
PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARTICULARES QUE HAN DE REGIR EL CONTRATO PARA LA REALIZACIÓN DEL SERVICIO DE ANÁLISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA EL PROYECTO CoTHEIA EN LA FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS MEDIANTE PROCEDIMIENTO ABIERTO CON PLURALIDAD DE CRITERIOS. PROYECTO FINANCIADO POR EL INSTITUTO DE SALUD CARLOS III Y COFINANCIADO CON FONDOS FEDER.

EXPEDIENTE: PA 1/25

ICI19/00020

La totalidad de los requisitos previstos en este Pliego de Prescripciones Técnicas, salvo cuando otra cosa se determine en el mismo, se entiende de carácter esencial a todos los efectos legales.

1. OBJETO Y FINALIDAD DE LA CONTRATACIÓN

Contrato del servicio de análisis de muestras biológicas para la realización del Proyecto: **“EFFICACY, SAFETY AND COST-EFFECTIVENESS OF METHOTREXATE, ADALIMUMAB, OR THEIR COMBINATION IN NON INFECTIOUS NON ANTERIOR UVEITIS: A MULTICENTER, RANDOMIZED, PARALLEL 3 ARM, ACTIVE-CONTROLLED, PHASE 3 OPEN LABEL WITH BLINDED OUTCOME ASSESSMENT STUDY, Proyecto CoTHEIA”**, por parte de personal del grupo de *Patología Musculoesquelética* del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos, gestionado por la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Clínico San Carlos. Este proyecto está financiado por el Instituto de salud Carlos III y cofinanciado con Fondos FEDER.

2. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El objeto del contrato será la prestación de un servicio externo que permita dar cumplimiento a los objetivos del citado proyecto relacionados con la generación y análisis de datos genéticos, transcriptómicos y de metilación de las muestras que se detallarán a continuación. En este proyecto se dispone de muestras (tubos Tempus y tubos con sangre total) pertenecientes a 78 sujetos, que han sido tomadas en diferentes

momentos (visitas) de su seguimiento durante su participación en el estudio. A fecha de publicación de este pliego, disponemos de muestras de 143 visitas. Dichos sujetos han sido reclutados en 14 centros localizados en territorio español. Las muestras se han recogido y almacenado en los propios centros o en sus Biobancos de referencia:

Centros participante	Biobanco Referencia
H. Río Hortega (Castilla y León)	Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León
H. Vall d'Hebrón (Cataluña)	IMID-Biobanco
H. Clínico San Carlos (Comunidad de Madrid)	Biobanco del Hospital Clínico San Carlos
Fundación Jiménez Díaz (Comunidad de Madrid)	Biobanco Fundación Jiménez Díaz
H. 12 de Octubre (Comunidad de Madrid)	Biobanco i+12
H. Infanta Leonor (Comunidad de Madrid)	BioBanco VIH HGM
H. La Paz (Comunidad de Madrid)	Biobanco IdiPAZ
H. Rey Juan Carlos (Comunidad de Madrid)	Biobanco Fundación Jiménez Díaz
H. Doctor Peset (Comunidad Valenciana)	Biobanco IBSP-CV
H. General de Alicante (Comunidad Valenciana)	Biobanco ISABIAL
H. Santiago de Compostela (Galicia)	Biobanco CHUS
H. de Cruces (País Vasco)	Biobanco Vasco
H. Donostia (País Vasco)	Biobanco Vasco
H. Reina Sofía de Murcia (Región de Murcia)	Biobanco-IMIB

Cada una de las muestras será identificada con un código de centro, de sujeto, de visita y de tipo de muestra.

Las prestaciones se desarrollarán de conformidad con el presente pliego, el pliego de cláusulas jurídicas particulares y el contrato resultante del presente procedimiento. La totalidad de las especificaciones contenidas en este Pliego de Prescripciones Técnicas se entenderán, salvo cuando otra cosa se establezca en el mismo, de carácter esencial y, la falta de cualquiera de ellas, determinará la exclusión de este procedimiento del licitador correspondiente.

3. **ESPECIFICACIONES TÉCNICAS**

- a. **Recogida de muestras:** La empresa adjudicataria será responsable de la recogida, transporte y recepción de las muestras (estimación de 143 tubos Tempus y 143 tubos con sangre total) desde los centros participantes detallado en la sección previa, asegurando el mantenimiento adecuado de las condiciones de temperatura durante todo el proceso mediante hielo seco y neveras con control de temperatura. Además, deberá garantizar la monitorización continua de la temperatura de todos los envíos mediante el uso de dispositivos de control de temperatura, con entrega al cliente de un informe detallado del registro de temperatura. En caso de desvíos en la temperatura, se deberá notificar la incidencia al cliente, debidamente documentada. Además, se proporcionará un acuse de recibo, que detalle las muestras enviadas, identificadas con la siguiente información: nombre del centro, código de sujeto, código de visita y tipo de muestra. Las muestras deberán ser enviadas al laboratorio donde se realicen los servicios, que deberá de encontrarse en algún estado miembro de la Unión Europea. La solicitud de transporte y recogida será coordinada entre la empresa adjudicataria y los centros participantes con una antelación mínima de 48 horas. En caso de que parte de los servicios se lleven a cabo en localizaciones diferentes a la recepción original (dentro o fuera de la Unión Europea), los envíos necesarios deberán ser gestionados y costeados por la empresa adjudicataria.
- b. **Extracción de DNA:** El DNA genómico deberá ser extraído a partir de las muestras de sangre total (n=143) utilizando un protocolo optimizado y

validado para muestras de sangre total. Este protocolo debe garantizar una alta recuperación de DNA genómico, la preservación de la integridad y tamaño del DNA, y la eliminación eficaz de contaminantes (e.g., proteínas, lípidos, y residuos de reactivos, que puedan interferir con los análisis posteriores.

- c. **Extracción de RNA:** El RNA total deberá ser extraído a partir de las muestras contenidas en tubos Tempus (n=143) utilizando un protocolo optimizado y validado para muestras obtenidas con tubos Tempus. Este protocolo debe garantizar una alta recuperación de RNA, la preservación de la integridad del RNA y la eliminación eficaz de contaminantes que puedan interferir con los análisis posteriores.
- d. **Control de calidad del DNA extraído:** El DNA extraído deberá ser evaluado al menos, en términos de integridad (utilizando un Bioanalyzer (Agilent) o tecnología equivalente, confirmando su integridad mediante electroforesis en gel), concentración (cuantificado con tecnología fluorométrica, como Qubit (Life Technologies) o tecnología equivalente) y pureza (mediante espectrofotometría). Solo se aceptarán el procesamiento posterior de muestras sin degradación ni contaminación, con fragmentos mayores de 1000 pares de bases (bp), con una concentración ≥ 5 ng/ μ L en un volumen mínimo de 40 μ L por muestra, y unas relaciones OD260/A280 entre 1,8 y 2,0 y OD260/2023 $>1,8$ y <3 . El licitador deberá entregar un informe detallado de la calidad de cada muestra (incluyendo perfiles del Bioanalyzer o similar y resultados de concentración/pureza) antes de proceder con las etapas posteriores.
- e. **Control de calidad del RNA extraído:** El RNA extraído deberá ser evaluado al menos, en términos de integridad (utilizando un Bioanalyzer (Agilent) o tecnología equivalente, confirmando su integridad mediante electroforesis en gel), concentración (cuantificado con tecnología fluorométrica, como Qubit (Life Technologies) o tecnología equivalente) y pureza (mediante espectrofotometría). Solo se aceptarán el procesamiento posterior de muestras con un RNA Integrity Number (RIN) ≥ 8 , una concentración de ≥ 5 ng/ μ L con un volumen mínimo de 40 μ L por

muestra, y una relación A260/A280 entre 1,8 y 2,0. El licitador deberá entregar un informe detallado de la calidad de cada muestra (incluyendo perfiles del Bioanalyzer o similar y resultados de concentración/pureza) antes de proceder con las etapas posteriores.

- f. **Transcriptómica:** Este procedimiento será llevado a cabo con todas las muestras de RNA (n=143). Antes de la secuenciación, las muestras de RNA (n=143) deberán ser tratadas con el fin de llevar a cabo la eliminación de RNA ribosomal y la depleción de globinas, utilizando métodos estándar validados para muestras obtenidas de sangre total que minimicen el sesgo en la representación de transcritos. Tras este paso, se deberá verificar la calidad del RNA tratado mediante análisis fluorométrico (e.g., Qubit) y perfilado de integridad (e.g., Bioanalyzer o equivalente), asegurando un índice de calidad (RIN) adecuado para la preparación de bibliotecas ($RIN \geq 7$). Además, se confirmará mediante métodos estandarizados que el RNA ribosomal y las globinas se han eliminado eficientemente. Posteriormente, se procederá a la preparación de librerías específicas para RNAseq. Este proceso incluirá la fragmentación del RNA tratado, la síntesis de cDNA, y la adición de adaptadores para la secuenciación mediante protocolos optimizados que garanticen la uniformidad en la representación de los transcritos. Tras la generación de las librerías, se realizará un control de calidad para evaluar el tamaño de los fragmentos mediante un Bioanalyzer (Agilent) o tecnología equivalente, cuantificar la concentración utilizando métodos fluorométricos como Qubit (Life Technologies) o similar, y verificar la ausencia de contaminantes como adaptadores libres, productos no deseados o fragmentos de tamaño fuera de los rangos establecidos. Solo se aceptarán librerías con tamaños esperados (300-400 bp, incluidos adaptadores) y una concentración suficiente para la secuenciación. Esta secuenciación deberá llevarse a cabo mediante tecnología de lectura pareada (paired-end sequencing) con longitud de lectura de 2x150bp, en un secuenciador de última generación (e.g., Illumina NovaSeq o equivalente). Cada muestra deberá ser secuenciada con una profundidad

mínima de 60 millones de pares de lecturas (unos 18 GB de datos brutos por muestra).

- g. **Secuenciación del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS):** Este procedimiento solo será llevado a cabo para las muestras identificadas como “visita basal” (n=78). Para la preparación de las librerías de WGS, el DNA genómico será fragmentado y sometido a un proceso de reparación de extremos y adición de adaptadores mediante protocolos optimizados y validados. Tras la generación de las librerías, se deberá realizar un control de calidad para garantizar el tamaño adecuado de los fragmentos (medido mediante un Bioanalyzer o tecnología equivalente), cuantificar la concentración mediante métodos fluorométricos, y confirmar la pureza y ausencia de contaminantes que puedan interferir con la secuenciación. Las librerías deberán cumplir con los estándares establecidos para la tecnología de secuenciación empleada. Posteriormente, se llevará a cabo la secuenciación mediante tecnología de lectura pareada (paired-end sequencing) con longitud de lectura de 2x150bp. Cada muestra deberá alcanzar una cobertura promedio de 45x (unos 135GB de datos brutos por muestra), asegurando la representación uniforme de todas las regiones genómicas.
- h. **Secuenciación del genoma completo con conversión por bisulfito (Whole Genome Bisulfite Sequencing, WGBS):** Este procedimiento será llevado a cabo con todas las muestras de DNA genómico (n=143). Antes de llevar a cabo la secuenciación, se realizará la conversión del DNA mediante bisulfito para identificar patrones de metilación a nivel de un solo nucleótido. A continuación, se procederá a la preparación de las librerías específicas para WGBS, incluyendo la fragmentación del DNA convertido y la adición de adaptadores mediante protocolos optimizados para preservar la representación de regiones metiladas y no metiladas. Posteriormente, se llevará a cabo un control de calidad de las librerías para evaluar el tamaño y la integridad de los fragmentos generados tras la conversión por bisulfito, utilizando un Bioanalyzer (Agilent) o tecnología equivalente. Adicionalmente, se deberá cuantificar la

concentración mediante métodos fluorométricos como Qubit y confirmar la ausencia de contaminantes. Solo se aceptarán librerías que cumplan con los estándares necesarios para garantizar la cobertura uniforme del genoma convertido. Posteriormente, se llevará a cabo la secuenciación mediante tecnología de lectura pareada (paired-end sequencing) con longitud de lectura de 2x150bp. Cada muestra deberá alcanzar una cobertura promedio de 45x a nivel del genoma completo (unos 135GB de datos brutos por muestra).

- i. **Análisis bioinformático y entrega de resultados de WGS:** El análisis incluirá el procesamiento inicial de los datos con filtrado de lecturas de baja calidad y eliminación de adaptadores, seguido de la alineación de las lecturas al genoma de referencia mediante herramientas estándar como BWA o Bowtie2. Posteriormente, se identificarán variantes genómicas como single nucleotide polymorphisms (SNPs) e INDELs utilizando software como GATK o FreeBayes. Tras la finalización del análisis bioinformático, se entregarán los archivos con datos crudos generados por la secuenciación por cada muestra en formato FASTQ, todos los archivos intermedios generados durante el análisis bioinformático (incluyendo alineamientos (BAM), archivos de variantes detectadas (e.g., VCF) y un informe detallado con las métricas de calidad, que incluya al menos el porcentaje de cobertura del genoma, la profundidad promedio y la uniformidad de cobertura), así como los resultados del análisis estadístico básico para identificación de variantes genéticas, incluyendo SNPs y variantes estructurales.
- j. **Análisis bioinformático y entrega de resultados de WGBS:** El análisis incluirá el procesamiento inicial de los datos con filtrado de lecturas de baja calidad y eliminación de adaptadores, seguido de la alineación de las lecturas al genoma de referencia utilizando herramientas específicas para datos de bisulfito como Bismark. A continuación, se identificarán los sitios de metilación y se cuantificarán los niveles de metilación, con especial atención a las regiones CpG. Tras la finalización del análisis bioinformático, se entregarán los archivos con datos crudos generados

por la secuenciación por cada muestra en formato FASTQ, todos los archivos intermedios generados durante el análisis bioinformático (incluyendo alineamientos (BAM), archivos de variantes de metilación (e.g., BED o VCF) y un informe detallado sobre las métricas de calidad, que incluya al menos la eficiencia de conversión por bisulfito, la cobertura de regiones CpG y la uniformidad de cobertura), así como los resultados del análisis estadístico básico para identificar patrones diferenciales de metilación.

- k. **Análisis bioinformático y entrega de resultados RNAseq:** El análisis deberá incluir el procesamiento inicial de los datos, con filtrado de lecturas de baja calidad y eliminación de adaptadores, seguido de la alineación de las lecturas a un genoma de referencia adecuado utilizando herramientas estándar como STAR o HISAT2. Posteriormente, se realizará la cuantificación de expresión génica a nivel de genes y transcritos mediante software validado como FeatureCounts o Salmon. Tras la finalización del análisis bioinformático, se entregarán los archivos con datos crudos generados por la secuenciación por cada muestra en formato FASTQ, todos los archivos intermedios generados durante el análisis bioinformático (como alineamientos en formato BAM y un informe detallado con las métricas de calidad del alineamiento y la distribución de lecturas por transcritos, que incluya al menos el porcentaje de lecturas válidas, la calidad promedio por base, y la evaluación de la presencia de sesgos significativos en el contenido GC), así como los resultados del análisis estadístico básico de expresión génica (e.g., matrices de conteo de transcritos en formato CSV o Excel) y visualización inicial de resultados.
- l. **Entrega de resultados:** Los archivos y documentos mencionados en los puntos i, j y k deberán ser entregados en un disco duro externo (nuevo y debidamente rotulado) con capacidad suficiente para albergar la totalidad de los datos generados en el proyecto. El disco duro deberá estar formateado en un sistema de archivos compatible (por ejemplo, NTFS o exFAT) y ser entregado junto con cualquier documentación o

metadatos relevantes. Además, deberán estar disponibles en un repositorio en la nube que permita la descarga directa, a través de un enlace seguro (con los permisos de acceso y credenciales necesarias) para la descarga de toda la información. El proveedor deberá mantener los datos en la nube por un período mínimo de 1 mes, garantizando la confidencialidad y la integridad de la información.

- m. Gestión de muestras sobrantes:** Una vez finalizados los trabajos y tras el visto bueno del licitante, las muestras no utilizadas deberán ser devueltas a los centros de origen en condiciones adecuadas para su conservación futura. La empresa adjudicataria deberá garantizar la monitorización continua de la temperatura de todos los envíos mediante el uso de dispositivos de control de temperatura, con entrega al cliente de un informe detallado del registro de temperatura. En caso de desvíos en la temperatura, se deberá notificar la incidencia al cliente, debidamente documentada. Además, se proporcionará un acuse de entrega, que detalle las muestras devueltas, identificadas con la siguiente información: nombre del centro, código de sujeto, código de visita y tipo de muestra. La empresa adjudicataria será responsable de coordinar la notificación de devolución al centro de origen y la entrega correspondiente, gestionando esta comunicación con una antelación mínima de 48 horas. Asimismo, deberá proporcionar información sobre el seguimiento de la calidad del servicio y gestionar toda la documentación asociada al envío, para garantizar la trazabilidad y la correcta conservación de las muestras.

4. COMPROMISOS DEL CONTRATISTA

El contratista se comprometerá al correcto desarrollo de la prestación, con empleo de todos los medios que resulten necesarios para su adecuada calidad.

En relación al transporte de las muestras biológicas, el adjudicatario se obliga a adecuar el sistema y los medios de transporte, temperatura, tiempo de traslados, medidas higiénicas, etc. para asegurar la integridad de las muestras biológicas y el cumplimiento de las especificaciones recogidas en este pliego.

En cualquier caso, el adjudicatario garantizará:

- El desplazamiento de los envíos hasta el vehículo.
- La carga y aseguramiento de los mismos.
- El transporte entre direcciones.
- La entrega en el punto de destino.
- La cumplimentación de la documentación de control y gestión.
- La entrega de albaranes justificativos del servicio realizado.
- Control de temperatura.
- El seguimiento y confirmación de entrega.

La empresa designará una persona responsable, que se encargará de organizar y coordinar la actividad del personal para la correcta ejecución del servicio, supervisar las tareas de dicho personal, afrontar las incidencias que se produzcan y mantener el contacto necesario con las personas designadas por el equipo investigador. Ostentará la adjudicataria la representatividad legal y la responsabilidad principal de los seguros en caso de accidentes, cuyos costes correrán siempre de su cuenta.

El servicio objeto del contrato se desarrollará de conformidad con lo dispuesto en el presente pliego, el pliego cláusulas jurídicas particulares y el contrato resultante.

Los productos y servicios presentados a este procedimiento, deberán cumplir la legislación vigente que sea de aplicación.

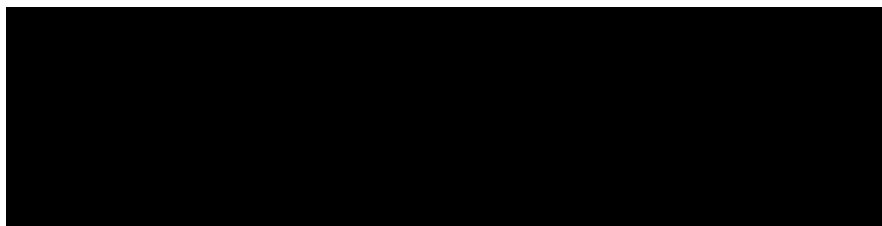
El contratista deberá respetar el carácter confidencial de aquella información a la que tenga acceso con ocasión de la ejecución del contrato a la que se le hubiese dado el referido carácter en los pliegos o en el contrato, o que por su propia naturaleza deba ser tratada como tal, quedando el contratista sometido a la normativa nacional y europea en materia de protección de datos, siendo ésta una obligación contractual esencial (211.1.f LCSP).

5. PLAZO DE EJECUCIÓN

Condición previa al inicio de la ejecución del contrato:

El inicio de la ejecución del contrato estará condicionado a la obtención de las aprobaciones necesarias por parte del Comité de Ética y de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), relacionadas con las modificaciones sustanciales propuestas del proyecto CoTheia.

Una vez obtenidas las necesarias aprobaciones y formalizado el contrato, el plazo de ejecución será de 4 meses o el plazo inferior que haya ofertado el adjudicatario.



D. Luis Rodríguez Rodríguez

Investigador Principal