

66	10	118351373	118351453	81	81	N/D	0,51	1215	0	0	100
67	11	8159816	8159912	97	96	N/D	0,45	1440	0	0	100
68	11	30177648	30177717	70	70	Inserción y deleción	0,46	1050	0	0	100
69	11	47470345	47470444	100	100	N/D	0,65	1500	0	0	100
70	11	59837679	59837740	62	62	Inserción y deleción	0,37	930	0	0	100
71	11	64418856	64418957	102	102	N/D	0,59	1530	0	0	100
72	11	93529612	93529684	73	73	Poli-A (5)	0,4	1095	0	0	100
73	11	101347052	101347136	85	85	N/D	0,42	1275	0	0	100
74	11	102477336	102477426	91	91	Poli-G (6)	0,55	1365	0	0	100
75	11	118406285	118406369	85	85	Inserción y deleción	0,53	1275	0	0	100
76	11	120357801	120357885	85	85	Poli-A (5), CA(3), inserción y deleción	0,34	1275	0	0	100
77	11	125769313	125769397	85	85	GA(3)	0,52	1275	0	0	100
78	12	2834770	2834853	84	84	Poli-C (5), inserción y deleción	0,52	1260	0	14	98,9
79	12	26811004	26811096	93	93	Poli-A (7), AC(4)	0,33	1395	0	0	100
80	12	30881766	30881846	81	81	N/D	0,49	1215	0	0	100
81	12	88474105	88474175	71	71	Poli-A (6)	0,35	1065	0	0	100
82	12	120966872	120966966	95	95	Poli-G (5)	0,68	1425	0	0	100
83	12	24167504	24167576	73	73	N/D	0,52	1095	0	0	100
84	13	25816961	25817049	89	88	Poli-A (5), poli-T (7), poli-A (7), inserción y deleción	0,22	1305	0	15	98,9
85	13	44880112	44880200	89	89	Inserción y deleción	0,49	1335	0	0	100

86	13	77665218	77665294	77	77	Inserción y deleción	0,39	1155	0	0	100
87	14	31619327	31619393	67	67	GA(3), TA(3)	0,39	1005	0	0	100
88	14	39517884	39517966	83	83	N/D	0,25	1245	0	0	100
89	14	46958962	46959034	73	72	Poli-T (5), inserción y deleción	0,19	1038	0	42	96,1
90	14	58050030	58050110	81	81	Inserción y deleción	0,38	1215	0	0	100
91	14	82390559	82390649	91	91	Inserción y deleción	0,35	1365	0	0	100
92	14	92549544	92549609	66	66	Poli-A (5)	0,41	975	0	60	94,2
93	14	102808496	102808589	94	94	Inserción y deleción	0,62	1410	0	0	100
94	15	43170751	43170848	98	96	Poli-C (5)	0,45	1440	0	0	100
95	15	63446149	63446216	68	68	Inserción y deleción	0,25	1020	0	0	100
96	15	77879807	77879901	95	93	Poli-G (5), inserción y deleción	0,68	1395	0	0	100
97	15	81625334	81625428	95	95	Poli-T (6)	0,43	1425	0	0	100
98	15	85438263	85438334	72	71	Inserción y deleción	0,65	1065	0	0	100
99	15	89817413	89817503	91	91	N/D	0,36	1365	0	0	100
100	15	89864274	89864343	70	70	Inserción y deleción	0,56	1050	0	0	100
101	16	1894910	1894972	63	63	N/D	0,27	945	0	0	100
102	16	28997904	28997998	95	95	Poli-C (5)	0,67	1425	0	0	100
103	16	53682908	53682994	87	87	TA(3)	0,41	1305	0	0	100
104	16	57954406	57954509	104	104	Poli-C (5)	0,67	1560	0	0	100
105	16	85706375	85706465	91	91	Poli-T (5), inserción y deleción	0,37	1362	0	3	99,8

106	17	3563920	3564008	89	89	GC(3)	0,64	1335	0	0	100
107	17	3594191	3594277	87	87	Poli-C (5), inserción y deleción	0,67	1303	0	2	99,8
108	17	3970090	3970180	91	91	Inserción y deleción	0,46	1365	0	0	100
109	17	16084945	16085037	93	93	Inserción y deleción	0,26	1395	0	0	100
110	17	33998759	33998849	91	89	Poli-T (5)	0,54	1335	0	0	100
111	17	39589691	39589774	84	82	Poli-A (13), inserción y deleción (×2)	0,29	1215	0	78	94,0
112	17	41244394	41244484	91	91	Poli-A (5)	0,34	1365	0	0	100
113	17	45438866	45438957	92	92	Poli-A (7), AT(3), AT (4), AT(4), inserción y deleción	0,26	1365	0	15	98,9
114	17	61502432	61502510	79	79	Inserción y deleción	0,41	1175	0	10	99,2
115	17	64023582	64023667	86	86	Poli-T (7)	0,22	1289	0	1	99,9
116	17	72308237	72308320	84	84	GAG(3)	0,62	1260	0	0	100
117	18	2616456	2616522	67	67	GA(3)	0,31	1005	0	0	100
118	18	6980478	6980568	91	91	N/D	0,37	1365	0	0	100
119	18	9888026	9888094	69	69	Poli-A (6), TG(3)	0,43	1035	0	0	100
120	18	38836999	38837073	75	75	Poli-A (5), inserción y deleción	0,37	1121	0	19	98,3
121	18	47405382	47405462	81	81	CTC(3), inserción y deleción	0,47	1215	0	0	100
122	18	54815665	54815749	85	85	CT(3), inserción y deleción	0,45	1275	0	0	100
123	18	59773996	59774060	65	65	N/D	0,48	975	0	0	100

124	19	625143	625241	99	99	N/D	0,59	1478	0	7	99,5
125	19	18121418	18121491	74	74	N/D	0,68	1110	0	0	100
126	19	18186574	18186643	70	70	N/D	0,64	1050	0	0	100
127	20	746056	746149	94	94	N/D	0,61	1410	0	0	100
128	20	10633195	10633276	82	82	AC(3)	0,59	1230	0	0	100
129	20	17705633	17705708	76	76	CT(3)	0,58	1140	0	0	100
130	20	21766821	21766890	70	70	GT(3), TG(4), inserción y deleción	0,46	1050	0	0	100
131	20	25278421	25278521	101	101	Inserción y deleción	0,63	1515	0	0	100
132	20	50897302	50897368	67	67	Inserción y deleción	0,36	1005	0	6	99,4
133	20	62331904	62331994	91	88	Poli-G (6)	0,73	1320	0	0	100
134	20	62690860	62690946	87	87	Inserción y deleción	0,57	1305	0	0	100
135	21	30300823	30300888	66	66	Inserción y deleción	0,35	990	0	0	100
136	21	33694176	33694273	98	98	Poli-T (6), CA(3)	0,54	1470	0	0	100
137	21	36710706	36710792	87	87	GT(3), inserción y deleción	0,39	1305	0	0	100
138	21	46644924	46644992	69	69	Poli-A (6), AG(3), inserción y deleción	0,32	1029	0	7	99,3
139	21	46705575	46705664	90	90	Poli-T (5), poli-A (6)	0,5	1350	0	0	100
140	22	25750774	25750873	100	100	Inserción y deleción	0,63	1500	0	1	99,9
141	22	32439233	32439329	97	97	N/D	0,68	1455	0	0	100
142	22	37409844	37409940	97	97	Inserción y deleción	0,46	1455	0	0	100
143	22	37637596	37637694	99	99	N/D	0,6	1485	0	0	100

144	22	47081347	47081438	92	92	Inserción y deleción	0,66	1380	0	0	100
145	X	15870424	15870492	69	69	Poli-T (5)	0,26	1035	0	0	100
146	X	135288543	135288611	69	69	Poli-C (5)	0,62	1035	0	0	100
147	X	135290777	135290847	71	71	N/D	0,52	1065	0	0	100
148	Y	2655397	2655461	65	0	N/D	0,55	0	0	0	N/D
149	Y	2655519	2655609	91	0	N/D	0,48	0	0	0	N/D
150	Y	2655609	2655679	71	0	Poli-A (5)	0,37	0	0	0	N/D

Las variantes que presentaron ausencia de llamadas se resumen en la tabla 12. Se enumeran también en la tabla los filtros específicos cuyo resultado fue la ausencia de llamadas.

Tabla 12 Resumen de ausencias de llamadas de variantes

N.º de amplicón	Cromosoma:Posición	Variante	Contenido del amplicón correspondiente	Filtro	Variantes omitidas	Variantes previstas
28	5:1882129	T > G	78 % de GC	LowDP ¹	13	
52	8:24811064	AG > A	Poli-G (7), CTC(4), 61 % de GC	R3x6 ²	15	15
60	10:11784633	C > T	Poli-GC (3), 87 % de GC	LowDP	13	13
64	10:55892600	TAC > T	AC(11), 42 % de GC	R3x6	9	9
111	17:39589692	C > CA	Poli-A (13), 29 % de GC	R3x6	13	13

¹ LowDP: baja cobertura. Una variante se filtra si la profundidad de al menos uno de los grupos en esa posición determinada está por debajo de 900.

² R3x6: filtro de repetición. Una variante se filtra en caso de que aparezca varias veces, en parte o en su totalidad, en el genoma de referencia adyacente a la posición de la variante. Es necesario que existan al menos seis repeticiones en la referencia y únicamente se tienen en cuenta las repeticiones con una longitud de hasta 3 pb.

Los resultados de la secuenciación de la muestra se compararon con un genotipo muy seguro definido para la NA12878 por el Instituto de estándares y tecnología de EE. UU. (NIST) (v. 2.19). De los 150 amplicones, 92 estaban incluidos completamente en las regiones genómicas muy fiables, 41 coincidían parcialmente y 17 no coincidían en absoluto con la secuencia del NIST. El resultado fueron 10 000 coordenadas por duplicado para llevar a cabo la comparación. Las llamadas de bases no variantes se compararon con el conjunto hg19 de la secuencia de referencia del genoma humano. La precisión de los resultados se muestra en la tabla 13.

Tabla 13 Coincidencia de los resultados de las llamadas de bases del instrumento MiSeqDx con la referencia del NIST para la muestra GM12878

Muestra	N.º de amplicones	Promedio del índice de llamada	N.º total de llamadas de variantes TP	N.º total de llamadas de variantes FN	N.º total de llamadas TN	N.º total de llamadas FP	PPA	NPA	OPA
GM12878	150	98,43	206	0	19231	0	100	100	100

Las cinco muestras que no se habían diluido se analizaron con una mayor profundidad para hacer llamadas a inserciones y deleciones de menor tamaño (tabla 14). En algunos casos, la inserción y deleción era habitual entre dos o más muestras, tal y como se refleja en la columna "N.º total de duplicados de muestras con inserción y deleción". Los resultados de ambos duplicados de las cinco muestras se incluyen en la tabla 14. Se detectó un total de 71 inserciones y deleciones cuyo tamaño oscilaba entre 1 y 24 pb en el caso de las inserciones y entre 1 y 25 pb en el caso de las deleciones. Se detectaron 68 inserciones y deleciones cuyo porcentaje de coincidencia positiva era 1 en cada uno de los casos. Tres inserciones y deleciones no obtuvieron llamadas correctas debido a que cada una de estas variantes presentó ausencia de llamadas a causa del filtro R3x6, de modo que el PPA no se pudo calcular, ya que excluye las ausencias de llamadas. Las tres variantes eran una deleción de 1 pb (chr8 24811064 AG>A), una deleción de 2 pb (chr10 55892600 TAC>T) y una inserción de 1 pb (chr17 39589692 C>CA).

Tabla 14 Resumen de la detección de inserciones y deleciones con el instrumento MiSeqDx

Amplión	Cromosoma	Posición	Tamaño del fragmento analizado	Tipo y longitud de la inserción y deleción del amplión	Inserción y deleción	N.º total de duplicados de muestras con inserción y deleción	N.º de ausencias de llamadas	N.º total de llamadas incorrectas de inserción y deleción	N.º total de llamadas correctas de inserción y deleción	PPA
1	1	36450544	93	Deleción de 25 pb	GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G	7	0	0	7	100
2	1	109465165	79	Deleción de 3 pb	ACTT>A	9	0	0	9	100
3	1	218353908	91	Inserción de 23 pb	T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA	15	0	0	15	100
4	1	223906701	92	Deleción de 17 pb	GACAGACTGTGAGGAAGA>G	11	0	0	11	100
6	1	236372081	70	Inserción de 5 pb	C>CTTAAG	9	0	0	9	100
7	1	247812083	88	Inserción de 3 pb	C>CATG	9	0	0	9	100
8	2	55862804	90	Inserción de 7 pb	T>TTTGGTAA	13	0	0	13	100
9	2	87003972	80	Deleción de 6 pb	TTATCTC>T	11	0	0	11	100
13	2	200796749	87	Inserción de 5 pb	T>TTAAAA	15	0	0	15	100
14	2	212245090	91	Inserción de 12 pb	C>CTGAAAATAGGAT	11	0	0	11	100
16	2	235016388	73	Inserción de 2 pb	A>ATG	9	0	0	9	100
17	3	4466274	93	Deleción de 23 pb	TAACTTAAAATTACAAAATAACCC>T	13	0	0	13	100

19	3	49851375	70	Inserción de 9 pb	C>CCTGGCTCCT	7	0	0	7	100
21	3	190106071	75	Delección de 1 pb	AG>A	13	0	0	13	100
25	4	56236567	66	Delección de 8 pb	TAACCGAAA>T	9	0	0	9	100
27	4	164446785	62	Inserción de 11 pb	T>TTATGGTATTGA	9	0	0	9	100
31	5	74077155	83	Delección de 4 pb	TAGTA>T	7	0	0	7	100
34	5	155662255	75	Inserción de 8 pb	G>GCCTACTGA	13	0	0	13	100
36	6	24950035	92	Delección de 21 pb	CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C	11	0	0	11	100
37	6	31084942	100	Delección de 3 pb	GCTT>G	15	0	0	15	100
39	6	32986905	95	Delección de 25 pb	CTTTCACTTTCCCGTCTCATGCAAAG>C	7	0	0	7	100
41	6	41647442	95	Delección de 23 pb	GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G	11	0	0	11	100
44	7	66276142	88	Inserción de 1 pb	C>CT	13	0	0	13	100
46	7	110939983	85	Delección de 4 pb	CAAGT>C	13	0	0	13	100
47	7	128533514	90	Inserción de 1 pb	T>TC	15	0	0	15	100
48	7	149503916	91	Delección de 4 pb	GGATA>G	7	0	0	7	100
50	7	156476548	93	Delección de 11 pb	GAATCTGCACTT>G	13	0	0	13	100
52	8	24811064	90	Delección de 1 pb	AG>A	15	15	0	0	N/D
53	8	76518677	67	Inserción de 4 pb	T>TACTG	9	0	0	9	100
55	9	105586193	65	Inserción de 4 pb	C>CAATT	13	0	0	13	100
58	9	138995370	97	Delección de 21 pb	TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T	9	0	0	9	100
59	10	5987158	79	Delección de 3 pb	TAAC>T	11	0	0	11	100
63	10	45084202	95	Delección de 16 pb	AGCGTCTATAACCAAAT>A	11	0	0	11	100
64	10	55892600	89	Delección de 2 pb	TAC>T	9	9	0	0	100

68	11	30177690	70	Inserción de 2 pb	C>CTG	7	0	0	7	100
70	11	59837721	62	Inserción de 8 pb	T>TTATGAAAA	11	0	0	11	100
75	11	118406328	85	Delección de 8 pb	CAGTGTGGA>C	9	0	0	9	100
76	11	120357842	85	Delección de 2 pb	CTT>C	11	0	0	11	100
78	12	2834814	84	Inserción de 21 pb	T>TTCTCAGTACGGTGAACCCCAG	15	0	0	15	100
84	13	25817002	89	Inserción de 19 pb	C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT	15	0	0	15	100
85	13	44880152	89	Inserción de 4 pb	C>CCTGT	11	0	0	11	100
86	13	77665265	77	Delección de 20 pb	ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A	9	0	0	9	100
89	14	46958967	73	Delección de 22 pb	TTTAAAATTTGAATGTGATAAAA>T	15	0	0	15	100
90	14	58050081	81	Inserción de 4 pb	C>CTGAT	13	0	0	13	100
91	14	82390602	91	Delección de 16 pb	CTTGCTCTATAAACCGT>C	11	0	0	11	100
93	14	102808554	94	Delección de 5 pb	CGTGGA>C	9	0	0	9	100
95	15	63446199	68	Delección de 6 pb	CAAAATT>C	11	0	0	11	100
96	15	77879862	95	Delección de 25 pb	GCCCCTGAGCCAGCCTCCCGCTCTTA>G	9	0	0	9	100
98	15	85438311	72	Inserción de 3 pb	C>CTTG	9	0	0	9	100
100	15	89864316	70	Inserción de 4 pb	G>GCTAC	9	0	0	9	100
105	16	85706416	91	Delección de 7 pb	ATTATTTC>A	11	0	0	11	100
107	17	3594276	87	Delección de 1 pb	TG>T	13	0	0	13	100
108	17	3970133	91	Inserción de 18 pb	A>ATCCTATTCTACTCTGAAT	11	0	0	11	100
109	17	16084985	93	Inserción de 4 pb	A>AACAC	7	0	0	7	100
111	17	39589692	84	Inserción de 1 pb	C>CA	13	13	0	0	100
112	17	39589739	84	Inserción de 24 pb	T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA	15	0	0	15	100

113	17	45438886	92	Delección de 4 pb	CAGTG>C	7	0	0	7	100
114	17	61502459	79	Delección de 12 pb	TTTGTATCTGCTG>T	13	0	0	13	100
120	18	38837054	75	Inserción de 22 pb	T>TGTATCTTAGCAAAAAGTTTCTCA	15	0	0	15	100
121	18	47405425	81	Inserción de 3 pb	T>TGAG	11	0	0	11	100
122	18	54815706	85	Delección de 2 pb	ACT>A	13	0	0	13	100
130	20	21766863	70	Delección de 15 pb	TACTTGAGAAGCTGAGG>T	9	0	0	9	100
131	20	25278464	101	Inserción de 5 pb	A>AGTGGG	13	0	0	13	100
132	20	50897361	67	Inserción de 11 pb	G>GGAATGTCAGCC	15	0	0	15	100
134	20	62690925	87	Delección de 16 pb	TCCTGGCTGGCCTGTGG>T	9	0	0	9	100
135	21	30300873	66	Inserción de 11 pb	G>GATAAAACTTTA	9	0	0	9	100
137	21	36710749	87	Delección de 21 pb	ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A	9	0	0	9	100
138	21	46644985	69	Delección de 5 pb	GTTGTT>G	13	0	0	13	100
140	22	25750814	100	Inserción de 6 pb	C>CAGGGCA	13	0	0	13	100
142	22	37409885	97	Inserción de 5 pb	C>CTGTTT	13	0	0	13	100
144	22	47081407	92	Delección de 10 pb	GGGCACAGGCA>G	7	0	0	7	100

Estudio 2

Este estudio ha utilizado muestras de tejido de cáncer colorrectal FFPE almacenadas en un banco y un ensayo representativo de dos genes que se ha comparado con el método de referencia: la secuenciación bidireccional de Sanger (Sanger). De un total de 1183 sujetos, 441 obtuvieron resultados válidos en el ensayo representativo y en la secuenciación de Sanger. Cuando se evaluaron por sujeto (tabla 15), 230 de los 441 sujetos dieron positivo por Sanger (se detectó una mutación por Sanger) y, de ellos, 227 dieron positivo por el ensayo representativo. Los 211 sujetos restantes de los 441 obtuvieron resultados negativos por Sanger (no se detectaron mutaciones por Sanger), de las cuales 206 obtuvieron un resultado negativo por el ensayo representativo. Como resultado, la coincidencia de porcentaje positivo (PPA) fue del 98,7 % y la coincidencia de porcentaje negativo (NPA), del 97,6 % (tabla 15).

Tabla 15 Resultados por sujeto de la coincidencia de porcentaje positivo y negativo

Ensayo representativo	Sanger		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	227 ¹	5	232
Negativo	3 ²	206	209
Total	230	211	441

Resumen de rendimiento

Estadísticas de coincidencia	Estimación puntual	IC del 95 % exacto
PPA	227/230 = 98,7 %	[96,2 %, 99,7 %]
NPA	206/211 = 97,6 %	[94,6 %, 99,2 %]

¹ Se detectaron 224 coincidencias exactas en el propio sujeto y en todas las mutaciones. En el caso de dos sujetos, MiSeqDx encontró la mutación que se había detectado por Sanger y otra mutación más. En el caso de un sujeto, MiSeqDx y Sanger detectaron mutaciones distintas.

² Se detectaron por Sanger dos mutaciones en un sujeto y en dos sujetos se detectó una mutación por Sanger.

Estudio 3

Este estudio evaluaba las bibliotecas de ADN que se habían preparado con muestras FFPE de diversos tipos de tejido. Un total de 109 muestras FFPE de ocho tejidos diferentes (de colon, de ovario, de páncreas, suprarrenal, de vejiga, de hígado, de tiroides y mamario) y al menos 11 muestras FFPE que representaban cada tipo de tejido. El tejido suprarrenal contenía metástasis de tumores de esófago, pulmón y colon; los demás tejidos contenían tumores primarios. El estudio se basó en un ensayo representativo diseñado para interrogar 26 genes que cubrían 21 577 bases en 17 cromosomas. Se secuenciaron usando Sanger un total de seis genes distintos (*KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *EGFR* y *BRAF*) y cada tumor contenía de uno a tres genes secuenciados por Sanger teniendo en cuenta la prevalencia prevista de las mutaciones somáticas en ese tumor. Los resultados de la secuenciación por Sanger identificaban 39 mutaciones somáticas de SNV en 33 de las 109 muestras FFPE. MiSeqDx identificaba 36 mutaciones somáticas de SNV en 32 de las 109 muestras FFPE con un falso negativo y dos ausencias de llamadas en posición de variantes. La PPA fue del 97,3 %. MiSeqDx identificó 78 975 bases de referencia en las 109 muestras FFPE con 29 falsos positivos con respecto a la secuenciación Sanger y 2437 ausencias de llamadas. La NPA fue del 99,9 %. Una delección de dos bases coincidía en ambos métodos. La tabla 16 resume los resultados por tipo de tejido.

Tabla 16 Coincidencia de porcentaje positivo y negativo por tipo de tejido

Tipo de tejido	N.º de muestras	N.º total de variantes	N.º total de variantes TP	N.º total de variantes FN	N.º total de llamadas TN	N.º total de llamadas FP	N.º total de ausencias de llamadas	PPA	NPA
Suprarrenal	16	6	4	1	11823	2	607	80	>99,9
Vejiga	12	4	4	0	7070	3	273	100	>99,9
Mama	16	3	3	0	13439	7	479	100	99,9
Colon	11	6	5	0	8720	2	133	100	>99,9
Hígado	13	3	3	0	7984	1	59	100	>99,9
Ovario	13	7	7	0	10581	1	724	100	>99,99
Páncreas	17	7	7	0	11929	12	489	100	99,9
Tiroides	11	3	3	0	7429	1	652	100	>99,9
Total	109	39	36	1	78974	29	3416	97,3	>99,9

Reproducibilidad

Se llevaron a cabo dos estudios para evaluar la reproducibilidad del instrumento MiSeqDx con ADN que se había extraído de las muestras FFPE. En el estudio 1 se emplearon varios instrumentos y en el estudio 2 varias posiciones.

Estudio 1

La reproducibilidad del instrumento MiSeqDx se estableció por medio de dos instrumentos y dos operadores cualificados para un total de ocho experimentos. El ensayo representativo, el contexto genómico del amplicón, las muestras y el método de referencia que se utilizaron fueron los mismos que los que se han descrito más arriba en el estudio de precisión 1. Los resultados de cada instrumento se muestran por amplicón (tabla 17) con el objetivo de demostrar la reproducibilidad de las llamadas en todos los instrumentos. Los porcentajes (%) de llamadas correctas incluían tanto las llamadas incorrectas como la ausencia de llamadas (no se superaron uno o más filtros en las llamadas de variantes). Los instrumentos generaron cantidades parecidas de ausencias de llamadas dependiendo del amplicón en particular. En el MiSeqDx 1 se observó una sola llamada incorrecta en una región de confianza definida por el estándar de referencia Platinum Genome. La llamada incorrecta era un falso positivo de una llamada de una variante de inserción en el amplicón 64 que interrogaba el cromosoma 10 entre las posiciones 55892599 y 55892687. El amplicón contenía una repetición dinucleótida de 11.

Tabla 17 Resultado de la reproducibilidad del estudio instrumento a instrumento del instrumento MiSeqDx (por amplicón)

Amplicón	Cromosoma	Tamaño del fragmento analizado	Bases en regiones de confianza	Contenido genómico del amplicón	Contenido de GC	M70215			M70217		
						Total de llamadas correctas	Total de llamadas incorrectas	N.º total de ausencias de llamadas	Total de llamadas correctas	Total de llamadas incorrectas	N.º total de ausencias de llamadas
1	1	93	93	Inserción y delección	0,22	5580	0	0	5580	0	0
2	1	79	79	Poli-A (5), poli-C (5), inserción y delección	0,38	4740	0	0	4740	0	0
3	1	91	91	Inserción y delección	0,4	5448	0	12	5453	0	8
4	1	92	92	Inserción y delección	0,49	5518	0	2	5518	0	2
5	1	81	81	Poli-G (5)	0,69	4858	0	2	4860	0	0
6	1	70	70	Poli-T (10), inserción y delección	0,39	4200	0	0	4200	0	0
7	1	88	88	Poli-A (5), CT(3), TAA(3), inserción y delección	0,27	5279	0	1	5279	0	1
8	2	90	90	Inserción y delección	0,28	5400	0	0	5400	0	0
9	2	80	80	Inserción y delección	0,38	4800	0	0	4800	0	0
10	2	85	81	N/D	0,65	4859	0	1	4859	0	1
11	2	75	75	Poli-A (8)	0,35	4468	0	40	4468	0	40
12	2	88	88	Poli-T (5)	0,42	5280	0	0	5280	0	0
13	2	87	87	Poli-T (5), inserción y delección	0,31	5211	0	43	5214	0	40
14	2	91	91	Poli-T (5), poli-A (6), inserción y delección	0,3	5453	0	7	5449	0	11

15	2	93	93	N/D	0,43	5579	0	1	5579	0	1
16	2	73	73	Poli-T (5), inserción y delección	0,42	4378	0	2	4379	0	1
17	3	93	93	AT(3), inserción y delección	0,27	5396	0	184	5396	0	184
18	3	83	83	N/D	0,43	4980	0	0	4980	0	0
19	3	70	70	CT(3), inserción y delección	0,49	4193	0	7	4194	0	6
20	3	88	88	Poli-A (5), poli-T (5), poli-A (9), TG(3)	0,41	5220	0	120	5220	0	120
21	3	75	74	Inserción y delección	0,57	4432	0	8	4432	0	8
22	4	78	78	Poli-A (6)	0,26	4676	0	4	4676	0	4
23	4	97	97	Poli-G (6), poli-T (5), poli-A (5)	0,42	5820	0	0	5820	0	0
24	4	78	78	N/D	0,29	4679	0	1	4677	0	3
25	4	66	62	Poli-A (5), inserción y delección	0,36	3720	0	0	3720	0	0
26	4	71	69	Poli-A (5)	0,46	4140	0	0	4140	0	0
27	4	62	62	Poli-A (7), inserción y delección	0,27	3676	0	45	3671	0	51
28	5	78	75	N/D	0,78	3368	0	1132	3485	0	1015
29	5	84	84	GT(3), CCA(3)	0,62	5040	0	0	5040	0	0
30	5	64	64	N/D	0,39	3840	0	0	3840	0	0
31	5	83	83	Poli-A (6), inserción y delección	0,3	4979	0	1	4980	0	0
32	5	67	67	Poli-T (5)	0,37	4020	0	0	4020	0	0

33	5	91	91	CT(4), AG(3)	0,55	5460	0	0	5460	0	0
34	5	75	75	Inserción y delección	0,43	4498	0	6	4500	0	1
35	6	102	102	Poli-G (6)	0,68	6120	0	0	6120	0	0
36	6	92	92	Inserción y delección	0,63	5520	0	0	5520	0	0
37	6	100	94	GCT(5), inserción y delección	0,61	5532	0	108	5532	0	108
38	6	98	98	Poli-T (5), TCT(3), CTT(3)	0,55	5820	0	60	5820	0	60
39	6	95	95	Inserción y delección	0,53	5697	0	3	5698	0	2
40	6	86	86	Poli-C (6)	0,7	5159	0	1	5160	0	0
41	6	95	94	Poli-G (5), inserción y delección	0,61	5638	0	2	5638	0	2
42	6	91	91	Poli-A (5)	0,44	5460	0	0	5460	0	0
43	7	73	73	N/D	0,44	4380	0	0	4380	0	0
44	7	88	88	Inserción y delección	0,35	5279	0	1	5276	0	4
45	7	87	87	Poli-A (7), AG(4)	0,26	5184	0	36	5181	0	39
46	7	85	85	Inserción y delección	0,38	5100	0	0	5100	0	0
47	7	90	90	Poli-G (5), inserción y delección	0,62	5398	0	2	5399	0	1
48	7	91	91	Poli-G (6), poli-C (6), inserción y delección	0,71	5460	0	0	5459	0	1
49	7	81	66	N/D	0,31	3960	0	0	3960	0	0
50	7	93	93	Inserción y delección	0,35	5580	0	0	5579	0	1
51	8	83	83	N/D	0,42	4980	0	0	4980	0	0

52	8	90	89	Poli-G (7), CTC(4), inserción y deleción	0,61	5219	0	121	5220	0	120
53	8	67	67	Inserción y deleción	0,3	4020	0	0	4020	0	0
54	9	98	98	Poli-G (6)	0,67	5879	0	1	5880	0	0
55	9	65	65	Inserción y deleción	0,32	3894	0	6	3895	0	5
56	9	96	96	N/D	0,49	5760	0	0	5760	0	0
57	9	83	83	AT(3)	0,37	4973	0	7	4978	0	2
58	9	97	97	Poli-C (6), inserción y deleción	0,68	5817	0	3	5818	0	2
59	10	79	78	Poli-G (5), inserción y deleción	0,47	4679	0	1	4680	0	0
60	10	98	91	GC(3)	0,87	450	0	5010	632	0	4828
61	10	79	79	Poli-T (5)	0,3	4740	0	0	4740	0	0
62	10	90	90	Poli-A (5), poli-T (5)	0,2	5400	0	0	5400	0	0
63	10	95	95	Inserción y deleción	0,35	5699	0	1	5699	0	1
64	10	89	88	AC(11), inserción y deleción	0,42	5157	0	276	5153	2	273
65	10	80	80	N/D	0,49	4800	0	0	4800	0	0
66	10	81	81	N/D	0,51	4860	0	0	4860	0	0
67	11	97	96	N/D	0,45	5760	0	0	5760	0	0
68	11	70	70	Inserción y deleción	0,46	4199	0	2	4200	0	1
69	11	100	100	N/D	0,65	5999	0	1	5998	0	2
70	11	62	62	Inserción y deleción	0,37	3720	0	0	3720	0	0
71	11	102	102	N/D	0,59	6120	0	0	6118	0	2

72	11	73	73	Poli-A (5)	0,4	4380	0	0	4380	0	0
73	11	85	85	N/D	0,42	5100	0	0	5100	0	0
74	11	91	91	Poli-G (6)	0,55	5437	0	23	5441	0	19
75	11	85	85	Inserción y deleción	0,53	5100	0	0	5100	0	0
76	11	85	85	Poli-A (5), CA(3), inserción y deleción	0,34	5100	0	0	5100	0	0
77	11	85	85	GA(3)	0,52	5100	0	0	5100	0	0
78	12	84	84	Poli-C (5), inserción y deleción	0,52	5040	0	60	5038	0	63
79	12	93	93	Poli-A (7), AC(4)	0,33	5577	0	3	5573	0	7
80	12	81	81		0,49	4860	0	0	4860	0	0
81	12	71	71	Poli-A (6)	0,35	4260	0	0	4260	0	0
82	12	95	95	Poli-G (5)	0,68	5605	0	95	5605	0	95
83	13	73	73	N/D	0,52	4380	0	0	4379	0	1
84	13	89	88	Poli-A (5), poli-T (7), poli-A (7), inserción y deleción	0,22	5220	0	60	5220	0	60
85	13	89	89	Inserción y deleción	0,49	5340	0	0	5340	0	0
86	13	77	77	Inserción y deleción	0,39	4620	0	0	4620	0	0
87	14	67	67	GA(3), TA(3)	0,39	4020	0	0	4020	0	0
88	14	83	83	N/D	0,25	4980	0	0	4980	0	0
89	14	73	72	Poli-T (5), inserción y deleción	0,19	4173	0	147	4173	0	147
90	14	81	81	Inserción y deleción	0,38	4860	0	2	4860	0	0

91	14	91	91	Inserción y deleción	0,35	5459	0	1	5460	0	0
92	14	66	66	Poli-A (5)	0,41	3900	0	240	3900	0	240
93	14	94	94	Inserción y deleción	0,62	5637	0	3	5637	0	3
94	15	98	96	Poli-C (5)	0,45	5760	0	0	5760	0	0
95	15	68	68	Inserción y deleción	0,25	4079	0	1	4078	0	2
96	15	95	93	Poli-G (5), inserción y deleción	0,68	5475	0	105	5487	0	93
97	15	95	95	Poli-T (6)	0,43	5699	0	1	5700	0	0
98	15	72	71	Inserción y deleción	0,65	4260	0	0	4260	0	0
99	15	91	91	N/D	0,36	5460	0	0	5460	0	0
100	15	70	70	Inserción y deleción	0,56	4200	0	0	4200	0	0
101	16	63	63	N/D	0,27	3780	0	0	3780	0	0
102	16	95	95	Poli-C (5)	0,67	5700	0	0	5700	0	0
103	16	87	87	TA(3)	0,41	5220	0	0	5220	0	0
104	16	104	104	Poli-C (5)	0,67	6238	0	3	6238	0	3
105	16	91	91	Poli-T (5), inserción y deleción	0,37	5443	0	17	5444	0	16
106	17	89	89	GC(3)	0,64	5251	0	89	5339	0	1
107	17	87	87	Poli-C (5), inserción y deleción	0,67	5212	0	8	5212	0	8
108	17	91	91	Inserción y deleción	0,46	5459	0	1	5459	0	1
109	17	93	93	Inserción y deleción	0,26	5580	0	0	5580	0	0
110	17	91	89	Poli-T (5)	0,54	5340	0	0	5340	0	0

111	17	84	82	Poli-A (13), inserción y deleción (×2)	0,29	4860	0	308	4860	0	307
112	17	91	91	Poli-A (5)	0,34	5459	0	1	5459	0	1
113	17	92	92	Poli-A (7), AT(3), AT (4), AT(4), inserción y deleción	0,26	5460	0	60	5460	0	60
114	17	79	79	Inserción y deleción	0,41	4699	0	41	4700	0	40
115	17	86	86	Poli-T (7)	0,22	5153	0	7	5156	0	4
116	17	84	84	GAG(3)	0,62	5039	0	1	5039	0	1
117	18	67	67	GA(3)	0,31	4020	0	0	4020	0	0
118	18	91	91	N/D	0,37	5460	0	0	5460	0	0
119	18	69	69	Poli-A (6), TG(3)	0,43	4132	0	8	4131	0	9
120	18	75	75	Poli-A (5), inserción y deleción	0,37	4475	0	85	4480	0	79
121	18	81	81	CTC(3), inserción y deleción	0,47	4860	0	0	4860	0	0
122	18	85	85	CT(3), inserción y deleción	0,45	5098	0	2	5098	0	2
123	18	65	65	N/D	0,48	3900	0	0	3900	0	0
124	19	99	99	N/D	0,59	5926	0	14	5924	0	16
125	19	74	74	N/D	0,68	4440	0	0	4438	0	2
126	19	70	70	N/D	0,64	4199	0	1	4200	0	0
127	20	94	94	N/D	0,61	5640	0	1	5638	0	3
128	20	82	82	AC(3)	0,59	4920	0	0	4920	0	0
129	20	76	76	CT(3)	0,58	4559	0	1	4558	0	2

130	20	70	70	GT(3), TG(4), inserción y deleción	0,46	4200	0	0	4200	0	0
131	20	101	101	Inserción y deleción	0,63	6060	0	0	6060	0	0
132	20	67	67	Inserción y deleción	0,36	4020	0	31	4020	0	25
133	20	91	88	Poli-G (6)	0,73	5277	0	3	5274	0	6
134	20	87	87	Inserción y deleción	0,57	5218	0	2	5218	0	2
135	21	66	66	Inserción y deleción	0,35	3959	0	1	3957	0	3
136	21	98	98	Poli-T (6), CA(3)	0,54	5880	0	0	5880	0	0
137	21	87	87	GT(3), inserción y deleción	0,39	5220	0	0	5220	0	0
138	21	69	69	Poli-A (6), AG(3), inserción y deleción	0,32	4119	0	31	4113	0	37
139	21	90	90	Poli-T (5), poli-A (6)	0,5	5399	0	1	5399	0	1
140	22	100	100	Inserción y deleción	0,63	5998	0	7	5997	0	5
141	22	97	97	N/D	0,68	5819	0	1	5819	0	1
142	22	97	97	Inserción y deleción	0,46	5818	0	2	5816	0	4
143	22	99	99	N/D	0,6	5940	0	0	5940	0	0
144	22	92	92	Inserción y deleción	0,66	5519	0	1	5519	0	1
145	X	69	69	Poli-T (5)	0,26	4139	0	1	4140	0	0
146	X	69	69	Poli-C (5)	0,62	4136	0	4	4137	0	3
147	X	71	71	N/D	0,52	4260	0	0	4260	0	0
148	Y	65	0	N/D	0,55	0	0	0	0	0	0
149	Y	91	0	N/D	0,48	0	0	0	0	0	0
150	Y	71	0	Poli-A (5)	0,37	0	0	0	0	0	0

Los resultados del estudio de reproducibilidad se analizaron por operador mediante la frecuencia de variante (tabla 18). El análisis demostró que las frecuencias de variantes eran coherentes en el caso de todos los operadores. Se expone el promedio de frecuencias de variantes con una desviación estándar de +/- 1.

Tabla 18 Resultados operador a operador del instrumento MiSeqDx

Rango de frecuencia de variantes	N.º de variantes únicas	N.º total de variantes analizadas por el Operador 1	N.º total de variantes analizadas por el Operador 2	Promedio (desviación estándar) de la frecuencia de variante comunicada por el Operador 1	Promedio (desviación estándar) de la frecuencia de variante comunicada por el Operador 2
Frecuencia alta (~100 %)	1112	1072	1072	0,96 +/- 0,05	0,96 +/- 0,05
Frecuencia media (~50 %)	3240	3151	3161	0,49 +/- 0,04	0,49 +/- 0,04
Frecuencia baja (entre el 3 % y el 7 %)	620	618	612	0,05 +/- 0,01	0,05 +/- 0,01

Los resultados del estudio de reproducibilidad de cada muestra se presentan como suma de los ocho experimentos (tabla 19). La detección de cada tipo de variante se evalúa de forma independiente: SNV, inserciones y deleciones por separado. Se excluyen las posiciones de referencia. Este análisis demostró que los resultados de las variantes eran reproducibles en todas las muestras.

Tabla 19 Coincidencia de los resultados de las llamadas de bases del instrumento MiSeqDx por muestra

Muestra	SNV				Inserciones				Deleciones			
	N.º total	N.º total de TP	N.º total de FP	N.º total de FN	N.º total	N.º total de TP	N.º total de FP	N.º total de FN	N.º total	N.º total de TP	N.º total de FP	N.º total de FN
GM12877	592	574	2	0	336	336	0	0	228	272	0	0
GM12878	1456	1432	0	0	320	304	0	0	384	352	0	0
GM12879	912	896	0	0	336	320	0	0	288	272	0	0
GM12885	1200	1192	0	0	400	384	0	0	352	320	0	0
GM12886	1104	1104	0	0	368	352	0	0	368	352	0	0
GM12877-D1 ¹	3640	3582	0	0	800	760	0	0	960	880	0	0
GM12877-D2 ²	400	398	0	0	520	516	0	0	560	556	0	0

¹ Variantes con una frecuencia superior al 20 %.

² Variantes con una frecuencia inferior al 20 %.

Los datos obtenidos en los ocho experimentos que se llevaron a cabo en este estudio de reproducibilidad corroboran la afirmación de que el instrumento MiSeqDx puede secuenciar de forma coherente:

- Contenido de GC \geq 19 % (se llamaron correctamente todas las bases de 120 amplicones de los 120 secuenciados con un 19 % de contenido de GC y se obtuvo un índice de ausencia de llamadas del 3,4 %)
- Contenido de GC \leq 73 % (se llamaron correctamente todas las bases de 120 amplicones de los 120 secuenciados con un 73 % de contenido de GC y se obtuvo un índice de ausencia de llamadas del 0,1 %)
- Longitudes de poli-A \leq 8 (se llamó correctamente la repetición de poli-A de ocho nucleótidos en 120 de los 120 amplicones secuenciados que contenían poli-A = 8)
- Longitudes de poli-T \leq 10 (se llamó correctamente la repetición de poli-T de 10 nucleótidos en 120 de los 120 amplicones secuenciados que contenían poli-T = 10)
- Longitudes de poli-G \leq 6 (se llamó correctamente la repetición de poli-G de seis nucleótidos en 720 de los 720 amplicones secuenciados que contenían poli-G = 6)

- Longitudes de poli-C ≤ 6 (se llamó correctamente la repetición de poli-C de seis nucleótidos en 359 de los 360 amplicones secuenciados que contenían poli-C = 6 y hubo una ausencia de llamadas)
- Longitudes de repetición dinucleótida $\leq 4\times$ (se llamaron correctamente todas las bases de 600 de los 600 amplicones secuenciados con repetición dinucleótida de $4\times$ y se obtuvo un índice de ausencia de llamadas del 0,4 %)
- Longitudes de repetición trinucleótida $\leq 5\times$ (se llamaron correctamente todas las bases de 120 de los 120 amplicones secuenciados con repetición trinucleótida de $5\times$ y se obtuvo un índice de ausencia de llamadas del 1,9 %)
- Inserciones de 24 bases o menos y deleciones de 25 o menos bases
 - Se llamaron correctamente inserciones de 24 bases en 120 muestras de las 120 totales
 - Se llamaron correctamente deleciones de 25 bases en 182 muestras de las 184 y se detectó la ausencia de llamadas en 2 muestras

Estudio 2

Se llevó a cabo un estudio externo para evaluar la reproducibilidad del ensayo representativo de dos genes, que se describía en el estudio de precisión 2, en tres centros de pruebas externos (con dos operadores por centro), un lote de reactivos y tres días no consecutivos en los que se efectuaron las pruebas. Las pruebas se llevaron a cabo con seis paneles de muestras con características bien definidas de ADN genómico a partir de muestras clínicas FFPE o de estirpes celulares. Cada panel contenía 10 miembros, lo que hacía un total de 60 miembros entre todos los paneles.

Los 60 miembros del panel contenían duplicados de cuatro muestras únicas sin mutaciones (para las mutaciones de panel), 12 muestras con mutación única (con una sola mutación), que se prepararon con niveles de frecuencia de mutación tanto altos como bajos, y dos muestras con mutación única (una sola mutación) que se prepararon solo con nivel de mutación bajo. Cada muestra con un nivel de frecuencia de mutación o de muestra único (las pruebas se realizaron por duplicado en cada uno de los experimentos) tendría así 36 posibles resultados (2 duplicados \times 2 operadores \times 3 días \times 3 centros), siempre que cada uno de los resultados obtenidos fuera válido.

El porcentaje previsto de llamadas (PEC) de todas las variantes positivas y negativas se evaluó comparando el resultado del ensayo representativo con el resultado previsto de las mutaciones (mutaciones previstas, se hayan detectado o no) en cada muestra. El PEC se calcula multiplicando 100 % por el número de llamadas previstas dividido entre el número de intentos de llamada. El intervalo de confianza bilateral del 95 % se calcula por medio del método de puntuación Wilson.

Al combinar los centros, los índices de muestra de paso fueron superiores o iguales a 94,7 % durante el primer experimento en el que se utilizó la muestra o en muestras que se habían probado en experimentos que dieron un resultado válido de primer paso. El PEC en el nivel de mutación de todas las muestras que contenían mutaciones fue del 99,6 % (905 de 909) (CI del 95 %; 98,9 y 99,8). La cantidad de intentos de llamadas en el total de las 56 mutaciones de panel (sin tener en cuenta si la mutación que se detectaba estaba prevista o no) para todas las muestras válidas fue de 58 856 (56 \times 1051). De estas 58 856 observaciones del nivel de mutación, tan solo se observaron seis incidencias en las que los resultados previstos y los obtenidos no coincidían. El PEC en el nivel de mutación de todas las variantes positivas y negativas de todos los miembros del panel, tanto con mutaciones como sin ellas, combinadas fue de 99,99 % (58 850 de 58 856).

Sensibilidad analítica (Límite del blanco [LoB] y Límite de detección [LoD])

Este estudio verificaba el corte del ensayo y establecía el Límite de detección (LoD) del MiSeqDx con un panel representativo. En resumen, las estirpes celulares del Platinum Genome con características bien definidas GM12878 y GM12877 se fijaron en formol y se embebieron en parafina para, a continuación, extraer el ADN. La GM12878 se diluyó con la GM12877 de forma que las frecuencias de variantes de 70 variantes (52 SNV, nueve inserciones y nueve deleciones) se acercaran a 0,05. Dos operadores probaron las dos muestras de ADN usando dos instrumentos con dos lotes de reactivos en un total de 10 experimentos de secuenciación con MiSeqDx. Los resultados obtenidos fueron de 40 duplicados por cada variante en la muestra GM12878 y 60 duplicados de cada coordenada en estado natural correspondiente en la muestra GM12877 por cada lote de reactivos. El LoB y el LoD se calcularon usando el enfoque clásico que establece el protocolo CLSI EP17-A2 con la opción no paramétrica. Se calcularon tanto el LoB como el LoD de SNV, inserciones y deleciones de forma independiente por medio de la agrupación de frecuencias de variantes por cada tipo de variante determinado. El error del Tipo I se definió como 0,01 y el error del Tipo II como 0,05.

En el caso del LoB, las frecuencias de variantes agrupadas se clasificaron de la más baja a la más alta y se calculó la posición nonagésima novena de la clasificación para cada lote de reactivos por cada tipo de variante (tabla 20). El software MiSeqDx emplea un corte (LoB eficiente) de frecuencia de variante de 0,026 para establecer la detección cualitativa de variantes. El límite del blanco que se había calculado confirmó que este corte daba como resultado un error de tipo I de, como máximo, 0,01.

Tabla 20 Límite del blanco

Tipo de variante	N.º total de frecuencias de variantes	LoB del Reactivo 1 (%)	LoB del Reactivo 2 (%)
SNV	3120	0,87	0,75
Inserción	540	0,79	0,60
Delección	540	0,96	0,84

En el caso del LoD, se calculó el porcentaje de frecuencia de mutación individual por cada lote de reactivos de cada tipo de variante que no superaba el corte de 0,026 (tabla 21). Debido a que los porcentajes eran inferiores al 5 % (0,05) correspondiente al error de tipo II, se calculó la mediana de las frecuencias de variantes combinadas para obtener el LoD (tabla 22). El LoD de cada tipo de variante se tomó del valor más alto de los dos que se habían calculado para los dos lotes de reactivos: 5,45 % en las SNV, 4,88 % en las inserciones y 5,44 % en las deleciones.

Tabla 21 Límite de detección

Lote de reactivo	Tipo de variante	N.º total de frecuencias de variantes	N.º de mediciones de las VF <2,6 %	Porcentaje (%) de mediciones de las VF <2,6 %	Límite de detección (%)
1	SNV	2080	5	0,20	5,45
	Inserción	360	0	0,00	4,86
	Delección	360	3	0,80	5,44
2	SNV	2080	26	1,30	5,44
	Inserción	360	0	0,00	4,88
	Delección	360	0	0,00	5,24

Los estudios que se exponen a continuación demuestran las características de rendimiento del MiSeqDx con otro ensayo representativo que estudia 56 mutaciones en dos genes cancerígenos de interés clínico (panel de mutaciones). El panel de mutaciones se ha diseñado expresamente con el objetivo de detectar 56 mutaciones en dos genes cancerígenos de interés clínico (Gen 1 y Gen 2). El ensayo establece, de forma simultánea, la presencia o ausencia de cada una de las 56 mutaciones en cada muestra que se secuencía. El método de referencia que se empleó en estos estudios fue la secuenciación bidireccional de Sanger.

Precisión lote a lote

El estudio de precisión lote a lote se llevó a cabo con el fin de evaluar el rendimiento del instrumento MiSeqDx en los lotes de los kit de reactivos que se fabrican (incluía la calificación de muestras, la preparación de bibliotecas y los reactivos de secuenciación) por medio del ensayo representativo de dos genes con un panel de cinco muestras de mezcla FFPE que cumplen los requisitos para la calificación de muestras. Cada muestra FFPE contenía dos mutaciones únicas: una con un nivel de frecuencia de mutación más bajo (del 8 % aproximadamente) y otra con un nivel de frecuencia de mutación alto (del 14 % aproximadamente). Se recogieron 12 observaciones de cada una de las cinco mezclas de muestras durante un período de tres días no consecutivos y con tres lotes de los kit de reactivos. La cantidad total de observaciones del estudio en todos los lotes de reactivos fue de 180 en todas las mezclas de muestras y de 360 en todos los niveles de frecuencia de mutación. Teniendo en cuenta todos los lotes y todos los días, el 99,7 % de las observaciones (359 de 360) mostraron los resultados que estaban previstos con respecto a las mutaciones. Una mutación con una frecuencia baja se llamó de forma incorrecta como de natural. Se llevó a cabo un análisis del componente de varianza en cada una de las mutaciones y de los niveles de frecuencia de mutación con el objetivo de estimar la variabilidad del sistema. La desviación estándar total oscilaba entre 0,011 y 0,029. La desviación estándar total del componente del lote de reactivos oscilaba entre 0 y 0,015.

Patentes y marcas registradas

Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS, Y DAÑOS EN OTROS BIENES.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Illumina, MiSeqDx, TruSeq, el color naranja calabaza y el diseño de las bases de streaming son marcas comerciales de Illumina, Inc. o sus afiliados en EE. UU. u otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

Información de contacto



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 (EE. UU.)
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Países Bajos

Patrocinador australiano:
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia

Etiquetado de productos

Para obtener una información detallada sobre los símbolos que aparecen en las etiquetas o en el embalaje del producto, consulte la leyenda que se ofrece en support.illumina.com en la ficha *Documentation and Literature* (Documentación y publicaciones) del kit.