

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE RIGEN LA CONTRACTACIÓN DEL SERVICIO DE PERFIL METABOLÓMICO/LIPIDÓMICO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS Y DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SU TRATAMIENTO BIOINFORMÁTICO, PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, SUBVENCIONADO POR INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (ISCI) I COFINANCIADO POR LA UNIÓN EUROPEA

Exp.Núm. IISPV2023-09

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE RIGEN LA CONTRACTACIÓN DEL SERVICIO DE PERFIL METABOLÓMICO/LIPIDÓMICO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS Y DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SU TRATAMIENTO BIOINFORMÁTICO, PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, SUBVENCIONADO POR INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (ISCIII) I COFINANCIADO POR LA UNIÓN EUROPEA

Exp.Núm. IISPV2023-09

1. Objeto del contrato y objetivos del servicio

El presente contrato tiene por objeto la prestación de los servicios de **determinación de perfil metabólmico/lipidómico de muestras de plasma** por parte de l'Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili, en adelante IISPV.

El objetivo del servicio será completar la caracterización de perfil metabolómico de muestras de plasma sujetas al proyecto PI19/01337 (EXP. NUM. IISPV2020-15 y EXP. NUM. IISPV2022-02) usando las ciencias ómicas con el fin de encontrar nuevos marcadores plasmáticos y nuevas dianas terapéuticas. Los métodos analíticos para el estudio de metabolitos se dividen entre aquellos que nos permiten una separación de los metabolitos polares (aminoácidos, azúcares, ácidos orgánicos) y los que nos proporcionan la información de los metabolitos no polares (ejemplo lípidos). Y aunque el lipidoma se considera un subgrupo de moléculas del metaboloma, el enfoque analítico difiere del enfoque necesario para la separación de moléculas polares e incluso de las propias especies no polares en función del método de extracción utilizado. Es por ello, que con este contrato pretendemos completar los análisis anteriormente realizados (proteómica, metabólica no polar y lipidómica por método de extracción de Folch).

Así pues, con **la caracterización del perfil dirigido de ácidos grasos de cadena corta y de lípidos usando la extracción con metanol de las muestras plasmáticas anteriormente analizadas por un enfoque metabolómico no dirigido de compuestos no polares y un análisis lipidómico usando la extracción de Folch** (i) pretendemos poder definir un perfil metabolómico y lipidómico completo que nos permita diferenciar casos y controles, (ii) encontrar nuevas moléculas diana susceptibles a ser definidas como biomarcadores y/o posibles dianas terapéuticas de estudio, (III) tener un perfil bien caracterizado de las muestras sujeto de estudio

Cualquier información derivada del servicio será propiedad íntegra del IISPV, facilitando gratuitamente el licitador cualquier clave o contraseña necesaria para el acceso a los datos o el uso de estos.

2. Introducción

El éxito de los estudios de perfiles ómicos radica en la habilidad de determinar cambios en los fluidos o tejidos de un organismo. La proteómica ofrece la posibilidad de cuantificar proteínas, identificar proteínas, modificaciones postraduccionales e incluso estudiar las interacciones proteína-proteína. La tecnología de espectrometría de masas acoplada a cromatografía de líquidos de alta resolución es idónea por su elevada sensibilidad, amplia cobertura de las diferentes clases de metabolitos, alto rendimiento y elevado rango dinámico

La necesidad del contrato se plantea en relación con el proyecto de investigación PI19/01337, el cual tiene como objetivos principales (i) establecer biomarcadores predictivos de progresión con potencial aplicación clínica y (2) determinar moléculas con potencial susceptibilidad a ser definidas como dianas terapéuticas.

Los resultados satisfactorios anteriores (EXP. NUM. IISPV2020-15 y EXP. NUM. IISPV2022-02) han motivado seguir con la caracterización metabolómica para poder definir un perfil completo de metabolitos y lípidos de la población sujeto de estudio. Los análisis planteados en el presente contrato aportaran información adicional con relación a los ácidos de cadenas corta (metabolitos) y moléculas lipídicas (lisofosfolípidos, oxilipinas, ácidos biliares, hormonas) que no pueden ser detectadas con los métodos anteriormente realizados en los análisis metabolómicos de metabolitos no polares y lípidos extraídos mediante extracción de Folch.

3. Requisitos del servicio

Será requisito que el adjudicatario disponga de una plataforma que combine cromatografía líquida con espectrometría de masa (LC-MS) y cromatografía de gases combinada con espectrometría de masa (GC-MS).

El servicio comprenderá la recepción y tratamiento de hasta 184 muestras de plasma obtenidas en las condiciones adecuadas según indiquen los PNT del adjudicatario, su acondicionamiento, la inyección en los equipos de cromatografía líquida o de gases acoplada a espectrometría de masas de alta resolución, el análisis e interpretación de los resultados, así como la comunicación de los informes realizados a los responsables de las muestras a analizar. El adjudicatario deberá ser capaz de aplicar diferentes procesos de normalización a los datos obtenidos por espectrometría de masas, haciendo equiparables los diferentes ensayos realizados con todas las muestras analizadas. Es condición indispensable aplicar técnicas de normalización de los datos observados para evitar sesgo intra e inter ensayos. El adjudicatario deberá entregar, si los responsables del proyecto así lo solicitan, un informe sobre el resultado de estos procesos de normalización y corrección de tendencia, valorando la idoneidad de estas técnicas a los datos del proyecto. Esta posibilidad no supondrá en ningún caso incremento del coste del servicio.

El adjudicatario estará obligado a realizar un estudio de los diferentes supuestos estadísticos necesarios para la obtención de resultados. Será obligatorio la aplicación de pruebas paramétricas y no paramétricas, donde no se cumplan los supuestos necesarios, así como la justificación de dicha aplicación.

La presentación de los datos y resultados debe aportarse de forma que sean fácilmente legibles y amigables para que los responsables del proyecto puedan seguir trabajando con ellos (ficheros Excel, tablas en formato *.csv...). Los datos deben estar disponibles para realizar análisis estadísticos y gráficos por parte de los responsables del proyecto de forma fácil e inmediata y sin restricciones. Si se necesitara algún software específico que no conlleve el uso de licencias restringidas para la visualización o tratamiento de los datos, la empresa deberá proporcionar este software sin comportar gasto adicional del servicio. La seguridad de la información debe quedar garantizada.

El adjudicatario deberá asignar un responsable del servicio a efectos de todas las comunicaciones y requerimientos del IISPV.

Se valorará positivamente la posibilidad de acceso a las instalaciones por parte de un miembro experimentado del IISPV para participar, a modo de auto-usuario, en la

preparación de muestras y la adquisición de datos. Por ello, también se valorará de forma positiva la proximidad del laboratorio de recerca del IISPV que permita el menor tiempo de desplazamiento del auto-usuario a las instalaciones del servicio.

4. Metodología

Si existiera la imposibilidad de tener todas las muestras en fecha posterior a la contratación de los servicios, se avisará al adjudicatario de que las muestras obtenidas se almacenarán a -80°C en microtubos o criotubos hasta que se realice el envío a sus instalaciones.

El envío de las muestras lo realizará el IISPV en condiciones óptimas para asegurar la viabilidad de estas.

El número de muestras sobre el que se solicitarán los servicios contratados en el periodo de ejecución será de hasta 184 muestras de plasma pertenecientes a los distintos grupos de estudio incluidos en el estudio, dos de los cuales son pacientes VIH positivos y un tercer grupo de muestras de voluntarios sanos VIH negativos. En coordinación con la persona responsable del proyecto del IISPV, el adjudicatario será responsable de (i) recibir las muestras biológicas, (ii) procesar las mismas en el equipamiento designado, (iii) obtener las separaciones analíticas deseadas para posteriormente (iv) transmitir los resultados a los responsables de proyecto y (v) garantizar la calidad del servicio.

El adjudicatario entregará un informe del proyecto, que será remitido al responsable del proyecto del IISPV en formato electrónico.

El responsable del proyecto podrá solicitar cuantas aclaraciones consideren oportunas con respecto a dichos informes al responsable asignado por parte del adjudicatario, de forma presencial en las instalaciones del IISPV, u otro medio de comunicación que considere oportuno, durante 3 meses desde la entrega total de resultados. Esta posibilidad no supondrá en ningún caso incremento del coste del servicio.

5. Detalle del Trabajo a realizar

Para la detección de cambios en la expresión de metabolitos y lípidos, se realizará la extracción de los metabolitos y lípidos presentes en las muestras de plasma de los participantes incluidos en el proyecto de investigación PI19/01337, según los servicios requeridos en apartado 3 del presente documento. Para la detección de los metabolitos, en primer lugar, se realizará una extracción proteica seguida de una separación por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-QqQ-MS) que permita identificar los ácidos cortos de cadena grasa (SCFA). Para la detección de distintas moléculas con naturaleza lipídica, se requerirá de una extracción líquida usando metanol para el posterior análisis de las muestras por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (LC-QqQ-MS). Se obtendrá el perfil metabolómico y lipidómico de cada una de las muestras, lo que permitirá establecer si, mediante este perfil, es posible o no separar entre los distintitos grupos de muestras en el posterior tratamiento estadístico de los datos. Una vez que los datos estén normalizados se reducirá la dimensionalidad del conjunto de datos para facilitar la visualización de cualquier agrupamiento metabólico de las muestras. Esto se llevará a cabo mediante análisis multi-variante de los datos, incluyendo análisis no supervisado de componentes principales (PCA). Se considerarán igualmente métodos supervisados de análisis discriminatorio, como Partial Least Square Discriminant

Analysis (PLS-DA) y Ortogonal Partial Least Square Discriminant Analysis (OPLS-DA) o similares.

Además del análisis uni- o multi-variante, se realizará un análisis descriptivo calculando distintos parámetros estadísticos:

- Por grupo de muestras: media aritmética, desviación estándar, mediana, rango intercuartílico y los coeficientes de variación, test de normalidad o equivalente.
- Comparaciones entre los grupos de muestras: tasa de cambio, test de Student o test de Wilcoxon, test de Mann-Whitney o test de Kruskal-Wallis, heatmaps, correlaciones, volcano-plots, confusion matrix, regresiones logísticas o curvas ROC asociadas a cada metabolito.

Se presentará un informe final que constará de, al menos:

1. Un documento (Word) en el que se explicará la metodología empleada y los resultados más relevantes encontrados.
2. Una hoja de cálculo (Excel) con todos los resultados de las estadística realizada y acordadas.
3. Un apéndice que contenga toda la información de los metabolitos identificados y cuantificados (ya sea cualitativa o cuantitativamente) y los parámetros estadísticos de diagnóstico utilizados. En todos los casos, se debe aplicar un filtro de frecuencia y sólo aquellos metabolitos y/o aminoácidos que se puedan cuantificar en más del 70-80% de las muestras, en al menos uno de los grupos experimentales, se deben considerar para otros fines estadísticos que considere el IISPV.
4. Los informes podrán estar redactados en castellano, catalán y/o inglés. Sólo se admitirá otro idioma si lo solicita el IISPV o el adjudicatario y se autoriza expresamente.
5. Cualquier empresario que presente propuesta, se presume que ofrece el servicio íntegro explicado en el PPT, sin limitaciones posteriores al acceso y tratamiento de los datos derivados del servicio. A nivel enunciativo no limitativo, no se podrá cobrar al IISPV con posterioridad a la adjudicación importe alguno por licencias, accesos, informes, etc., derivados del análisis de las muestras objeto de contratación.

6. Plazo de vigencia del servicio

El plazo de realización del servicio por parte del adjudicatario no podrá exceder de 16 semanas a contar desde la formalización del contrato o la fecha que figure en este. Este plazo incluirá todos los servicios necesarios para la realización completa de las tareas definidas en este Pliego, que incluyen de forma enunciativa y no limitativa, extracciones, obtención del perfil, tratamiento estadístico, análisis de datos e informe final.