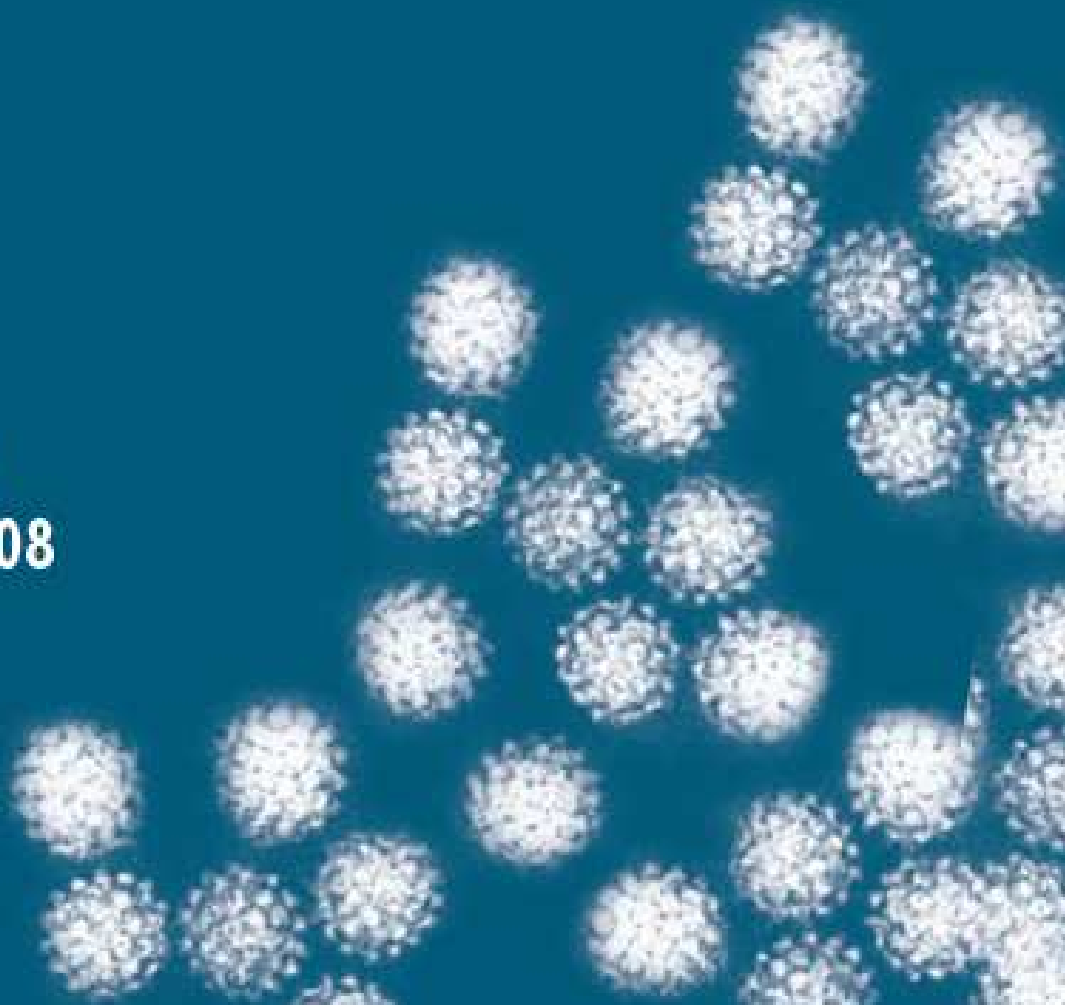


**ANÀLISI DE POLIOMAVIRUS
I ADENOVIRUS HUMANS
COM A INDICADORS
DE LA CONTAMINACIÓ VÍRICA
D'ORIGEN HUMÀ EN AIGUA**

Néstor Albiñana Giménez

**Tesi Doctoral
Setembre 2008**



**ANÀLISI DE POLIOMAVIRUS I ADENOVIRUS HUMANS COM A
INDICADORS DE LA CONTAMINACIÓ VÍRICA D'ORIGEN HUMÀ EN
AIGUA**



Departament de Microbiologia
Facultat de Biologia Universitat de Barcelona

Memòria presentada per

Néstor Albiñana Giménez

per optar al grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Programa de Doctorat: Microbiologia Ambiental y Biotecnologia

Bienni: 2002-2004

Tesi realitzada sota la direcció de la Dra. Rosina Gironés, al departament de
Microbiologia de la Universitat de Barcelona.

VP de la directora,

El doctorand,

Dra. Rosina Gironés Llop

Néstor Albiñana Giménez

Barcelona, Setembre 2008

Al meu pare

“Do or do not, there is no try”

Jedi Master Yoda

Agraïments

Ha arribat el final d'un camí. Un llarg camí d'aprenentatge, no sols pel que fa a la ciència sinó també pel que fa a la vida. Un camí ple d'alts i baixos, d'alegries i de desil·lusions, ple d'obstacles que he hagut d'anar sortejant amb més o menys gràcia. Alguns d'aquests obstacles no hauria estat capaç de superar-los sense la gent del meu voltant amb qui tinc la sort de poder comptar sempre. Però sobretot ha estat un camí farcit de bones experiències, de bons moments i de bons amics.

Primer de tot he de donar les gràcies a qui ha permès que tot aquest treball fos possible, qui m'ha ofert tot el seu coneixement, m'ha ensenyat, ha dirigit les meves passes en la ciència i m'ha redreçat quan em desviava del camí. Moltes gràcies Rosina.

Evidentment, aquest treball tampoc hauria estat possible sense la resta de companys i amics del grup. Des de la Rosa i la Meritxell, que em van ensenyar a donar les primeres passes en un laboratori (recordo aquelles tardes netejant i obrint ostres i musclos) passant per la Pili (Pil, Piluca, Pilongui), la lleona del laboratori, la veu de la raó i la prudència i la Sílvia (Sil, Silvian-like), la meva mentora, el meu exemple a seguir, cofundadora de l'equip Índia. Els de la meva quinta, el Carles, company de diversions i de barrenes; l'Ayalke (Plaka), l'alegria del laboratori, que sigas teniendo muchos fenómenos!! Finalment les noves generacions, el Jesús (Dennis, Chus...man) el madrillista del grup que serà una tota una eminència en fetges i enciams; el Byron, el nostre "monstruo de las galletas" particular i l'Anna, el nou fitxatge revelació. No em puc deixar la gent que ens ha visitat durant aquest temps i ha deixat petjada: la Marize, la persona amb l'alegria més contagiosa que he conegut, i la Célia, una gran amiga que qui hem après molt.

Durant gran part de la tesi, hem compartit laboratori amb els millors veïns que podríem haver tingut als quals els hi devem molt: la Sarah (Sari, Sarandunga) és com si fos una més del grup, amb qui també he compartit l'experiència d'escriure la tesi; l'Ale, amb qui he compartit molt més, i la Sílvia, que ja és membre oficial del grup però no deixarà mai de ser la nostra "padawan".

Tampoc em vull deixar la colla del dinar: la Eli, la nostra biòloga feréstega, el Xavi (me'n recordo d'aquell dinar a les tauletes a 5°C) i l'Arnau, la sang fresca del grup. Això em recorda els membres cofundadors de les Jornades Gastronòmiques del Departament de Microbiologia, companys de sopars, farres, diversió i alguna

intoxicació: l'Òscar (el més friki), el Quim (el veterà), el Marc, el Pere (quin personatge!), el Lluís, l'Unai (semos los birreros de Microbiologia)...

Em volia allunyar del tòpic d'aquesta secció de referir una llista de noms dels companys i amics del departament (no sé si ho he aconseguit gaire). Tots ells, tant els de la fase 2 que conec més (les formigues treballadores del laboratori 7, els mostrejadors del 9, les noies rialleres del 10), com els de la fase 1 que he anat coneixent des de la mudança. Han representat un bon dia al matí, un somriure al passadís, un ajut quan he tingut dubtes, una conversa animada a mitja tarda. A tots vosaltres, moltes gràcies. He d'esmentar a l'excel·lent equip de tècnics, la Rosario, la Susana i l'Aiora. També vull donar gràcies a tots els professors del departament, sempre disposats a ajudar, resoldre dubtes i col·laborar.

Imprescindible mencionar la gent d'Aigües de Barcelona, el Ferran Ribas, que ha permès que pogués realitzar gran part de la tesi al laboratori d'Aigües, al Josep Maria Huguet, que ha pres el relleu del Ferran, sempre disposat a ajudar i donar punts de vista interessants, la Belén, que va ser de molta ajuda sobretot a les fases inicials del projecte, finalment a tota la gent del laboratori, per treure'm les plaques, per fer de la meua estança a Aigües una molt bona experiència.

Vull també agrair l'excel·lent suport estadístic que he tingut durant la darrera part de la tesi per part de 'Antoni Miñarro i el Miquel Calvo.

Fora de la feina, la colla sempre ha estat disposada a fer unes birres i intercanviar impressions sobre el doctorat, la feina, fent de suport quan ha fet falta, Gràcies Toni, Jordi, Marcos, Javi, Oscar, Sam, Xènia i també en Miquel, alemany d'adopció. També vull donar les gràcies a la colla de Bolivians, que en poc temps s'han convertit en molt bons amics, Miguel, que ja ha marxat, Roberto, Carlos i Ada. A l'Ada li he d'agrair especialment el disseny gràfic per aquesta tesi que ha quedat co....nut!

Aquesta tesi l'he dedicada a mon pare, a qui trobo molt a faltar. Una de les millors persones que he conegut. Ell sempre em va ensenyar moltes coses, em va animar a seguir el meu camí, em va recolzar en totes les meves decisions; però no puc oblidar a qui em segueix donant tot aquest suport, em segueix ensenyant, animant i aconsellant, ma mare. Moltes gràcies a tots dos, per més del que em puc imaginar. El meu altre referent sempre han estat els meus avis, amb qui he estat gran part de la meua infància i encara que per un o altre motiu no puguin apreciar aquest agraïment,

sempre els duré al meu cor. També vull agrair al meu oncle Manel pel seu suport i a la Montse per estar sempre disposada a donar un cop de mà.

Finalment vull agrair a qui es la persona més important de la meva vida, qui durant aquests últims anys ha estat amb mi, celebrant les alegries, alleugerint les tristeses. L'Ale ha estat la columna en qui m'he recolzat en els mals moments, i sense ella del tot segur hagués caigut. M'ha animat, aconsellat, i sempre és al meu costat.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	17
<hr/>	
1. Els virus com a contaminants ambientals	19
2. Els poliomavirus	20
2.1. Característiques generals	20
2.2. Estructura	21
2.3. Cicle biològic	23
2.4. Transmissió	26
3. El poliomavirus humà JC	27
3.1. Característiques generals	27
3.2. Estructura	27
3.3. Patologia	28
3.4. JC i l'origen de les poblacions	29
4. El poliomavirus humà BK	31
4.1. Característiques generals	31
4.2. Estructura	32
4.3. Patologia	32
5. El poliomavirus SV40	33
5.1. Característiques generals	33
5.2. Estructura	34
5.3. Propietats transformants	34
5.4. SV40 i càncer	35
6. Els adenovirus humans	36
6.1. Característiques generals	36
6.2. Estructura	37
6.3. Cicle biològic	38
6.4. Epidemiologia	39

7. Altres virus presents en la contaminació fecal vírica a l'ambient	41
7.1. Enterovirus	41
7.2. Norovirus	41
7.3. Astrovirus	42
7.4. Rotavirus	42
7.5. Virus de l'hepatitis A	43
7.6. Virus de l'hepatitis E	43

8. Tècniques més usades per la detecció de virus en el medi ambient	44
8.1. Mètodes de concentració	44
8.2. Cultiu cel·lular	46
8.3. Detecció immunològica	48
8.4. PCR	48
8.5. PCR a temps real	49

OBJECTIUS	53
------------------	-----------

RESULTATS	59
------------------	-----------

Capítol I: Detecció i potencial transmissió de SV40 en mostres ambientals	61
• Resum resultats i discussió (i)	63
• “Isolation of SV40 from the environment of a colony of cynomolgus monkeys naturally infected with the virus.”	67
• Resum resultats i discussió (ii)	83
• “Analysis of water samples in northern India to evaluate the presence and potential transmission of SV40 in human population.”	87

Capítol II: Distribució dels poliomavirus i adenovirus humans en l’ambient i en una planta potabilitzadora.	103
• Resum resultats i discussió	105
• “Distribution of human polyomaviruses, adenoviruses and hepatitis E virus in the environment and in a drinking-water treatment plant.”	109
• Annex A	137
Capítol III: Mètodes de concentració de virus a partir de mostres d’aigua de diferents volums.	139
• Resum resultats i discussió	141
• “Comparison of methods for quantifying human adenoviruses, Polyomavirus JC and noroviruses in source and drinking water.”	145
Capítol IV: Anàlisi de la presència d’adenovirus humans i Poliomavirus JC en plantes potabilitzadores.	169
• Resum resultats i discussió	171
• “Analysis of adenoviruses and polyomaviruses quantified by QPCR as indicators of water quality in source and drinking water-treatment plants.”	177
• Annex B	205
• Annex C	211
Capítol V: Cinètiques d’infecció dels poliomavirus JC, BK, SV40 i dels adenovirus tipus 2 en cultiu cel·lular.	223
• Resum resultats i discussió	225
• “Analysis of the kinetics of infection and co-infections of human polyomaviruses JCPyV and BKPyV and adenovirus type 2 in diverse cell lines.”	229

RESUM GLOBAL	261
<hr/>	
CONCLUSIONS	275
<hr/>	
BIBLIOGRAFIA	279
<hr/>	
ABREVIACIONS	311
<hr/>	
Informe d'índex d'impacte	315
Informe de coautoria	317