

## FICHA PARA COMERCIALIZACIÓN DE INVENCIÓN

<b>TÍTULO</b>	<b><u>NUEVO MÉTODO PARA EVALUAR LA INMUNIDAD CELULAR Y KIT ASOCIADO</u></b>
	<p><b>Breve Resumen:</b></p> <p>Se trata de un nuevo método <i>in vitro</i> para evaluar de manera directa la inmunidad celular, en un ser humano o en un animal, mediante la utilización de un panel de biomarcadores (analitos) relacionados con el metabolismo oxidativo y la inflamación, obtenidos de una muestra de células mononucleares, separadas de una muestra de fluido biológico, y sometidas a estrés celular mediante congelación. Incluye un kit ideado para llevar a cabo de manera sencilla y barata el procedimiento <i>in vitro</i> de evaluación de la inmunidad celular.</p> 
	<p><b>Problema a resolver:</b></p> <p>La inmunidad celular es fundamental para la defensa del organismo y se encarga de destruir agentes patógenos o células infectadas por virus, bacterias o parásitos y células neoplásicas.</p> <p>Las técnicas existentes actualmente para evaluar la inmunidad celular, tales como los ensayos basados en la proliferación de linfocitos o recuentos por citometría de flujo de linfocitos CD4 y CD8, requieren, de manera general, la <b>incubación</b> de células del paciente y/o la utilización de <b>citometría de flujo</b>, lo que implica considerables tiempos de ejecución, así como la necesidad de utilizar equipos y materiales de laboratorio por lo general costosos y personal especializado para llevarlos a cabo, por ejemplo, para el manejo de citómetros de flujo.</p>
	<p><b>Presentación de la Tecnología</b></p> <p><b>Se trata de</b> un nuevo método <i>in vitro</i> para evaluar la inmunidad celular de animales o humanos a partir de una muestra de fluido biológico (saliva, sangre entera o sangre entera tratada previamente con anticoagulante), del cual se extrae una muestra de células mononucleares, que son suspendidas en una solución salina que es posteriormente congelada, si bien previamente se debe cuantificar las células</p>

mononucleares presentes en dicha solución salina. La congelación, que tiene lugar a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante una hora, tiene la función de someter a las células mononucleares a estrés de manera que liberen analitos al medio. El procedimiento continúa con la descongelación de la solución salina de células mononucleares y su sometimiento a una centrifugación. Posteriormente se recoge el líquido sobrenadante resultante de la centrifugación y se determina el contenido de analitos o biomarcadores que son indicadores de inflamación y/o estrés oxidativo en el líquido sobrenadante recogido. Finalmente se compara el contenido de dichos analitos con el contenido medio de referencia de esos mismos analitos que se obtiene al reproducir dicho método en las mismas condiciones a partir de al menos dos muestras del mismo tipo de fluido biológico que comprenden células mononucleares de animales o de seres humanos sanos.

La evaluación de los biomarcadores se puede determinar, tanto de forma absoluta, como de forma relativa. Se estiman, por tanto, los valores de cada biomarcador por célula mononuclear de la muestra, en particular los valores de cada biomarcador por linfocito y los valores absolutos de dicho biomarcador, en el conjunto de la muestra.

Para la aplicación de este método se ha diseñado un **nuevo kit** que, a partir de una muestra de fluido biológico la evaluación de inmunidad celular en animales o seres humanos de una manera sencilla, rápida y fiable. El kit está compuesto por

- a. Un primer soporte que comprende una solución separadora de células mononucleares mediante gradiente de densidad;
- b. Un segundo soporte que comprende una solución salina;
- c. Un tercer soporte adecuado para cuantificar un analito en un analizador de bioquímica o en un espectrofotómetro o en un lector de microplacas;

Dicho kit comprende, además, instrucciones para la realización del método in vitro.



### Ventajas/Beneficios:

Este método de evaluación de inmunidad celular y el kit desarrollado para su aplicación presentan las siguientes ventajas, respecto a las principales técnicas usadas en la actualidad para el mismo fin:

- ✓ Se trata de un procedimiento de **menor coste** ya que no requiere del empleo de equipos específicos como citómetros de flujo.
- ✓ Requiere de **menor tiempo** para obtener resultados ya que no requiere de incubación, ni cultivo de las células, ni la adición de antígenos.

- ✓ No requiere de personal especializado para su aplicación, como es el caso cuando se requiere la utilización y el manejo de citómetros de flujo.
- ✓ Ensayo muy **sensible**. La evaluación de los biomarcadores o analitos se puede determinar, tanto de forma absoluta, como de forma relativa, lo que permite que sea un ensayo **más sensible** que si solamente se expresase mediante valores absolutos, ya que los valores relativos miden la capacidad de respuesta inmunitaria celular de cada célula.
- ✓ Se trata de un método **flexible** a la hora de determinar un conjunto más o menos extenso de analitos, y permite que se puedan determinar los analitos en los sobrenadantes recogidos en el paso (vi) del método in vitro de la invención justo tras realizar dicho paso (vi) o más tarde, y también es posible su transporte para que la determinación de los analitos se realice en otros laboratorios.

Alta estabilidad, así las muestras una vez descongeladas, son estables hasta 24 horas con lo cual se pueden enviar muestras a laboratorios para su análisis posterior.



#### Aplicaciones / mercado objetivo:

- Empresas que fabriquen o comercialicen equipos o tecnologías para diagnóstico en clínica veterinaria.
- Empresas que fabriquen o comercialicen equipos o tecnologías para diagnóstico en salud humana.
- Laboratorios especializados en análisis/servicios clínicos, en animales y humanos.
- Hospitales y clínicas veterinarias
- Fondos de inversión en biotecnología



#### Estado actual de desarrollo:

En fase de validación clínica