

Puesta en marcha de una plataforma de proceso, almacenamiento y gestión de muestras clínicas: organización y desarrollo del Biobanco de REDinREN

Laura Calleros*¹, María A. Cortés*¹, Alicia Luengo¹, Inés Mora¹, Brenda Guijarro¹, Paloma Martín¹, Alberto Ortiz-Ardúan², Rafael Selgas³, Diego Rodríguez-Puyol⁴, Manuel Rodríguez-Puyol¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá. Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas (IRSIN). Alcalá de Henares, Madrid

² Laboratorio de Investigación Renal y Vascular. IIS-Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas (IRSIN). Madrid

³ Servicio de Nefrología. Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ. Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas (IRSIN). Madrid

⁴ Sección de Nefrología y Unidad de Investigación. Hospital Príncipe de Asturias. Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas (IRSIN). Alcalá de Henares, Madrid

* Ambos autores han contribuido igualmente en este trabajo

Nefrología 2012;32(1):28-34

doi:10.3265/Nefrologia.pre2011.Oct.11121

RESUMEN

Antecedentes: La creación del Biobanco, como una plataforma dentro de la Red de Investigación Renal (REDinREN), impulsa el avance de la investigación clínica de la enfermedad renal en España. Los objetivos del Biobanco son la generación del archivo de muestras clínicas y de datos asociados, para su cesión a los grupos de investigación, y la coordinación con biobancos europeos. **Métodos:** Para su puesta en marcha, fue necesaria la implementación de la normativa vigente (Ley de Investigación Biomédica y de Protección de Datos y la Normativa del Transporte de Sustancias Biológicas), un estricto protocolo de trabajo y la creación de una base de datos clínicos de la Red. **Resultados:** En su evolución, el Biobanco ha adquirido infraestructura y personal cualificado, lo que permitió que en el año 2010 se obtuviera un total de 2.953 pacientes, lo que hace un total de 37.042 viales almacenados con muestras de diferentes naturalezas. Además, hasta la fecha, el Biobanco está incluido en 11 proyectos de investigación. **Discusión:** Aunque el Biobanco fue diseñado como una plataforma de soporte de la REDinREN, es necesario con una acción conjunta poner a disposición de toda la comunidad científica nefrológica las posibilidades que otorga este sistema de almacenamiento de muestras biológicas para potenciar la investigación de la enfermedad renal.

Palabras clave: Biobanco. Enfermedad renal crónica. Plataforma de red. Muestras clínicas.

Correspondencia: Laura Calleros

Departamento de Fisiología.

Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona

km 33.600. 28871 Alcalá de Henares, Madrid.

laura.calleros@uah.es

Startup of a platform of processing, storage and management of clinical samples: organization and development of the Biobank of REDinREN

ABSTRACT

Background: The Biobank creation in Network for the Kidney Research (REDinREN) promotes the advance of kidney disease clinic research in Spain. The Biobank aims are to generate an archive of clinic samples and associated data, to yield to groups of investigation (research) and coordination with European Biobanks. **Methods:** In the beginning were indispensable the implementation of in force normative (Bio-medic Investigation Law, Dates Protect Law and Biologic Samples Transport Normative), a work protocol and the creation of medical database of the Red. **Results:** The Biobank growth included infrastructures and qualified personnel. In 2010 year, the patient samples increased in 2953 achieved 37,042 vials of different nature stored. Moreover in this moment the Biobank participates in eleventh research projects. **Discussion:** Even if the Biobank was designed for support to REDinREN is necessary to opening his biologic samples to all scientific nephrology community for promote the kidney disease research.

Key Words: Biobank. Chronic kidney disease. Network Support. Medical samples.

INTRODUCCIÓN

El Biobanco de la REDinREN (Red de Investigación Renal) es un establecimiento público, sin ánimo de lucro, que acoge

una colección de muestras destinadas a la investigación biomédica en el contexto de la enfermedad renal. Tiene como misión contribuir al avance del conocimiento científico de las enfermedades nefrológicas dentro de la acción coordinada de la REDinREN, que depende del Instituto de Salud Carlos III (RD6/0016/0002). Esta Red está conformada por grupos de investigadores de diferentes comunidades autónomas. Permite desarrollar proyectos de investigación interdisciplinares y multicéntricos en áreas estratégicas enfocadas hacia el logro de un mayor conocimiento sobre la patología renal, tratando de aportar soluciones a los problemas reales existentes en el ámbito nefrológico. Actualmente, el Biobanco constituye una plataforma esencial en el desarrollo de la actividad de investigación conjunta de REDinREN. Los objetivos planteados inicialmente por el Biobanco, que continúan en pleno desarrollo, se recogen en la tabla 1. Se trata, pues, de una estructura transversal de soporte a la investigación nefrológica, que debe ser considerada como complementaria de otros biobancos creados al amparo de diferentes iniciativas institucionales.

MÉTODOS

Aspectos fundamentales en la constitución del Biobanco de REDinREN

La estructura y el funcionamiento del Biobanco de REDinREN se basan en cuatro pilares fundamentales: el cumplimiento de la normativa legal, la dotación del personal específico, el desarrollo de procedimientos técnicos normalizados y un correcto sistema de registro y acceso de datos clínicos. Cada uno de estos componentes se desarrolla a continuación.

1) Requisitos legales: El Biobanco de la REDinREN ha sido diseñado siguiendo las normas expresadas en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007, de 3 de julio¹. La citada Ley plantea como requisito imprescindible para todas las muestras enviadas al Biobanco que el paciente sea informado por su médico y otorgue su consentimiento por escrito. Por lo tanto, en una etapa inicial de la creación del Biobanco, se aprobaron por los Comités Éticos de cada hospital perteneciente

a la Red los modelos de Consentimientos Informados que se entregan a los pacientes. La información se proporciona por escrito y comprende la naturaleza, importancia, implicaciones y riesgos de la cesión de la muestra al Biobanco, así como el derecho del donante de revocar el consentimiento en cualquier momento. Para obtener las muestras, se respeta la libre autonomía de las personas que puedan aportar a la investigación sus muestras biológicas. El Biobanco se reserva el derecho de realizar una auditoría de las muestras depositadas para comprobar que se obtienen los consentimientos.

Por otro lado, la base de datos clínicos que contiene información codificada de los pacientes que tienen muestras almacenadas en el Biobanco ha sido dada de alta en la Agencia Española de Protección de Datos y en la Agencia de Protección de Datos de la Comunidad de Madrid. Se respetan las normas de seguridad recogidas en el «Reglamento de medidas de seguridad de los ficheros automatizados que contengan datos de carácter personal», aprobado por Real Decreto 994/1999, de 11 de junio, para cumplir la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal².

Por último, todos los procedimientos técnicos que se describen más adelante han sido diseñados contemplando los requisitos que impone la Ley. Todas las muestras biológicas son almacenadas en condiciones que permitan su conservación a largo plazo, en cantidades suficientes y de buena calidad, que garanticen su utilidad para presentes y futuras investigaciones que se puedan diseñar a medida que avance el conocimiento de la patología renal y de la biotecnología.

2) Dotación de personal y Comité vinculado: El organigrama del Biobanco se recoge en la figura 1. En una etapa inicial también se estuvo formando, por parte del Biobanco, a personal específico en cada centro del que se fueran a enviar muestras, con la finalidad de que todo el proceso se realizara de forma normalizada de acuerdo con los protocolos que se establecieron para toda la Red. Esta actividad se mantiene actualmente para aquellos investigadores y/o personal de apoyo que se introducen a la Red y que se disponen a depositar muestras.

3) Procedimientos técnicos: Para garantizar la calidad en el procesamiento y almacenamiento de las muestras, se ha establecido un Protocolo Normalizado de Trabajo basado en el sistema de Gestión de Calidad tipo UNE-EN-ISO 9001:2008. La figura 2 recoge el proceso de tratamiento de las muestras. Las muestras que llegan al Biobanco son de sangre y orina. Ocasionalmente, según las líneas de investigación, pueden obtenerse muestras de tejidos. Estas muestras son enviadas por mensajería al Biobanco. A partir de las muestras de sangre entera, se almacenan de manera rutinaria alícuotas de plasma, de células para la posterior obtención de ADN y proteínas y, si se cuenta con suficiente cantidad y viabilidad (mayor del 80%), se crioconservan parte de las células. De la sangre extraída con tubos PAXgene® se aísla el ARN con el

Tabla 1. Objetivos del Biobanco

Constituir el archivo de muestras biológicas de la REDinREN mediante el procesamiento de todas las muestras generadas

Coordinar los procedimientos técnicos que deben cumplir los Centros Sanitarios para la donación de muestras del Biobanco

Crear un sistema de organización de las muestras y un soporte informatizado de información asociada

Coordinar procedimientos de actuación con organizaciones similares en el ámbito de la Unión Europea

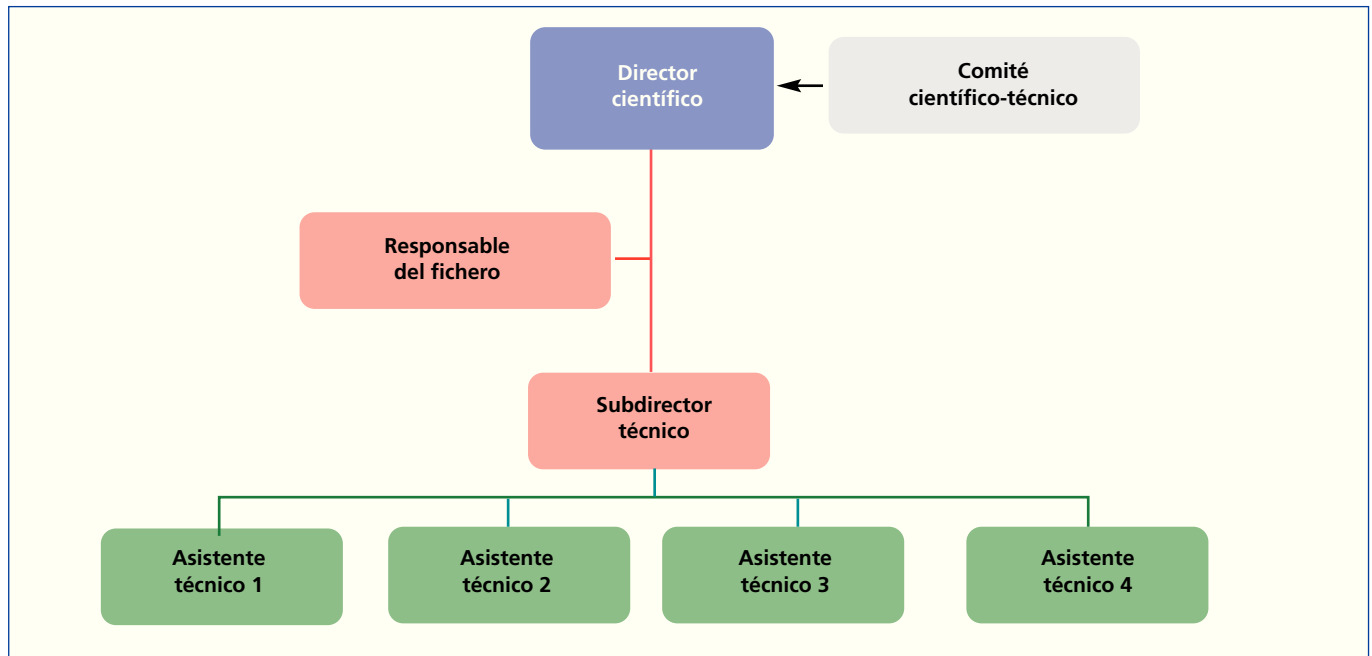


Figura 1. Organigrama del Biobanco.

sistema automatizado de Qiagen. Los viales se almacenan de forma que se garantiza la localización de cada alícuota mediante su inclusión en una base de datos diseñada a tales efectos para el Biobanco.

Para almacenar todas estas muestras, el Biobanco cuenta con sistemas de almacenamiento a -80°C y a -180°C . Los equipos de almacenamiento están protegidos con un triple sistema de seguridad: sistema de alimentación eléctrica ininterrumpida (SAI), sensores de temperatura con alarma remota telefónica y conexión al equipo electrógeno externo de la Facultad de Medicina. De esta manera, se garantiza la total protección de las muestras biológicas frente a cualquier fallo del sistema eléctrico o informático.

4) Calidad en el sistema de registro de datos clínicos y su correcta vinculación con las muestras almacenadas: De forma paralela al archivo biológico, se ha generado una base de datos clínicos de la Red, de todos los pacientes con muestras almacenadas en el Biobanco, que contiene la información necesaria para permitir el máximo aprovechamiento de las muestras biológicas almacenadas. Aunque inicialmente se diseñó un documento único (figura 3), los distintos estudios específicos pueden incluir documentación complementaria.

A los pacientes seleccionados para enviar muestras al Biobanco se les asigna un **Número de Biobanco**, que permite incluir los datos clínicos dentro de la base de datos. Los datos personales de los pacientes están disociados y no se incluyen en esta base de datos. Este fichero está, *on line*, dentro de la

intranet de la página Web de la Red (www.redinren.eu), a la cual acceden los miembros mediante su correspondiente contraseña. Cada hospital sólo tiene acceso a los datos clínicos de sus pacientes y sólo queda constancia del número de historia clínica y del nombre del paciente en el hospital de origen. Cada vez que se extrae una muestra a un paciente, se le asigna un **Número de Etiqueta** y se envía al Biobanco. Cuando llegan al Biobanco, las muestras están codificadas (muestras no asociadas a una persona identificada o identificable por haberse sustituido o desligado la información que identifica a esa persona utilizando un código que permita la operación inversa). En la base de datos clínicos de la página Web de la Red queda constancia del **Número de Biobanco** y del **Número de Etiqueta**. Se mantiene la vinculación entre la muestra y el paciente, porque se prevé la posibilidad de contactar con el paciente para la obtención de muestras a distintos tiempos de la progresión de la enfermedad renal. En estos casos, como se extraerá más de una muestra, habrá distintos **Números de Etiqueta** por un mismo **Número de Biobanco** (en ningún caso deberá producirse la situación inversa). Cuando la muestra es cedida para un proyecto de investigación, el investigador sólo recibe el **Número de Etiqueta**, y bajo ninguna circunstancia el **Número de Biobanco**, lo cual confiere una protección adicional de la confidencialidad del paciente en todo el procedimiento y respeta las normas de seguridad vigentes¹⁻².

5) Envío y solicitud de muestras: Por otro lado, se ha diseñado tanto la página Web como la zona de intranet, donde todos los integrantes de la Red disponen de un amplio soporte

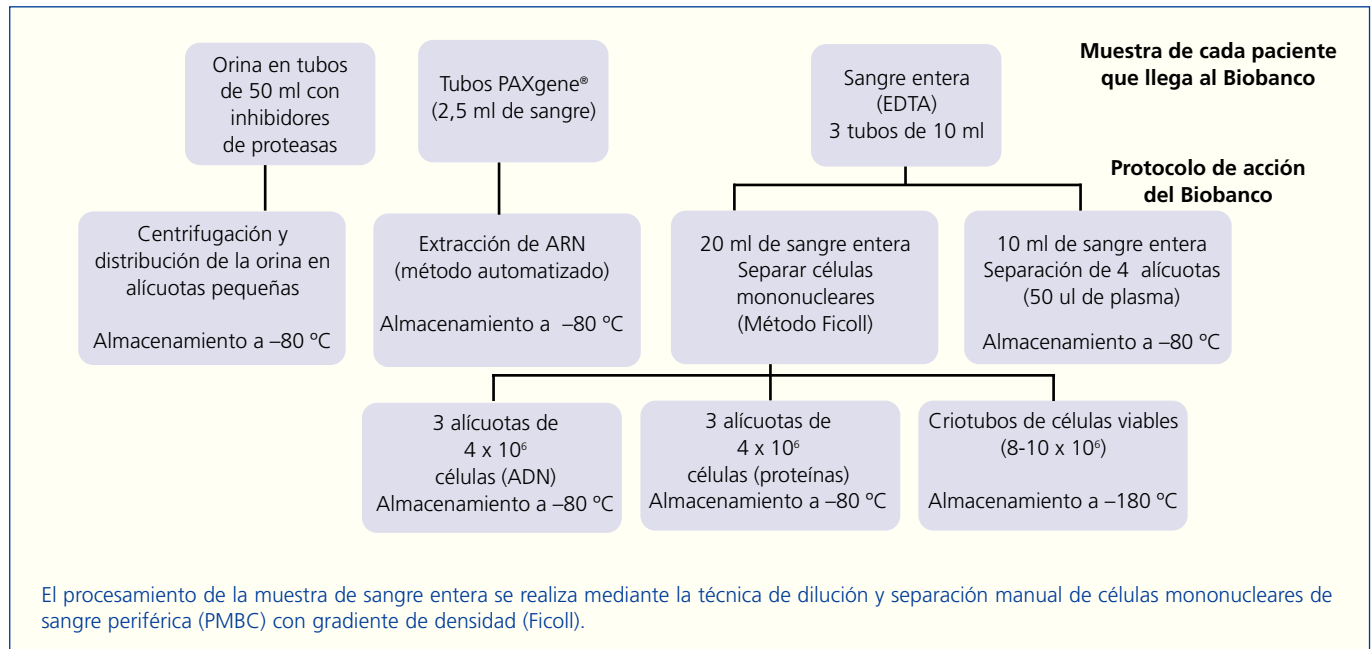


Figura 2. Protocolo de acción del Biobanco.

informático para acceder a toda la información del Biobanco: los documentos para enviar o solicitar muestras, el calendario de reserva de día de envío y la información resumida del inventario del Biobanco de interés para los grupos de investigación.

La **obtención, transporte, manipulación y envío de muestras** también se realiza en condiciones de bioseguridad, de conformidad con la legislación aplicable (reglamentación de la OMS relativa al Transporte de Sustancias Infecciosas)³. Para el transporte de las muestras se garantizará: la identificación y trazabilidad de las muestras, la definición de las condiciones de preparación, manipulación y transporte que requiere cada tipo de muestra y la formación adecuada del personal que debe manipularlas y prepararlas. Para el transporte de muestras fuera del territorio español, el Biobanco tramita toda la documentación requerida, cumpliendo con el Real decreto 65/2006⁴ para la exportación de muestras biológicas y su paso por los controles aduaneros.

Además se han diseñado y aprobado por el Comité Científico-Técnico del Biobanco los **documentos necesarios** (figura 4) para depositar y/o ceder por parte de los investigadores muestras del Biobanco. La solicitud de muestras y/o datos será evaluada por el Comité Científico-Técnico del Biobanco, siendo requisito indispensable que un Comité Ético de Investigación Clínica apoye el estudio en cuestión. Las muestras biológicas almacenadas en el Biobanco se podrán emplear en las investigaciones que se realicen dentro de la REDinREN y podrán ser objeto de utilización en investigaciones con terceros, en los que participe algún miembro de la REDinREN, siempre con la correspondiente autorización del Comité Científico-Técnico. La cesión de muestras podrá ir

acompañada de la información clínica asociada, que se extraerá de la base de datos clínicos de la Red, con las garantías de la Protección de Datos de Carácter Personal. Si tras la evaluación se aprueba la cesión, se firmará un acuerdo de cesión que incluya: la regulación de la salida de las muestras, las muestras que son cedidas, el investigador principal y para qué proyecto son cedidas, las obligaciones del investigador (utilización exclusiva para ese proyecto, compromiso de no almacenar, devolver ni transmitir a un tercero y de utilizar la cantidad mínima necesaria), posibilidad de ser sometido a una auditoría por parte del Biobanco para comprobar el cumplimiento de las condiciones del contrato y compromiso de incluir al Biobanco en las publicaciones (materiales y métodos). Por último, al finalizar el proyecto, los investigadores están obligados a presentar una memoria de resultados final.

RESULTADOS

Evolución y descripción del estado actual del Biobanco

1) Infraestructuras: El Biobanco de la REDinREN se encuentra instalado en la Facultad de Medicina de la Universidad de Alcalá. Su puesta en funcionamiento ha implicado la realización de obras de remodelación, compra de equipamiento completo y puesta en marcha de todo el laboratorio. Desde su creación hasta la actualidad el Biobanco de REDinREN ha crecido sustancialmente en infraestructuras. En este momento se cuenta con dos congeladores verticales de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ adicionales (tres en total), con la instalación de sus correspondientes sondas de temperatura, un sistema SAI de mayor potencia y la ampliación del espacio físico al triple del tamaño inicial.

Figura 3. Hoja de recogida de datos clínicos del Biobanco de REDinREN.

2) Personal: El gran incremento en el volumen de trabajo generado tanto por el aumento del número de muestras como por la solicitud de material para diversos proyectos ha requerido también un mayor número de personal técnico de apoyo. Inicialmente estas tareas eran desarrolladas por una persona y en estos momentos contamos con cuatro personas dedicadas a las diferentes fases de procesamiento de las muestras. La cualificación del personal es una tarea de mejora continua fundamental para el correcto funcionamiento del Biobanco.

3) Muestras almacenadas y pacientes registrados: Actualmente se encuentra en pleno funcionamiento el sistema de envío, recogida, proceso y almacenamiento, habiendo recibido envíos de muestras biológicas de todos los hospitales asociados de la Red. Como se observa en la figura 5A, en el año 2007 se registraron 518 viales almacenados, que han tenido un significativo incremento hasta llegar a un total de 37.042 en el año 2010. Del total de viales discriminados por su naturaleza (figura 5B), hay una distribución que permite destacar los viales de plasma (30%), viales para aislamiento de ADN (28%) y viales para extracción de proteínas (28%). Es necesario tener en cuenta que los viales de orina (1%) sólo se re-

cogen en casos concretos y que, en el caso del ARN recogido con el sistema PAXgene® (4%), se extrae sólo en algunos pacientes seleccionados, debido a su alto coste. Por otra parte, con la colaboración que el Biobanco ha establecido con el proyecto Nefrona, a finales del año 2010 se han introducido nuevas muestras al Biobanco, como son plasma y suero separados en origen, que llegan al Biobanco para ser directamente almacenados. Esto permite asegurar la conservación de numerosos biomarcadores que podrían alterarse con el transporte de la sangre entera.

Por último, de los datos introducidos por los investigadores en la Web, recogemos todas las patologías cuyas muestras están custodiadas por el Biobanco (figura 5C). Las que aparecen en blanco han sido recogidas por el proyecto Nefrona.

Proyectos de investigación vinculados al Biobanco

1) Estrategia general: incorporación prospectiva de pacientes con los siguientes criterios: aunque inicialmente los criterios de inclusión de pacientes eran muy generales, actualmente las muestras se recogen de pacientes con características específicas, adecuadas a cada proyecto.

2) Estrategias específicas: el Biobanco como soporte de proyectos de investigación concretos. Actualmente, el Biobanco se encuentra involucrado en varios proyectos científicos de colaboración con miembros de la Red: **proyectos de colaboración aprobados por el Plan Nacional: 6; proyecto de colaboración con una Red Europea: 1; proyectos de investigación con financiación privada: 3; ensayos clínicos: 1.** Además se ha solicitado la inclusión en una **Red Europea de Biobancos** de pacientes en diálisis (ERA-EDTA. EURECA-m BIOBANK).

DISCUSIÓN

Perspectivas futuras

Como se ha mencionado anteriormente, nuestro Biobanco ha sido diseñado desde su creación con un cumplimiento riguroso de toda la normativa vigente. Esto nos facilitará el acceso al Registro Nacional de Biobancos, una vez que éste sea constituido, como lo prevé la Ley 14/2007 y en cuanto se apruebe el Real Decreto. Este registro nos permitirá dar publicidad a nuestra existencia a nivel nacional y facilitar el hecho de que la comunidad científica pueda acceder al material biológico.

Además, todos nuestros procedimientos se gestionan con el objetivo de obtener la máxima calidad, y en este momento estamos comenzando la puesta en marcha del programa de gestión de la calidad para acceder en un futuro próximo a la certificación de AENOR de la Norma ISO 9001:2008.

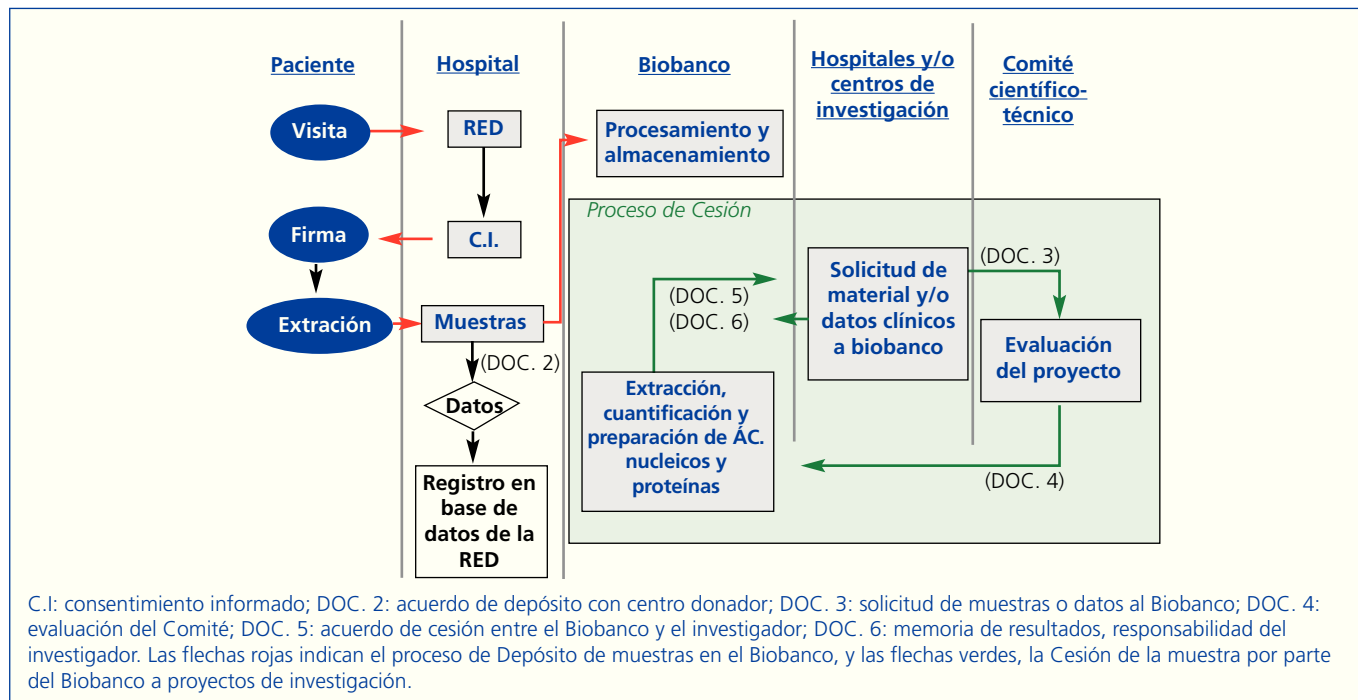


Figura 4. Resumen de los principales pasos para el depósito y cesión de muestras del Biobanco.

Aunque inicialmente el Biobanco se diseñó como una plataforma de soporte de la Red de Investigación Renal, la voluntad de los miembros de la Red y de los gestores del Bioban-

co es poner a disposición de toda la comunidad científica nefrológica las posibilidades que otorga este sistema de almacenamiento de muestras biológicas.

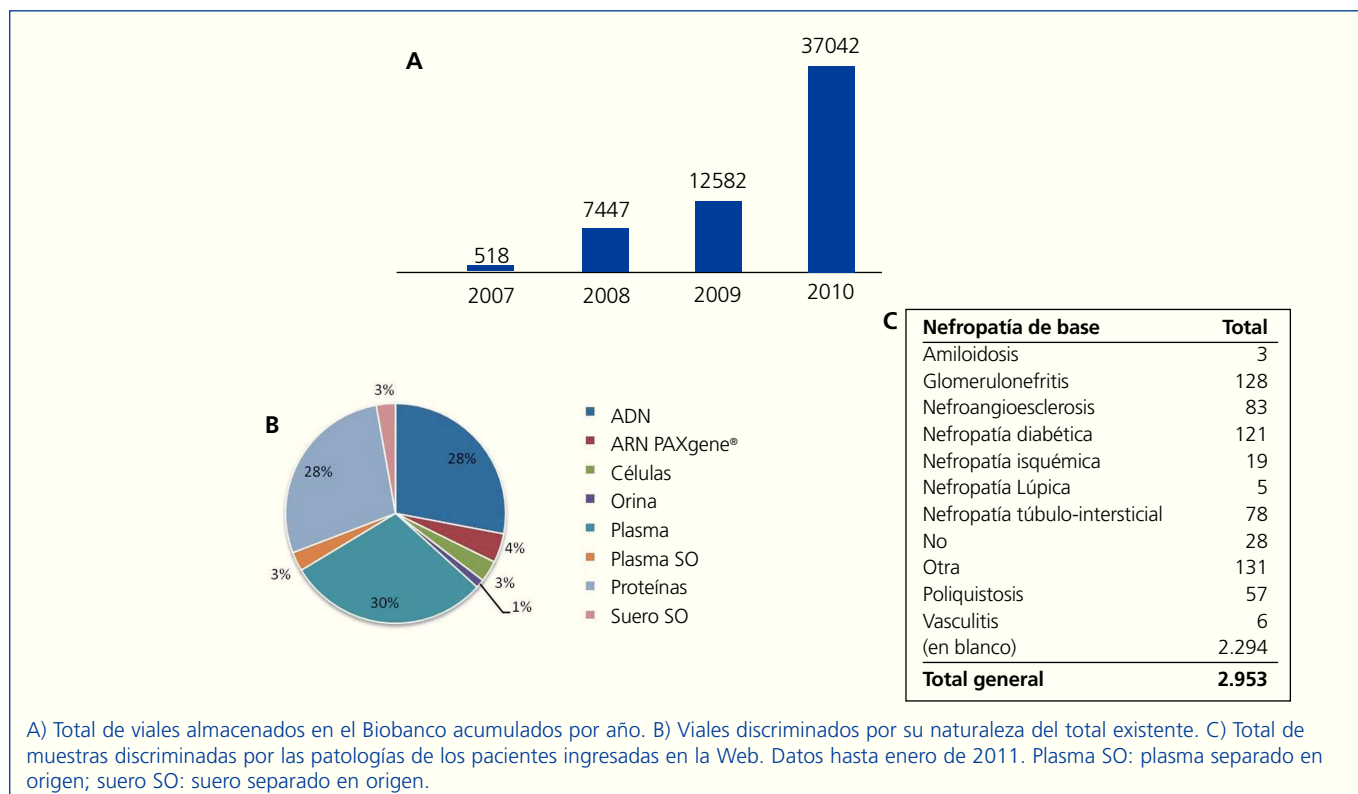


Figura 5. Inventario del Biobanco de REDinREN.

Finalmente, la integración de nuestro Biobanco a una Red Europea de Biobancos con muestras de pacientes renales puede ser una pieza clave en la facilitación de la exportación de muestras a otros países, promoviendo de esta forma las colaboraciones en proyectos de investigación internacionales.

ASPECTOS ECONÓMICOS EN LA CONSTITUCIÓN DEL BIOBANCO

La mayor parte de las infraestructuras y del personal del Biobanco de la REDinREN han sido financiados por el Instituto de Salud Carlos III (REDinREN, Red de investigación renal del Instituto de Salud Carlos III, Fondos FEDER, RD6/0016/0002), organismo del que depende el Biobanco. De acuerdo con esta Institución, se han solicitado puntualmente ayudas a entidades o proyectos privados, en concreto la Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo (FRIAT) y el

Proyecto Nefrona, avalado por la S.E.N. y por los laboratorios Abbott. Por otro lado, el coste del procesamiento de las muestras solicitadas para un proyecto específico, público o privado, es asumido por el propio proyecto.

Agradecimientos

Instituto de Salud Carlos III: (REDinREN, Red de investigación renal del Instituto de Salud Carlos III, Fondos FEDER, RD6/0016/0002).

Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo (FRIAT).

Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas (IRSIN).

Proyecto Nefrona, avalado por la S.E.N. y por los laboratorios Abbott.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica. Madrid-España: Boletín Oficial del Estado N.º 159; 2007. p. 28826-48.
2. Ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Madrid-España: Boletín Oficial del Estado N.º 298; 1999. p. 43088.
3. WHO/EMC/97.3. Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos. Organización Mundial de la Salud. División para la Vigilancia y el Control de Enfermedades Emergentes y Otras Enfermedades Transmisibles. Transporte seguro de Substancias Infecciosas 2005:1-15.
4. Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas. Madrid-España: Boletín Oficial del Estado N.º 32; 2006. p. 4626-36.