



Conferencia de consenso

## Documento de consenso sobre la implementación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer<sup>☆</sup>

José Luis Soto<sup>a</sup>, Ignacio Blanco<sup>b</sup>, Orland Díez<sup>c</sup>, Javier García Planells<sup>d</sup>, Isabel Lorda<sup>e,f</sup>, Gert Matthijs<sup>g</sup>, Mercedes Robledo<sup>h,f</sup>, Erika Souche<sup>g</sup> y Conxi Lázaro<sup>i,\*</sup>

<sup>a</sup> Molecular Genetics Laboratory, Elche University General Hospital, Alicante Institute for Health and Biomedical Research, Alicante, Spain

<sup>b</sup> Clinical Genetics and Genetic Counseling Program, Germans Trias i Pujol Hospital, Can Ruti Campus, Badalona, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Area of Clinical and Molecular Genetics, University Hospital Vall d'Hebron, and Oncogenetics Group, Vall d'Hebron Institute of Oncology (VHIO), Barcelona, Spain

<sup>d</sup> Instituto de Medicina Genómica, Paterna, Valencia, España

<sup>e</sup> Department of Genetics, Instituto de Investigación Sanitaria-Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain

<sup>f</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII, Madrid, España

<sup>g</sup> Center for Human Genetics, KU Leuven, Gasthuisberg, Laboratory for Molecular Diagnosis. On behalf of the EuroGentest/ESHG working group on Diagnostic NGS, Leuven, Belgium

<sup>h</sup> Hereditary Endocrine Cancer Group, Spanish National Cancer Research Centre, Madrid, Spain

<sup>i</sup> Molecular Diagnostic Unit, Hereditary Cancer Program, IDIBELL-Catalan Institute of Oncology, L'Hospitalet del Llobregat, Barcelona, Spain

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 25 de septiembre de 2017

Aceptado el 14 de diciembre de 2017

On-line el xxx

#### Palabras clave:

NGS

Secuenciación masiva

Cáncer hereditario

Diagnóstico genético

Documento de consenso

### R E S U M E N

El diagnóstico genético de los síndromes de cáncer hereditario ofrece la oportunidad de establecer unas medidas de predicción/prevenión eficaces en el paciente y sus familiares que se traducen en una disminución de la morbimortalidad por cáncer en las familias de alto riesgo genético. La secuenciación masiva (NGS) ofrece una considerable mejora de la eficiencia del diagnóstico genético, permitiendo un aumento del rendimiento diagnóstico con una reducción sustancial del tiempo de respuesta y costes económicos. En consecuencia, la implementación de esta nueva tecnología es una gran oportunidad de mejora en el manejo clínico de las familias afectas.

El objetivo de la presente guía es establecer un marco de recomendaciones útiles para una implementación planificada y controlada de la NGS en el contexto de la predisposición hereditaria a cáncer, que permita potenciar las fortalezas y oportunidades que ofrece dicha tecnología y minimizar las debilidades y amenazas que puedan derivarse de su uso.

Está inspirada en las recomendaciones de sociedades internacionales, habiendo sido adaptada a nuestro entorno, y teniendo en cuenta aspectos coyunturales a nivel organizativo y biojurídico.

Se aportan 41 declaraciones agrupadas en 6 apartados: utilidad clínica y diagnóstica, consentimiento informado y asesoramiento genético pretest y posttest, validación de los procedimientos analíticos, informe de resultados, gestión de la información y distinción entre ámbito de investigación y ámbito asistencial.

Esta guía ha sido elaborada por la Asociación Española de Genética Humana (AEGH), la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML) y la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

© 2018 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

<sup>☆</sup> Asociación Española de Genética Humana (AEGH), Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML) y Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: clazaro@iconcologia.net (C. Lázaro).

## Consensus document on the implementation of next generation sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer

### A B S T R A C T

#### Keywords:

NGS  
Next generation sequencing  
Hereditary cancer  
Genetic diagnosis  
Consensus document

Genetic diagnosis of hereditary cancer syndromes offers the opportunity to establish more effective predictive and preventive measures for the patient and their families. The ultimate objective is to decrease cancer morbidity and mortality in high genetic risk families. Next Generation Sequencing (NGS) offers an important improvement in the efficiency of genetic diagnosis, allowing an increase in diagnostic yield with a substantial reduction in response times and economic costs. Consequently, the implementation of this new technology is a great opportunity for improvement in the clinical management of affected families.

The aim of these guidelines is to establish a framework of useful recommendations for planned and controlled implementation of NGS in the context of hereditary cancer. These will help to consolidate the strengths and opportunities offered by this technology, and minimise the weaknesses and threats which may derive from its use.

The recommendations of international societies have been adapted to our environment, taking the Spanish context into account at organisational and juridical levels.

Forty-one statements are grouped under six headings: clinical and diagnostic utility, informed consent and genetic counselling pre-test and post-test, validation of analytical procedures, results report, management of information and distinction between research and clinical context.

This guide has been developed by the Spanish Association of Human Genetics (AEGH), the Spanish Society of Laboratory Medicine (SEQC-ML) and the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM).

© 2018 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción

Entre un 5-10% de todos los cánceres presentan un componente hereditario de alta penetrancia como consecuencia de mutaciones germinales en genes responsables de los síndromes de predisposición hereditaria. El diagnóstico genético de dichos síndromes ofrece la oportunidad de establecer unas medidas de predicción eficaces en el paciente y sus familiares que se traducen en una disminución de la morbimortalidad por cáncer en las familias con alto riesgo genético.

En España, los estudios genéticos realizados en el contexto del cáncer hereditario se amparan en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 de 3 de julio. En dicha ley se establece que cualquier análisis genético diagnóstico se debe hacer por prescripción médica y, antes de llevarlo a cabo, los pacientes o individuos a estudiar deben recibir un asesoramiento genético pretest que incluya la información adecuada sobre el síndrome de sospecha, en qué consiste el estudio genético, cuáles son los posibles resultados esperados y su significado. Tras ser debidamente informados, deberán firmar su consentimiento para que se pueda proceder al estudio genético. Dichos estudios deben ser efectuados por profesionales cualificados en laboratorios debidamente autorizados y acreditados por las autoridades competentes. La entrega de resultados al paciente se ha de realizar en el contexto de un asesoramiento genético postest.

Las técnicas de diagnóstico genético aplicadas al campo del cáncer hereditario se centran en el análisis de alteraciones genéticas en línea germinal (mutaciones puntuales y grandes reordenamientos) en aquellos genes responsables de los síndromes de sospecha.

La tecnología utilizada durante unos 25 años y que todavía hoy se considera *gold standard* es la secuenciación Sanger. El desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva o de nueva generación (*next generation sequencing* [NGS]) está suponiendo un importante punto de inflexión en el diagnóstico genético en general. La NGS permite la secuenciación rápida de miles de millones de pares de bases de DNA de un individuo. El rápido desarrollo y el gran éxito de estas tecnologías en la investigación anuncian una nueva era en el diagnóstico genético. Esta tecnología ofrece una

mejora importante de la eficiencia, permitiendo un aumento del rendimiento del análisis con una reducción sustancial del tiempo de respuesta y costes económicos. La gran capacidad de análisis de estos nuevos sistemas hace posible el estudio simultáneo de amplios paneles de genes, exomas e incluso genomas completos.

Las nuevas tecnologías plantean nuevos retos, tanto a nivel técnico como en el manejo de datos, en la interpretación de los resultados y en el asesoramiento genético. Para la implementación de la NGS en el diagnóstico asistencial deben tenerse en cuenta muchos aspectos importantes y este es precisamente el propósito del presente documento.

Esta guía ha sido elaborada por la Asociación Española de Genética Humana (AEGH), la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML) y la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

## Alcance y objetivo

La presente guía está dirigida al diagnóstico genético de síndromes de predisposición hereditaria a cáncer mediante tecnología NGS, bien a través del estudio de paneles de genes, bien a través de la captura específica de dichos genes, o bien extrayendo los resultados del panel de genes de interés del análisis de exomas completos.

Aunque una gran parte de las recomendaciones que se recogen en el presente documento pueden ser de aplicación más general y útiles para cualquier enfermedad congénita monogénica, algunos de los planteamientos o recomendaciones que aquí se presentan pueden ser válidos únicamente para cáncer hereditario, y no ser extrapolables a otras enfermedades monogénicas congénitas por precisar de un manejo más específico.

El objetivo de la presente guía es establecer un marco de recomendaciones útiles para una implementación planificada y controlada de la NGS en el contexto de la predisposición hereditaria a cáncer, que permita potenciar las fortalezas y oportunidades que ofrece dicha tecnología y minimizar las debilidades y amenazas que puedan derivarse de su uso.

## Metodología

### Sistemática para la elaboración, revisión, aceptación y actualización de la guía

La propuesta inicial para la elaboración del presente documento partió de la Comisión de Cáncer Hereditario de la AEGH, que fue presentada a la junta directiva de dicha sociedad. La propuesta fue aprobada y se nombró como coordinadores de la elaboración del documento a la persona de enlace de la junta directiva con la Comisión de Cáncer Hereditario y al presidente de dicha comisión. Se acordó conformar un grupo operativo con un número reducido de expertos para la elaboración de un primer borrador. En dicho grupo (autores firmantes del documento) están representados profesionales de las vertientes de laboratorio y de la clínica, así como de las sociedades profesionales más directamente interesadas, a saber, AEGH, SEQC-ML y SEOM. Los coordinadores expusieron al grupo de expertos los objetivos del documento. Se revisaron las guías internacionales disponibles<sup>1-6</sup> y se hizo una revisión bibliográfica mediante herramientas de búsqueda de bibliografía indexada (PubMed) para cada uno de los apartados a considerar. Se acordó elaborar una guía inspirada principalmente en las recomendaciones de la *European Society of Human Genetics* (ESHG)<sup>1</sup> adaptándola a nuestro entorno y considerando los aspectos coyunturales a nivel organizativo y biojurídico. Nuestros colegas, los autores de la guía europea de la ESHG, fueron informados de este proyecto, celebraron la iniciativa y accedieron a colaborar. Se realizaron varias reuniones por teleconferencia de todo el grupo en la fase inicial de diseño y organización, y en la fase final de edición del documento. Durante todo el proceso, hubo una comunicación fluida por correo electrónico. Toda la información, documentos y bibliografía de interés, se guardaba en un disco duro virtual al que todo el grupo tenía acceso. Las recomendaciones finales fueron revisadas, discutidas y consensuadas por el grupo de expertos. El primer borrador fue distribuido a las juntas directivas de la Sección de Cáncer Hereditario de la SEOM, la Comisión de Genética de la SEQC-ML y la Comisión de Cáncer Hereditario de la AEGH, como revisores externos, para su valoración. Tras incluir las consideraciones y sugerencias recibidas, el documento fue aceptado por las 3 sociedades.

Tras la edición final del documento de consenso, se envió el documento a 3 expertos externos, según el protocolo AGREE II como herramienta que evalúa el rigor metodológico y la transparencia con la cual ha sido elaborada la guía (<http://www.agreertrust.org>)<sup>7</sup>. Los 3 expertos evaluaron la guía y remitieron sus observaciones a la coordinación de la misma. Finalmente, el documento definitivo fue revisado de nuevo por el grupo de trabajo y remitido a los expertos para su aceptación final. La metodología de la evaluación externa, y los resultados de esta, vienen detallados en el [anexo \(material suplementario 1\)](#) disponible en la web. Las sociedades AEGH, SEOM y SEQC-ML se encargarán de la difusión de la guía publicada a todos sus socios y profesionales del sector. Asimismo, el documento estará accesible en las páginas web de las respectivas sociedades.

### Población y profesionales a quienes va dirigida la guía

La presente guía pretende ser una herramienta de utilidad para los profesionales sanitarios implicados en el proceso de diagnóstico genético de pacientes con sospecha de padecer síndromes de predisposición hereditaria a cáncer mediante la tecnología NGS (principalmente genetistas moleculares y clínicos, y asesores genéticos en cáncer hereditario).

Esta herramienta proyecta su servicio hacia un mayor rendimiento del diagnóstico genético garantizando un uso razonable de la tecnología NGS y los niveles de calidad exigibles en los procedimientos diagnósticos. Como consecuencia, esta guía impacta

directamente en los pacientes y las familias con síndromes de cáncer hereditario. Globalmente se considera que entre un 5-10% de todos los cánceres tienen un componente hereditario de alta penetrancia. Considerando la predicción de la incidencia de cáncer en España para el año 2015 —unos 227.076 casos<sup>8</sup>— significaría que entre 11.353 y 22.707 de estos nuevos casos podrían tener un origen hereditario.

La gran mayoría de estos síndromes son considerados enfermedades raras (afectan a menos de 5 de cada 10.000 habitantes), si bien síndromes como el de mama y ovario hereditario o el síndrome de Lynch tienen una incidencia mucho mayor. Estos síndromes se están convirtiendo en el paradigma de la medicina predictiva, preventiva y personalizada o medicina de precisión.

Información detallada sobre los síndromes hereditarios de predisposición a cáncer que pueden ser diagnosticados genéticamente puede encontrarse en GeneReviews (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>)<sup>9</sup>, Orphanet (<http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease.php?lng=ES>)<sup>10</sup> y Lindor et al., 2008<sup>11</sup>.

### Revisión y actualización de la guía

La sistemática planificada para la actualización de la guía implica la revisión anual desde la publicación de la misma y su actualización, en caso de considerarse necesario. En tal caso, el grupo de trabajo abordará la actualización con la misma sistemática seguida en la elaboración del documento original, incluyendo la revisión externa por las comisiones/secciones relacionadas con cáncer hereditario de las sociedades profesionales.

### Estructura de la guía y niveles de evidencia

Si bien el uso de la NGS en el diagnóstico genético en general, y en el cáncer hereditario en particular, viene avalado por un nivel de evidencia científica considerable y creciente, para su correcta implementación es necesario tener en consideración una serie de aspectos, tanto a nivel bioético y organizativo como técnico y de asesoramiento, con objeto de minimizar y controlar las limitaciones inherentes a este nuevo sistema tecnológico. Limitaciones, como pueden ser los aspectos relacionados con la calidad analítica, la interpretación de las variantes genéticas o los hallazgos incidentales.

Existe un buen número de estudios, tanto retrospectivos como prospectivos, que evidencian que el uso de la NGS proporciona un mayor rendimiento diagnóstico en cáncer hereditario con unos costes económicos y en tiempo considerablemente más reducidos que los que ofrece la técnica Sanger considerada como *gold standard*<sup>12-14</sup>. Utilizando la clasificación propuesta por el Centro de Medicina Basada en la Evidencia de Oxford para aspectos relacionados con el diagnóstico (<http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>)<sup>15</sup>, podemos indicar que nos encontramos con un grado de recomendación A, nivel de evidencia 1 c. Es decir, se trata de pruebas diagnósticas con especificidad tan alta que un resultado positivo confirma el diagnóstico, y con sensibilidad tan alta que un resultado negativo puede descartar el diagnóstico.

En el presente documento de consenso se aportan un total de 41 declaraciones agrupadas en 6 apartados:

- 1) Utilidad clínica y diagnóstica.
- 2) Consentimiento informado y asesoramiento genético pretest y postest.
- 3) Validación de los procedimientos analíticos.
- 4) Informe de resultados.
- 5) Gestión de la información.

## 6) Distinción entre ámbito de investigación y ámbito asistencial.

La mayor parte de las declaraciones relacionadas con el consentimiento informado y el asesoramiento genético presentan, en general, un nivel de evidencia 2 y un grado de recomendación B. Los apartados sobre gestión de la información y la distinción entre los ámbitos asistencial y de investigación son difícilmente valorables en términos de evidencia científica medible por los criterios OCBM, por lo que se han considerado como fruto de la recomendación de expertos (nivel de evidencia 5 y grado de recomendación D). Los detalles sobre la clasificación de los niveles de evidencia y grado de recomendación de cada una de las declaraciones vertidas en el documento vienen detallados en el material suplementario 2 del [anexo](#) disponible en la web.

### Utilidad clínica y diagnóstica

**Declaración 01:** *La NGS no debe ser transferida a la práctica clínica sin una validación aceptable de acuerdo con las guías. El nivel de rigor y exigencia deseable en la validación debe ser el establecido por la norma ISO 15189 o similar.*

El desarrollo y aplicación de las nuevas tecnologías en el diagnóstico supone un proceso complejo con importantes implicaciones y dificultades que van mucho más allá de la propia complejidad de la técnica en sí. Los elementos claves para garantizar el éxito del uso de una nueva tecnología en el diagnóstico vienen detallados en el marco ACCE: validación analítica, validación clínica, utilidad clínica y la consideración de las implicaciones éticas y legales del propio test<sup>16</sup>. Se requiere de un proceso documentado de validación o verificación analíticas de cada test por parte del laboratorio antes de su uso diagnóstico<sup>17</sup>. Este procedimiento debe quedar registrado en un informe de validación en el que se refleje claramente el objetivo del test, su validez analítica incluyendo la sensibilidad y especificidad obtenidas en el proceso de validación y sus límites de detección. Las evidencias científicas sobre la validación clínica y utilidad clínica del análisis por NGS deben quedar recogidas en el procedimiento de trabajo.

**Declaración 02:** *El laboratorio debe especificar si la prueba que ofrece puede ser usada para excluir o confirmar un diagnóstico.*

El objetivo del estudio diagnóstico —confirmación o exclusión de una sospecha diagnóstica— debe estar previamente definido en cada prueba. La distinción entre ambos objetivos depende de la amplitud de alcance de la prueba y ofrece una visión diferente sobre el diagnóstico. En la mayoría de situaciones en el ámbito de la predisposición hereditaria a cáncer, los estudios diagnósticos que se realizan tienen como objetivo la confirmación de un diagnóstico de sospecha clínica cuando se trata de casos índices.

**Declaración 03:** *El objetivo y la utilidad del estudio genético debe ser definido al comienzo de la validación y debe incluirse un resumen del mismo en el correspondiente informe de validación.*

La implementación de la NGS ofrece la oportunidad del análisis simultáneo de un gran número de genes en un tiempo reducido y con unos costes cada vez más bajos, lo que permite, en definitiva, una mayor eficiencia y rendimiento diagnósticos. Pero esta tecnología tan potente también presenta algunas limitaciones técnicas que deben tenerse en cuenta, especialmente en su uso diagnóstico, ya que van a afectar sustancialmente a la sensibilidad y especificidad de la prueba. Algunas de estas limitaciones de la NGS dependen de diversos factores que afectan a todo el proceso, como la plataforma de secuenciación, los métodos de enriquecimiento de las regiones de interés, la generación de librerías, el procesado y análisis bioinformático, etc. Estos aspectos deben abordarse en el diseño inicial

del proceso, así como plantearse posibles pruebas complementarias o confirmatorias adicionales que pudieran ser requeridas para alcanzar el objetivo final del proceso diagnóstico.

En la validación del proceso analítico con NGS se debe definir el alcance de dicho proceso. Actualmente, el alcance más frecuentemente utilizado en nuestro entorno es la utilización de NGS como método de cribado de SNV (*single nucleotide variation*) o indel (pequeñas inserciones-delecciones), para su posterior confirmación con secuenciación Sanger. La utilización de NGS como cribado de grandes reordenamientos y posterior confirmación con técnicas alternativas (MLPA, RT-PCR, aCGH. . .) está siendo incorporada de una forma creciente. El uso actual de la NGS como método diagnóstico, sin precisar de confirmación con técnicas alternativas, es poco habitual. No obstante, se observa una clara tendencia hacia dicho fin.

**Declaración 04:** *El rendimiento diagnóstico debe ser considerado como primer indicador para la introducción de la NGS en el diagnóstico.*

El rendimiento diagnóstico se define como la probabilidad de detectar variantes genéticas causantes de la enfermedad en una cohorte de pacientes. Desde el punto de vista clínico, el rendimiento diagnóstico puede ser un buen indicador de la eficiencia de la prueba y su utilidad clínica. El considerable solapamiento fenotípico entre algunos de los síndromes de predisposición hereditaria a cáncer hace recomendable el uso de paneles de genes lo suficientemente amplios para incrementar el rendimiento diagnóstico, incluyendo los genes responsables de aquellos síndromes que pueden estar clínicamente relacionados.

**Declaración 05:** *Para uso diagnóstico, solamente deberían incluirse en el análisis los genes con una suficiente evidencia científica de la asociación entre un genotipo alterado y la patología.*

Actualmente, en la práctica, los laboratorios de diagnóstico genético ofrecen preferentemente paneles de genes. Los criterios y niveles de evidencia para la inclusión de un gen en estos paneles deben estar previamente definidos y documentados. Los criterios de selección deben ser consensuados por un equipo multidisciplinar experto. Desde el punto de vista de la igualdad de acceso a los recursos sanitarios, los estudios genéticos que se ofrecen al paciente deberían ser uniformes y lo más similares posibles a los de nivel europeo. Sería muy recomendable hacer un esfuerzo coordinado desde el sistema nacional de salud para la homogenización, regularización y normalización de este nuevo escenario que se plantea con la incorporación de la NGS en el diagnóstico.

**Declaración 06:** *El listado de genes para un síndrome determinado debe ser establecido por expertos clínicos y de laboratorio.*

Para la mayoría de síndromes de predisposición hereditaria a cáncer existen uno o varios genes responsables conocidos que explican la mayoría de casos con diagnóstico genético de dicho síndrome. El laboratorio debe establecer un procedimiento de revisión, selección y priorización de genes con base en unos criterios de evidencia y confianza que deberá dejar documentados. El análisis de otros genes adicionales seleccionados para incrementar el rendimiento diagnóstico no debe comprometer la sensibilidad diagnóstica de los genes principales relacionados con el síndrome en cuestión. En el diseño del panel de genes es importante también tener en cuenta la gran limitación que supone el análisis por NGS de los genes que tienen pseudogenes, como por ejemplo *PMS2* o *NF1*. El abordaje de estos genes requiere de una estrategia especial para garantizar la calidad del resultado.

**Declaración 07:** *Un sistema de calificación simple, basado en la cobertura y el rendimiento diagnóstico, permite la comparación de la oferta de pruebas de diagnóstico entre diferentes laboratorios.*

La mayoría de los sistemas utilizados para la captura y enriquecimiento de las regiones genómicas de interés no tienen una eficiencia del 100%. El porcentaje de región no analizada o *gaps* puede variar considerablemente en función de distintas variables, como pueden ser el gen o la región genómica analizada, el sistema de enriquecimiento utilizado, la cobertura media de secuenciación, el tipo de librería o el procedimiento de análisis bioinformático utilizado.

Con el objetivo de poder comparar los diferentes test ofrecidos para poder elegir aquel que proporcione un mayor rendimiento diagnóstico, cada laboratorio debe definir una serie de especificaciones técnicas de cada uno de sus test.

- Diseño (criterio y evidencias).
- Tecnología de enriquecimiento utilizada y elaboración de librerías.
- Tecnología de secuenciación.
- Profundidad (cobertura vertical) de secuenciación media (o mínima si fuera posible).
- Rendimiento diagnóstico estimado para cada gen o región analizada con base en la profundidad de secuenciación utilizada y si es posible:
  - Porcentaje de cada gen representado (cobertura horizontal).
  - Descripción de las regiones no cubiertas (*gaps*) y su gestión.
- Procedimiento bioinformático utilizado.
- Algoritmo de clasificación y priorización de variantes.
- Tipo de información incluida en el informe.

El informe debe recoger los parámetros reales obtenidos para cada una de estas características.

Sobre la base de estos criterios, las recomendaciones europeas<sup>1</sup> proponen una clasificación de los test basados en NGS en 3 grandes grupos según el alcance analítico del estudio ofrecido. Aunque consideramos que se trata de una clasificación de difícil aplicación práctica, sí puede servir como una referencia para ayudar a la hora de la toma de decisiones entre un grupo u otro de test.

Estos grupos son los siguientes:

- Test del grupo A: el test garantiza un nivel de detección de variantes genéticas del 100% en las regiones de interés definidas (normalmente regiones codificantes y uniones intrón-exón de los genes incluidos). Para ello puede utilizar estrategias basadas en amplicones, una optimización de sistemas de enriquecimiento o estrategias mixtas cubriendo los *gaps* conocidos o que no cumplan con los requisitos de calidad exigidos mediante secuenciación Sanger.
- Test del grupo B: el test permite analizar las regiones de interés con una fiabilidad superior al 99% y completa algunos de los fragmentos de secuencia no cubiertos con secuenciación Sanger u otra tecnología complementaria.
- Test del grupo C: el test proporciona el rendimiento propio de la aplicación de NGS utilizada. Las regiones no cubiertas no son analizadas mediante técnicas complementarias.

### Consentimiento informado y asesoramiento genético pretest y postest

Declaración 08: *El laboratorio debe proveer al clínico para cada estudio NGS solicitado lo siguiente: a) las enfermedades que se abordan en el alcance del estudio, b) el listado de genes que se analizan, c) la cobertura del estudio en las regiones de interés, d) la sensibilidad y especificidad analíticas, e) el tipo de resultados (tipos de variantes) que se van a reportar y f) las enfermedades no relacionadas con el fenotipo clínico del paciente y que podrían estar causadas por variantes patogénicas en los genes analizados.*

Las implicaciones de un estudio basado en NGS dependen de muchos factores (diseño, procedimientos, plataformas, análisis bioinformático, etc.). Por lo tanto, es importante que el clínico solicitante del estudio sea informado en detalle sobre las limitaciones y los posibles resultados imprevistos que puedan derivarse del estudio.

Declaración 09: *Los laboratorios diagnósticos deben establecer una estrategia en el análisis de los resultados exclusivamente dirigida al gen o panel de genes relacionados con la indicación del estudio, con objeto de minimizar la posibilidad de hallazgos incidentales.*

La posibilidad de encontrar hallazgos incidentales en los estudios NGS con la detección de alteraciones patogénicas en genes no relacionados con la enfermedad motivo del estudio debe gestionarse debidamente.

Declaración 10: *En el asesoramiento pretest se debe aportar información sobre la posibilidad de hallazgos incidentales que impliquen tanto mutaciones de alta penetrancia, no directamente relacionadas con sus antecedentes personales o familiares, como el estatus de portador sano de variantes asociadas a enfermedades recesivas.*

La probabilidad de detectar hallazgos incidentales en un panel de genes depende de los genes estudiados. En ocasiones puede ser muy difícil, o incluso imposible, considerar de forma individualizada cada uno de los genes incluidos en un panel. En estos casos se recomienda una discusión agrupada de los genes según los síndromes de alta penetrancia que van a poder ser evaluados y los riesgos asociados si se detectan variantes genéticas deletéreas. Debe ofrecerse información suficiente para que los pacientes puedan entender y ser conscientes de la posible detección de mutaciones de alta penetrancia no sugeridas por sus antecedentes personales o familiares (hallazgos incidentales). Además, se pueden detectar mutaciones en heterocigosis en genes responsables de patologías con herencia recesiva (portadores sanos). Esto tiene trascendencia en el asesoramiento genético reproductivo.

Declaración 11: *La institución debe tener la logística necesaria para cubrir las necesidades que se derivan de ofrecer el derecho a saber y no saber sobre los hallazgos incidentales y el estatus de portador heterocigoto.*

Antes de implementar un estudio genético basado en NGS, el centro clínico debe tener un protocolo establecido para el manejo de hallazgos incidentales, que debe ser aprobado por un comité de ética. El paciente tiene el derecho a saber o no saber los resultados del estudio genético más allá del resultado que promovió la indicación inicial del estudio. Además, el protocolo debe recoger si debe informarse del estatus de portador sano de una alteración responsable de una enfermedad recesiva. El laboratorio debe ser capaz de manejar las diferentes opciones ofrecidas.

Declaración 12: *La política sobre la comunicación de hallazgos incidentales y no solicitados debe quedar clara para el paciente y quedar reflejada en el consentimiento informado.*

El asesoramiento genético pretest debe incluir una discusión e información adecuada sobre los resultados esperados incluyendo los potenciales hallazgos inesperados o secundarios. El consentimiento informado debe incluir si el paciente quiere ser informado de aquellos resultados no directamente relacionados con el motivo diagnóstico (hallazgos inesperados o incidentales), así como de los resultados de los posibles re-análisis de sus datos con base en avances científicos.

Declaración 13: *En el asesoramiento pretest se debe aportar la información sobre la posibilidad de hallazgos cuyas implicaciones clínicas estén en proceso de definirse.*

Con el uso de paneles de múltiples genes, existe la posibilidad de identificar variantes genéticas deletéreas en genes de penetrancia menos conocida o en genes de penetrancia baja o moderada, cuyas implicaciones clínicas y protocolos de seguimiento no estén totalmente definidos.

**Declaración 14:** *La identificación de una variante patogénica tiene implicaciones diversas, personales y familiares, que deben ser consideradas con los pacientes en el asesoramiento genético.*

Tras el estudio genético pueden obtenerse 3 tipos de resultados que han de ser explicados previamente a la realización del test: a) la identificación de una alteración deletérea responsable del cuadro clínico, b) la ausencia de detección de alteraciones deletéreas y c) la identificación de variantes genéticas de significado incierto.

Si en el estudio genético se identifica una alteración deletérea responsable del cuadro clínico, en el asesoramiento posterior deben discutirse: a) las implicaciones personales del hallazgo, que incluyen compartir los resultados con los médicos responsables de la atención sanitaria del paciente y asegurar un adecuado seguimiento clínico; b) las implicaciones familiares, remarcando la importancia de compartir los resultados de las pruebas genéticas y genómicas con los familiares en riesgo para que puedan beneficiarse de esta información.

**Declaración 15:** *Ante la ausencia de detección de una variante causal o la identificación de variantes de significado incierto, deben establecerse las pautas de revisión de dicho resultado (reclasificación de variantes, ampliación de test, etc.), e incluirse en el asesoramiento genético.*

Si el análisis no ha detectado ninguna variante patogénica o solamente variantes genéticas de significado incierto, deben discutirse las limitaciones actuales del test y establecer una pauta de seguimiento clínico basada en los datos clínicos personales y familiares. Asimismo, deben establecerse plazos de revisión para valorar la posible reclasificación de las variantes de significado clínico incierto, o la necesidad de ampliar el estudio genético si aparecen nuevas asociaciones de los genes del panel con las patologías personales o familiares. Es importante que quede definido quién debe ser el responsable de pautar dichas revisiones.

**Declaración 16:** *Es recomendable proporcionar al paciente información escrita o acceso a fuentes fidedignas de información en la web.*

Un paciente bien informado facilita y mejora el proceso del asesoramiento genético, garantizando una mayor implicación y participación. Es importante, por lo tanto, proporcionar al paciente el acceso a fuentes de información rigurosas y fiables, así como el contacto con asociaciones de pacientes que pueden suponer un apoyo más allá de la cobertura asistencial.

## Validación de los procedimientos analíticos

**Declaración 17:** *Todas las medidas de calidad en NGS utilizadas en los procedimientos de diagnóstico deben estar descritas con precisión.*

En el ámbito del diagnóstico, solo deben analizarse las muestras cuyo resultado de NGS sea de buena calidad. Por lo tanto, es esencial establecer los criterios para definir una alta calidad en el análisis de paneles de genes, exomas y genomas. La calidad de un resultado NGS depende de una combinación de muchos factores, como el número de lecturas obtenidas en el ensayo, la proporción de regiones duplicadas y la cobertura.

**Declaración 18:** *El laboratorio de diagnóstico debe generar una base de datos estructurada con las medidas de calidad relevantes*

*en relación con a) la plataforma de análisis, b) todos los análisis, y c) todas las muestras procesadas.*

La tecnología NGS requiere la supervisión de las características específicas de carrera y análisis de las muestras. No es necesaria la comunicación de los datos de monitorización del proceso en el informe, pero deben utilizarse para una revisión y validación continuada interna del laboratorio.

**Declaración 19:** *Para la evaluación del ensayo y la validación de la plataforma se deben considerar aspectos relacionados con la trazabilidad de muestras, como el uso de códigos de barras para su identificación.*

Debe utilizarse un método de trazabilidad de la muestra, ya que los flujos de trabajo en NGS son muy complejos y comprenden múltiples etapas de procesamiento, tanto en el laboratorio como durante el análisis informático.

**Declaración 20:** *La medida de la exactitud y la precisión deben formar parte de la validación general de la plataforma, y no es necesaria su repetición en pruebas individuales.*

En la validación de la plataforma, el laboratorio tiene que asegurarse de que todos sus aparatos y reactivos satisfacen los requisitos de los fabricantes. Durante el desarrollo de las pruebas y análisis de datos deben identificarse y tenerse en cuenta las limitaciones de cada tecnología. En la validación, se debe distinguir entre los aspectos relacionados con la plataforma, con la prueba específica, o el procedimiento de análisis de datos.

**Declaración 21:** *El procedimiento bioinformático debe adaptarse a la plataforma técnica utilizada.*

Evidentemente, todas las tecnologías de secuenciación presentan fortalezas y debilidades, y las herramientas bioinformáticas deben reflejar estas características.

**Declaración 22:** *La sensibilidad y especificidad analíticas deben establecerse por separado para cada tipo de variante durante la validación del pipeline.*

Durante su validación deben medirse las especificaciones del protocolo de diagnóstico, mediante la evaluación de la sensibilidad y especificidad analíticas. Por ejemplo, los algoritmos optimizados para la detección de SNP son menos precisos para pequeñas inserciones o deleciones. El laboratorio debe demostrar que conoce estas peculiaridades y que los protocolos para la detección de variantes se comprueban de manera adecuada.

**Declaración 23:** *El laboratorio de diagnóstico debe validar todos los pasos del procedimiento bioinformático (herramientas de dominio público o paquetes comerciales de software) con los conjuntos de datos estándar cada vez que se implementen nuevas versiones.*

Cualquier cambio en la química, los protocolos de enriquecimiento, o de análisis bioinformático requiere de una nueva validación.

**Declaración 24:** *El laboratorio de diagnóstico debe utilizar una base de datos estructurada para todas las variantes relevantes con anotaciones actualizadas.*

Una base de datos propia de cada laboratorio que contenga todas las variantes relevantes proporciona una herramienta de gran utilidad para identificar artefactos específicos de la plataforma, realizar seguimientos de resultados de la validación, y proporcionar un enlace web/servidor para acceder a bases de datos específicas de loci y a metaanálisis. Estas bases de datos pueden permitir posteriores anotaciones (por ejemplo, detección de falsos positivos, mutaciones publicadas, variantes que cosegregan, etc.), que agilizan el proceso diagnóstico.

**Declaración 25:** El laboratorio de diagnóstico tiene que tomar medidas para resolver el almacenamiento a largo plazo de todos los conjuntos de datos relevantes.

El almacenamiento de datos debe hacerse en archivos de formatos estándar FASTQ, BAM y VCF, que también pueden utilizarse para el intercambio de datos con otros laboratorios. Los resultados del análisis deben almacenarse junto con el historial de procesos que han dado lugar a dichos resultados. Este historial debe ser lo más completo posible, permitiendo así la reproducibilidad de los análisis bioinformáticos desde archivos FASTQ. Desafortunadamente, todavía no existe un consenso internacional sobre la información que debería almacenarse. Sin embargo, el almacenamiento debe estar en consonancia con las políticas sanitarias sobre almacenamiento de la información y el sentido común.

**Declaración 26:** En cada estudio, debe definirse la cobertura obtenida en las regiones de interés estudiadas, en las que puedan identificarse variantes cumpliendo los criterios de calidad establecidos. Esta información sobre el nivel de cobertura en las regiones de interés debe estar a disposición del clínico en el informe de resultados, o bien en registros digitales accesibles, de forma que pueda ser valorado el nivel de incertidumbre del estudio.

Antes de iniciar cualquier análisis, debe definirse la región de interés a secuenciar para cada gen (objetivo clínico a estudiar), es decir, todas las regiones codificantes y los sitios de *splicing* conservados. El objetivo clínico depende de la prueba diagnóstica y del panel de genes previamente definido.

**Declaración 27:** Los requisitos de la amplitud del informe dependen del objetivo del análisis.

Por ejemplo, la secuenciación del exoma con el objetivo de lograr un alto rendimiento diagnóstico no requiere un análisis adicional para completar la cobertura en aquellas regiones genómicas insuficientemente cubiertas en el estudio NGS; pero debe comunicarse claramente al clínico que la prueba no puede usarse para excluir un diagnóstico clínico en particular. Sin embargo, cuando se estudia un panel de genes seleccionado se procura obtener la mayor cobertura horizontal y vertical posible utilizando, si es preciso, la secuenciación Sanger para completar las regiones no cubiertas suficientemente. De esta forma, el estudio puede utilizarse para excluir un diagnóstico clínico de sospecha con un margen de error menor.

**Declaración 28:** Cada vez que se realizan cambios importantes en la prueba, deben revisarse los parámetros de calidad y deben reanalizarse muestras ya analizadas. Previamente, el laboratorio debe definir qué tipo de muestras y el número de casos que deben analizarse cada vez que el método se actualice o mejore.

Las capacidades de la prueba diagnóstica deben evaluarse en términos de exactitud, sensibilidad analítica, especificidad analítica y precisión. Aunque su determinación en el proceso de validación pueda ser percibida como costosa o difícil de llevar a cabo, la norma ISO 15189 establece su estudio de forma estricta.

## Informes de resultados

**Declaración 29:** El informe genético de un ensayo de NGS debe resumir los datos de identificación del paciente y su diagnóstico clínico. Asimismo, debe contener una breve descripción del test realizado, un resumen de los resultados y los principales hallazgos en una única página.

Es esencial que los resultados de NGS se comuniquen de forma clara, consistente y concisa, ya que los informes de laboratorio pueden ser leídos por personal experto y no experto en genética. Así, se recomienda que en la primera página del informe genético se

## Tabla 1

Contenido mínimo de un informe de resultados de un panel de genes por *next generation sequencing* (NGS). Se recomienda incluir en una primera página del informe de resultados toda la información esencial (puntos 1 al 13). Los detalles técnicos y de calidad del estudio, así como otra información de utilidad que se considere, pueden adjuntarse en forma de anexos

<b>1. Identificación del laboratorio donde se realiza el estudio genético</b>
<b>2. Identificación del solicitante y destinatario</b>
<b>3. N.º de identificación del informe</b>
<b>4. Identificación del individuo</b>
<b>5. Identificación de la familia</b>
<b>6. Indicación</b> Estudio solicitado. Por ej., cáncer de mama y ovario hereditarios
<b>7. Motivo de estudio</b> Antecedentes personales y familiares de cáncer que motivan la sospecha
<b>8. Identificación del tipo de espécimen</b> Por ej., sangre, tumor, saliva, piel, ADN genómico, etc.
<b>9. Fechas de obtención del espécimen y de emisión del resultado</b>
<b>10. Tipo de estudio efectuado</b> Este apartado debe contener información sobre el propio diseño del panel, y por tanto si está basado en amplicones o enriquecimiento, y el listado de genes analizados. En el caso de utilizar un kit comercial, debe mencionarse el número/nombre de referencia del kit y la casa comercial con el que se prepararon las librerías, así como el equipo de NGS utilizado Además, debe especificarse el método de validación utilizado (por ej., secuenciación Sanger). En caso de no haber validado el resultado por un método alternativo, se debe especificar de forma clara
<b>11. Resultado</b> En este apartado se debe establecer de una forma clara, concisa y precisa, la conclusión del resultado de la determinación analítica realizada Por ej.: Se ha detectado una variante patogénica en heterocigosis: c.XXXXX; p.XXXX Secuencia de referencia: LRG_218t1. Nomenclatura utilizada: HGVS ( <a href="http://varnomen.hgvs.org/">http://varnomen.hgvs.org/</a> )
<b>12. Interpretación de los resultados</b> Descripción de la/s variante/s de interés clínico, su significado biológico y clínico. Argumentos sobre la clasificación del significado clínico (bases de datos, referencias bibliográficas y/o líneas de evidencia que apoyan su clasificación)
<b>13. Identificación del facultativo responsable de la validación del informe</b>
<b>14. Anexo</b> Ejemplos de anexos Anexo 1: Metodología y limitaciones técnicas Metodología (extracción de DNA, generación de librerías, secuenciación, análisis bioinformático de datos, interpretación y priorización de resultados) Bases de datos consultadas; programas de predicción <i>in silico</i> ; limitaciones técnicas Anexo 2: Parámetros de calidad del estudio Cobertura de los genes objeto de estudio Anexo 3: Lista de variantes detectadas en el estudio

detallen las principales conclusiones con significado clínico, así como el test realizado y el control de calidad del mismo. En la **tabla 1** se muestra un modelo de la estructura y contenido que debe tener un informe de resultados.

**Declaración 30:** Antes de realizar estudios genéticos diagnósticos utilizando la tecnología de NGS es altamente recomendable que en el procedimiento normalizado de trabajo se haya reflejado, siguiendo las recomendaciones internacionales, qué tipo de variantes (según su significado clínico) se van a informar/describir y cómo se van a reflejar los resultados obtenidos utilizando esta tecnología.

Existe bastante consenso internacional en usar la clasificación de las variantes identificadas utilizando las 5 clases propuestas por Plon et al.<sup>18</sup>. Se han de reportar todas las variantes patogénicas y probablemente patogénicas identificadas (clases 5 y 4,

respectivamente). La información reflejada en el informe sobre las variantes de clase 3 (variantes de significado desconocido [VSD]) dependerá del consenso establecido a nivel local por el laboratorio responsable del estudio genético, pero deberá ser especificado de forma clara para su fácil comprensión por parte de otros facultativos clínicos o de laboratorio.

### Gestión de la información

Tras los continuos avances técnicos de la secuenciación masiva y la optimización de los procesos de secuenciación, actualmente la principal dificultad a resolver es la interpretación de los datos genómicos dentro del contexto clínico. Una correcta gestión de la información y del conocimiento obtenido facilita enormemente el proceso de análisis e interpretación de datos genómicos, disminuyendo significativamente el tiempo necesario y proporcionando una mayor precisión de los resultados, basando la interpretación en firmes criterios de evidencia y fiabilidad.

*Declaración 31: Es de gran importancia recopilar de forma ordenada e informatizada la máxima información sobre las VSD identificadas en el proceso de diagnóstico genético con el objetivo de poder clasificarlas en el futuro.*

Es necesario que el proceso de selección, clasificación y priorización de variantes quede reflejado en el procedimiento normalizado de trabajo, prestando especial atención a los siguientes puntos<sup>19</sup>.

- El proceso de selección de las variantes y regiones de interés con base en su interés clínico, criterios de evidencia y fiabilidad de dichas evidencias debe registrarse de manera ordenada en bases de datos que faciliten su acceso, consulta y actualización. Es recomendable que este proceso se inicie durante el propio diseño del panel y continúe y sea revisado sistemáticamente tras el correspondiente análisis de resultados.
- Los criterios de selección y niveles de evidencia deben referirse a artículos científicos contrastados y bases de datos actualizadas y de confianza. Debe tenerse en cuenta que existe un porcentaje significativo de variantes mal clasificadas o con interpretaciones contradictorias en las bases de datos públicas<sup>20,21</sup>. Deben asignarse criterios de calidad a la información manejada según las fuentes consultadas y realizar una evaluación profesional rigurosa de las mismas.
- Debe usarse nomenclatura consensuada (HGVS; varnomen.hgvs.org)<sup>22</sup> o coordenadas genómicas, prestando especial atención a las versiones de las secuencias de referencia utilizadas, tanto en la base de datos como en el procedimiento de análisis bioinformático (transcritos y genoma de referencia).
- La clasificación de variantes para enfermedades hereditarias debe realizarse en 5 categorías: 1) patogénica, 2) probablemente patogénica, 3) variantes de significado incierto (VSD; o *VUS/VOUS* en inglés), 4) probablemente benigna y 5) benigna, de acuerdo con las recomendaciones internacionales<sup>23,24</sup>. Los niveles de evidencia y confianza deben revisarse continuamente tal y como se ha comentado anteriormente.
- Deben establecerse criterios alternativos de apoyo a la interpretación, especialmente en las VSD y categorías intermedias, como, por ejemplo: la frecuencia alélica en la población general y población de estudio, posibilidad de estudios funcionales, herramientas de predicción *in silico*, etc.

*Declaración 32: Los laboratorios han de tener un protocolo bien definido para tratar la identificación de hallazgos incidentales o secundarios antes de implementar el test en la rutina diagnóstica.*

La aparición de hallazgos incidentales o secundarios es relativamente frecuente, tanto más cuanto mayor es el panel de genes utilizado o en el análisis del exoma o genoma completo.

Estos hallazgos incidentales pueden ser variantes asociadas a otras enfermedades diferentes a las que presenta el paciente, incluso asociadas a enfermedades de inicio tardío o a predisposición, o variantes de respuesta a fármacos.

El laboratorio debe establecer una política de cómo actuar ante la identificación de este tipo de hallazgos, que debe quedar definida y explicada en el correspondiente consentimiento informado y actuar de manera a lo acordado en el mismo y a las recomendaciones profesionales<sup>25</sup>.

*Declaración 33: El laboratorio no está obligado a reanalizar resultados «antiguos» de forma sistemática ni a informar sobre nuevos hallazgos.*

Cada solicitud de estudio genético representa en sí misma un contrato en un momento concreto. De acuerdo con ello, el laboratorio tiene la obligación de ofrecer lo que se conoce y está validado en el momento preciso de la solicitud y no tiene la responsabilidad sobre los cambios que puedan ocurrir en el futuro.

Cualquier reanálisis de datos debe entenderse como un nuevo proceso para el cual sería necesaria una nueva solicitud de estudio genético.

*Declaración 34: El laboratorio debe tener una base de datos local de las variantes identificadas de las enfermedades para las que ofrece diagnóstico genético para gestionar eficazmente las variantes de esa enfermedad.*

Si bien, y tal como se establece en la Declaración 33, el laboratorio no tiene la obligación de reanalizar resultados «antiguos» de forma sistemática, la revisión del significado clínico de las VSD puede ser solicitada por el propio paciente o por el clínico responsable en cualquier momento. De hecho, es recomendable que durante el asesoramiento y entrega de resultados se comunique a los pacientes que reciban un informe con VSD que pueden consultar periódicamente en la unidad de asesoramiento, o en cualquier otra en la que sean atendidos, sobre los posibles cambios de clasificación de sus VSD, según las evidencias científicas vigentes. Para poder satisfacer esta demanda, el laboratorio debe mantener un sistema de trazabilidad que permita conectar pacientes y variantes, con los posibles cambios de interpretación clínica efectuados.

En caso de solicitarse la revisión de una VSD, o alternativamente que el laboratorio haya detectado la reclasificación de una VSD por propia iniciativa, se debe elaborar un nuevo informe con la actualización del significado clínico de la variante y comunicarlo al clínico responsable del paciente en cuestión. El clínico deberá valorar las implicaciones de dicha reclasificación para el paciente y su familia, así como la forma de gestionar la situación creada.

### Distinción entre ámbito de investigación y ámbito asistencial

*Declaración 35: Un estudio genético diagnóstico es un análisis dirigido a responder una cuestión clínica relacionada con la condición médica de un paciente.*

*Declaración 36: Un estudio genético de investigación pretende resolver una cuestión científica a través de una hipótesis de trabajo y puede tener una limitada relevancia clínica para el paciente incluido en el proyecto.*

En los estudios genéticos la línea que separa el ámbito de la investigación del ámbito asistencial ha sido siempre difusa y muy difícil de delimitar. Las nuevas tecnologías de alto rendimiento que permiten el análisis simultáneo de amplios paneles de genes,



exomas o genomas, complica aún más esta separación. En cualquier caso, es muy importante que sea definido de antemano el alcance del estudio genético, cuáles son los resultados esperados y su trascendencia en el manejo del paciente y su familia, así como la gestión de la información obtenida. Estos aspectos deberán estar siempre recogidos tanto en el protocolo del proyecto de investigación como en el procedimiento normalizado correspondiente del laboratorio diagnóstico asistencial, según se trate.

El paciente deberá haber sido debidamente informado del alcance del estudio genético al que va a ser sometido y firmar el preceptivo consentimiento informado para el estudio diagnóstico. Además, el paciente podrá dar su consentimiento informado firmando un documento de consentimiento independiente y específico, bien para un estudio de investigación concreto, o bien para conservar el material biológico excedente del diagnóstico en un Biobanco para su eventual utilización en proyectos de investigación aprobados por los comités científicos y éticos que correspondan.

*Declaración 37: Los resultados de un estudio genético diagnóstico utilizando la secuenciación del exoma o genoma completos pueden generar nuevas hipótesis de trabajo para proyectos de investigación.*

*Declaración 38: Los estudios genéticos que tienen como principal objetivo el diagnóstico de un paciente deben realizarse en un laboratorio clínico acreditado.*

El uso de los datos obtenidos de exomas o genomas por NGS en el contexto del diagnóstico asistencial es aceptable, siempre y cuando el objetivo de dichos estudios sea obtener un diagnóstico genético y el análisis de los resultados se limite únicamente a aquellos genes en los que hay evidencia científica de su asociación con la enfermedad.

*Declaración 39: Los resultados de investigación deben ser confirmados por un laboratorio clínico acreditado antes de ser comunicados al paciente.*

Los pacientes y familias que participan en un proyecto de investigación deben ser conscientes de que los resultados del estudio pueden desvelar un posible diagnóstico o predicción de riesgo genético a una o varias enfermedades. Cuando se utilice material biológico depositado en Biobancos acreditados, se podrá disponer de este material ajustándose a la normativa de funcionamiento de dicho Biobanco. En tales casos, tanto el consentimiento informado para un proyecto de investigación concreto como el del Biobanco deberán contemplar el derecho a conocer, o no conocer, los resultados obtenidos y cómo gestionar la información genética con impacto clínico relevante obtenida como resultado de proyectos de investigación. Debe quedar establecido en dichos consentimientos informados el deseo del paciente en relación con estos aspectos.

Los resultados obtenidos de proyectos de investigación que puedan ser clínicamente relevantes solamente podrán ser transferidos a la historia clínica del paciente después de la confirmación de dichos resultados en el contexto diagnóstico de un laboratorio clínico.

*Declaración 40: Todas las variantes detectadas en genes relacionados con enfermedad, en pacientes afectados, deberían ser compartidas en bases de datos regionales, nacionales o internacionales.*

Uno de los principales objetivos planteados a nivel internacional por las sociedades científicas y profesionales en el contexto de los estudios genéticos es la interpretación del significado clínico de las variantes genéticas obtenidas. Para ello es esencial compartir en bases de datos públicas las variantes obtenidas por cada laboratorio, los criterios y argumentos considerados para su clasificación y los fenotipos clínicos asociados. La información ha de estar debidamente anonimizada y los pacientes deben haber firmado en

el preceptivo consentimiento informado, para poner a disposición de la comunidad científica y médica dicha información anonimizada. Compartir el conocimiento permite avanzar de una forma más rápida y segura hacia un mejor diagnóstico y un mejor manejo de las familias con riesgo genético de cáncer.

*Declaración 41: Las frecuencias de todas las variantes genéticas detectadas en individuos sanos deberían compartirse en bases de datos regionales, nacionales o internacionales.*

Cuando un proyecto de investigación, o incluso un estudio diagnóstico, requiere del estudio de individuos sanos, progenitores u otros familiares no afectados, la información de las variantes detectadas en estos estudios puede ser de utilidad para la clasificación de variantes. Dado que se trata de individuos sanos y no hay un contenido clínico sensible, y que la información sobre la frecuencia de las variantes puede mejorar el diagnóstico, dicha información debería compartirse.

## Conclusiones

La implementación de la NGS en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria a cáncer es un proceso complejo que requiere una planificación exhaustiva de los diferentes aspectos clave que lo componen, tanto en lo referente a aspectos puramente técnicos como en los relacionados con el asesoramiento genético.

Es importante definir con precisión el objetivo y alcance de los estudios genéticos que se plantean, lo que determinará en gran medida el diseño del ensayo.

La validación analítica y clínica de los procedimientos y la utilidad clínica del estudio genético son la piedra angular en la implementación de la nueva tecnología NGS.

La gestión de la información obtenida y la generación de informes de resultados claros y precisos alcanzan especial relevancia con la NGS, debido a la necesidad de manejar adecuadamente la incertidumbre que generan las VSD y los hallazgos incidentales.

Todas las particularidades de la NGS deben quedar recogidas en el consentimiento informado y deben ser adecuadamente tratadas en el proceso de asesoramiento genético.

Por último, es importante delimitar el ámbito asistencial de la investigación. Los informes diagnósticos deben ser siempre emitidos por laboratorios clínicos acreditados.

## Autoría/colaboradores

C.L. y J.L.S. coordinaron el grupo de trabajo, escribieron la propuesta y modificaron todos aquellos aspectos de la guía que fueron solicitados por el grupo de trabajo y las secciones y comisiones de las sociedades que auspician el documento para su publicación.

I.B., O.D., J.G.P., I.L., M.R., C.L. y J.L.S. formaron parte del grupo de trabajo, elaborando los diferentes apartados del documento y realizando las modificaciones necesarias.

G.M. y E.S. actuaron en representación de *The EuroGentest/ESHG working group on Diagnostic NGS* y dieron el visto bueno al documento.

Comisión de Cáncer Hereditario de la AEGH: Adela Castillejo Castillo, Marta Pineda Riu, Atocha Romero Alfonso, José Luis Soto Martínez.

El borrador del documento fue revisado y aprobado por las siguientes secciones/comisiones y visado por las juntas directivas de las respectivas sociedades:

Sección de Cáncer Hereditario de la SEOM: Elena Aguirre Ortega, Raquel Andrés Conejero, Orland Díez Gibert, Begoña Graña Suarez, Gemma Llorc Pursals, Montserrat Muñoz Mateu, Mauro Javier Oruezabal Moreno, Ana Beatriz Sánchez Heras, Raquel Serrano Blanch, Alexandre Teulé Vega.

Comisión de Genética de la SEQC-ML: Concepción Alonso Cerezo, Pilar Carrasco Salas, Ana Cuesta Peredo, Orland Díez Gibert, Begoña Ezquieta Zubicaray, Hada Macher Manzano, Jesús Molano Mateos, Josep Oriola Ambròs, Raquel Rodríguez López, Atocha Romero Alfonso, Ana M<sup>a</sup> Sanchez de Abajo, María Santamaría González, Cristina Torreira Banza.

I.B., J.G.P. y C.L. forman parte de la junta directiva de la AEGH.

### Financiación

No se ha recibido fuente de financiación para la elaboración de la guía.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener un conflicto de intereses relacionado con el contenido de la guía.

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a los Dres. Juan Cruz Cigudosa, María Pia Gallano Petit, y Laura Valle Velasco su colaboración en la revisión del documento como expertos externos de acuerdo con el protocolo AGREE II.

### Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.12.010>.

### Bibliografía

1. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2016;24:2-5.
2. Weiss MM, van der Zwaag B, Jongbloed JDH, Vogel MJ, Brggenwirth HT, Lekanne Deprez RH, et al. Best practice guidelines for the use of next-generation sequencing applications in genome diagnostics: A national collaborative study of Dutch genome diagnostic laboratories. *Hum Mutat.* 2013;34:1313-21.
3. Ellard S, Lindsay H, Camm N, Watson C, Abbs S, Wallis Y, et al. Practice guidelines for targeted next generation sequencing analysis and interpretation. Association for Clinical Genetic Science (ACGS). British Society for Genetic Medicine [consultado 29 Ene 2018]. Disponible en: [http://www.acgs.uk.com/media/774807/bpg\\_for\\_targeted\\_next\\_generation\\_sequencing\\_may\\_2014\\_final.pdf](http://www.acgs.uk.com/media/774807/bpg_for_targeted_next_generation_sequencing_may_2014_final.pdf)
4. ACMG Board of Directors. Clinical utility of genetic and genomic services: A position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2015;17:505-7.
5. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al., Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med.* 2013;15:733-47.

6. Lapin V, Mighion LC, da Silva P, Cuperus Y, Bean LJH, Hegde MR. Regulating whole exome sequencing as a diagnostic test. *Hum Genet.* 2016;135:655-73.
7. Consorcio AGREE. Instrumento AGREE II: instrumento para la evaluación de guías de práctica clínica [consultado 29 Ene 2018]. Disponible en: <http://www.guiasalud.es/contenidos/documentos/Guias.Practica.Clinica/Spanish-AGREE-II>
8. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015;136:E359-86.
9. GeneReviews [consultado 29 Ene 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
10. Orphanet [consultado 29 Ene 2018]. Disponible en: <http://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/?Ing=ES>
11. Lindor ML, McMaster CJ, Lindor MH, Greene M. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes – second edition. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2008;38:3-93.
12. Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol.* 2015;33:3660-7.
13. Castellanos E, Gel B, Rosas I, Tornero E, Santín S, Pluvinet R, et al. A comprehensive custom panel design for routine hereditary cancer testing: Preserving control, improving diagnostics and revealing a complex variation landscape. *Sci Rep.* 2017;7:39348.
14. Yurgelun MB, Kulke MH, Fuchs CS, Allen BA, Uno H, Hornick JL, et al. Cancer Susceptibility gene mutations in individuals with colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2017;35:1086-95.
15. OCEBM Levels of Evidence Working Group. The Oxford Levels of Evidence 2. Oxford Centre for Evidence-Based Medicine [consultado 29 Ene 2018]. Disponible en: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>
16. Haddow JE, Palomaki GE. ACCE: A model process for evaluating data on emerging genetic tests. En: Khoury MJ, Little J, Burke W, editores. *Human Genome Epidemiology: A scientific foundation for using genetic information to improve health and prevent disease.* Oxford University Press; 2003. p. 217-33.
17. Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, et al. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. *Eur J Hum Genet.* 2010;18:1276-88.
18. Plon SE, Eccles DM, Easton D, Foulkes WD, Genuardi M, Greenblatt MS, et al., IARC Unclassified Genetic Variants Working Group. Sequence variant classification and reporting: Recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat.* 2008;29:1282-91.
19. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI, Roy S, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer. *J Mol Diagnostics.* 2017;19:4-23.
20. Amendola LM, Jarvik GP, Leo MC, McLaughlin HM, Akkari Y, Amaral MD, et al. Performance of ACMG-AMP variant-interpretation guidelines among nine laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. *Am J Hum Genet.* 2016;98:1067-76.
21. Rehm HL, Berg JS, Brooks LD, Bustamante CD, Evans JP, Landrum MJ, et al. ClinGen – the Clinical Genome Resource. *N Engl J Med.* 2015;372:2235-42.
22. Den Dunnen JT, Antonarakis SE. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet.* 2001;109:121-4.
23. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17:405-23.
24. Thompson BA, Spurdle AB, Plazzer J-P, Greenblatt MS, Akagi K, Al-Mulla F, et al. Application of a 5-tiered scheme for standardized classification of 2,360 unique mismatch repair gene variants in the InSiGHT locus-specific database. *Nat Genet.* 2014;46:107-15.
25. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med.* 2013;15:565-74.