

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS

EXP.NÚM. IISPV2025-22

DESCRIPCIÓN Y ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA CONTRATACIÓN DEL SERVICIO DE ANÁLISIS GENOMICOS, PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, SUBVENCIONADO POR EL INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (ISCIII) Y COFINANCIADO POR LA UNIÓN EUROPEA

1.- Objeto del contrato y objetivos del servicio

El presente pliego tiene por objeto establecer las prescripciones técnicas que regirán la contratación del servicio de análisis genómicos de muestras de DNA humano en el contexto del proyecto PI24/00794 “*Integration of metabolomic and genomics for the early diagnosis of colorectal cancer: Design of a prediction tool (IMAGINE)*”, subvencionado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciado por la Unión Europea.

Concretamente, el presente contrato consiste en la **Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES)** de muestras de DNA obtenidas de bloques de parafina de tejido de pacientes de cáncer colorectal con anormalidades graves del tejido colorectal (cáncer y adenomas de riesgo avanzado).

El objetivo del servicio será generar datos genómicos de alta calidad que permitan identificar variantes genéticas comunes y raras mediante un análisis bioinformático estandarizado, contribuyendo así al diagnóstico temprano y la estratificación de pacientes que integre la metabolómica y la genómica, mediante el desarrollo de una herramienta predictiva innovadora.

Toda la información derivada del servicio será propiedad del IISPV. El licitador facilitará sin coste adicional alguno cualquier clave o contraseña necesaria para el acceso a los datos y el uso de estos.

2.- Introducción

El cáncer colorectal (CCR) sigue siendo una de las principales causas de muertes relacionadas con el cáncer, y los métodos de detección actuales, como la prueba de sangre oculta en heces



(FOBT) y el FIT-DNA, enfrentan desafíos en cuanto a cumplimiento y especificidad. Este proyecto hipotetiza que un análisis integral que combine datos metabolómicos y genómicos puede mejorar el diagnóstico temprano de CCR al identificar subtipos moleculares basados en metabolitos específicos y alteraciones genéticas.

La necesidad del presente contrato se plantea en el contexto del proyecto de investigación PI24/00794, cuyo objetivo incluye identificar alteraciones genéticas en tejidos de CCR de 75 muestras parafinadas de pacientes utilizando secuenciación de nueva generación (NGS) de exoma e integrar estos datos con resultados de ensayos metabolómicos para crear un modelo predictivo para el cribado de CCR y la identificación de subtipos moleculares.

Para ello se requiere obtener información tanto sobre variantes comunes como raras mediante la secuenciación masiva del exoma completo (WES). Dado el volumen y la complejidad de los procedimientos técnicos implicados, se requiere la externalización del Servicio, para la secuenciación a una empresa especializada con capacidades contrastadas en esta tecnología.

Por otro lado, la secuenciación del exoma completo (WES) es una tecnología de análisis de alto rendimiento que permite la caracterización precisa de variantes genéticas localizadas en regiones codificantes del genoma humano, las cuales representan menos del 2% del genoma, pero concentran la mayoría de las variantes patogénicas conocidas. Para garantizar una identificación precisa y fiable de estas variantes, especialmente las de baja frecuencia, es fundamental alcanzar una cobertura suficiente durante la secuenciación. Una cobertura media de 200x permite obtener múltiples lecturas independientes de cada base, mejorando así la sensibilidad y reduciendo la probabilidad de errores técnicos o falsos positivos. Asimismo, una buena cobertura es crucial para evitar regiones mal representadas o no cubiertas, asegurando así la reproducibilidad de los resultados y su utilidad en posteriores análisis.

Siguiendo el planteamiento del estudio, se precisa que el servicio de secuenciación WES se realice en un período máximo de 2 meses, generando datos genómicos de alta calidad a partir de muestras de DNA humano. La empresa adjudicataria deberá garantizar la calidad en todas las fases de trabajo: control de calidad de las muestras, preparación y procesamiento técnico, análisis bioinformático primario y secundario de los datos con acceso por parte del usuario para poder realizar el análisis terciario, y entrega de resultados en formatos estandarizados.

3.-Requisitos del servicio

La empresa adjudicataria deberá contar con especialistas en oncogenética con experiencia contrastada para el asesoramiento en el análisis clínico y técnico en todas las fases del procedimiento.

Se dispondrá de una plataforma técnica robusta que garantice la calidad y reproducibilidad de los resultados, así como de personal técnico especializado capaz de mantener una interlocución eficaz con el equipo investigador del IISPV, manteniendo reuniones periódicas presenciales. El investigador puede solicitar que sean llevadas a cabo en las instalaciones del investigador o del adjudicatario.

La empresa adjudicataria deberá contar con tecnología adecuada para llevar a cabo el Servicio descrito:

Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES). Recepción y control de calidad del DNA mediante fluorometría, espectofotometría y análisis de fragmentos. Preparación y validación de libreras, captura exómica y secuenciación masiva *paired-end* (2x100 pb). Análisis bioinformático completo: QC, alineamiento y anotación con herramientas estandarizadas. Se deberán aplicar protocolos validados para todas las fases del proceso, así como herramientas y metodologías reconocidas internacionalmente en el ámbito genómico. El software de análisis bioinformático deberá ser un software propio de la empresa adjudicataria (no de terceros) y que incluya formación de la herramienta de análisis y soporte bioinformático para el análisis por parte del investigador.

Otro requisito que deberá cumplir la empresa adjudicataria del servicio es que el software del análisis tenga un módulo de generación de informes en español y que permita la creación de varios usuarios sin cargos adicionales para el IISPV.

4.- Metodología

Las muestras de DNA serán entregadas al adjudicatario en un lote, en tubos identificados, previamente extraídas y cuantificadas.

El adjudicatario asumirá los costes de envío de las muestras biológicas y se encargará de la recepción, verificación y procesamiento de las muestras, aplicando procedimientos de control

de calidad específicos. El tiempo de recepción de las muestras será máximo de 24h para garantizar la integridad del DNA.

El adjudicatario procederá a:

- Evaluar la calidad del material genético recibido mediante control de pureza, integridad y concentración.
- Construir librerías de DNA a partir del material proporcionado.
- Capturar las regiones exónicas según los estándares internacionales.
- Realizar la secuenciación de las librerías en plataformas de alto rendimiento en un único run.
- Procesar los datos obtenidos con herramientas bioinformáticas estandarizadas.
- Dar acceso a los datos al investigador mediante el software de análisis para poder realizar visualización e interpretación de los resultados.
- Entregar los resultados a los investigadores responsables en los plazos acordados.

Cualquier incidencia técnica que afecte al desarrollo del servicio deberá ser comunicada formalmente al responsable del proyecto en el IISPV.

5.-Detalle del Trabajo a realizar

El trabajo incluye el envío de las muestras biológicas (sin coste adicional para el IISPV) y la ejecución completa del flujo experimental y analítico necesario para obtener datos genómicos de alta calidad a partir de muestras de DNA humano. Para cumplir con los objetivos del presente contrato el adjudicatario deberá disponer de una infraestructura técnica consolidada y personal cualificado para desarrollar todas las fases del servicio de secuenciación masiva y análisis posterior.

Se requerirá la verificación exhaustiva del DNA recibido con tal de garantizar su idoneidad para la secuenciación. Esta verificación deberá incluir un análisis de integridad y contaminación con RNA mediante análisis de fragmentos por electroforesis capilar, la evaluación de pureza (valores OD260/280 y OD260/230) mediante espectrofotometría y determinación de su concentración mediante técnicas estándar de cuantificación por fluorescencia. Estas comprobaciones iniciales son cruciales para asegurar que la cantidad de DNA es suficiente y está en buenas condiciones para los procesos posteriores de construcción de librerías y captura exómica. Se requiere la existencia de equipos adicionales de respaldo por si surgieran imprevistos técnicos.

También será necesario realizar la construcción de librerías de secuenciación a partir del DNA genómico fragmentado, utilizando reactivos y protocolos estándar validados para investigación biomédica. Se deberá determinar la calidad y homogeneidad de estas librerías generadas para garantizar un buen rendimiento de la captura y la uniformidad de la cobertura de secuenciación mediante técnicas de cuantificación por fluorescencia y análisis del tamaño de fragmentos mediante sistemas de electroforesis capilar automatizada para determinar la concentración y tamaño de los fragmentos.

La captura exómica se efectuará mediante el uso de un exoma comercial validado, mediante sondas hibridas específicas para regiones codificantes del genoma humano, con una cobertura completa, actualizada y eficiente del exoma humano de las regiones codificantes de proteínas de RefSeq, CCDS y GENCODE y que incluya el promotor TERT y otros exones difíciles de capturar. Antes de secuenciar se determinará de forma precisa la concentración de las librerías capturadas.

Tras la preparación de las librerías, se procederá a la fase de *clustering* y secuenciación en plataformas de alto rendimiento que permitan generar lecturas *paired-end* de 2x100 pares de bases, una configuración que proporciona una alta precisión en el mapeo de las lecturas y en la posterior identificación de variantes. Esta tecnología debe asegurar una detección fiable de variantes genéticas en las regiones codificantes, incluso aquellas de baja frecuencia.

Una vez obtenidas las secuencias, el adjudicatario deberá realizar el análisis bioinformático de los datos generados mediante un software accesible para poder realizar la interpretación de los resultados de una manera interactiva. Este incluirá el control de calidad inicial, alineamiento de las lecturas contra el genoma de referencia humano (GRCh37/hg19 o superior), para determinar la profundidad y cobertura de la secuenciación, eliminación de duplicados, detección de duplicados, detección de variantes (SNVs, SNPs, CNVs, INDELs) y anotación.

La entrega de los resultados por muestra se realizará en los siguientes formatos: archivos FASTQ (lecturas brutas), archivos BAM/BAI (lecturas alineadas), archivos VCF (variantes detectadas), informes de control de calidad y un informe técnico detallado que incluya metodología. Toda la información será entregada por un medio seguro y cifrado. Los informes generados podrán estar redactados en castellano o catalán. No se admitirán cargos adicionales por licencias, acceso o descarga de los datos derivados del servicio.

El adjudicatario deberá asignar un responsable del servicio, que actuará como interlocutor a efectos de todas las comunicaciones y requerimientos con el equipo investigador del proyecto, que se encargará de asegurar el buen funcionamiento del servicio durante el tiempo que se necesite.

6.- Plazo de vigencia del servicio

El plazo de realización del servicio por parte del adjudicatario será máximo 2 meses a partir de la fecha de formalización del contrato o la que figure en este. Este período incluye todas las etapas del proceso: desde la recepción y control de calidad de las muestras de DNA, pasando por la secuenciación y análisis bioinformático, y hasta la entrega final de los resultados. Los datos deben estar disponibles para el investigador durante 5 años.