard M, Besson L, Lopez J, Mosnier I, et al. Comparison of RT-qPCR and Nanostring in the measurement of blood interferon response for the diagnosis of type I interferonopathies. Cytokine. 2019 Jan;113:446–52.
44. Adam B, Afzali B, Dominy KM, Chapman E, Gill R, Hidalgo LG, et al. Multiplexed color-coded probe-based gene expression assessment for clinical molecular diagnostics in formalin-fixed paraffin-embedded human renal allograft tissue. Clin Transplant. 2016 Mar;30(3):295–305.
45. Gifford AH, Willger SD, Dolben EL, Moulton LA, Dorman DB, Bean H, et al. Use of a Multiplex Transcript Method for Analysis of Pseudomonas aeruginosa Gene Expression Profiles in the Cystic Fibrosis Lung. Infect Immun. 2016 Oct;84(10):2995–3006.
46. Ko YS, Hwang TS, Kim JY, Choi Y-L, Lee SE, Han HS, et al. Diagnostic Limitation of Fine-Needle Aspiration (FNA) on Indeterminate Thyroid Nodules Can Be Partially Overcome by Preoperative Molecular Analysis: Assessment of RET/PTC1 Rearrangement in BRAF and RAS Wild-Type Routine Air-Dried FNA Specimens. Int J Mol Sci. 2017 Apr;18(4):806.
47. Mommert M, Perret M, Hockin M, Viel S, Belot A, Richard JC, et al. Type-I Interferon assessment in 45 minutes using the FilmArray® PCR platform in SARS-CoV-2 and other viral infections. Eur J Immunol. 2021 Apr;51(4):989-994.
48. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. Quadas-2: A revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. Ann Intern Med. 2011;1559:529–36.
49. Ruiz Romero G, Vega García M. Biomarcadores para Uso Clínico. Biotechnology. 2010:199. Disponible en: http://docplayer.es/12469920-Biomarcadores-para-uso-clinico-informe-de-vigilancia- tecnologica.html
50. Ewer MS. Cardiovascular issues. Adv Cancer Surviv Manag. 2015;325–34.
51. Martínez Férez 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. Consejería de Salud. Junta de Andalucía; 2013. 183 p.
52. Langfelder EJ, Juengst ET. Ethical, Legal, and Social Implications (ELSI) Program. 1993;12(August): 273–5.
53. Genetic Alliance. Understanding Genetics: A New York, Mid- Atlantic Guide for Patients and Health Professionals. Genet Alliance, New York - Mid-Atlantic Consort Genet Newborn Screen Serv. 2008;(Appendix E Inheritance Patterns):105.
54. Senado. Boletín Oficial de las Cortes Generales. Ponencia de estudio sobre genómica, constituida en el seno de la Comisión de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. 2019;2018:1–78.
55. Estado JDEL. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica (BOE, 4 de julio de 2007). Law Hum genome Rev = Rev derecho y genoma Hum / Chair Law Hum Genome, BBV Found Gov Biscay, Univ Deusto. 2007;(26):283–325.
56. Aranda-Jurado M. Evolución de la normativa de la investigación biomédica en españa. Actualidad Jurídica Iberoamericana. 2018;(9):254-75. Disponible en: http://www.revista-aji.com/articulos/2018/9/254-275.pdf
57. Ayala de la Peña F, Andrés R, Garcia-Sáenz JA, Manso L, Margelí M, Dalmau E, et al. SEOM clinical-guidelines in early stage breast cancer (2018). Clin Transl Oncol. 2019;21(1):18–30.
58. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP guideline update. J Clin Oncol. 2020;38(12):1346–66.
59. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Ann Oncol. 2019 Aug 1;30(8):1194-220.

Anexos

Anexo 1. Estrategias de búsqueda bibliográfica utilizadas en las diferentes bases de datos electrónicas.

La búsqueda bibliográfica para la realización de este informe se llevó a cabo en la base de datos de Pubmed y se evaluó la evidencia científica entre el periodo temporal de 2015 y marzo de 2021. La búsqueda definitiva para llevar a cabo este informe, se realizó en marzo de 2021.

A continuación, se detallan las estrategias de búsqueda diseñadas para identificar estudios que evalúen el diagnóstico, pronóstico y tratamiento mediante la detección de biomarcadores a través de la tecnología nCounter®:

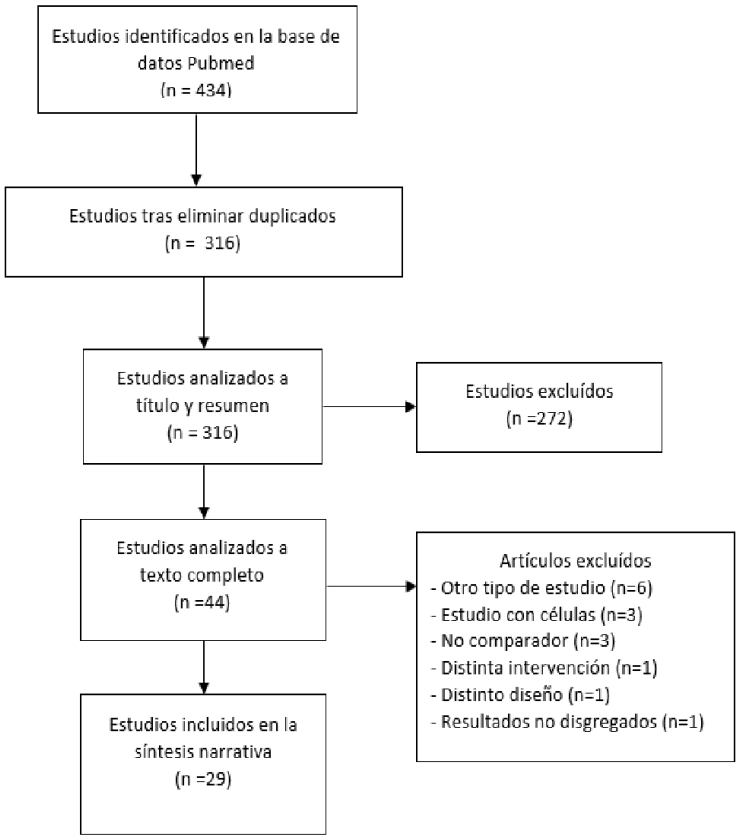
Pubmed	#1 ((nCounter [tiab]) OR (Nanostring[tiab])) OR (“n counter”[tiab] AND (RNA OR DNA OR molecular OR gene* OR multigene*)) AND (2015:2021[pdat])) #2 (“systematic review”[title] OR (systematic[title] AND review[title]) OR systematic[sb] OR Cochrane Database Syst Rev[ta] OR “systematic review”[pt] OR Metaanal*[title] OR meta-analysis[title] OR Meta-Analysis[pt] OR (systematic[title] AND review[title]) OR Cochrane Database Syst Rev[ta] OR (“CADTH Technol Overv”[Journal] OR “Ont Health Technol Assess Ser”[Journal] OR “Health Technol Assess”[Journal] OR “Issues Emerg Health Technol”[Journal]) OR (review[pt] AND (pubmed[tiab] OR medline[tiab] OR embase[tiab] OR cochrane[tiab])) #3 (randomized controlled trial[pt] OR controlled clinical trial[pt] OR clinical trial[pt] OR random*[tiab] OR trial*[title] OR multicenter study[pt] OR (random*[Title/Abstract] AND control*[Title/Abstract] AND trial*[Title/Abstract]) OR Random Allocation[Mesh] OR Double Blind Method[Mesh] OR Single Blind Method[Mesh] OR (double[title] AND blind[title])))) #4 (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 “health expenditures”[Mesh] OR “Deductibles and Coinsurance”[Mesh] OR “Medical savings accounts”[Mesh] OR “Health care costs”[Mesh] OR “Direct service costs”[Mesh] OR “Drug costs”[Mesh] OR “Employer health costs”[Mesh] OR “Hospital costs”[Mesh] OR “Capital expenditures”[Mesh] OR “economics, hospital”[Mesh] OR “economics, medical”[Mesh] OR “Economics, nursing”[Mesh] OR “economics, pharmaceutical”[Mesh] OR “fees and charges”[Mesh] OR budgets[Mesh] OR cost[ti] OR costs[ti] OR econom*[Mesh] OR econom*[tiab] OR pharmacoeconom*[title] OR reimburs*[ti] OR finan*[title] OR funding[title] OR price*[title] OR pricing[title] OR budget*[title] OR econom*[sh]))) #5 (Observational Study [Publication Type] OR “Observational Studies as Topic”[Mesh] OR Cohort Studies[Mesh] OR Cohort* [title] OR Prospective Studies[Mesh] OR Prospective[title] OR Follow-Up Studies[Mesh] OR Follow-up[title] OR Longitudinal Studies[Mesh] OR Longitud*[title] OR multicenter Studies as Topic[Mesh] OR Correlation of Data[mesh] OR correlat*[tiab] OR comparative study[pt] OR “comparative study”[Title/Abstract] OR “comparative studies”[Title/Abstract] OR “comparative analysis”[Title/Abstract]))) #6 ((sensitiv*[Title/Abstract] OR sensitivity and specificity[MeSH Terms] OR diagnose[Title/Abstract] OR diagnosed[Title/Abstract] OR diagnoses[Title/Abstract] OR diagnosing[Title/Abstract] OR diagnosis[Title/Abstract] OR diagnostic[Title/Abstract] OR concordan*[Title/Abstract] OR diagnosis[MeSH:noexp] OR (diagnostic equipment[MeSH:noexp] OR diagnostic errors[MeSH:noexp] OR diagnostic imaging[MeSH:noexp] OR diagnostic services[MeSH:noexp]) OR diagnosis, differential[MeSH:noexp] OR diagnosis[Subheading:noexp]) AND (2008:2021[pdat]))))

Pubmed	#7 (Immunohistochemistry[Mesh] OR Immunohistochemistry[tiab] OR Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction[Mesh] OR "Reverse Transcriptase"[title] OR RT-PCR[tiab] OR qPCR[tiab] OR "Polymerase Chain Reaction"[MeSH Terms] OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction"[MeSH Terms] OR "Polymerase Chain Reaction"[Title/Abstract] OR PCR[Title/Abstract] OR (("real time"[Title] OR "rapid"[Title] OR "quantitative"[Title] OR "multiplex"[Title/Abstract] OR "Multiplex Polymerase Chain Reaction"[MeSH Terms] OR "broad-range"[Title/Abstract]) AND ("PCR"[Title] OR "polymeras*"[Title] OR "qPCR"[Title])) OR "In Situ Hybridization, Fluorescence"[Mesh] OR "fluorescence in situ hybridization"[tiab] OR FISH[tiab]OR Affymetrix[tiab] OR "Automated quantitative analysis"[tiab])) #1 AND (#2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6) AND #7 (N = 316 referencias totales) #1 AND (#2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6) AND #7 (N = 316 referencias totales)

Anexo 2. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión
• Indicaciones oncológicas (que no utilicen Prosigna™ para cáncer de mama) y no oncológicas. Población infantil, juvenil y adulta. • Estudios publicados entre 2015 y 2021. • Tecnología nCounter® Nanostring (excepto Prosigna™) • Tipo de diseño: ◦ Ensayos Clínicos Aleatorizados (ECA). ◦ Revisiones sistemáticas/meta-análisis de ECAs o de estudios de pruebas diagnósticas. ◦ Evaluaciones económicas. ◦ Estudios observacionales (ensayos de pruebas diagnósticas, entre otros).
Criterios de exclusión
• Estudios que usen la tecnología nCounter® en usos diferentes al diagnóstico, pronostico o tratamiento de la indicación de interés. • Los estudios que utilicen el ensayo Prosigna™, basado en la tecnología nCounter® para cáncer de mama. • Estudios con finalidad de investigación de nuevos biomarcadores. • Estudios que no presenten grupo comparador como control. • Estudios que no presenten los resultados de las variables de resultado de la intervención y el comparador por separado. • Estudios con muestras que no sean humanas. • Estudios escritos en otros idiomas diferentes al inglés, castellano y catalán.

Anexo 3. Diagrama de flujo de la selección de los estudios incluidos



Anexo 4. Evaluación de la calidad de la evidencia

Se evaluó el riesgo de sesgo de cada estudio para los dominios que se listan a continuación considerando, en cada caso, distintas preguntas orientativas:

1. Modo de selección de las muestras.
    a. ¿Las muestras fueron seleccionadas de forma aleatoria o conse¬cutiva?
    b. ¿Se evitaron exclusiones inapropiadas?
2. Interpretación de los resultados de la prueba índice (tecnología nCounter®).
    a. ¿Fueron los resultados de la prueba índice interpretados sin co¬nocimiento de los resultados de la prueba de referencia?
    b. Si se utilizó un umbral para definir los resultados positivos y ne¬gativos de la prueba índice, ¿fue especificado previamente?
3. Características de la prueba de referencia.
    a. ¿Es probable que la prueba de referencia valore correctamente la condición diana (presencia/ausencia de la enfermedad)?
    b. ¿Fueron los resultados de la prueba de referencia interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba índice?
4. Flujo y tiempos en relación al procesamiento de las muestras.
    a. ¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?
    b. ¿Fue aplicada en todas las muestras la misma prueba de referen¬cia?
    c. ¿Fueron todas las muestras incluidas en el análisis?

Para evaluar la aplicabilidad de cada estudio y si existe preocupación acerca de que el objetivo del estudio no coincida con la pregunta de revisión se tuvo en cuenta:

1. Si existe preocupación acerca de que la muestra del estudio sea ade¬cuada para responder la pregunta de revisión.
2. Si existe preocupación de que la ejecución de la prueba índice o su interpretación no coincidan con la pregunta de revisión.
3. Si hay preocupación de que la condición diana (diagnóstico de enfermedades oncológicas o no oncológicas), clasificada como tal a través de la prueba de referencia, difiera de la población a la cual estaba dirigida la pregun¬ta de revisión.

Cada uno de los dominios fue valorado de alto riesgo de sesgo/preocupación de aplicabilidad si la respuesta a una o más preguntas del subdominio fue negativa, de bajo riesgo si la respuesta a todas las preguntas de los subdominios fue afirmativa, o de riesgo incier¬to si no se disponía de información suficiente para emitir un juicio.

Anexo 5. Tablas de evidencia de los estudios incluidos

Tabla 5.1 Tablas de evidencia de los estudios incluidos en referencia a enfermedades oncológicas

Estudios que evaluaron la sensibilidad/especificidad, la concordancia y la correlación entre la tecnología nCounter® y los comparadores correspondientes. Se presenta la información referente al autor y año de publicación del artículo, la enfermedad de estudio, el tipo de muestra y el material analizado, el tamaño de la muestra (valor de la N), el comparador utilizado y los resultados de la validez diagnóstica. Todos los estudios son de tipo experimental y los usos son de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las diversas enfermedades.

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®	
							Sensibilidad	Especificidad
Luo et al	2017	Cáncer de mama	FFPE	ARNm (gen FGFR1)	N=138	FISH	95%	100%
Ahn et al	2016	Cáncer gástrico avanzado	Muestras frescas congeladas y FFPE	ADN genómico (ensayo de CNV para detectar amplificación de HER2)	N= 85 (muestras frescas congeladas) N= 135 (FFPE)	IHC y FISH	66,7% (general) 54,5% (muestras frescas congeladas) 80% (FFPE)	85,2% (general) 97,2% (muestras frescas congeladas) 78,4% (FFPE)
Kim et al	2015	Cáncer gástrico avanzado	FFPE	ARNm (EGFR, HER2, MET)	N=42	IHC	85,7 (EGFR) 100 (HER2) 100 (MET)	82,8 (EGFR) 97,2 (HER2) 100 (MET)
Akhter et al	2016	Leucemia mieloide aguda (LMA) y leucemia linfoblástica aguda (LLA)	FFPE	ARNm (tránscritos de fusión)	N=94	FISH	LMA: 100% (AML1-ETO) 100% (PML-RARA) 57% (CBFB-MYH11) LLA: 75% (TCF3-PBX1) 85% (MLL-AF4) 100% (BCR-ABL) 12% (ETV6-RUNX1)	LMA: 100% (AML1-ETO) 100% (PML-RARA) 100% (CBFB-MYH11) LLA: 100% (TCF3-PBX1) 100% (MLL-AF4) 100% (BCR-ABL) 92% (ETV6-RUNX1)
Hu et al	2016	Leucemia mieloide aguda	Médula ósea	ARNm	N=42	RT-qPCR	100%	100%

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®	
							Sensibilidad	Especificidad
Zhong et al	2019	Leucemia linfoblás-tica de células B	Aspirado de médula ósea o muestras de sangre periférica	ARNm (tránscritos de fusión)	N=26	RT-PCR	100%	99%
D'Arcy et al	2020	Meduloblastoma	FFPE	ARNm	N=156	IHC	91,5%	99,54%
Chang et al	2018	Sarcoma	FFPE	ARNm (tránscritos de fusión)	N=193	FISH y IHC (ini-cialmente) RT-PCR (comprobación)	96%	100%
Reguart et al	2017	Cáncer de pulmón avanzado de células no pequeñas	FFPE	ARNm (ALK, ROS1)	N=98	FISH, IHC y RT-qPCR	95% (ALK) (vs FISH) 100% (ALK) (vs IHC) 85,7% (ALK) (vs RT-qPCR) 70,4% (ROS1) (vs FISH) 77,8% (ROS1) (vs IHC)	84,9 (ALK) (vs FISH) 97,2% (ALK) (vs IHC) 85,7% (ALK) (vs RT-qPCR) 96,1% (ROS1) (vs FISH) 88,3% (ROS1) (vs IHC)
Ryall et al	2017	Glioma pediátrico de bajo grado	FFPE	ARNm (eventos de fusión/duplicado)	N=90	FISH	97%	98%

Concordancia

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®
							Concordancia
Hyeon et al	2017	Cáncer de mama	FFPE	ARNm (ER y PR)	N=240	RT-qPCR, IHC y FISH	82,1% (ER) 79,6% (PR)
Delmonico et al	2018	Cáncer de mama	FFPE	ARNm (325 tráns-critos)	N=10	Affymetrix GeneChip	Concordancia glogal: 70-80% genes
Ahn et al	2016	Cáncer gástrico avanzado	Muestras frescas congeladas y FFPE	ADN genómico (ensayo de CNV para detectar amplifica-ción de HER2)	N= 85 (mues-tras frescas congeladas) N= 135 (FFPE)	IHC y FISH	83,4% (general) 91,5% (muestras frescas congeladas) 78,5% (FFPE)
Kim et al	2015	Cáncer gástrico avanzado	FFPE	ARNm (EGFR, HER2, MET)	N=42	IHC	83,3% (EGFR) 97,6% (HER2) 100% (MET)
Evangelista et al	2017	Cáncer de pulmón	FFPE	ARNm (fusión ALK)	N=43	IHC y FISH	100%
Rogers et al	2017	Cáncer de pulmón	FFPE	ARNm (ALK, ROS1 y RET)	N=48	FISH	96% (ALK) 100% (ROS) 100% (RET)
Reguart et al	2017	Cáncer de pulmón avanzado de células no pequeñas	FFPE	ARNm (ALK, ROS1)	N=98	FISH, IHC y RT-PCR	87,5% (ALK) (vs FISH) 98,5% (ALK) (vs IHC) 85,7% (ALK) (vs RT-PCR) 87,2% (ROS1) (vs FISH) 85,9% (ROS1) (vs IHC)
Crotty et al	2020	Linfoma difuso de células B grandes	FFPE	ARNm	N=41	FusionPlex (pa-nel linfoma)	85,30%

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®
							Concordancia
Heydt et al	2019	Tumores sólidos	FFPE	ADN (reordenamiento ALK1)	N=19	FISH	47%
Kaur et al	2019	Meduloblastoma	FFPE	ARNm	N=95	IHC (suplemen-tado por FISH)	88,50%
Sheth et al	2018	Sarcoma	Muestras frescas congeladas y FFPE	ARNm	N=45	RT-PCR	100%
Hu et al	2016	Leucemia mieloide aguda	Médula ósea	ARNm	N=42	RT-qPCR	95,20%

Correlación

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®
							Correlación
Leal et al	2019	Cáncer de mama	FFPE	ARNm	N=16	IHC	ρ = 0.69–0.88 (p<0.001)
Franzen et al	2018	Cáncer de mama	Muestra de aspiración con aguja fina (FNA)	ARNm (ER, PR, HER2, Ki67)	N=58	IHC	0,889 (ER) 0,824 (PR) 0,733 (ERBB2) 0,465 (Ki67)
Schmidt et al	2020	Carcinoma de células escamosas en cuello y cabeza	FFPE	ARNm (38 genes)	N=327	RT-qPCR y Affymetrix GeneChip	0,84 (95% CI) (RT-qPCR) 0,67 (95% CI) (GeneChip)
Chen et al	2016	Cáncer de colon	FFPE (nCounter®) Muestras frescas congeladas (Microarray)	ARNm (34 genes relacionados)	No especificado	Affymetrix GeneChip	0,501 (95% CI)

FFPE: “formalin-fixed paraffin-embedded”, muestras fijadas con formalina e incluidas posteriormente en parafina

ARNm: ARN mensajero

IHC: inmunohistoquímica

RT-qPCR: Real time PCR o PCR a tiempo real

RT-PCR: retrotranscripción seguida de una PCR convencional

FISH: hibridación fluorescente in situ

CNV: variación de número de copias

Tabla 5.2 Tablas de evidencia de los estudios incluidos en referencia a enfermedades no oncológicas

Estudios que evaluaron la sensibilidad/especificidad, la concordancia y la correlación entre la tecnología nCounter® y los comparadores correspondientes. Se presenta la información referente al autor y año de publicación del artículo, la enfermedad de estudio, el tipo de muestra y el material analizado, el tamaño de la muestra (valor de la N), el comparador utilizado y los resultados de la validez diagnóstica. Todos los estudios son de tipo experimental y los usos son de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las diversas enfermedades.

Sensibilidad y especificidad

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®	
								Especificidad
Bouzas et al	2018	Infección respiratoria aguda pediátrica	Aspirado nasofaríngeo	ARNm (RSV A-B, virus sincitial respiratorio)	N=74	RT-qPCR	74,3% (RSV A) 77,6% (RSV B)	98,4% (RSV A) 97,8% (RSV B)

Concordancia

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®
							Concordancia
Bouzas et al	2018	Infección respiratoria aguda pediátrica	Aspirado nasofaríngeo	ARNm (RSV A-B, virus sincitial respiratorio)	N=74	RT-qPCR	95,2% (RSV A) 95,3% (RSV B)
Fukutani et al	2015	Infección respiratoria aguda pediátrica	Aspirado nasofaríngeo	ARNm (RSV A-B, virus sincitial respiratorio)	N=61	RT-qPCR	86,2% (kappa=0,231) (RSV A) 96,9% (kappa=0,82) (RSV B)
Ko et al	2017	Nódulos tiroideos indeterminados	FFPE	ARNm	N=31	RT-qPCR	k value=0,56 (p=0,002)

Correlación

Autor	Año	Enfermedad	Tipo muestra	Material analizado	N (muestras)	Comparador	Validez diagnóstica nCounter®
							Concordancia
Mommert et al	2020	Coronavirus disease 2019 (Covid19)	Serum/plasma	ARNm (interferón)	N=86	Plataforma FilmArray®	r=0,996
Bouzas et al	2018	Infección respiratoria aguda pediátrica	Aspirado nasofaríngeo	ARNm (RSV A-B, virus sincitial respiratorio)	N=74	RT-qPCR	r=0,44 (p=8x10-5) (RSV A) r=0,73 (p=3x10-12) (RSV B)
Pescarmona et al	2018	Interferonopatías	Sangre total	ARNm	N=111	RT-qPCR	R2=0,8698
Adam et al	2016	Rechazo de un aloinjerto mediado por anticuerpos	FFPE	ARNm (34 genes relacionados)	N=56	RT-qPCR	r=0,487 (p<0,001)
Gifford et al	2016	Fibrosis quística de pulmón	Muestras de esputos	ARNm (genes de Pseudomonas aeruginosa)	N=4	RNA-seq	R^2=0,83 (cepa FRD1) R^2=0,77 (cepa CI224_M)

FFPE: “formalin-fixed paraffin-embedded”, muestras fijadas con formalina e incluidas posteriormente en parafina

ARNm: ARN mensajero

IHC: inmunohistoquímica

RT-qPCR: Real time PCR o PCR a tiempo real

FISH: hibridación fluorescente in situ

CNV: variación de número de copias

Anexo 6. Estudios en marcha sobre nCounter®

Título del estudio	Estado	Enlace web
Feasibility Study Testing Transcriptional Responses as an Indicator of Individualised Responses to Radiation Effects	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02780375
Effect of Mepolizumab on Severe Eosinophilic Asthma	Not yet recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04641741
Gene Expression in Predicting Outcome in Samples From Patients With High-Risk Neuroblastoma	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT01520233
RANKL Inhibition and Breast Tissue Biomarkers	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03629717
Analysis of Transcriptomic Profile of Graft-versus-host Disease (GHVD) After Allogeneic Grafting of Hematopoietic Stem Cells	Unknown status	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03136757
Transcriptional Responses as an Indicator of Individualised Responses to Radiation Effects (RTGene 2)	Active, not recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03809377
Modulation of Immunity-related Gene Expression Under the Chinese Herbal Formula SS-1 Treatment for Sjögren's Syndrome	Unknown status	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02855658
Id-KLH Vaccine + T Cells in Subjects With Myeloma Undergoing Transplant	Completed (with results)	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT01426828
A Prospective Evaluation of the Peri-operative Hypoxia in Breast Cancer	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03797482

Título del estudio	Estado	Enlace web
A Window of Opportunity Trial of Intratumoral Injection of Copaxone® in Patients With Percutaneously Accessible Tumors	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03982212
Gender Differences and SNPs in Asthmatic Patients	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04567212
A Pilot Window-Of-Opportunity Study of the Anti-PD-1 Antibody Pembrolizumab in Patients With Resectable Malignant Pleural Mesothelioma	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02707666
Modulate Cellular Stress in the Immune Cells to Reduce Rate of Symptomatic Viral Infection	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04267809
Rate of Postoperative Delirium and Postoperative Cognitive Dysfunction After Spinal Anesthesia	Active, not recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03715244
Clock Genes in Patients With Refractory Septic Shock (SeptiClock) - Pilot Study	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02044575
MK-8237 (SCH900237) Biomarker Study in Participants With Allergic Rhinitis or Rhinoconjunctivitis (MK-8237-009)	Completed (with results)	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT01852825
AlloSure for the Monitoring of Antibody Mediated Processes After Kidney Transplantation	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04057742
Intratumoral Cavrotolimod Combined With Pembrolizumab or Cemiplimab in Patients With Merkel Cell Carcinoma, Cutaneous Squamous Cell Carcinoma, or Other Advanced Solid Tumors	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03684785
Safety, Tolerability and Pharmacokinetic Study of MRG-201 in Healthy Volunteers	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02603224

Título del estudio	Estado	Enlace web
The Effect of Melatonin in Patients With Low Anterior Resection Syndrome	Not yet recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05042700
Preoperative Endoscopic Treatment With Fosfomycin and Metronidazole in Patients With Right-sided Colon Cancer and Colon Adenoma (MEFO-trial)	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04312360
Testing the Effect of the Broccoli Seed and Sprout Extract, Avmacol ES, on the Cancer Causing Substances of Tobacco in Heavy Smokers	Not yet recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05121051
eValuatIon of The ALl New Environment for crlTicallY Ill Patients (VITALITY)	Completed	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02143661
Targeting PAM50 Her2-Enriched Phenotype With Enzalutamide in Hormone Receptor-Positive/Her2-Negative Metastatic Breast Cancer	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04142060
Predictive Biomarkers for Response to Nivolumab in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	Unknown status	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03652142
Elacestrant in Preoperative Setting, a Window of Opportunity Study	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04797728
Onapristone as Preoperative Treatment for Postmenopausal Women With Hormone Receptor + and HER2- Breast Cancer	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04142892
A Window of Opportunity Study of Pre-operative Endocrine Therapy With and Without Prometrium in Postmenopausal Women With Early Stage Breast Hormone Receptor Positive (HR+) Human Epidermal Receptor 2 Negative (HER2-) Breast Cancer.	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03906669
Onapristone and Anastrozole in Refractory Estrogen and Progesterone Positive Endometrial Cancer	Recruiting	https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04719273