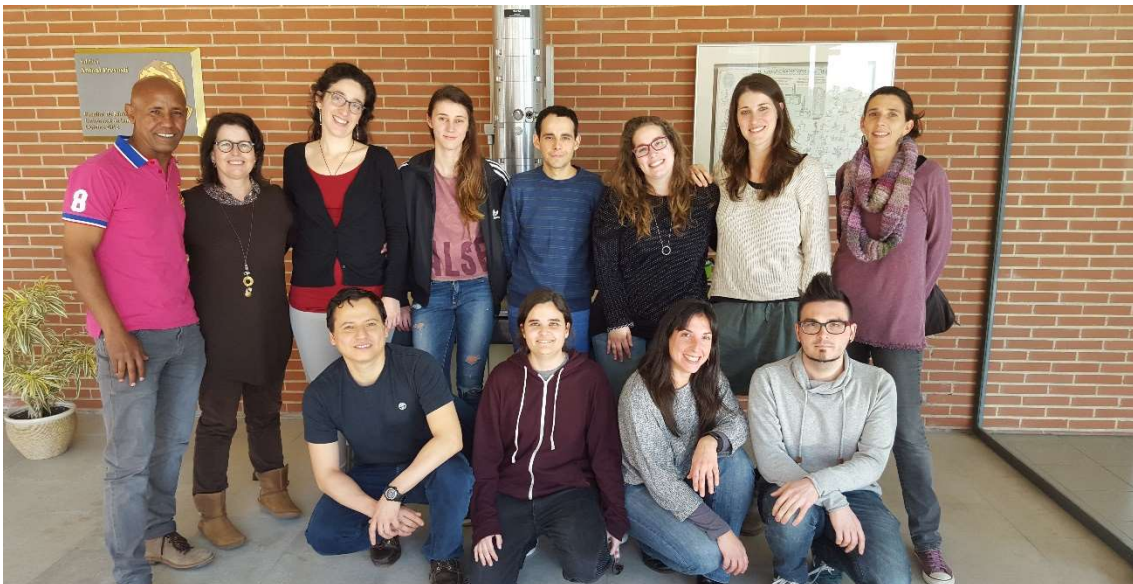


Virus: Què son? Què fan?

Una petita introducció al món dels virus

Héctor Martínez López



Il·lustració 1. Components del Laboratori de Virus contaminants d'Aigua i Aliments, ubicat a la Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.

Rosina Girones, Sílvia Bofill-Mas, Marta Rusiñol, Ayalkibet Hundesa, Natalia Timoneda, Laura Guerrero, Eloy Gonzales Gustavson, David Aguado, Eva Forés, Xavier Fernandez Cassi, Sandra Martinez Puchol, Aiora Areguita

Imatge cedida pel Laboratori de Virus contaminants d'Aigua i Aliments

http://www.ub.edu/microbiologia_virology/ca

Els virus

Tots escoltem parlar de virus: virus de la immunodeficiència humana, virus de la grip, virus de la mononucleosis... Però què són els virus? Estan vius? Que processos duen a terme? Tots són dolents? Per què ens infecten? Totes aquestes preguntes i moltes altres se'ns poden acudir quan pensem en el terme "virus". En aquest treball no les respondrem totes, però si intentarem donar una petita visió sobre què són els virus, què fan al nostre cos, etc.

Estan vius els virus?

La primera cosa que has de saber és que hi ha debat sobre si els virus són ésser vius o no, i ve de llarg. La discussió està motivada, principalment, per la definició de ser viu.

El sector més tradicional en aquest aspecte considera que els éssers vius han de complir la teoria cel·lular. Aquesta diu que la unitat bàsica de la vida és la cèl·lula, que aquestes han de nodrir-se, reproduir-se i relacionar-se per si mateixos i que tota cèl·lula prové d'una altra.

L'altre sector defensa que tots els organismes vius són aquells que tenen material genètic i que l'expressen d'una manera o una altra, sense les premisses de la teoria cel·lular.

La visió tradicional deixa fora a molts paràsits, ja que aquests no poden viure per sí sols, entre ells els virus. La més moderna no és tan restrictiva i ubica aquests paràsits dins dels éssers vius. A poc a poc es van descobrint nous virus, alguns d'ells molt grans i similars a les cèl·lules, però sense deixar de ser paràsits.

Què son els virus?

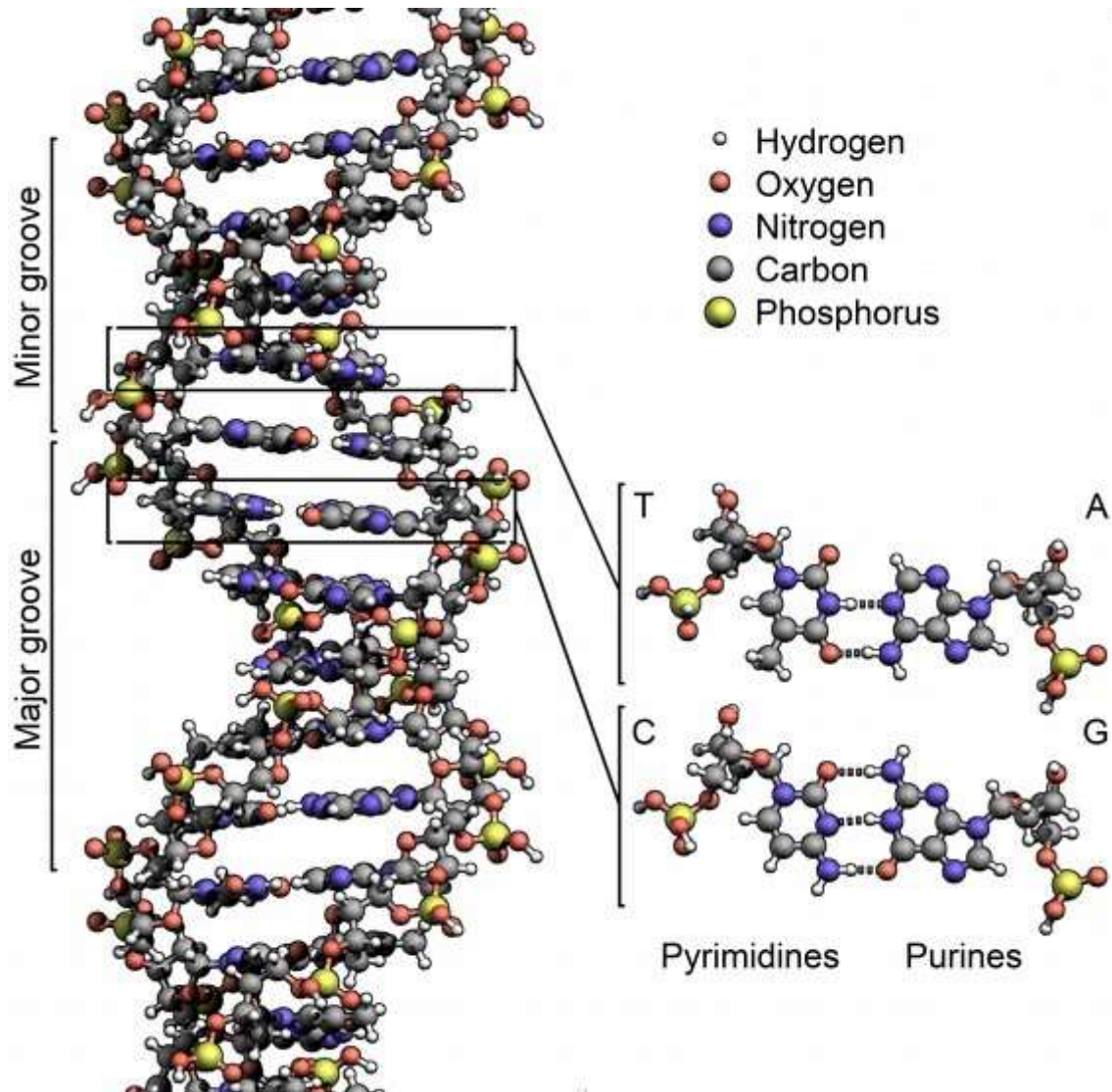
Normalment, quan volem saber el significat d'una paraula consultem referències com poden ser la Wikipedia o el DIEC. Aquest última defineix els virus de la següent manera:

Virus

Individu d'un grup d'agents infecciosos submicroscòpics, històricament units pel fet de no poder ser retinguts per filtres bacterians, paràsits endocel·lulars obligats de plantes, animals i bacteries, que consta d'un nucli central constituït per àcid desoxiribonucleic o per àcid ribonucleic i envoltat per una coberta de proteïnes o càpsida.

Com bé diu el DIEC, els virus són "paràsits endocel·lulars obligats de plantes, animals i bacteries", és a dir, estan obligats a viure dins d'una cèl·lula. Però, per què?

El nucli víric està format per àcid desoxiribonucleic (DNA) o àcid ribonucleic (RNA). Aquestes molècules són les que formen el material genètic, que conté la informació necessària per la vida. Aquesta està continguda pels nucleòtids, que poden ser 5: A, T, U, G, C. La T únicament la trobem a DNA i la U únicament a RNA.



Il·lustració 2. Estructura de doble hèlix del DNA. Estructura de com s'aparellen les cadenes, es pot veure, de manera simplificada, a la dreta de la representació. Molt similar, pel nivell que ens ocupa, a l'estructura del RNA.

By Zephyris - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=15027555>

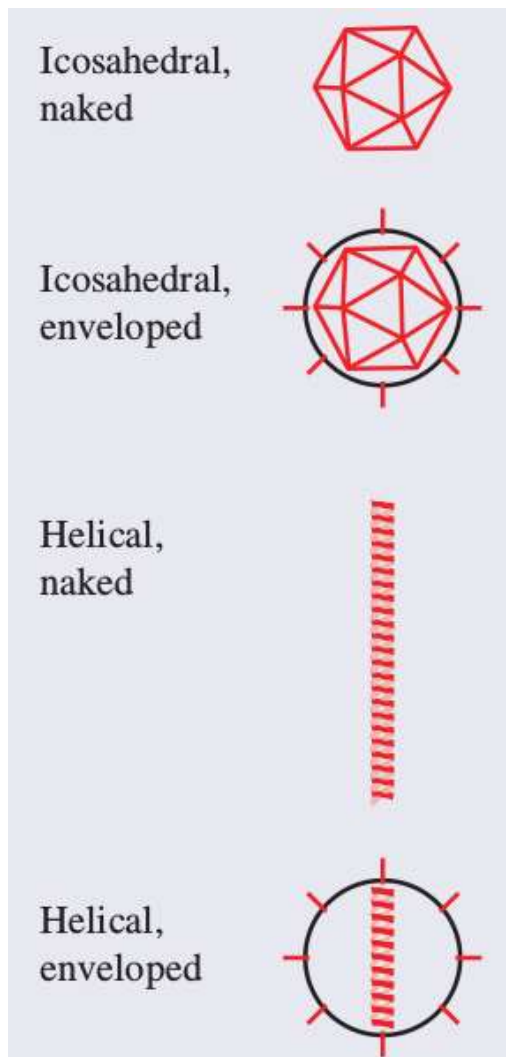
Segons sigui l'ordre de la seqüència de nucleòtids, contindrà una o una altra informació. Diem que aquesta informació està codificada a la seqüència.

Si posem l'exemple d'una cèl·lula, al seu material genètic ve codificada la informació per fabricar diferents proteïnes, de l'ordre de milers. Cadascuna té una o més funcions que realitzen dins o fora de la cèl·lula: trenquen sucres per aconseguir energia, transporten aigua dins i fora, formen l'"esquelet" cel·lular, etc. També permeten duplicar el material genètic i dividir-se en dues filles iguals.

Els virus no tenen codificada la informació per moltes d'aquestes proteïnes, així que no poden multiplicar-se sols, ni aconseguir energia, etc. És per aquesta raó que han d'infectar cèl·lules. Quan es troben a dins, segresten les proteïnes cel·lulars i les utilitzen en benefici propi, normalment perjudicant la cèl·lula en el procés, així que parlem dels virus com paràsits.

De manera general, un virus contacta amb una cèl·lula específica i entra al seu interior. Després segresta les proteïnes i les utilitza per duplicar el seu material genètic i fabricar les

seves proteïnes. Per últim, el virus lisa la cèl·lula – la trenca – i surten a l'exterior totes les seves còpies, conegudes com virions, llestes per infectar altres hostes.



Quina és l'estructura d'un virus?

Tornant a fer referència a la definició del DIEC, els virus tenen, a més a més de material genètic, una coberta formada per proteïnes, coneguda també com càpsida. Diferenciem quatre tipus d'estructura dels virions segons la seva càpsida:

- Icosaèdrics nuus
- Icosaèdrics embolcallats
- Helicoïdals nuus
- Helicoïdals amb embolcall

Estudiant virus amb aquestes estructures s'ha vist que es distribueixen segons el tipus de material genètic que pot ser, a més a més de DNA o RNA, de doble cadena o de cadena simple.

L'estructura del DNA o de RNA és una cadena de nucleòtids que pot ser més o menys llarga. A més a més pot anar acompanyada de la seva cadena complementària, és a dir, una cadena igual però amb ordre de nucleòtids invers.

Cada nucleòtid té el seu complementari, amb qui pot establir una relació raonablement estable. Així, els nucleòtids A i T o U són complementaris de igual manera que ho són G i C.

Il·lustració 3. Virus icosaedres nuus, icosaedres embolcallats, helicoïdals nuus i helicoïdals embolcallats, de dalt a baix.

By: John Carter and Venetia Saunders. Virology: Principles and Applications, John Wiley & Sons Ltd. 2D Edition, 2013.

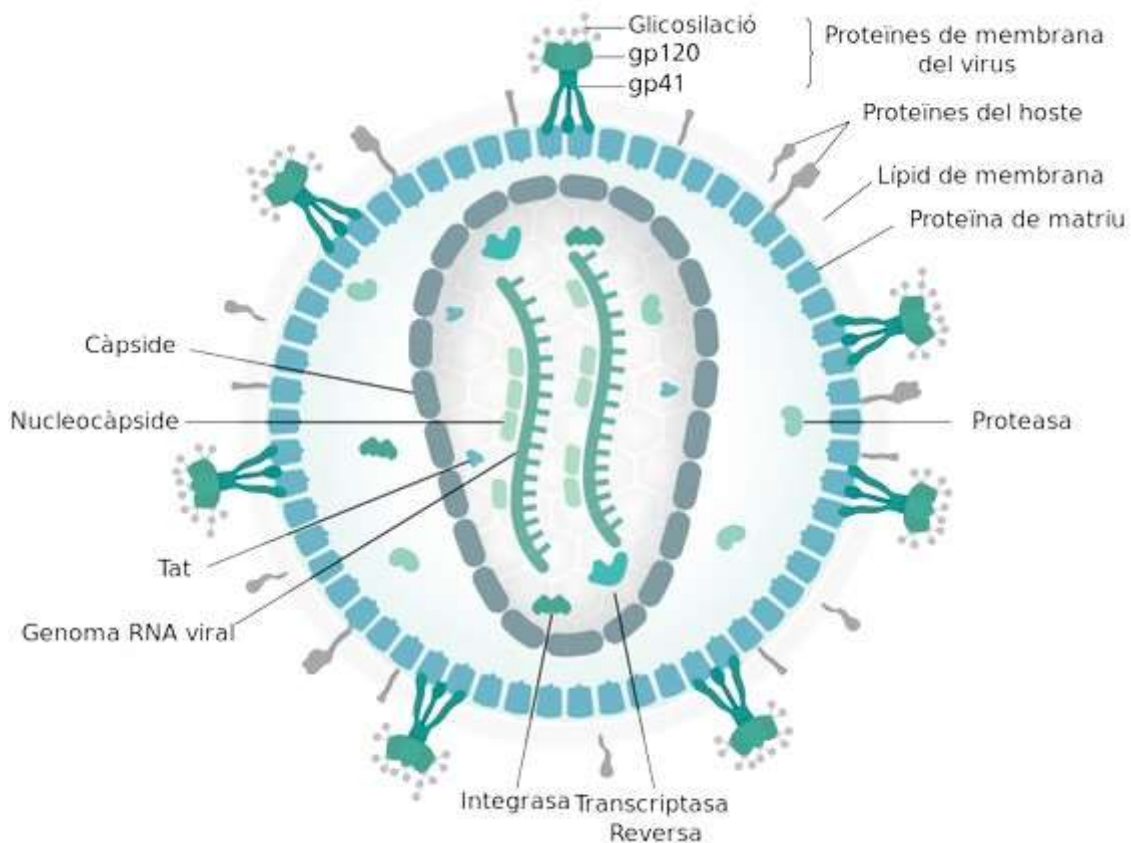
Per exemple, s'ha vist que els virions icosaèdrics nuus poden contenir tots els tipus de material genètic esmentats: de doble cadena i de cadena simple DNA, i de doble cadena i cadena simple RNA.

Depenent del tipus de material genètic i del tipus de càpsida, el virus podrà tenir més o menys informació codificada i, per tant, més o menys proteïnes. El virus amb el material genètic – també conegut com genoma – més petit és el virus satèl·lit del virus del tabac, que té al voltant

de 1 300 nucleòtids en una molècula de RNA de cadena simple. En canvi, els virus amb el genoma més gran són els mimivirus, que arriben a tenir fins 1 200 000 nucleòtids en una molècula de DNA de cadena doble (1 200 000 cada cadena).

Alguns virions estan embolcallats, és a dir, tenen un càpsida proteica i una altra capa per sobre que els cobreix. Aquesta segona capa està formada per lípids i conté proteïnes víriques que ajuden a reconèixer les cèl·lules que infecten.

Per exemple, el virus de l'herpes té aquesta mena de coberta, així com el virus de la grip o el virus de la immunodeficiència humana.



Il·lustració 4. Estructura del virió del virus de la immunodeficiència humana (traduït). S'indiquen les diferents proteïnes de l'interior del virus, així com la càpsida, l'embolcall (lípid de membrana), el material genètic (Genoma RNA Viral), etc.

By Thomas Splettstoesser (www.scistyle.com) - Own work, CC BY-SA 4.0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38751738>

Com entren els virus a les cèl·lules?

Els virions entren de diferents maneres a les cèl·lules hostes depenent, sobretot, de la presència o absència d'embolcall lipídic.

Les cèl·lules són capaces de capturar partícules del seu entorn, segrestant-les i processant-les. Aquestes interactuen amb proteïnes que es troben a la membrana i activen mecanismes

d'internalització. Els virions interactuen amb aquestes proteïnes de la membrana, conegudes com receptors, per entrar.

La cèl·lula, quan captura aquestes partícules les destrueix per aprofitar els seus components – són unes mestres del reciclatge –, però els virions aconsegueixen escapar. Encara no es coneix gaire bé com ho aconsegueixen els virions nus, però es coneix molt millor com ho fan els embolcallats.

Aquesta capa més externa està formada per lípids, igual que la membrana externa de les cèl·lules. Quan aquestes capturen una partícula ho fan rodejant-la amb la seva pròpia membrana, dins d'una vesícula – una espècie de bombolla – formada també per lípids. Els virions amb embolcall fusionen aquest amb la vesícula, escapant de la seva destrucció. Altres fusionen l'embolcall amb la membrana de la cèl·lula al contactar amb els receptors, alliberant la seva càpsida al interior, sense ser internalitzades en vesícules.

Què fan els virus dins de les cèl·lules?

De manera general, el procés d'infecció d'un virus té els següents passos:

1. Interacció i reconeixement entre el virió i la cèl·lula.
2. Entrada a la cèl·lula.
3. Transcripció dels gens vírics a molècules de RNA missatger (mRNA).
4. Traducció dels mRNA a proteïnes víriques.
5. Replicació del genoma víric.
6. Muntatge de les proteïnes víriques i empaquetament del genoma, formant virions.
7. Sortida dels virions de la cèl·lula.

Un cop ha entrat el virus, segresta algunes proteïnes cel·lulars i bloqueja el mecanisme bàsic de les cèl·lules que fa que es suïcidin quan detecten alguna anomalia. Si el virus aconsegueix bloquejar aquest mecanisme, es podrà multiplicar.

La transcripció és el procés pel qual el DNA passa a mRNA – RNA missatger –, que és utilitzat per fabricar proteïnes. La traducció és el procés pel qual la informació al mRNA es transforma en proteïnes.

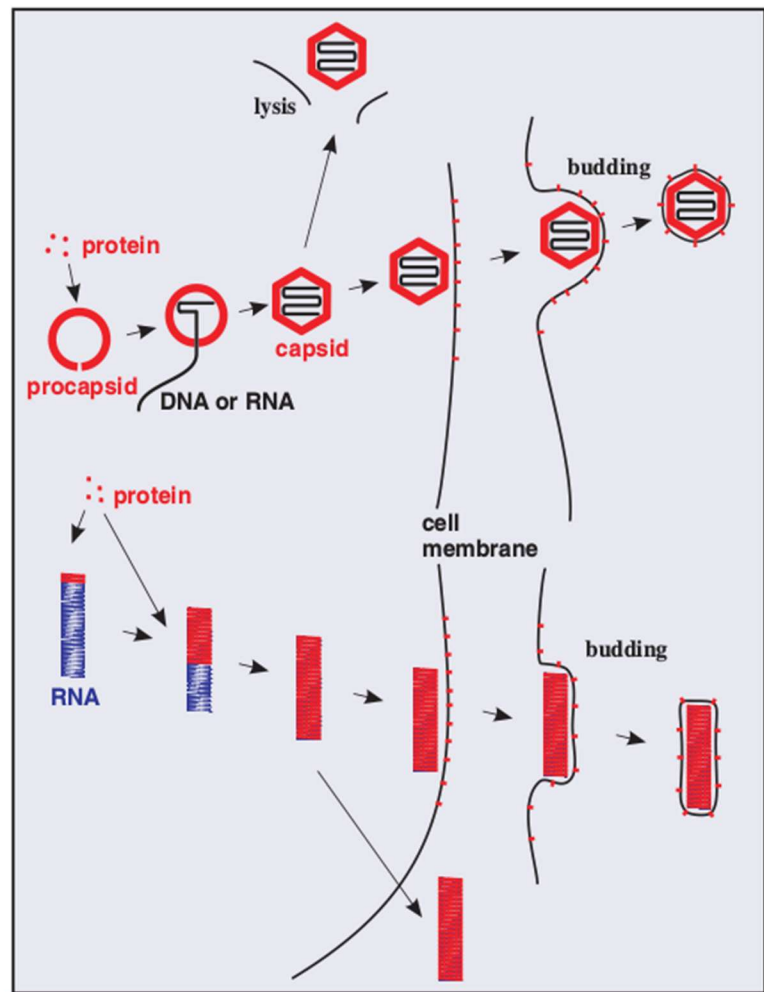
En ambdós processos participen proteïnes que, de manera general, els virus no poden tenir al seu genoma per problemes d'espai. Tot i això hi ha virus suficientment grans com els mimivirus que contenen algunes d'aquestes proteïnes, però segueixen sent no autònoms i han d'infectar cèl·lules.

Com surt un virus d'una cèl·lula?

Ens posem en situació: una cèl·lula ha estat infectada per un viriò i el virus ja s'ha multiplicat al seu interior i ha format nou virions. Com surt de dins la cèl·lula?

Els virus poden sortir de diferents formes: lisant la cèl·lula, és a dir, trencant-la. Sortint per un sistema anomenat germinació, on s'emporten part la membrana cel·lular. O bé, sortir de manera directe.

Hem de pensar que en aquest moment del cicle del virus pot haver poques desenes, centenars o milers de virions dins la cèl·lula. Depenent d'aquest nombre i de l'estratègia utilitzada per marxar de la cèl·lula, aquesta pot morir o seguir funcional.



Il·lustració 5. Diferents formes de sortida dels virus. A dalt lisis, a la dreta budding (germinació, en anglès), a baixa sortida directe.

By: John Carter and Venetia Saunders. *Virology: Principles and Applications*, John Wiley & Sons Ltd. 2D Edition, 2013.

Què fa realment el virus?

Quan es dona una infecció vírica hem de seure a parlar sobre què fa *realment* el virus quan entra. Hem dit que comença a multiplicar-se, però no és del tot encertat. Hi ha diferents comportament i opcions entre els virus: infeccions productives o infeccions no productives.

En les infeccions productives, quan el viriò infecta la cèl·lula, pot donar-se la mort cel·lular per lisis i l'alliberament dels virions, la producció persistent de virions sense que mori la cèl·lula o que el virus quedi latent a la cèl·lula.

En les infeccions no productives es pot donar el suïcidi cel·lular abans de que es produeixin virions, que el virus tingui un defecte al seu genoma i no pugui continuar o que la infecció quedi latent.

La latència és molt important, ja que alguns virus, com el de la immunodeficiència humana, queden latents un cert temps per després mantenir una producció persistent o lisar les cèl·lules. Això dificulta la seva detecció, ja que els símptomes no són immediats.

Com responen els mamífers en front aquesta infecció?

Els mamífers tenim un sistema immune que ens protegeix davant de cossos estranys i agents infecciosos, així que és d'esperar que funcioni també contra els virus. Aquest sistema té diversos mecanismes que actuen un davant d'un altre, com ho farien línies de defensa. Però els virus, alguns a poc a poc i altres més ràpidament, han desenvolupat maneres de saltar aquestes línies defensives.

La primera línia de defensa que trobem és la immunitat innata. Dins d'aquesta trobem el sistema de complement, un conjunt de proteïnes que poden inactivar virions, bloquejar-los, eliminar cèl·lules infectades... Alguns virus, com els herpesvirus, produeixen proteïnes que són capaces de regular aquest sistema de complement, evitant la seva activació.

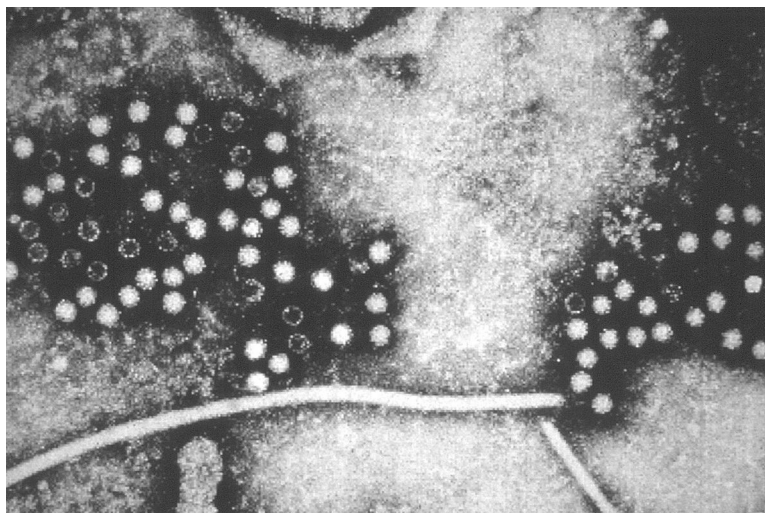
Dins d'aquesta immunitat innata també trobem les cèl·lules Natural Killer (NK). Aquestes són capaces de detectar quan una cèl·lula està infectada per un virus i perforar-li la membrana, matant-la. Alguns virus, com el citomegalovirus, pot inhibir el reconeixement de les cèl·lules infectades per les NK.

La segona línia de defensa que trobem és la immunitat adaptativa. Dins d'aquesta trobem els anticossos que són capaços d'adherir-se a virions, neutralitzant-los. També incrementen la probabilitat de que els virions siguin "menjats" per cèl·lules especialitzades que eliminen cossos estranys.

Les cèl·lules T són una altra de les línies de defensa de immunitat adaptativa. Aquestes cèl·lules són molt importants per processos com la síntesis d'anticossos, l'activació de la resposta immune, etc. També participen en la resposta fent un procés similar al de les cèl·lules NK. Reconeixen i eliminen cèl·lules infectades per prevenir danys més greu. En aquest cas les T reben el nom de cèl·lules T citotòxiques. Alguns virus, com els herpesvirus, també poden evitar que les cèl·lules infectades siguin reconegudes per les T citotòxiques.

Per què són importants els virus per nosaltres?

Convivim amb moltes formes de vida microscòpiques, com bacteries i virus. Els podem trobar a l'aire, a l'aigua, als aliments, a sobre de la nostra pell, dins del nostre cos... El Laboratori de Virus contaminants d'Aigua i Aliments de la Universitat de Barcelona treballa en l'àmbit dels virus contaminants i patògens. Hem parlat amb Rosina Gironés, la cap del laboratori.



Il·lustració 6. Micrografia electrònica de virus de l'hepatitis E.

By Transferred from en.wikipedia to Commons. This media comes from the Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), with identification number #5605.

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1882568>

Rosina ens parla de les principals línies en les que treballen al laboratori: patògen humans que principalment es transmeten per aliments i aigua, la seva transmissió, la seva determinació en aigües, etc.

Ens explica que busquen la presència o absència de diversos virus característics d'humans, bestiar... per determinar si hi ha contaminació en una mostra i d'on prové. A més a més, ens explica com, utilitzant aquests virus indicadors, van realitzar un estudi en diferents països [2,3].

Li preguntem per la relació del grup amb les ONGs, empreses, l'Administració... Ens respon que han realitzat alguns estudis sobre l'efectivitat de tractaments en plantes depuradores [4]. A més a més, gràcies al coneixement que té el laboratori i els seus components, desenvolupen tècniques barates, ràpides i fiables relacionades amb virus, en col·laboració amb entitats com Intermon Oxfam, per millorar la seva detecció o eliminació [5].

Posem sobre la taula el tema dels casos d'infeccions víriques que han passat fa pocs mesos. Li demanem la seva opinió sobre si hi ha suficient consciència sobre la contaminació vírica. Ens respon que, amb casos com el dels 3500 afectats per contaminació a l'aigua de beguda, ens adonem que hem de vigilar més i que, a poc a poc, les empreses es prenen consciència sobre el tema. Amb el temps, no és d'estranyat que s'implementin protocols de detecció i eliminació de la contaminació vírica a tots els àmbits sensibles a aquest tipus de contaminació.

Un altre tema amb el que treballa el grup és l'estudi de virus emergents. Rosina ens explica que un dels que més estudien és el virus de l'hepatitis E, que es creia inexistent a països higiènicament desenvolupats. De fet, el laboratori va ser un dels grups que va estudiar la distribució d'aquest virus a països industrialitzats [6]. En altres estudis més recents han demostrat que aquest virus es pot transmetre per la ingestió de carn contaminada, de porc a humà [7].

Les activitats que duen a terme al laboratori són clau, ja que la contaminació vírica de les aigües i aliments no és trivial. La descontaminació, en general, a dia d'avui està molt centrada en bacteris. Però ara que tenim més informació sobre aquests i els eliminem de manera més eficient, apareixen problemes relacionats amb altres microorganismes, en aquest cas virus. Conèixer com es transmeten els virus patògens dins de l'aigua, quin és el seu origen... són aspectes claus per poder millorar la qualitat de l'aigua.

Per ampliar: dinàmica de la contaminació en rius [3]

En aquest estudi, el grup va treballar realitzant el seguiment de la contaminació en rius de 5 àrees molt diferents: el riu Negro (Brasil), el riu Glafkos (Grècia), el riu Tisza (Hongria), el riu Llobregat (Espanya) y el riu Umeälven (Suècia). Determinant la presència o absència d'adenovirus i poliomavirus humans, adenovirus porcins i poliomavirus bovins, van estudiar les fluctuacions de la contaminació en aquests rius.

D'aquesta manera van veure com canviava la contaminació segons el caudal del riu, la quantitat de persones en la zona urbana propera, etc. Els resultats van indicar que la contaminació augmentava amb la quantitat de població però disminuïa amb el caudal del riu, ja que aquest dilueix la contaminació. A més a més, els nivells de contaminació eren superiors després de la zona urbana. També van poder diferenciar la contaminació de granja de la humana, ja que hi havia nivells superiors a zones agrícoles.

Amb tot això, l'estudi va demostrar que determinant la presència o absència d'uns pocs virus es poden aconseguir resultats molt bons en regions molt diferents del món.

Per ampliar: millora dels filtres domèstics [5]

El tractament domèstic de l'aigua és important i necessari a moltes regions del món on les condicions sanitàries de l'aigua no són suficients. Els filtres d'aigua ceràmics són àmpliament utilitzats amb aquest propòsit i han demostrat complir els estàndards d'eliminació de contaminació bacteriana.

Tot i això, aquests filtres no compleixen els estàndards per eliminar contaminació vírica, mantenint la probabilitat d'infecció vírica i no millorant la qualitat de l'aigua en aquest aspecte. El laboratori, gràcies al seu coneixement en l'àmbit dels virus, ha col·laborat amb Intermon Oxfam en un projecte per millorar els filtres domèstics.

A l'estudi van buscar millorar l'eliminació de virus mantenint l'eliminació bacteriana dels filtres. Amb aquest objectiu van modificar les propietats materials del filtre a través de diferents tècniques de cocció. Per mesurar l'eliminació de virus d'aquets prototips van determinar la presència o absència d'uns determinats microorganismes abans i després del filtratge. Van aconseguir un filtre fabricat amb un mètode de cocció en ambient reductor que mantenia els estàndards bacterians, així com els vírics.

Innovar i millorar les eines en aquest àmbit és imprescindible per millorar la qualitat de l'aigua i, per tant, la qualitat de vida en regions amb dèficit d'higiene de l'aigua.

Per ampliar: metagenòmica en aigües residuals [8]

La metagenòmica és l'estudi del conjunt de genomes, és a dir, del material genètic, d'un determinat entorn directament de les mostres del mateix. Tradicionalment per saber quines espècies de microorganismes hi ha en una zona es recullen mostres i s'intentava cultivar al laboratori, per després fer proves als microorganismes que havien crescut. Però existeix un problema molt important. I si hi ha algun microorganisme que no creix al laboratori? Que ningú sap fer créixer?

La metagenòmica dona solució a aquest problema. Al recollir mostra i buscar en elles DNA sense cultivar els microorganismes, estem analitzant el material genètic de totes les espècies en la mostra. Per tant, no perdem informació. A més a més, permet descobrir noves espècies, ja que podem trobar-nos material genètic que no coincideixi amb cap altre espècie coneguda.

A l'estudi, el laboratori aplica aquesta tècnica a aigües residuals, identificant 234 virus coneguts i classificant altres no coneguts. El sorprenent d'aquest treball va ser que la majoria de material genètic estudiat no es corresponia amb cap espècie de virus coneguda.

Això demostra la immensitat del món dels virus, del qual coneixement tan sols una petita part.

Per ampliar: Els virus en teràpia gènica

Els virus són molt bons fent el seu treball: infectar cèl·lules. Podem pensar que per sí mateixos no valdrien per donar teràpia a ningú, ja que provocarien malalties en comptes curar-les. Tenim raó, però també tenim la tecnologia i les eines que ens permeten modificar el material genètic per fer-los innocus i, a més a més, que puguin curar algunes malalties.

La teràpia gènica com a tal té l'objectiu de curar o pal·liar una malaltia utilitzant, principalment, material genètic. Com? Si una malaltia està causada pel defecte d'un sol gen, un únic tros de material genètic del total que tenim, podríem pensar que corregint aquest error es solucionaria el problema.

Encara que això és més fàcil de dir que de fer, ja que són moltes les barreres que dificulten el procés i molts els elements que poden interferir. Els virus són molt bons infectant cèl·lules i aportant material genètic, així que podem fer arribar material genètic fàcilment.

Quan utilitzem un virus per realitzar teràpia gènica li traiem tots els elements que feien que es reproduís i, per tant, deixa de ser patògen i passa a ser un "vector víric". Les tècniques d'enginyeria genètica que permeten tornar inofensiu al virus també ens permeten introduir al seu genoma una còpia corregida del material genètic defectuós. Quan el virus entra a la cèl·lula, l'injectarà aquest material i podrà curar o millorar la malaltia.

Els virus són importants en aquest aspecte de la salut, ja que trobem malalties incurables. Actualment hi ha poques autoritzacions per utilitzar teràpia gènica, encara que hi ha un gran nombre d'assajos clínics en procés. Normalment, tant tractaments autoritzats com assajos, estan destinats a casos extrems on el pacient no ha respost al tractament convencional i la malaltia acabarà amb la seva vida. En un futur no molt llunyà, qui sap si podrem oblidar-nos d'algunes malalties genètiques com ja hem fet amb altres?

Tancament

En aquest article hem parlat de virus: què són, com viuen i sobreviuen, com el cos es defensa d'ells i algunes de les seves utilitats. Encara queda molt per aprendre sobre virus, però del que sabem, no està tot inclòs al treball, ni està a un nivell profund. Ens podríem estendre pàgines i pàgines, però l'objectiu d'aquest article de divulgació és introduir-vos al món dels virus, despertar la vostra curiositat i que us fascineu amb aquests petits microorganismes.

Agraïments

Volem agrair la col·laboració de Rosina Gironés i del Laboratori de Virus contaminants d'Aigua i Aliments, format per: Rosina Girones, Sílvia Bofill-Mas, Marta Rusiñol, Ayalkibet Hundesa, Natalia Timoneda, Laura Guerrero, Eloy Gonzales Gustavson, David Aguado, Eva Forés, Xavier Fernandez Cassi, Sandra Martinez Puchol i Aiora Areguita. Moltes gràcies a tots!

Més informació sobre el grup a http://www.ub.edu/microbiologia_virology/ca

Bibliografia:

1. Carter John B., Saunders Venetia A. **Virology: Principles and Applications**. 2ª edició. John Wiley & Sons Ltd, 2013. ISBN: 978-1-119-99143-4
2. Bofill-Mas, S., Rusiñol, M., Fernandez-Cassi, X., Carratalà, A., Hundesa, A., Girones, R.. 2013. **Quantification of human and animal viruses to differentiate the origin of the fecal contamination present in environmental samples**. BioMed Research International.
3. Rusiñol M, Fernandez-Cassi X, Hundesa A, Vieira C, Kern A, Eriksson I, Ziros P, Kay D, Miagostovich M, Vargha M, Allard A, Vantarakis A, Wyn-Jones P, Bofill-Mas S, Girones R. 2014. **Application of human and animal viral microbial source tracking tools in**

- fresh and marine waters from five different geographical areas.** Water Res. 59:119-29.
4. Rodriguez-Manzano, J, Alonso, J. L., Ferrús, M. A., Moreno, Y., Amorós, I., Calgua, B., ... Girones, R.. 2012. **Standard and new faecal indicators and pathogens in sewage treatment plants, microbiological parameters for improving the control of reclaimed water.** Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research, 66(12), 2517–2523.
 5. Guerrero-Latorre L, Rusiñol M, Hundesa A, Garcia-Valles M, Martinez S, Joseph O, Bofill-Mas S, Girones R. **Development of improved low-cost ceramic water filters for viral removal in the Haitian context.** Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development In Press, Uncorrected Proof © IWA Publishing 2014
 6. Clemente-Casares, P., Pina, S., Buti, M., Jordi, R., Martín, M., Bofill-Mas, S., Girones, R. 2003. **Epidemiological pattern of Hepatitis E Virus infection in industrialized countries.** *Emerging Infectious Diseases* 9(4):448-454
 7. Riveiro-Barciela, M., Mínguez, B., Gironés, R., Rodríguez-Frías, F., Quer, J., Buti, M.. 2015. **Phylogenetic demonstration of hepatitis E infection transmitted by pork meat ingestion.** Journal of Clinical Gastroenterology, 49(2), 165-168.
 8. Paul G. Cantalupo, Byron Calgua, Guoyan Zhao, Ayalkibet Hundesa, Adam D. Wier, Josh P. Katz, Michael Grabe, Roger W. Hendrix, Rosina Girones, David Wang, and James M. Pipas. 2011. **Raw Sewage Harbors Diverse Viral Populations.** mBio 2(5):e00180-11.