

INFORME JUSTIFICATIVO PARA LA ADQUISICIÓN A TRAVÉS DEL PROCEDIMIENTO NEGOCIADO SIN CONVOCATORIA DE LICITACIÓN DE UN SISTEMA BD FACSAria FUSION™ PARA EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA NAVARRABIOMED

1. Introducción

Las células en sus distintos estadios de diferenciación expresan diferentes moléculas tanto en su membrana como en su medio intracelular. Estas moléculas pueden ser marcadas con diferentes fluorocromos a través de anticuerpos monoclonales antígeno-específicos, que al ser excitados con un rayo láser pueden emitir fluorescencia.

La tecnología FACS (fluorescence activated cell sorting) permite identificar y seleccionar células para su posterior análisis en presencia de diferentes combinaciones de fluorocromos. Para ello las células, una vez marcadas, son resuspendidas en un fluido vehiculizante. El Sorter celular hace que cada célula esté contenida en una gota y que cada gota atraviese los diferentes rayos láseres. Esta interacción provoca que cada fluorocromo emita fluorescencia, la cual, será filtrada y detectada en fotomultiplicadores. El equipo puede identificar las diferentes fluorescencias emitidas por una misma célula, permitiéndole separar cada célula diana en función de su perfil de expresión de fluorescencia. Para ello dichas células son extraídas del fluido usando alto voltaje y recogidas en un tubo independiente.

Desde el año 2003 en el que el primer Sorter Celular fue introducido en el mercado, esta tecnología ha tenido un continuo desarrollo que ha afectado principalmente al número de fluorocromos que pueden ser analizados de manera simultánea (y con ello el número de antígenos celulares que pueden ser analizados) y al rango de tamaño de “partículas” o elementos biológicos donde dichos fluorocromos son estudiados. Con todo ello, se ha podido ampliar el número de aplicaciones a las que este tipo de equipos están actualmente dando servicios.

2. Necesidades

Durante los últimos años la producción científica del Centro de Investigación Biomédica Navarrabiomed ha sufrido una mejora significativa. La alta calidad de la investigación llevada a cabo en nuestro Centro es ilustrada por la publicación de un número importante de artículos en revistas con alto factor de impacto durante los últimos años: Science, Nature Comm, EMBO J, Nature Reviews in Cancer, Circulation Research, Gastroenterology o PNAS entre otras.

Esta investigación ha sido desarrollada gracias al éxito en la consecución de Ayudas competitivas nacionales (Acción Estratégica de Salud del Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Innovación y Ciencia) e internacionales (Programa Horizonte 2020 de la Comisión Europea). Junto a ello los investigadores de Navarrabiomed han sido capaces de obtener financiación de la Industria, Fundaciones y Asociaciones de pacientes. Toda esta financiación ha permitido un crecimiento sostenido en el número de grupos de

investigación y el desarrollo de instalaciones altamente complejas y especializadas como es la Sala Blanca de Terapias Avanzadas de Navarrabiomed.

La adquisición de un Sorter Celular para el Centro de Investigación Biomédico Navarrabiomed supone un salto tecnológico no sólo para el propio Centro sino también para los Institutos de Investigación de la Universidad Pública de Navarra, que tendrán a su disposición una tecnología que les permitirá plantearse nuevos proyectos de investigación. El equipo solicitado además de dar servicio a la Comunidad Científica de Navarrabiomed, Comunidades limítrofes o Empresas, facilitará el impulso de Ensayos Clínicos con medicamentos de Terapia Avanzada en el Servicio Navarro de Salud. La participación en este determinado tipo de ensayo clínico, que exigía la disponibilidad de una Sala Blanca con capacidad de selección de células en la fase preclínica, ha estado limitada en los últimos años en nuestro Centro. La adquisición del equipo y el reclutamiento de los recursos humanos necesarios supondrá un salto cualitativo para el desarrollo de la I+D+i del Centro.

Aunque publicaciones recientes describen la realización de ensayos experimentales de citometría de flujo y sorting con 30 parámetros, las características del equipo Sorter solicitado en esta memoria están acordes no sólo con las líneas de investigación que actualmente está siendo desarrolladas en el Centro y que exigen el trabajo con al menos 8 parámetros, sino con la amplia experiencia en citometría de flujo de los propios investigadores. Lo que se propone por lo tanto con este informe es un desarrollo gradual y competente de la Plataforma de Citómica, donde el escalado de antígenos que puedan ser analizados simultáneamente sea significativo y veraz (de 8 a 19 parámetros) pero no irreal (de 8 a 30 colores). La consolidación de la Plataforma de Citómica conllevará los siguientes elementos innovadores:

Elemento innovador	Prestaciones innovadoras	Ventajas técnicas
Potenciar de forma significativa la citometría de flujo policromática en Navarrabiomed.	Diseño de paneles de análisis policromáticos de 19 parámetros para la caracterización fenotípica y funcional celular.	Minimizar el número de paneles y combinaciones de ellos disminuyendo así el número de anticuerpos monoclonales que deben ser utilizados para caracterizar un subtipo celular. Ello además conllevará una disminución del coste económico asociado a este tipo de ensayos.
Introducir el Sorting celular como herramienta de trabajo en las líneas de investigación de Navarrabiomed.	Obtener subpoblaciones celulares más específicas en base a un procedimiento de selección basado en un mayor número de antígenos celulares.	Aumentar el número de subpoblaciones celulares específicas que pueden ser aisladas de manera simultánea en un mismo procedimiento.
Eliminar las microbolas magnéticas del procedimiento de selección celular.	Aumentar los ensayos experimentales que pueden ser realizados directamente sin el perjuicio de la presencia de las microbolas magnéticas en la superficie celular de la subpoblación objeto de estudio.	Disminuir la complejidad del marcaje celular al eliminar del procedimiento las microbolas magnéticas.

3. Situación del mercado

Actualmente en el territorio nacional sólo hay instalados 9 equipos con características similares como el que aquí se presenta, siendo el del Centro Científico y Tecnológico de la Universidad de Barcelona (Campus Diagonal), en Cataluña, el más cercano (352km). Concretamente dichos equipos tienen las siguientes configuraciones: 4 equipos con 4 láseres (16-19 parámetros), 4 equipos con 5L y un equipo con 6L (20 parámetros).

Con lo que respecta a la Comunidad Foral de Navarra no ha existido ningún equipo de prestaciones similares al que se solicita en esta memoria, lo que pone de manifiesto el importante salto de calidad que supone para Navarrabiomed la adquisición de este equipo.

En el entorno privado de la comunidad foral, CIMA Lab diagnostics dispone en su unidad de Citometría de Flujo de los tres siguientes Sorters Celulares:

- *MoFlow Astrios EQ 5L (Beckman Coulter)*: cuenta con 5 láseres (azul 488 nm, rojo 638 nm, violeta 405 nm, ultravioleta 355 nm y amarillo 561 nm). Dispone de espejos, filtros y detectores que permiten detectar un total de 17 fluorescencias con una capacidad de adquisición de hasta 70.000 eventos por segundo. Permite la separación simultánea de diversas poblaciones celulares en diferentes tubos, placas, o portaobjetos.
- *FACSAria-Ilu (Becton Dickinson Biosciences)*: cuenta con cuatro láseres (azul 488nm, rojo 633nm, violeta 407nm y near-ultraviolet 375nm) pudiéndose utilizar hasta 3 al mismo tiempo. Dispone de espejos, filtros y detectores que permiten detectar un total de 9 parámetros de fluorescencia. Además, se pueden utilizar diferentes presiones dependiendo del tamaño y fragilidad de las células que se deseen separar. Posee la capacidad de separar células en distintos soportes, incluyendo tubos y placas de 96 pocillos. Usa FACS Diva v8.0.2 como software de adquisición.
- *FACSAria-Ilu (Becton Dickinson Biosciences)*: cuenta con dos láseres (azul 488nm y rojo 633nm). Dispone de espejos, filtros y detectores que permiten detectar un total de 6 parámetros de fluorescencia. Además, se pueden utilizar diferentes presiones dependiendo del tamaño y fragilidad de las células que se deseen separar. Posee la capacidad de separar células en distintos soportes, incluyendo tubos. Usa FACS Diva v6.1.3 como software de adquisición.

El equipo que mediante el presente informe se pretende adquirir es el *SISTEMA BD FACSAria FUSION™*, el cual cuenta con las prestaciones técnicas más avanzadas en este campo y es el único en el mercado que puede satisfacer las necesidades existentes en Navarrabiomed. En concreto, la adquisición del mencionado equipo cuenta con las siguientes características que lo hacen técnicamente más avanzado respecto al resto de equipos existentes en el mercado:

- Diseño óptico de alta eficiencia en señales débiles:

- Los sistemas BD FACSAria Fusion™ son los únicos separadores celulares diseñados con una cámara de flujo compuesta por una cubeta de cuarzo y lentes de alta entrada de luz (1.2 NA) acopladas a gel óptico, para evitar pérdidas de luz.
- Disponen de un sistema de detección óptica patentado y dispuesto en bloques configurados en octágonos y con detectores de alta sensibilidad tipo Fotomultiplicadores (PMTs). Se basa en un sistema de luz reflejada que mejora la sensibilidad hasta en un 15 % (comparado con una óptica de luz transmitida). Además, está desarrollado para la detección inicial de longitudes de onda largas, menos energéticas, y acabando con la detección de longitudes de onda cortas, más energéticas, lo que permite tener buena sensibilidad en señales procedentes de longitudes de onda más débiles. Esta característica permite identificar poblaciones celulares con expresión débil y/o poco representadas.
- BD FACSAria Fusion™ presenta una sensibilidad de fluorescencia superior al resto de equipos separadores (FITC <85 MESF PE < 29 MESF)
- Configuración de óptica de excitación hasta 6 láseres con hasta 5 pinholes y detectores tipo PMT. Único sistema del mercado que puede ser actualizado con las siguientes líneas de láseres:

Mediante la configuración SORP, se pueden elegir diferentes longitudes de onda y potencias: 355nm (15-100mW), 405nm (100-250mW), 445nm-75mW, 488nm (60 a 400 mW), 458nm-75mW, 532nm (150-1000mW), 552nm (100-200mW) 561nm (50-300mW), 588nm-100mW, 592nm-200mW, 628nm (200-1000mW), 637nm-140mW, 640nm-100mW, 685nm-40mW, 730nm-30mW y 785nm-100mW.
- Únicos sistemas compatibles con los analizadores celulares BD FACS Canto, BD FACS Verse, BD FACSCelesta, BD LSR Fortessa, BD LSR Fortessa X-20 y BD FACSymphony y con los separadores BD FACSAria y BD FACSymphony S6. Permite realizar los mismos ensayos multicolor en ambos equipos, es decir, una vez configurados en el analizador, pueden ser extrapolados al separador celular utilizando las mismas plantillas, software y fluorocromos. Este proceso no solo asegura la calidad analítica, sino que permite optimizar tiempo, reactivos y recursos humanos en la puesta a punto en los ensayos de investigación.
- Un sistema de control de calidad que permite de forma automática la caracterización completa del estado funcional del citómetro y seguimiento de su rendimiento. Control de Calidad del Instrumento automatizado (QC) mediante la utilización de esferas BD™ Cytometer Setup and Tracking (CS&T) para asegurar que el estado del equipo se encuentra dentro de las especificaciones y permite actualizar las compensaciones adaptándolas a las nuevas condiciones del equipo.
- Tecnología patentada para el control de la estabilidad de la gota Sweet Spot y para el cálculo preciso del Drop-Delay mediante las bolitas BD FACS Accudrop.
- Sistema de parada de adquisición cuando el tubo de muestra se acaba, sistema de detección de burbujas y sistema de protección automática de las muestras separadas ante cualquier perturbación detectada por el sistema.

- Permite la medida simultánea de área, altura y anchura de pico para cada uno de los canales disponibles en el instrumento, tanto en SSC, FSC y fluorescencia. Sin limitación en el número de parámetros en un canal. Para todos los canales medibles (SSC, FSC y fluorescencias), puede obtenerse la información en pulso de Área (A), Altura (H) y Anchura de pico (W). Estos parámetros (A, H y W) son fundamentales en la discriminación de dobletes, técnica necesaria en la gran mayoría de las aplicaciones de la citometría e imprescindibles en el análisis de eventos raros y en el estudio del ciclo celular, permitiendo la exclusión en el análisis de los grupos de células sin disgregar.
- Permite el empleo del Umbral (threshold) simultáneo en todos los parámetros. Ilimitado en el número de parámetros en adquisición o/y análisis de muestras, para mayor y mejor selección de la población de interés.
- Presenta de forma exclusiva, una integración completa con el software de análisis más utilizado y versátil del mercado, BD FlowJo, lo que permite utilizar las mismas plantillas de análisis, las mismas jerarquías de poblacionales, gates y compensaciones entre ambos programas.
- La integración completa de FlowJo y Diva junto con la herramienta HyperFinder, desarrollada en exclusividad por FlowJo, permite por primera vez la separación de poblaciones (clusters). Dicha herramienta busca la combinación de gates que definen la población a separar y esta es transmitida a software BD FACSDiva para su separación en un citómetro separador de BD.

Las mencionadas características técnicas suponen considerables ventajas en la utilización del equipo, traduciéndose la mayoría de ellas en importantes ahorros de tiempo y costes. En concreto, estas son algunas de las ventajas que la adquisición del equipo podría suponer:

- Mayor potencia de láseres instalados, mejor excitación de fluorocromos.
- Capacidad de análisis incrementado, al disponer de 19 parámetros de forma simultánea (duplicando la capacidad actual de la unidad), por lo que la capacidad de análisis de poblaciones nuevas se multiplica exponencialmente.
- Sistema de separación en formatos multiplaca (6-24-48-96-384 wells), placas PCR, cubres microscopía. Esta característica amplía la cartera de servicios e instaurar nuevas aplicaciones muy actuales en el mundo de la investigación como célula única, clonaje celular, estudios downstream como multiómica, etc.
- Software de adquisición y análisis más evolucionado que permite el análisis multicolor, reducción de dimensionalidad, estudio de poblaciones y sobre todo, la separación de los clusters de interés para su posterior estudio. Esto otorga más calidad a los estudios, pudiendo ir más allá en las conclusiones abordadas.
- Filtros y detectores para todos los fluorocromos y técnicas disponibles en el láser UV, como Side Population (fundamental para Stem Cells y Cancer Stells), determinación de calcio, estudio de cromosomas con Hoechst, proliferación y ciclo con Dapi, etc.

- Estudio de pequeñas partículas y exosomas asociados a biomarcadores e implicados en terapia celular dirigida. Se incorpora sistema para su detección en este Sorter.
- Control del riesgo biológico: Campana de flujo laminar con doble sistema de bioseguridad: flujo laminar y sistema de gestión de aerosoles.

4. Conclusión

La adquisición, instalación y puesta en marcha del *SISTEMA BD FACSAria FUSIONTM* en el Servicio Común del Centro de Investigación Biomédica Navarrabiomed implica cinco oportunidades estratégicas:

4.1. Impulsar el desarrollo tecnológico de la Sala Blanca de Terapias Avanzadas. Dos de los bloques de trabajo necesarios para el desarrollo de cualquier Ensayo Clínico de Terapias Avanzadas son:

a) validación del medicamento a escala preclínica bajo buenas prácticas de laboratorio (BPL). Ello implica el disponer de equipamiento y procedimientos de trabajo específicos que verifiquen la actividad funcional del producto celular.

b) análisis de calidad del medicamento fabricado. Sin que el medicamento haya pasado unos controles de calidad exhaustivos el medicamento no podrá ser liberado para su administración al paciente. Por ello se necesita disponer de un equipo con la mayor versatilidad posible que garantice el análisis de alta calidad del medicamento en relación al estudio preclínico realizado.

4.2. Consolidar la Unidad de Citómica mediante la introducción en el centro de servicios comunes de Citómica (estudio de la colección de procesos celulares complejos y dinámicos subyacentes a los procesos fisiológicos, así como de la diversidad funcional y estructural de conjunto de células de un organismo) y Fenómica (estudio del conjunto de los fenotipos o descripciones físicas expresados por una célula, resultado de la interacción del genotipo y el ambiente). Hasta el momento el estudio de ambas ciencias ómicas en subpoblaciones celulares seleccionadas en el laboratorio está condicionado por la elección de un antígeno celular que se exprese de forma exclusiva en la membrana o en el medio intracelular de una subpoblación o fracción celular. La adquisición del Sorter Celular permitirá un salto no sólo cualitativo sino cuantitativo ya que no será 1 (AutoMACS Pro Separator, CliniMACS Prodigy) sino 17 los antígenos utilizados para identificar, seleccionar y caracterizar una subpoblación o fracción celular (Sorter Celular y Citómetro de flujo FACS Canto II).

4.3. Completar el “gap” existente en la cadena de actividades desarrolladas por el Servicio Común de Navarrabiomed permitiendo concatenarlas experimentalmente (Biobanco-Citómica- Proteómica). Ello derivará en desarrollos experimentales hasta ahora inexplorados que utilicen fracciones celulares de colecciones de muestras con alto valor clínico como fluidos y biopsias. En este sentido y en relación a los recursos tecnológicos disponibles en el Biobanco de Navarrabiomed caben destacar entre su equipamiento general los siguientes equipos:

- Microtomo HM340E, Microm
- Microtomo RM2255, Leica
- Criostato CM1850, Leica

Sobre el tipo de muestras cedidas por el Biobanco se tendrá la posibilidad hasta ahora inexistente de realizar aislamientos celulares, vesiculares u orgánulo-específicos que posteriormente se caractericen de manera exhaustiva a nivel molecular mediante espectrometría de masas de tipo Orbitrap. A pesar de que en la actualidad los grupos de investigación demandan de manera aislada algunos de los servicios comunes, esta nueva posibilidad de interconectar servicios comunes mediante la adquisición de un Sorter Celular no sólo incrementa ostensiblemente la competitividad de los proyectos de I+D+i de los grupos de investigación del centro, sino que aumenta las posibilidades formativas del personal adscrito al mismo.

4.4. Enriquecer significativamente con el desarrollo de la Citómica las Ciencias Ómicas del Centro de Investigación Navarrabiomed, alguna de las cuales son desarrolladas dentro del Servicio Común (Proteómica, Metabolómica y Secretómica) del Centro y otras son abarcadas en Unidades de investigación del mismo (Genómica, Farmacogenómica, Epigenómica, Microbiómica).

4.5. Impulsar la Unidad de Bioinformática Traslacional del Centro de Investigación Navarrabiomed en la que trabajan en la caracterización - en salud y enfermedad - de los distintos subtipos celulares en tejidos a través de la tecnológica de Single-cell RNA-seq. Para poder caracterizar subtipos celulares de prevalencia relativamente baja es fundamental aislar los subtipos celulares de interés. Para ello el Cell Sorter es una herramienta fundamental. En nuestro caso estamos trabajando en aislamiento de células inmunes en tejidos (e.g. hígado), en medula ósea o directamente del flujo sanguíneo. La integración de datos multiómica; y el uso de los registros y datos ómicos para identificar de forma robusta subgrupos de pacientes que puedan tener valor para generar pronósticos e identificar trayectorias de enfermedades a partir de datos clínicos y ómicos, son los dos desafíos principales de la Unidad.

4.6. Favorecer y potenciar sinergias entre las diferentes Unidades de Investigación que investigan en el ámbito de la Inmunología en Navarrabiomed (Oncohematología, Oncoimmunología). La disponibilidad de infraestructura como la que se solicita en esta memoria para aislar subpoblaciones celulares homogéneas de linfocitos B y T de modo individual supone un salto cualitativo en la competitividad del centro. Junto con la Unidad de Cristalografía de Proteínas e Inmunología Estructural de Navarrabiomed, esto hará posible la caracterización biofísica y estructural en el reconocimiento de autoantígenos y antígenos extraños, tanto en escenarios de enfermedad autoinmune como en patologías relacionadas con procesos cancerígenos o infecciones microbianas. Este es un flujo de trabajo ambicioso y con evidente traslación clínica.

4.7. El volumen de trabajo previsto y descrito con respecto a la utilización del Sorter Celular justifica la necesidad de su adquisición. Además, demuestra la imposibilidad de derivar dicho trabajo a Centros de Investigación en donde dicho equipo está presente. El hecho de que el equipo Sorter con características similares como al que aquí se presenta se encuentre en el Centro Científico y Tecnológico de la Universidad de Barcelona

(Campus Diagonal) a 352km dificulta significativamente el desarrollo de todos los ensayos experimentales del Centro que deban ser realizados con dicho equipo.

En vista de todo lo anterior, el Sistema BD FACS Aria Fusion es el único equipo en el mercado que, por sus avanzadas características técnicas, puede satisfacer con garantía las necesidades anteriormente expuestas. Por ello, de acuerdo con el artículo 75.1 c) de la Ley Foral 2/2018, de 13 de abril, de Contratos Públicos, se entiende adecuado adquirir el mencionado equipamiento mediante un procedimiento negociado sin convocatoria de licitación.

En Pamplona, a 17 de diciembre de 2021,

Íñigo Lasa Uzcudun
Director de la Fundación Miguel Servet