

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS

LICITACIÓN DEL CONTRATO DE SERVICIOS DE ANÁLISIS METABOLÓMICO MUESTRAS DE PLASMA PROCEDIMIENTO ABIERTO SUPERSIMPLIFICADO

FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA PARA LA INVESTIGACIÓN BIOSANITARIA DE ANDALUCÍA ORIENTAL (FIBAO)

Expediente: 012_2023

Título: Contrato de servicios de análisis metabólico de muestras de plasma

Código CPV: 73111000-3 Servicios de laboratorio de investigación

FIRMADO POR	SARAH EILIS BIEL GLEESON	18/07/2023 12:12:47	PÁGINA 1/5
VERIFICACIÓN	UUM32AR62LW7ESF3D2V3R4FBWJZVK5	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

1. Objeto.

Constituye el objeto del presente pliego establecer las especificaciones técnicas para la ejecución del contrato de servicios de análisis metabólico de muestras de plasma, según memoria del proyecto de investigación, PI-0201-2020 con título “Predictores de complicación del aneurisma torácico en aortopatía genética y bicúspide”, financiado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.

Para la delimitación del objeto del contrato dentro del vocabulario Común de Contratos (CPV), aprobado por el Reglamento (CE) nº 2195/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 5 de noviembre de 2002, modificado por el Reglamento 213/2008, la referencia asignada es: 73111000-3 Servicios de laboratorio de investigación

Características técnicas del servicio:

Estudio de metabolómica utilizando una aproximación no dirigida de LC-MS para el análisis de **166 muestras** plasmáticas de pacientes. Durante este proceso, las muestras plasmáticas han sido procesadas y se han identificado un conjunto de metabolitos de interés mediante la utilización de esta plataforma.

Con el fin de realizar un análisis complementario, nos proponemos utilizar la técnica de GC-MS.

1. Preparación de las muestras y análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (modo de ionización positivo)

- Preparación de las muestras para análisis mediante extracción de metabolitos de las muestras de plasma de los sujetos incluidos en el estudio.

- Análisis de las muestras por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (reversa positivo y ESI (+)) primera aproximación no dirigida.

2. Puesta a punto para el análisis por LCMS. Comprobación y verificación de la metodología analítica y del cromatógrafo líquido, inyector y espectrómetro de masas de alta resolución.

3- Análisis de datos • Creación de la matriz de análisis o Alineamiento, deconvolución, preparación de la matriz de datos, la evaluación de la estabilidad de los tiempos de retención, error de masas e intensidad de los patrones analíticos.

- Análisis estadístico o Análisis univariable y multivariable. Análisis de curvas ROC.

- Identificación de marcadores diferenciales o Búsqueda en distintas bases de datos públicas y privadas. En caso de disponer de algunos patrones se analizarán para comparar con los metabolitos obtenidos.

FIRMADO POR	SARAH EILIS BIEL GLEESON	18/07/2023 12:12:47	PÁGINA 2/5
VERIFICACIÓN	UUM32AR62LW7ESF3D2V3R4FBWJZVK5	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

- Evaluación de biomarcadores utilizando análisis por curvas ROC.
- Análisis e interpretación de rutas metabólicas asociadas a los marcadores identificados como diferenciales.
- Interpretación de los resultados generados y lista de marcadores de enfermedad

En el marco del proyecto, se ha llevado a cabo un estudio de metabolómica utilizando una aproximación no dirigida de LC-MS para el análisis de muestras plasmáticas de pacientes. Durante este proceso, las muestras plasmáticas han sido procesadas y se han identificado un conjunto de metabolitos de interés mediante la utilización de dicha plataforma.

Con el fin de realizar un análisis complementario, nos proponemos utilizar la técnica de GC-MS, con objeto de seguir una:

1. Continuidad de las muestras: Las muestras plasmáticas utilizadas en el análisis de LC-MS ya han sido procesadas y almacenadas de manera adecuada. Al utilizar estas mismas muestras para el análisis de GC-MS, nos aseguramos de mantener la continuidad y la integridad de los datos obtenidos en ambas plataformas.
2. Relación de resultados: La metodología propuesta, que implica la utilización de la misma preparación de las muestras en ambas plataformas, permite establecer una relación directa entre los resultados obtenidos en LC-MS y GC-MS. Al identificar un conjunto de metabolitos comunes a ambas plataformas, podemos lograr una integración global en el análisis de los datos, lo cual es fundamental para el éxito y la interpretación adecuada del estudio.
3. Influencia de la instrumentación: Es importante destacar que los valores de los tiempos de retención, así como los espectros de masas, pueden verse alterados si no se utiliza exactamente la misma configuración de GC-MS. Al llevar a cabo el análisis con una instrumentación diferente, existe el riesgo de que las características técnicas varíen, lo que podría comprometer la comparabilidad y la consistencia de los resultados obtenidos en ambas plataformas.

En resumen, el análisis de GC-MS debe garantizar una integración con los resultados de LC-MS. La utilización de las mismas muestras procesadas en LC-MS para el análisis de GC-MS garantiza una continuidad en el estudio, así como la capacidad de establecer relaciones exclusivas entre los resultados obtenidos en ambas plataformas.

2. Detalle específico del estudio objeto del contrato

Los objetivos principales de este proyecto ligados a este contrato de servicios son:

El aneurisma de aorta torácico de causa genética es una entidad infrecuente que afecta preferentemente a individuos jóvenes, con complicaciones potencialmente mortales y/o secuelas discapacitantes. Las decisiones de cirugía profiláctica en estos pacientes se basan en el diámetro de la aorta. Sin embargo, los cambios

FIRMADO POR	SARAH EILIS BIEL GLEESON	18/07/2023 12:12:47	PÁGINA 3/5
VERIFICACIÓN	UUM32AR62LW7ESF3D2V3R4FBWJZVK5	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

fisiopatológicos del tejido aórtico no se manifiestan siempre como aneurismas, ni el tamaño del mismo representa necesariamente la severidad de la afectación tisular. Aproximadamente 40% de los pacientes que se presentan con una disección tienen diámetros aórticos por debajo de lo recomendado para la cirugía. Por tanto, son necesarios nuevos parámetros para guiar esta decisión y para mejorar la estratificación del riesgo de disección o rotura, teniendo en cuenta las propiedades individuales del tejido aórtico. El objetivo del estudio es valorar parámetros de imagen, marcadores serológicos y parámetros de anatomía aórtica para determinar el factor o conjunto de factores que se asocian a dilatación acelerada de la aorta, reemplazo o disección en aortopatías genéticas o familiares y en la asociada a válvula aórtica bicúspide. Para ello se diseña un estudio prospectivo de pacientes con estas aortopatías en el que se analizarán de forma conjunta parámetros de biomecánica de la pared arterial (strain, rigidez y distensibilidad, etc), marcadores metabólicos en sangre y detección automática de parámetros de anatomía arterial (tortuosidad) para establecer la relación de uno o varios de estos parámetros con la velocidad de progresión o aparición de complicaciones

Las tecnologías "ómicas" en general y en particular la metabolómica, ofrecen grandes oportunidades para el descubrimiento de marcadores de utilidad clínica, especialmente de cara a la optimización del diagnóstico y la progresión de la enfermedad. Se han descrito marcadores asociados a válvula aórtica bicúspide (13-15). Hasta la fecha sólo hay 5 publicaciones que tratan sobre el metabolismo de los aneurismas aórticos, de todas ellas, 4 se han realizado sobre el aneurisma abdominal (16-19) y solamente una sobre aneurisma torácico (20). Estos estudios sugieren que los análisis del metabolismo plasmático tienen el potencial de predecir las etapas de la enfermedad del AA. Respecto al único estudio realizado en aneurisma torácico (20), se detecta un aumento de la esfingomielinasa y la vía de la esfingomielinasa-ceramida, que puede dar lugar a una inhibición de la regeneración de los tejidos, lo que constituye una base potencial para el inicio y la progresión de la enfermedad. Sin embargo, este trabajo, presenta algunas limitaciones tales como la utilización de tejido aórtico en lugar de suero/plasma, que dificulta la aplicabilidad de las diferencias observadas en los perfiles metabólicos y excluye ciertos aspectos sistémicos de la patogénesis de la enfermedad. Por otra parte, la elección de un enfoque metabolómico dirigido (elegido para conocer la identidad de todos los metabolitos analizados) limita las conclusiones que potencialmente se pueden extraer de estos metabolitos. Con el objetivo de superar estas limitaciones y profundizar en el conocimiento de la patogénesis en el AT se plantearía hasta donde sabemos, el primer análisis metabolómico no dirigido en muestras de suero/plasma de pacientes con AT.

3. Envío / recogida de muestras

Los investigadores del proyecto proporcionarán 1 pajueta de 0,5 ml de buffy-coat de cada participante, las cuales se enviarán directamente al laboratorio encargado del análisis manteniendo las condiciones adecuadas de seguridad y de cadena de frío durante el transporte y en el almacenamiento en destino.

En detalle:

Muestras de plasma

a. Extracción

-Considerar el tipo de gases y solventes para la esterilización de la zona de extracción sanguínea. De modo que en todos los casos se utilice el mismo material.

FIRMADO POR	SARAH EILIS BIEL GLEESON	18/07/2023 12:12:47	PÁGINA 4/5
VERIFICACIÓN	UUM32AR62LW7ESF3D2V3R4FBWJZVK5	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

- Considerar la posición del paciente durante la extracción (sentado, de pie o tumbado), de modo que en todos los casos se lleve a cabo de la misma forma
- Considerar la misma hora de extracción para todos los pacientes y controles que incluya el estudio.
- Se recomienda que en todos los casos tanto controles y pacientes se encuentren en ayunas.
- La extracción de la sangre completa debe realizarse desde venas periféricas directamente a los tubos con anticoagulante correctamente etiquetados con materiales resistentes al agua.
- Evitar utilizar varios anticoagulantes dentro del mismo estudio.
- Las muestras de sangre recogidas en los tubos deben de mantenerse en agua con hielo tras la extracción.

b. Procesamiento

- Centrifugar las muestras de sangre a 4°C, durante 20 minutos a 2000 x g.
- Seleccionar el sobrenadante de plasma cuidadosamente sin tocar la fracción blanquecina de células blancas y plaquetas (mantener la temperatura a 4°C).
- El volumen de plasma recomendado es de 500 uL, pero es posible trabajar con volúmenes mínimos de 100 uL, aunque esto puede limitar el número de análisis.
- Hacer alícuotas de unos 100 uL en criotubos pre-enfriados y correctamente etiquetados con materiales resistentes al agua.
- Descartar las muestras en las que se haya producido hemólisis.

c. Almacenamiento

- Almacenar las muestras a -80°C.
- Evitar los ciclos de congelación-descongelación.

d. Envío

- Los tubos deben ser enviados en hielo seco, claramente etiquetados con la identificación unívoca de cada muestra. El envío debe incluir un listado en papel con el contenido del mismo.

FIRMADO POR	SARAH EILIS BIEL GLEESON	18/07/2023 12:12:47	PÁGINA 5/5
VERIFICACIÓN	UUM32AR62LW7ESF3D2V3R4FBWJZVK5	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	