
Detectius de vacunes: avaluant l'eficàcia contra el virus del Nil Occidental



**Aquests materials didàctics són per a ús docent i d'investigació. Resta
prohibida la seva comercialització o modificació.**

1. Cas pràctic: la vacuna contra la febre del Nil Occidental

Fa tres setmanes el Departament de Salut va alertar d'un augment inesperat de casos de Febre del Nil Occidental en diverses zones humides del país. Fins ara, la malaltia afectava sobretot aus i alguns cavalls, però, darrerament han començat a aparèixer també casos en humans.

Davant d'aquesta situació, les principals universitats del país han posat en marxa un programa de recerca als seus laboratoris, els Laboratoris d'Immunologia Experimental, amb l'objectiu d'avaluar si les noves vacunes experimentals són efectives contra el virus del Nil Occidental i, per tant, poden ser candidates reals per a futurs programes de prevenció d'aquesta malaltia.

Cada universitat ha constituït un comitè avaluador que ha de determinar l'eficàcia de dues possibles vacunes. Per això disposeu de sèrums de diversos pacients que han estat vacunats amb diferents vacunes candidates.

En una reunió amb totes les universitats participants, la Consellera de Salut us recorda el repte:

"Necessitem saber si aquestes vacunes realment provoquen una elevada producció d'anticossos que es puguin unir al virus. Si la vostra anàlisi mostra una resposta clara, podrem avançar al següent pas del programa. Sense aquestes dades, no podem seguir."

La pressió és real: el Departament de Salut espera els resultats abans de final de setmana, i el vostre informe serà clau per decidir els següents passos.

- 1. Quines paraules et semblen claus per entendre què has de fer? Encercla-les al text.**
- 2. Hi ha algun concepte que no entenguis del tot? Escriu-lo i intenta explicar què creus que significa.**

- 3. Què en saps dels virus, la immunitat i les vacunes? Anota almenys tres idees.**

2. Objectius

Els objectius d'aquesta pràctica són els següents:

- a) Entendre què és un virus i conèixer els diferents tipus de virus que existeixen.
- b) Assimilar conceptes bàsics sobre la immunitat i el funcionament de les vacunes.
- c) Familiaritzar-se amb el procés d'investigació al voltant del desenvolupament d'una vacuna.
- d) Entendre què és i què mesura una prova ELISA en el context de la detecció d'anticossos.
- e) Assimilar els passos principals d'un experiment de laboratori, incloent controls (positius i negatius), dilucions en sèrie i interpretació de dades.
- f) Desenvolupar raonament crític: controls, errors, resultats i conclusions.



3. El món microbià

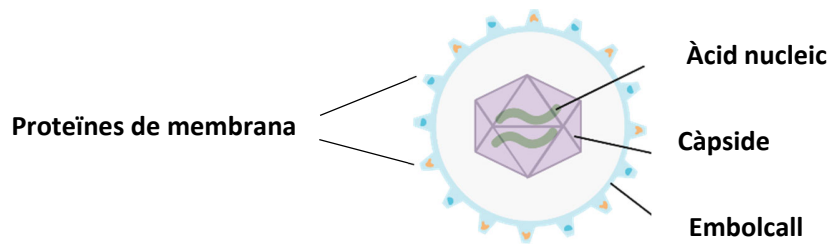
Els microbis o microorganismes són éssers vius de mida microscòpica. Dins d'aquests hi podem trobar bacteris, protozous, arqueus, virus, algues i fongs. Els microorganismes són els éssers més abundants del nostre planeteta. De fet, n'hi ha més de mil trilions de microorganismes per cada persona.



Al cos humà hi trobem un 50% de cèl·lules humanes, un 50% de cèl·lules bacterianes i, a més, 10 partícules virals per cada cèl·lula.

Els virus

Els virus són entitats biològiques extremadament petites i d'estructura molt senzilla. Estan constituïts per un àcid nucleic —que pot ser ADN o ARN— envoltat per una càpside proteica, i, de vegades, per una altra capa externa que consisteix en un embolcall membranós. Són formes de vida acel·lulars, és a dir, no poden reproduir-se de manera autònoma ni realitzen funcions metabòliques pròpies. Per multiplicar-se, han d'infectar una cèl·lula hostatgera i aprofitar-ne la maquinària enzimàtica i biosintètica.



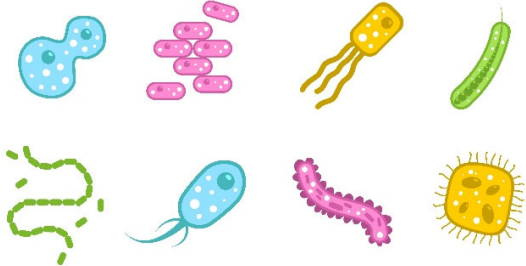
Hi ha una gran diversitat de virus, amb variacions respecte a la seva estructura i el tipus de material genètic que contenen (taula 1).

Segons la morfologia de la càpside ¹		
Icosaèdrica	Helicoidal	Complexa
Segons el tipus de material genètic ²		
ADN		ARN
Lineal		Circular
Monocatenari	Monocatenari	
Bicatenari	Bicatenari	
Segons la presència/absència d'embolcall		

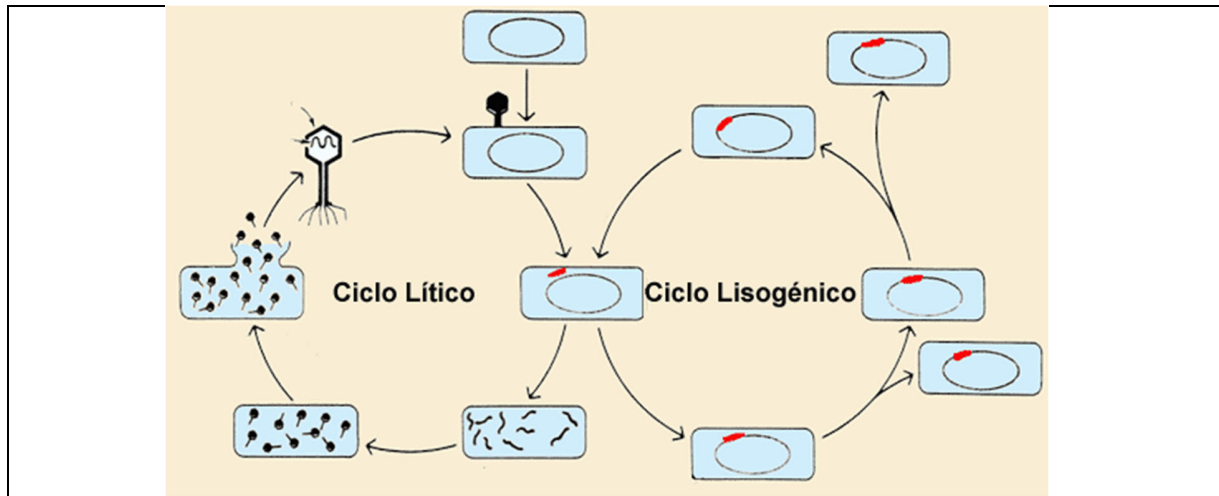
¹ Font: <https://es.khanacademy.org/science/biology/biology-of-viruses/virus-biology/a/intro-to-viruses>

² Font: https://www.freepik.es/vector-premium/comparacion-arn-o-acido-ribonucleico-adn-o-acido-desoxirribonucleico_359660404.htm#fromView=search&page=1&position=33&uuid=302b9d48-a28a-450f-a1a7-119301845f65&query=adn+vs+arn

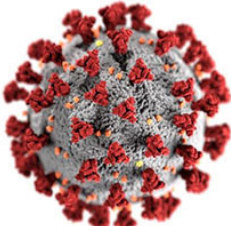
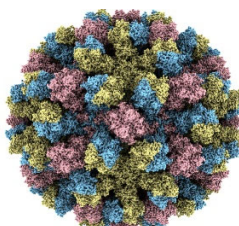
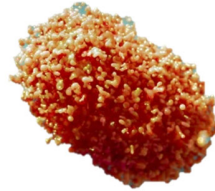
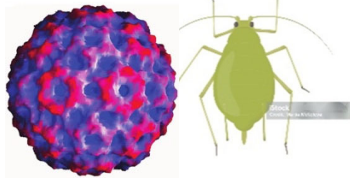
Els virus són paràsits obligats intracel·lulars o intrabacterians (bacteriòfags),³ ja que no poden reproduir-se ni nodrir-se de manera independent. Necessiten, per tant, un organisme hostatger per completar el seu cicle vital. Aquest hostatger pot pertànyer a grups molt diversos, i els virus que l'infecten poden seguir diferents estratègies per replicar-se (taula 2).

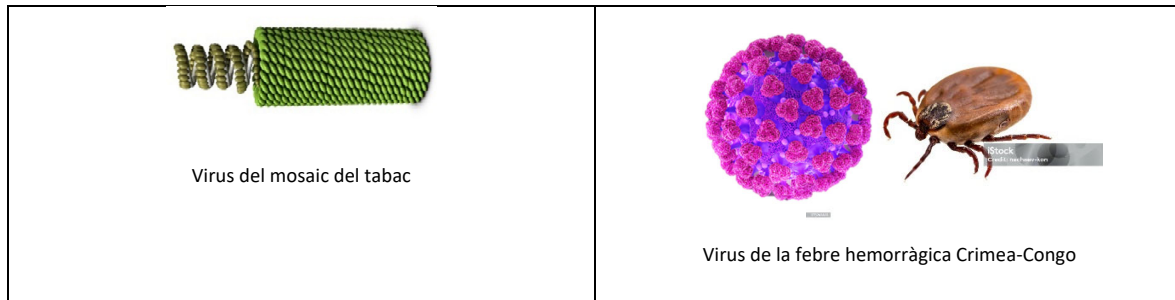
Segons el tipus d'hostatger	
Eucariotes Animals  Plantes 	Procariotes Bacteris i arqueus 
Segons el cicle reproductiu	
Cicle lític Un cop el virus ha penetrat a la cèl·lula procedeix immediatament a “segrestar” la maquinària cel·lular per replicar i transcriure el seu material genètic i produir noves còpies del virus. La infecció és ràpida i acaba provocant la destrucció (o lisi) de la cèl·lula hoste.	Cicle lisogènic El virus és capaç d'integrar el seu material genètic dins del de la cèl·lula hoste. En aquesta fase es manté <i>latent</i>: no produeix nous virus de manera immediata, però el seu genoma es replica i es transmet cada vegada que la cèl·lula es divideix.

³ Font: <https://es.slideshare.net/slideshow/biologia-2n-batxillerat-ud16-els-microorganismes/16233809>



A més, els virus utilitzen diferents vies per passar d'un hostatger a un altre. Cada virus té una manera pròpia de transmetre's, i això determina com es propaguen les infeccions i quines mesures de prevenció són més efectives (taula 3).

Segons la via de transmissió		
Respiratòria  SARS-CoV-2	Fecal-oral  Norovirus	Sexual  VIH
Contacte directe  Virus de la verola del mico		Vectors  Virus del mosaic del cogombre Font: Bujarski et al., 2019, CC BY 4.0, DOI: 10.1099/jgv.0.001282



Els arbovirus^{4,5}

Els arbovirus (de l'anglès, **AR**thropod-**BO**rne **VIRUS**es) són un grup de més de 500 virus transmesos per artròpodes (animals invertebrats com els insectes i els aràcnids). Tot i que la majoria infecten principalment aus i mamífers, prop de 150 d'aquests virus poden causar malalties en humans.

Els artròpodes transmissors d'arbovirus més coneguts són els mosquits, especialment els dels gèneres *Aedes* (p. e. mosquit tigre), *Anopheles* i *Culex* (p. e. mosquit comú). Aquests insectes actuen com a portadors dels virus quan xuclen la sang d'una persona o animal infectat i l'inoculen a altres persones o animals sans també a través de les seves picades.

Alguns dels arbovirus més coneguts són els que causen malalties com el dengue, la febre hemorràgica de Crimea-Congo, el chikungunya, el Zika, la febre groga i la febre del Nil Occidental. Els arbovirus pertanyen a diverses famílies virals, com *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae* i *Reoviridae*. Aquestes famílies són molt diverses: poden tenir RNA d'una sola cadena o segmentat, càpsides helicoïdals o icosaèdriques, amb o sense embolcall. Això fa que no hi hagi una estructura única que defineixi tots els arbovirus.

⁴ Font: <https://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/a/arbovirosis/>

⁵ Font: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560866/#:~:text=Introduction,for%20biological%20transmission%20to%20humans.>

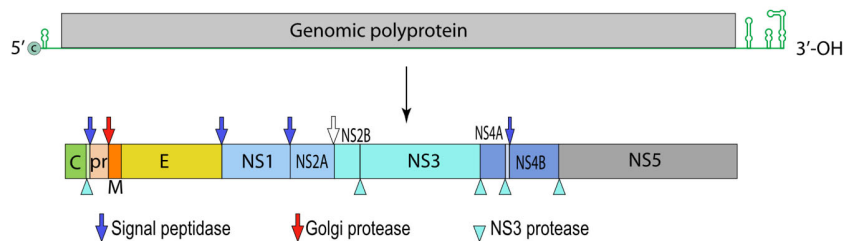
El virus del Nil Occidental^{6, 7, 8, 9}

El virus del Nil Occidental (VNO) és un arbovirus de la família *Flaviviridae*, un grup de virus que comparteixen un genoma d'ARN monocatenari i lineal. Aquest genoma es tradueix com una única poliproteïna, que després es talla en diferents proteïnes:

-Estructurals: C (càpside), prM/M (membrana) i E (embolcall)

-No estructurals: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B i NS5

El virió té una càpside icosaèdrica envoltada per una membrana lipídica, on hi ha la proteïna E, essencial perquè el virus s'uneixi a les cèl·lules de l'hostatger.



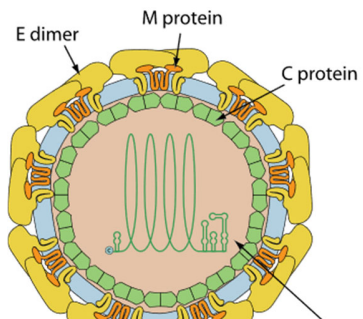
Font: "Flaviviridae genome image", Wikimedia Commons, CC BY-SA 4.0. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flaviviridae_genome_image.svg

⁶ Font: <https://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/v/virus-nil-occidental/>

⁷ Font: <https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/vigilancia/mdo-a-z/febre-del-nil-occidental-vno/>

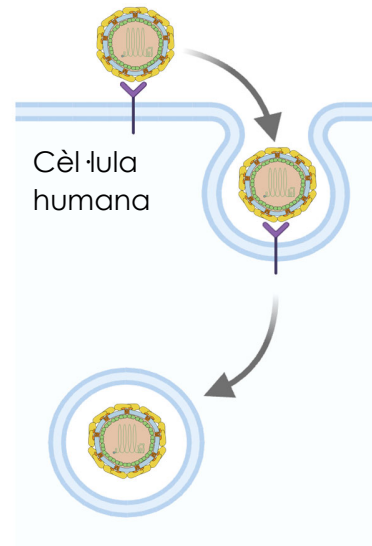
⁸ Font: https://scientiasalut.gencat.cat/bitstream/handle/11351/5280.3/protocol_vigilancia_control_febre_nil_occidental_2023.pdf?sequence=9

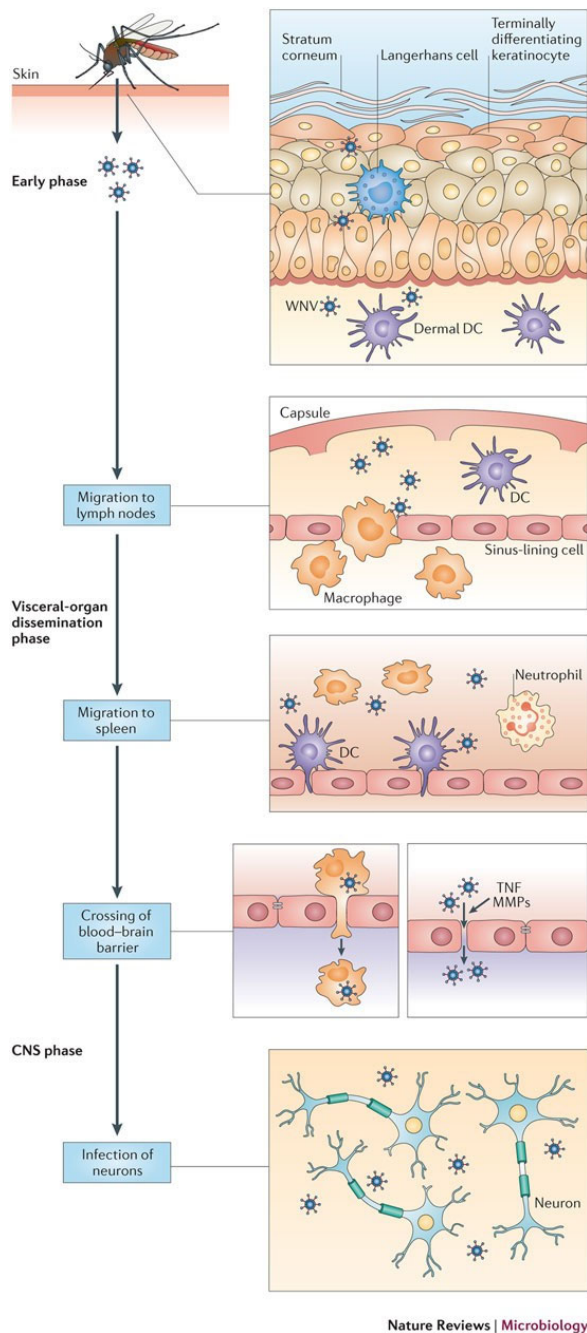
⁹ Font: https://viralzone.expasy.org/43.html?outline=complete_by_species



Font: Flaviviridae virion image", Wikimedia Commons, CC BY-SA 4.0.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flaviviridae_virion_image.svg



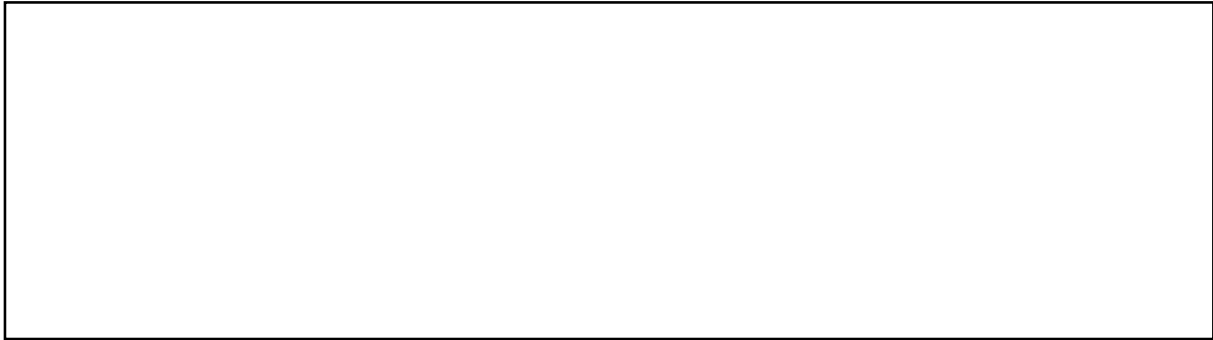


El VNO manté el seu cicle de forma natural entre els mosquits i les aus (reservori primari), però de manera ocasional pot afectar altres mamífers, principalment cavalls i persones (hostes accidentals finals), que poden desenvolupar la febre del Nil Occidental.

La infecció té un període d'incubació d'entre 2 i 14 dies amb el pic de virèmia (quantitat de virus a la sang) que es produeix als 4-8 dies, però desapareix ràpidament. Per això els humans no contribuïm a perpetuar-ne el cicle de transmissió, ja que no infectem nous mosquits.

En humans la infecció és asimptomàtica en el 80% dels casos. Al 20% restant els pot causar, independentment de l'edat, febre i almenys un dels símptomes següents: dolor muscular, dolor articular, mal de cap, fatiga i sensibilitat a la llum. També pot produir un augment de la mida dels ganglis i erupció a la pell. Menys de l'1% (principalment gent gran), però, són casos greus i presenten afectació neurològica, com ara meningitis, encefalitis (inflamació del cervell) i síndrome de Guillain-Barré (inflamació dels nervis) o paràlisi flàccida. La infecció dona immunitat per tota la vida, però, actualment, no es disposa de tractaments ni vacunes per al seu ús en humans.

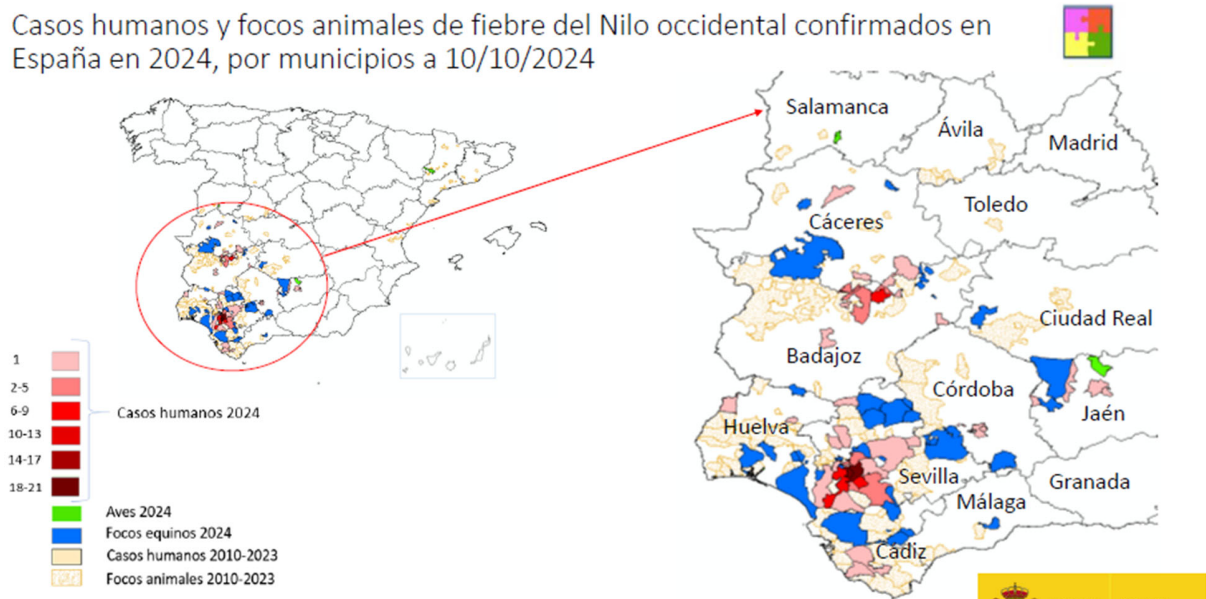
4. La febre del Nil occidental és una zoonosi? En coneixeu més exemples?



Aquest virus es va aïllar per primera vegada en humans a Uganda el 1937. Posteriorment es va detectar en mosquits, aus i mamífers d'Europa, Àfrica, Austràlia i l'Índia.

Durant la darrera dècada s'ha detectat en diversos països europeus: França, Espanya, Portugal, Àustria, Hongria, Romania i Itàlia. En els darrers anys se n'han produït alguns brots amb una important proporció de casos greus tant en regions temperades d'Europa com d'Amèrica del nord, de manera que ha esdevingut un risc per a la salut pública.

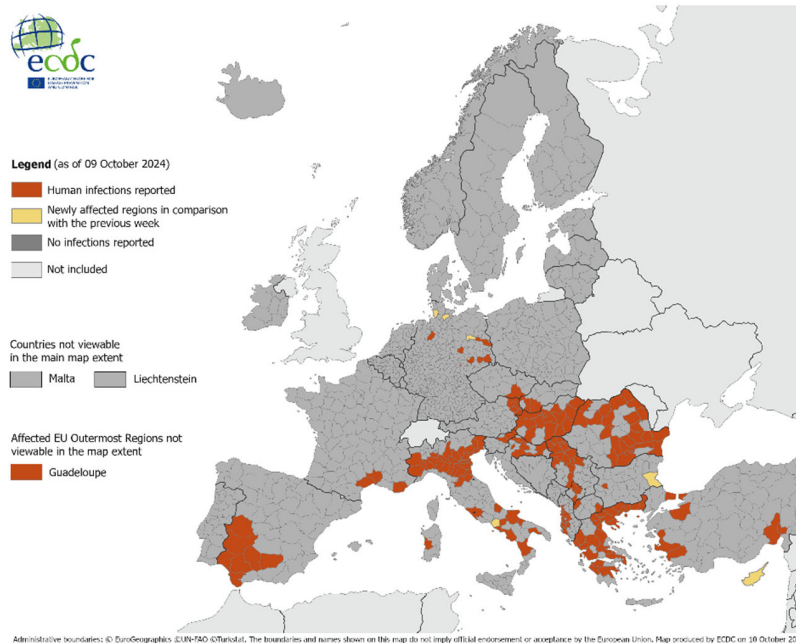
Casos humanos y focos animales de fiebre del Nilo occidental confirmados en España en 2024, por municipios a 10/10/2024



Fuente: Elaborado por el Centro de Alertas y Emergencias Sanitarias del Ministerio de Sanidad con datos de RENAVE (casos humanos confirmados de 2010 a 2023); Servicios de epidemiología de las CCAA (casos humanos confirmados en 2024) y RASVE (focos equinos y de aves)

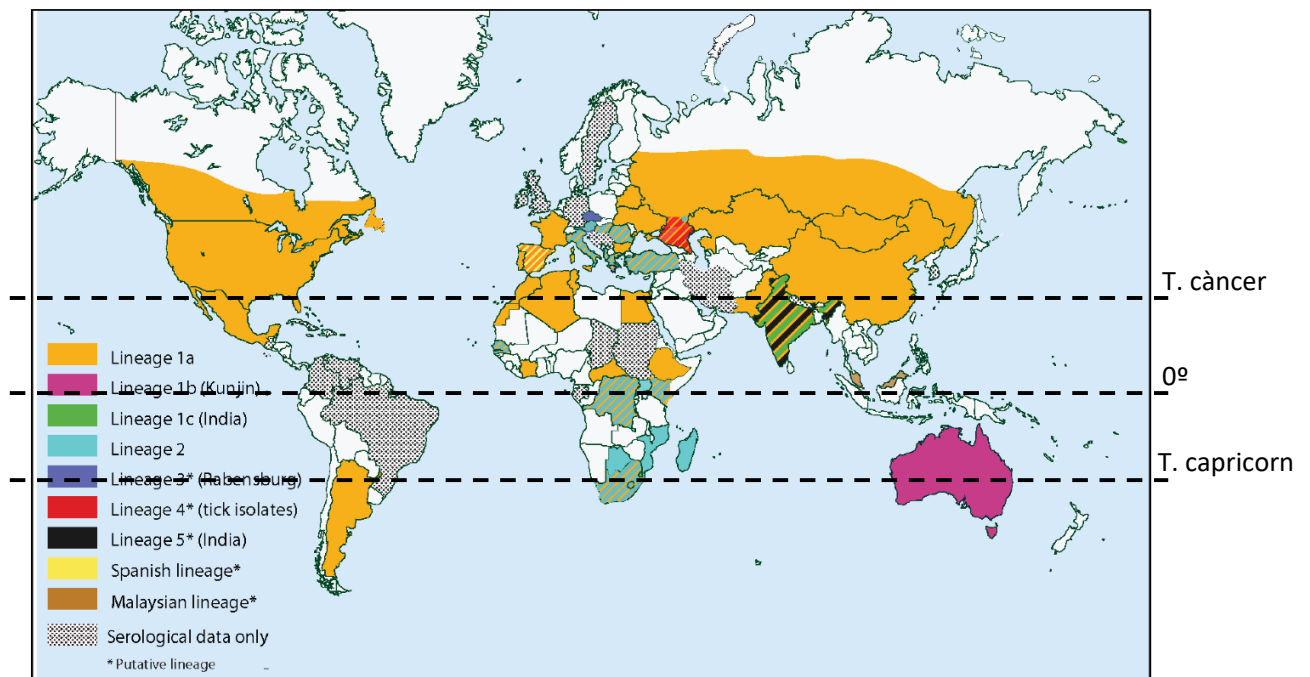
Font: Ministerio de Sanidad (2024).

Europa



Font: European Centre for Disease Prevention and Control (2024).

Món



Font: Ciota, A. T., & Kramer, L. D. (2013). Vector-virus interactions and transmission dynamics of West Nile virus. *Viruses*, 5(12), 3021–3047. DOI: [10.3390/v5123021](https://doi.org/10.3390/v5123021)

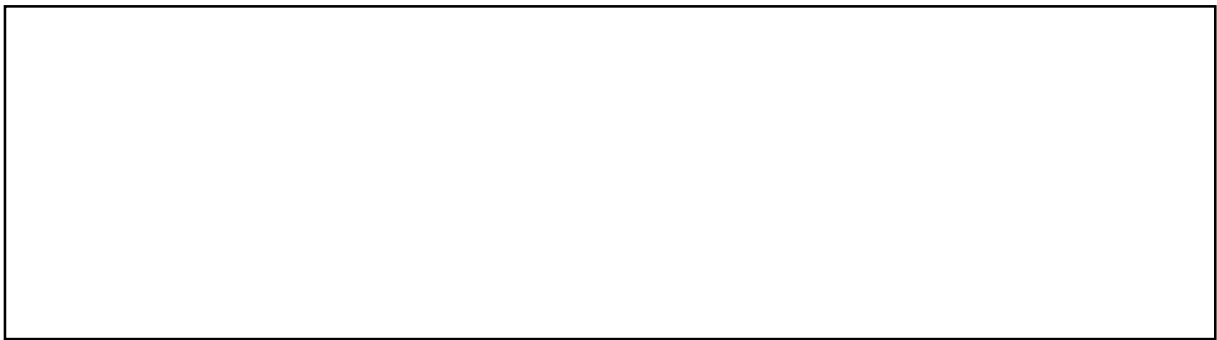
5. Com creus que el canvi climàtic pot influir en la presència de mosquits i aus, i com això pot afectar la propagació dels arbovirus?

6. Com podem combatre la febre del Nil occidental?

4. Pràctica: avaluant l'eficàcia contra el virus del Nil Occidental

Tal i com hem plantejat al principi, amb els teus companys i companyes formeu part d'un comitè avaluador que ha de determinar l'eficàcia de dues vacunes experimentals candidates. Un cop realitzat l'anàlisi heu de recomanar quina de les dues vacunes seria més efectiva.

7. Però, saps què és una vacuna? Quins tipus n'hi ha? Com funcionen?



Vacunes i activació del sistema immunitari^{10, 11}

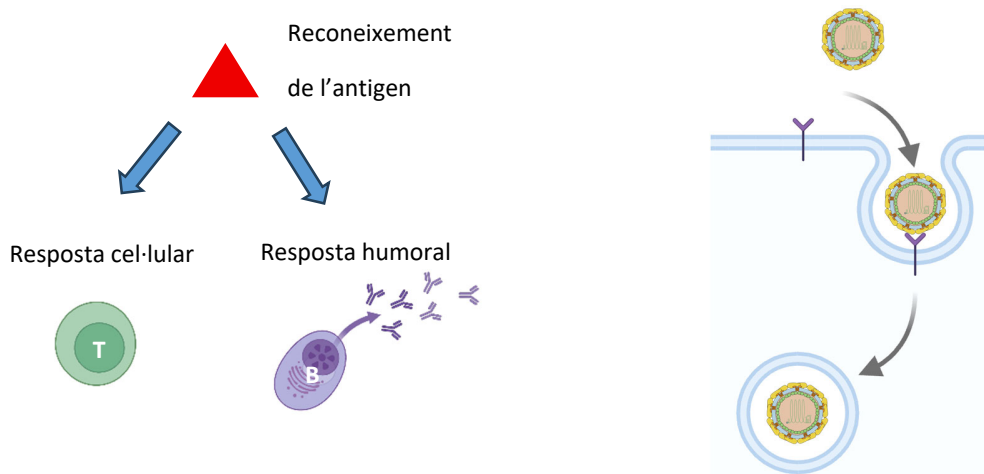
Una vacuna és una preparació biològica que te l'objectiu de generar una resposta del sistema immunitari contra un patogen concret i proporcionen a l'organisme protecció contra una malaltia infecciosa específica. Les vacunes poden contenir el patogen inactivat o atenuat o bé un fragment del patogen.

Un cop rebuda la vacuna, el sistema immunitari detecta els antígens presents en la vacuna i desenvolupa una resposta immune adaptativa, produeix anticossos específics (resposta humoral) i forma cèl·lules de memòria (resposta cel·lular). És el que es coneix com a **resposta primària**.

En una exposició posterior al mateix antigen, les cèl·lules de memòria s'activen ràpidament i generen una **resposta secundària** molt més ràpida, potent i eficaç, cosa que evita que ens posem malalts o fa que la malaltia sigui molt més lleu.

¹⁰ Font: <https://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/v/vacunacions/#:~:text=Una%20vacuna%20%C3%A9s%20una%20preparaci%C3%B3,immunitza%20contra%20una%20malaltia%20concreta>.

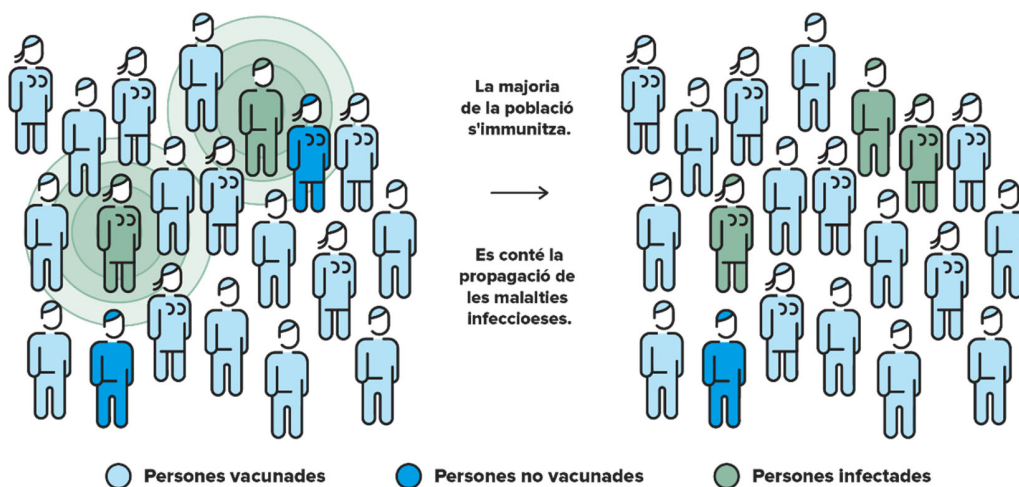
¹¹ Font: <https://www.studocu.com/ca-es/document/institut-pere-borrell/biomedicina/biomedicina-vacunes-1r-batxillerat/106320849>



La vacunació genera una resposta immune dirigida a un agent patògen específic, el que s'anomena **immunitat adquirida o específica**. La vacunació simula l'exposició a un patògen, però sense causar la malaltia i permet al cos reconèixer i respondre de manera més eficaç a l'agent patògen en un futur.

Quan una proporció suficientment gran de la població està immunitzada contra una malaltia infecciosa, això protegeix indirectament els individus que no estan immunitzats. És el que es coneix com a **immunitat**

Inmunitat de grup



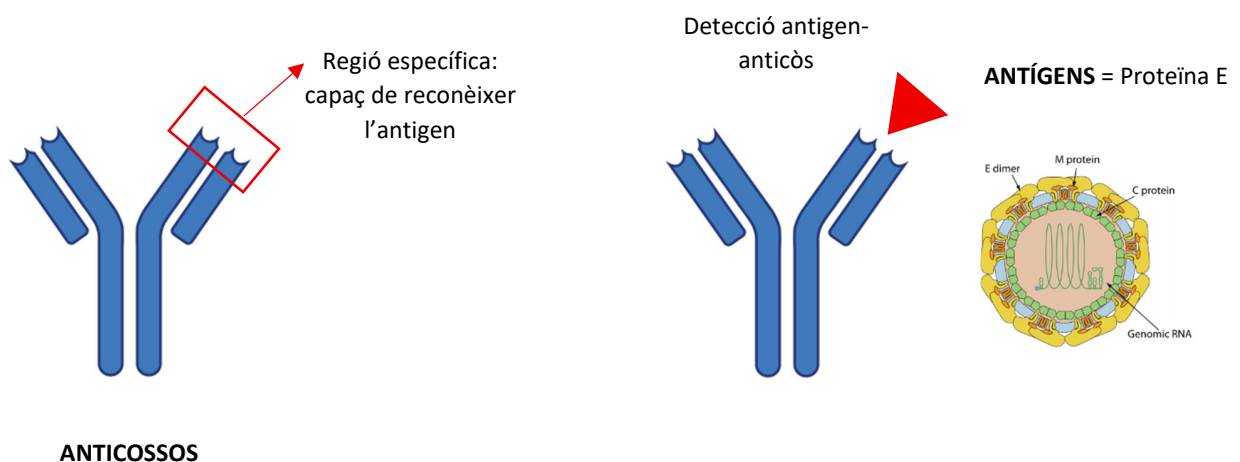
de grup. Això passa perquè quan la majoria de la població està immunitzada el patògen té dificultats per trobar individus susceptibles i propagar-se, així s'atura la cadena de transmissió.

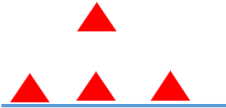
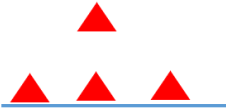
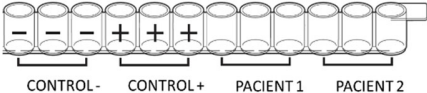
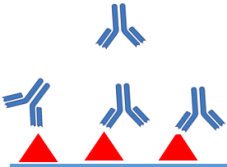
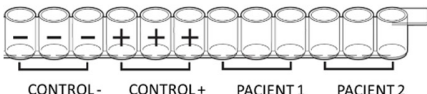
8. Com podem analitzar si una vacuna és eficaç contra una malaltia ?

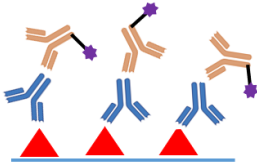
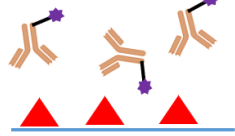
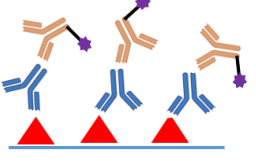
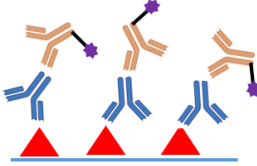


ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

L'ELISA és un mètode que permet detectar, quantitativament, la presència d'anticossos (o, en altres versions, d'antígens) contra malalties específiques en una mostra de sèrum d'un pacient. Així, l'assaig es basa en la interacció específica entre antígens i anticossos i permet detectar a simple vista, per l'aparició de color, antígens o anticossos d'interès.

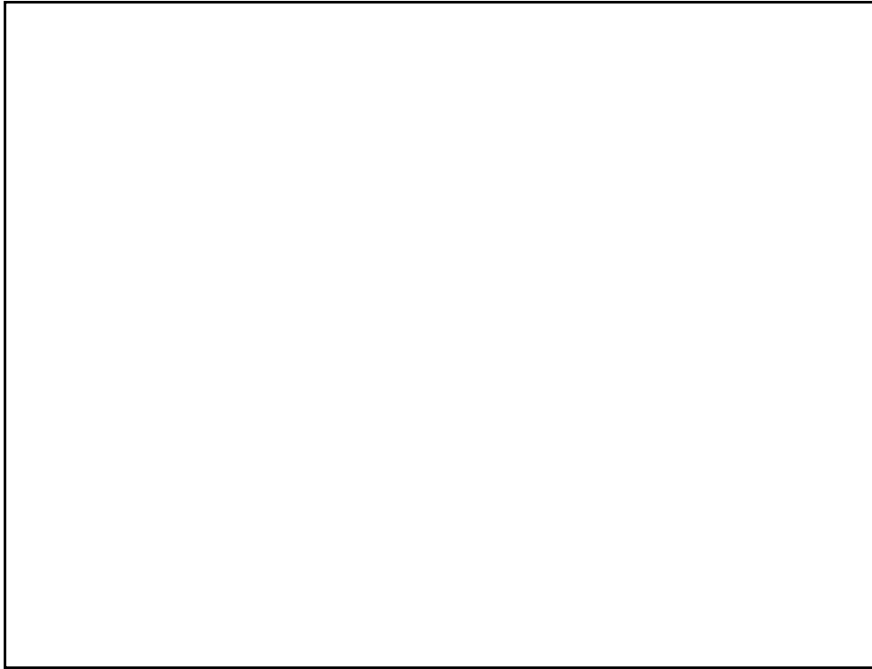


Passos	
1. Afegir l'antigen Producció d'anticossos  NO producció d'anticossos 	Afegir 50 µL de l'antigen (Ag) a tots els pouets.    Proteïna E Retirar el líquid i rentar dos cops.
2. Afegir el sèrum Producció d'anticossos  NO producció d'anticossos 	Afegir 50 µL de les mostres C+, C- P1 i P2 als pouets corresponents.   Retirar el líquid i rentar dos cops.

3. Afegir l'anticòs secundari Producció d'anticossos  NO producció d'anticossos 	Afegir 50 µL de l'anticòs secundari (AB2) a tots els pouets. Retirar el líquid i rentar dos cops.
4. Afegir el substrat de l'enzim Producció d'anticossos  NO producció d'anticossos 	Afegir 50 µL del substrat de l'enzim (ABTS) a tots els pouets.
Producció d'anticossos  NO producció d'anticossos  Reacció detectable Com no hi és l'enzim, no té lloc la reacció	

5. Resultats, anàlisi i conclusions

9. Heu obtingut resultats fiables? La tècnica ha funcionat? Els controls positiu i negatiu han funcionat? Heu obtingut els resultats previstos?



Control positiu: es determinen les condicions de l'experiment per garantir un resultat positiu. En aquest cas la presència d'anticossos.

Control negatiu: es determinen les condicions de l'experiment per provocar un resultat negatiu. És a dir, l'absència d'anticossos.

10. Quina creieu que és la vacuna més eficaç d'entre les candidates? Per què?

