

Caracterización de fondo para partículas, ácidos nucleicos y otros analitos

Aborda los sistemas AirPrep™ y FluidPrep™

Incluye una sección dedicada a las aplicaciones moleculares: un análisis más detallado

Resumen

AirPrep™ Bobcat y Cub, junto con los consumibles FluidPrep™ EasyElute™ LVC y CP Select™, no están certificados ni validados como completamente libres de analitos específicos, tales como microplásticos, ADN, ARN u otros objetivos ambientales. Por consiguiente, InnovaPrep no realiza afirmaciones de «no detección» para ningún analito cuando estos productos se utilizan para el muestreo de agua, aire u otras matrices acuosas o ambientales.

Al igual que con cualquier tecnología de preparación de muestras, las contribuciones de fondo se ven influidas por la matriz de la muestra, las prácticas de manipulación, la sensibilidad del ensayo y el flujo de trabajo analítico empleado por el usuario. Para estudios o programas reglamentarios en los que es fundamental minimizar los niveles de fondo —como microplásticos, ácidos nucleicos u otros contaminantes particulados o solubles—, un enfoque ampliamente aceptado y defendible consiste en que los usuarios establezcan niveles de fondo de referencia utilizando su fuente de muestra específica (por ejemplo, agua o aire), el método analítico y el flujo de trabajo del laboratorio.

Esta evaluación de referencia permite a los usuarios determinar si cualquier fondo observado —ya sea procedente de los materiales, la manipulación o el flujo de trabajo— es aceptable para la aplicación prevista, y proporciona un marco documentado y reproducible para el control de calidad y el cumplimiento normativo.

Aplicabilidad técnica de las tecnologías de concentración InnovaPrep

Las tecnologías de concentración InnovaPrep, incluidas CP Select™ y EasyElute™ LVC, funcionan con un flujo de trabajo básico común: la captura de material de muestras acuosas basada en el tamaño, seguida de Wet Foam Elution™ para recuperar el material retenido en un pequeño volumen de líquido. Este enfoque es muy adecuado para concentrar una amplia gama de partículas retenidas por su tamaño, incluidas las partículas similares a los microplásticos y otras partículas de interés.

La tecnología subyacente de concentración y elución es escalable en función del volumen de las muestras, lo que permite a los usuarios aplicar el mismo enfoque fundamental en volúmenes mayores (p. ej., EasyElute™ LVC) o menores (p. ej., CP Select™), dependiendo de los objetivos del estudio, la disponibilidad de muestras y los requisitos de desarrollo del método.

Los eluidos generados por ambos sistemas son compatibles con una amplia gama de técnicas analíticas posteriores, incluyendo microscopía, FT-IR, espectroscopia Raman y otros ensayos específicos para partículas o analitos. Al igual que con cualquier método de concentración, la idoneidad para un objetivo determinado (p. ej., partículas, polímeros, microorganismos, ácidos nucleicos u otros analitos) depende del rango de tamaño del objetivo, las características químicas y la matriz de la muestra, y debe ser confirmada mediante la optimización y validación del método por parte del usuario final.

A nivel interno, InnovaPrep utiliza habitualmente microperlas de poliestireno como parte de las pruebas de control de calidad y de liberación de productos para verificar la eficiencia de captura de partículas, el rendimiento de recuperación y la consistencia entre lotes en todas las plataformas de concentración. Estas pruebas garantizan que el proceso Wet Foam Elution™ recupera eficazmente las partículas retenidas en lugar de dejarlas unidas a la superficie de captura.

Como ejemplo de viabilidad técnica, nuestra investigación interna ha demostrado la utilidad de las tecnologías de concentración de InnovaPrep (incluida la pipeta de concentración y las herramientas relacionadas) para concentrar partículas de nano y microplásticos a partir de muestras ambientales, lo que subraya la viabilidad de capturar partículas en matrices acuosas del mundo real.

[Partículas de nano y microplásticos de muestras ambientales | InnovaPrep](#)

Establecimiento de una aceptabilidad de referencia para la fuente de muestra y el ensayo específicos de un usuario

El siguiente **marco genérico, independiente del analito**, puede aplicarse a los microplásticos, los ácidos nucleicos u otros objetivos de interés. Los usuarios deben adaptar el enfoque a su **tipo de muestra** específico (**aire o acuosa**), ensayo, límites de notificación y contexto normativo. El mismo enfoque puede aplicarse tanto a las muestras de aire de AirPrep™ como a las muestras de agua o acuosas de FluidPrep™.

1) Alineación con el marco de medición (antes de la prueba)

Definir:

- Analito objetivo o clase de partículas (p. ej., microplásticos, ácido nucleico, carga biológica)
- Rango de tamaño o forma molecular de interés (si procede)
- Unidades de informe (p. ej., partículas/L, ng/L, EU/mL, copias/m³ para muestras de aire)
- Regla de decisión para la aceptabilidad (seleccionar una):
 - Blancos \leq LOQ (o límite de notificación)
 - Blancos \leq X unidades
 - Blancos \leq 10 % de la señal típica de la muestra

2) Realice una línea de base de extremo a extremo utilizando la fuente de muestra específica del usuario

Realice las pruebas siguiendo las prácticas habituales de laboratorio o de muestreo (p. ej., área limpia, controles de exposición):

A. Réplicas de la muestra (n = 5)

- Para FluidPrep™: Cinco alícuotas independientes de la muestra de agua o acuosa específica del usuario procesadas exactamente según lo previsto.
- Para AirPrep™: Cinco muestras de aire independientes recogidas en condiciones normales de muestreo (misma ubicación, caudal y duración) para caracterizar el fondo atmosférico de referencia.

B. Blancos de procedimiento (n = 5)

- FluidPrep™: Agua reactiva o un blanco de laboratorio definido procesado a lo largo de todo el flujo de trabajo.
- AirPrep™: Aire que pasa a través de un muestreador sin usar o un filtro en blanco (sin muestra intencionada) bajo procedimientos estándar de manipulación y elución.

C. Blancos de equipo/contacto (n=3 por configuración)

- FluidPrep™: Hacer pasar agua en blanco por las vías de flujo de CP Select™ o EasyElute™ LVC.
- AirPrep™: Hacer pasar aire en blanco por la vía de flujo del muestreador (Bobcat™ o Cub™) para aislar posibles contribuciones del muestreador.

D. Blancos de campo/ambientales (n=3, si procede)

- Agua: Agua en blanco manipulada y transportada como muestras reales.
- Aire: Muestreador desplegado en el campo sin recogida activa (o utilizando aire filtrado por HEPA) para capturar posibles contaminaciones ambientales.

E. Control de recuperación (n=3)

- Una adición de bajo nivel del analito objetivo real o de un sustituto adecuado para demostrar la recuperación a concentraciones relevantes para la aplicación prevista.

3) Analizar los resultados utilizando prácticas científicas y reglamentarias aceptadas

Resumir (por tamaño, composición química o características moleculares, según corresponda):

- Media/mediana y percentil 95 para cada tipo de blanco
- Comparación de las distribuciones de los blancos frente a las distribuciones de las muestras reales
- Establecer límites de control de calidad rutinarios (por ejemplo, «los blancos de procedimiento deben ser \leq LOQ y \leq 10 % de la media de la muestra»)

4) Definir un resultado «aceptable para su uso»

Los resultados pueden documentarse de manera coherente con las expectativas normativas y de auditoría:

- «Al utilizar CP Select™ o EasyElute™ LVC (agua) o AirPrep™ (aire) con nuestro tipo de muestra, ensayo y flujo de trabajo, los blancos de procedimiento y de equipo cumplieron nuestros criterios de aceptación predefinidos; por lo tanto, el flujo de trabajo es aceptable para nuestro programa».
- «Los niveles de fondo superaron los criterios de aceptación; se ajustarán la manipulación, los materiales o el flujo de trabajo, o se utilizará un enfoque alternativo».

Aplicaciones basadas en la biología molecular: un análisis más detallado

Para flujos de trabajo de PCR, qPCR, RT-qPCR, PCR digital y secuenciación de última generación: tecnologías de concentración FluidPrep™ y AirPrep™

Estado de la declaración «libre de ácidos nucleicos»

Las puntas de pipeta de concentración (CPT) FluidPrep™, CP Select™, EasyElute™ LVC y los filtros AirPrep™ no están certificados ni validados como «libres de ADN» o «libres de ARN». InnovaPrep no realiza afirmaciones específicas de «no detección» en relación con los niveles de ácido nucleico de fondo.

Compatibilidad de InnovaPrep con flujos de trabajo moleculares de alta sensibilidad

La aplicación exitosa de las tecnologías de concentración InnovaPrep en flujos de trabajo moleculares de alta sensibilidad —incluidos RT-qPCR, PCR digital, secuenciación viral dirigida y metagenómica shotgun— demuestra que los niveles de ácido nucleico de fondo son lo suficientemente bajos como para permitir la detección precisa de señales biológicas y el análisis genómico de alta resolución. En aplicaciones de secuenciación profunda y de baja biomasa, un exceso de ADN o ARN de fondo ocultaría objetivos raros, reduciría la integridad del genoma, distorsionaría la diversidad taxonómica y elevaría las señales falsas. Sin embargo, estudios revisados por pares que utilizan las plataformas de concentración InnovaPrep muestran una sólida recuperación del genoma viral, una mayor riqueza de secuenciación y una sensibilidad de detección mejorada en comparación con métodos de concentración alternativos.

Por ejemplo, Jiang et al. (2024) demostraron que el método de ultrafiltración InnovaPrep Concentrating Pipette Select (CP Select™) produjo la mayor sensibilidad de secuenciación viral y riqueza genómica entre los métodos de concentración de aguas residuales evaluados, lo que permitió el ensamblaje de genomas virales humanos casi completos (véase la lista de referencias). De manera similar, Singh et al. (2024) demostraron una concentración eficaz y la detección posterior de múltiples virus en aguas salinas utilizando el CP Select™, lo cual se confirmó mediante ensayos de placa y PCR digital de gotas (véase la lista de referencias). Estudios comparativos de vigilancia ambiental también han demostrado un mejor rendimiento en la detección molecular del CP Select™ en comparación con la filtración tradicional por membrana electronegativa para marcadores genéticos microbianos y la detección de ARN del SARS-CoV-2 (véase la lista de referencias).

Además, las tecnologías InnovaPrep se han utilizado en aplicaciones de vigilancia molecular de ADN en el aire y en salas blancas, incluida la recuperación forense de ADN humano en el aire mediante el AirPrep Cub Sampler (PubMed ID: 39523482). La capacidad de recuperar ADN de baja abundancia adecuado para el perfilado STR subraya aún más la compatibilidad con flujos de trabajo moleculares discriminatorios.

En conjunto, estas aplicaciones revisadas por pares indican que las tecnologías de concentración InnovaPrep admiten flujos de trabajo de PCR de alta sensibilidad y secuenciación de última generación sin niveles de ácido nucleico de fondo que impedirían una interpretación biológica precisa. Aunque los productos no están certificados como libres de ADN o ARN, el rendimiento molecular en el mundo real en contextos de baja biomasa y

secuenciación profunda proporciona evidencia práctica de que las contribuciones de fondo son suficientemente bajas para aplicaciones analíticas exigentes cuando se implementan los controles y procedimientos de validación adecuados.

Producción y controles de calidad

Todos los consumibles InnovaPrep se fabrican y envasan en entornos de sala limpia controlados utilizando procedimientos de calidad estandarizados destinados a minimizar la introducción de partículas y ácidos nucleicos.

Las prácticas internas de calidad incluyen:

- Producción y envasado en salas blancas controladas
- Verificación de la consistencia de los lotes
- Validación del rendimiento de la captura basada en el tamaño
- Verificación de la eficiencia de Wet Foam Elution™ mediante una recuperación de partículas conocida

Estos controles están diseñados para garantizar un rendimiento constante en aplicaciones moleculares sensibles posteriores.

Aplicabilidad técnica a los flujos de trabajo moleculares

Las tecnologías de concentración InnovaPrep funcionan según un principio técnico común:

Captura basada en el tamaño seguida de Wet Foam Elution™

Este enfoque permite la concentración y recuperación de:

- Microorganismos (bacterias, hongos, virus)
- ADN ambiental (eDNA)
- ADN y ARN libres de células
- Material biológico en suspensión en el aire
- Células intactas y partículas virales

Los eluidos generados por los sistemas FluidPrep™ y AirPrep™ son compatibles con:

- PCR y qPCR
- RT-qPCR
- PCR digital
- Secuenciación de amplicones

- Metagenómica Shotgun
- Flujos de trabajo de captura híbrida

Dado que los métodos de amplificación y secuenciación son muy sensibles, las contribuciones de fondo, si las hay, pueden verse influidas por:

- El tipo de matriz (aire, superficie, agua, aguas residuales, etc.)
- Prácticas de muestreo de campo
- La química del kit de extracción
- Los controles del flujo de trabajo del laboratorio
- La profundidad de secuenciación y el filtrado bioinformático

Por lo tanto, la validación por parte del usuario final es esencial para aplicaciones con baja biomasa o normativas.

Casos de uso molecular publicados

Los sistemas InnovaPrep se han utilizado en flujos de trabajo moleculares revisados por pares y aplicados que implican la detección de ácidos nucleicos de baja abundancia.

Por ejemplo, el **AirPrep™ Cub Sampler** se utilizó en investigación forense para recoger ADN humano en el aire adecuado para el perfilado STR (PubMed ID: 39523482).

Enlace a PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39523482/>

Además, las tecnologías InnovaPrep se utilizan en flujos de trabajo de ADN ambiental y vigilancia metagenómica, tal y como se describe en «Aplicaciones de metagenómica y eDNA»:

<https://www.innovaprep.com/pages/applications-life-science-research-metagenomics-and-edna>

Aunque esto no constituye una afirmación de ausencia total de ácido nucleico de fondo, los casos de uso demuestran la compatibilidad con métodos sensibles de amplificación molecular y secuenciación.

Marco recomendado para la validación de la línea de base molecular

Para los laboratorios en los que los niveles de ácido nucleico de fondo son críticos (por ejemplo, metagenómica de baja biomasa, vigilancia de patógenos, desarrollo de diagnósticos regulados), InnovaPrep recomienda el siguiente marco de validación anterior

6. Resumen

Tecnologías de concentración de InnovaPrep:

- Se fabrican en entornos controlados de sala limpia
- Permiten la concentración de microorganismos y ácidos nucleicos
- Son compatibles con flujos de trabajo de PCR y NGS de alta sensibilidad
- Han demostrado su utilidad en publicaciones revisadas por pares que destacan aplicaciones moleculares de alta sensibilidad y gran capacidad de discriminación

Para aplicaciones que requieren umbrales de fondo definidos, InnovaPrep recomienda que los usuarios establezcan niveles de fondo de ácidos nucleicos de referencia dentro de su matriz, ensayo y flujo de trabajo de laboratorio específicos para confirmar la idoneidad.

La siguiente lista de referencias cita estudios específicos que, en conjunto, muestran **una alta sensibilidad y una baja recuperación de ácido nucleico de fondo**, lo que permite la detección de objetivos raros, mediciones precisas de la diversidad y ensamblajes de lectura larga.

Aunque los productos InnovaPrep **no** están **certificados como libres de ADN/ARN**, su rendimiento demostrado en estudios revisados por pares de metagenómica, eDNA, PCR y secuenciación muestra que los niveles de fondo de ácidos nucleicos **no impiden la realización de análisis moleculares altamente discriminatorios**.

Lista de referencias: aplicaciones moleculares de InnovaPrep

1. **Jiang, M., Wang, A. L. W., Be, N. A., Mulakken, N., Nelson, K. L. y Kantor, R. S. (2024).** *Evaluación del impacto de los métodos de concentración y extracción en la secuenciación dirigida de virus humanos a partir de aguas residuales.* Environmental Science & Technology, 58(19), 8239–8250. Demuestra que el **método de ultrafiltración InnovaPrep CP Select™ produce una sensibilidad de secuenciación y una riqueza del genoma viral superiores** en comparación con otros métodos de concentración. [PubMed](#)

2. **Singh, S., Aw, T. G. y Rose, J. B. (2024).** *Evaluación de un sistema de ultrafiltración automatizado para la concentración de una variedad de virus a partir de aguas salinas.* Food and Environmental Virology, 16(3), 422–431.
 Valida el **sistema CP Select™ para una concentración viral eficaz**, confirmada mediante ensayos de placa y PCR digital en gotas, lo que permite una detección molecular sensible en matrices difíciles.
[PubMed](#)

3. **Métodos comparativos de concentración para objetivos virales y microbianos ambientales (2024).** *Rendimiento comparativo de la filtración por membrana electronegativa y la pipeta de concentración automatizada para la detección de marcadores genéticos microbianos en muestras de agua de río.* Science of the Total Environment, 953, 176109.
 CP Select™ demuestra una mayor recuperación y resultados cuantificables para objetivos genéticos microbianos y virales en comparación con la filtración tradicional.
[DOI](#)

4. **Vigilancia del SARS-CoV-2 en aguas residuales (2021).** *Evaluación del rendimiento de los métodos de concentración de virus para la implementación de la epidemiología basada en aguas residuales del SARS-CoV-2, haciendo hincapié en la rapidez en la obtención de datos.* ID de PubMed: 34418628.
 CP Select™ mostró una mayor sensibilidad de RT-qPCR y redujo los falsos negativos en estudios de vigilancia ambiental del SARS-CoV-2.
[PubMed](#)

5. **Muestreador AirPrep Cub (2023).** *Recolección de ADN humano en el aire en entornos forenses controlados.*
 Se ha demostrado la recogida de ADN humano en el aire apta para el perfilado STR, lo que confirma la compatibilidad de la tecnología con flujos de trabajo moleculares de baja biomasa y alta sensibilidad.
[PubMed](#)

6. **Aplicaciones de InnovaPrep Metagenomics y eDNA (2023).**
 Notas de aplicación que detallan la recuperación satisfactoria de ADN ambiental para flujos de trabajo de PCR y secuenciación de nueva secuenciación de última generación utilizando los sistemas FluidPrep™ y AirPrep™. [Aplicaciones de InnovaPrep: metagenómica y eDNA](#)

7. **Monitorización microbiana en salas blancas mediante pipeta de concentración (2020).**

Uso documentado de InnovaPrep CP Select™ en salas blancas de la NASA para detectar taxones microbianos raros y ADN en el aire, destacando la sensibilidad y las bajas contribuciones de fondo.

[Resumen de la aplicación de la NASA / salas blancas](#)

Artículo traducido por instrumentación analítica, s.a.- INSTRU