

Virus gigantes y su impacto a nivel ambiental

Giant viruses and their environmental impact

Sarmiento Echeverria Jessica Paola¹, Torres Ramirez Sara², Ruth Melida Sanchez Mora³,
Mauricio Humberto Rodriguez Panduro⁴

Recibido: 24 de agosto de 2020
Aceptado: 12 de octubre de 2020

Resumen

Los virus gigantes se han destacado en la última década por sus particularidades estructurales y genéticas que permiten interpretar de diferentes maneras su origen y evolución. Algunos autores consideran que los virus gigantes adquirieron varios de sus genes a partir de la transferencia horizontal de las células eucariotas a las que infecta, lo que permitiría explicar las funciones a nivel metabólico que se han sugerido para muchos de ellos. A medida que se avanza en el estudio de los virus gigantes, mayor es el conocimiento que se adquiere sobre la relación existente entre los genes propios de origen celular y el posible papel que ejercen los virus gigantes a nivel ambiental. Con este trabajo se pretende realizar una revisión bibliográfica de las principales características y generalidades de los virus gigantes, su papel a nivel ecológico y su posible presencia e implicaciones en ecosistemas colombianos.

1. Estudiante de Bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5867-6247>

2. Estudiante de Bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0101-6528>

3. Docente Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-0572-8418>

4. Profesor catedratico de Virología de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
ORCID:<https://orcid.org/0000-0002-0023-7169>

Correspondencia: jsarmieto@unicolmayor.edu.co
storresr@unicolmayor.edu.co
mhumbertorodriguez@unicolmayor.edu
rmsanchezm@unicolmayor.edu.co

Palabras claves: acanthamoeba polyphaga mimivirus, ciclos biogeoquímicos, ecosistemas acuáticos, virus gigantes, virus nucleocitoplasmáticos de ADN de gran tamaño.

Abstract

The giant viruses have distinguished in the last decade because of their structural and genetic distinctive features that have allowed to interpret in different ways their origin and evolution. Some authors consider that giant viruses acquired some of their genes based on the horizontal transference of their eukaryotic hosts, what will allow to explain the functions in a metabolic level that have been suggested for many of them. As the study of giant viruses progresses, more is the knowledge that is acquired about the existing relation among the own genes of cellular origin and the possible role that work as the giant viruses in an environmental level. With this study is pretended to make a bibliographic review of the main characteristics about the giant viruses, their role in an ecological level and their possible presence and implications in Colombian ecosystems.

Keywords: acanthamoeba polyphaga mimivirus, aquatic ecosystems, biogeochemical cycles, giant viruses, large DNA nucleoplasmic viruses.

Introducción

La definición tradicional de los virus fue establecida con base a características como su tamaño submicroscópico (20 - 300 nanómetros (nm), composición genética (ADN o ARN) y carencia de maquinaria necesaria para su reproducción (1, 2). Sin embargo, con el descubrimiento de *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV), identifi-

cado en el año 2003 y malinterpretado como una bacteria (3) se desafiaron los paradigmas establecidos para los virus, al descubrir la ausencia de ADN ribosomal y su estructura con grandes dimensiones evidenciadas por la microscopía crioelectrónica (CryoEM) (1, 2).

Debido al tamaño estructural y complejidad genética los virus gigantes se han clasificado dentro del

orden Megaviral donde también se encuentran los virus nucleocitoplasmáticos de ADN de gran tamaño (NCLDV) (4, 5) ya que tienen características similares, además de compartir alrededor de 9 genes denominados genes centrales relacionados con los factores de transcripción, la proteína de la cápside, la helicasa D5, la DNA polimerasa B y la ATPasa de empaque (6, 7). Adicionalmente, estudios realizados revelan que los virus gigantes presentan importancia a nivel ecológico por su aparente capacidad de regular los ciclos biogeoquímicos en el ambiente (15, 94). En este trabajo se presenta una revisión bibliográfica de las principales características y generalidades de los virus gigantes, su papel a nivel ecológico y su posible presencia e implicaciones en ecosistemas colombianos.

Descubrimiento de los virus gigantes: un cambio al paradigma viral

Aunque el desarrollo de la investigación de los virus gigantes inició en 2003 con la identificación de APMV (3, 7). La historia de estos virus realmente inicia en 1992, cuando se aísla el primer virus gigante de una torre de enfriamiento en Bradford, Inglaterra tras realizar una investigación de un brote de neumonía con amebas (3,

6, 8). Durante 10 años se creyó que APMV correspondía a una bacteria, pues, además de poder observarse bajo microscopio óptico, la tinción de Gram mostraba lo que parecía ser un coco Gram positivo (6, 7, 8). Aun así, luego de realizar diferentes protocolos de extracción, intentos fallidos de amplificar el DNA ribosomal 16s y practicar microscopía crioelectrónica, quedó en evidencia la verdadera naturaleza de este organismo (3, 6). La cryoEM, fue entonces un procedimiento clave que permitió reconocer a estas partículas como virus, al mostrar claramente una cápside icosaédrica con un tamaño inesperadamente grande (6, 9).

Desde entonces, Mimivirus ha generado un sin número de preguntas en el mundo de la virología, pues, aunque tiene algunas similitudes con los virus tradicionalmente conocidos, como la forma de la cápside o la fase de eclipse en el ciclo de replicación (3), estos se diferencian por tener grandes dimensiones cercanas a los 750 nm (9), tamaño que es comparable con pequeñas bacterias o células arqueas (Fig. 1) (3, 7, 8). Además, posee un genoma de gran tamaño (1.2 Mb) y complejidad el cual alberga al menos 911 genes incluidos genes de organismos celulares, que codifican alrededor de 114 proteínas, incluida la proteína de la cápside (D13L) (8, 10). Con el paso de los años se han

logrado identificar otros virus gigantes y de manera similar a APMV, su reconocimiento ha sido confuso. Por ejemplo, *Pandoravirus inopinatum* fue

confundido con un parásito amebal (6, 11) y *Pithovirus sibericum* malinterpretado como un endosimbionte arqueal. (7)

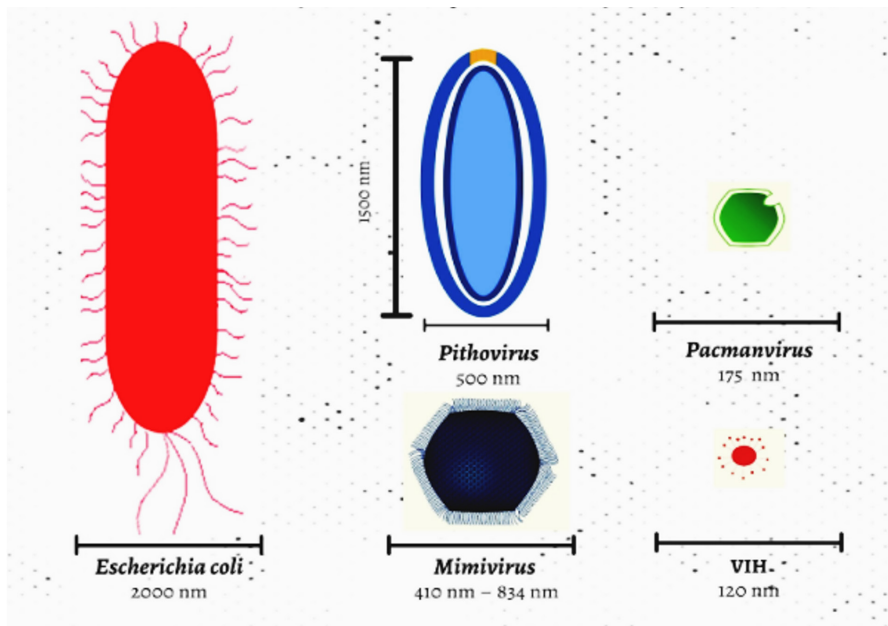


Figura 1. Comparación estructural (tamaño) entre una bacteria (*E. coli*), virus gigantes (*Pithovirus sp.*, *Mimivirus sp.* y *Pacmanvirus sp.*) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Luego del descubrimiento del Mimivirus y otros virus gigantes (3,12), en diferentes estudios realizados a nivel genómico, se ha intentado explicar su origen (4, 13, 14). A raíz de esto, se generaron diversas hipótesis que sugieren la existencia de un ancestro común, debido a la identificación de genes derivados de células eucariotas y procariontas (4, 15, 16, 17). Además de los cerca de 50 genes que comparten los NCLDV con el ancestro común, quien también se cree corresponde a un virus más pequeño con una com-

plejidad similar (2, 4, 18). Adicionalmente, los NCLDV comparten 5 grupos de genes, una estructura similar entre la mayoría de ellos y la forma de replicación en fábricas virales citoplasmáticas (4, 6). Sin embargo, la escasez de genes compartidos entre diferentes grupos de virus gigantes, ha generado dudas de su origen a partir de un ancestro común viral (14). Abriendo paso a otras teorías como la descomposición de un genoma eucariota y la transferencia horizontal de genes (THG) relacionada con la evo-

lución no solo del virus gigante, sino que también de su hospedero (7, 13, 15, 19, 20).

Megaviral, un nuevo orden taxonómico

Actualmente los virus gigantes se encuentran clasificados dentro del orden Megaviral, en la superfamilia de los NCLDV (2, 7, 21) Compuesta inicialmente por: *Phycodnaviridae*, *Iridoviridae*, *Poxviridae*, *Asfarviridae* y *Ascoviridae* (7, 16). Sin embargo, con el descubrimiento de los virus gigantes a esta superfamilia se incluyeron *Mimiviridae* (Fig.2, A), *Pandoravirus* (fig.2, B), *Marseillevirus* (fig.2, D), *Pithovirus* (fig.2, C), *Mollivirus*, *Faustovirus*, *Kau-*

moebavirus, *Cedratvirus* y *Pacmanvirus*. (7, 22)

La familia *Mimiviridae* (Fig. 2, A) Se caracteriza por tener viriones icosaédricos, con un tamaño que oscila entre 410 nm a 834 nm y su genoma posee aproximadamente 1,18 Mpb (6, 16). Cuenta con fibras largas superpuestas en la superficie de la cápside y dos posibles membranas lipídicas dentro de su cápside proteica, además se describe la presencia de un vértice único (2, 9) el cual se relaciona con la función de unión e infección del hospedero (9). También se ha identificado que algunos miembros de esta familia poseen dos sintetetas de aminoacil-ARNt de clase I (TyrRS y MetRS) (23).

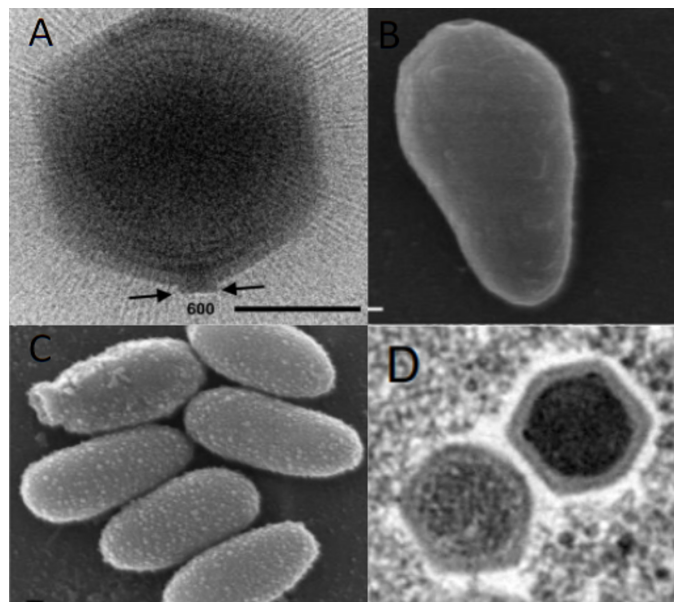


Figura 2. Microscopía electrónica de Virus gigantes. A: *Mimivirus* (APMV) imagen tomada de Xiao et al. [9] B: *Pandoravirus* sp. Imagen tomada de Abergel et al. [27] C: *Pithovirus* sp. Imagen tomada de Abergel et al. [27] D: Partículas virales completas inmaduras y maduras del *Marseillevirus* imagen tomada de Boyer et al. [30]

Luego en 2013 se describieron dos de los miembros de la familia *Pandoraviridae* (Fig.2, B), ambos aislados de diferentes entornos (26). *Pandoravirus salinus* a partir del sedimento marino de la costa del centro de Chile y *Pandoravirus dulcis* a partir del lodo en el fondo de un estanque de agua dulce en Melbourne, Australia (26, 27). Para 2014, *Pandoravirus inopinatum* (tercer miembro de la familia) se aisló a partir de *Acanthamoeba sp.* presente en un lente de contacto de un paciente con queratitis (11, 27). La morfología de estos virus es ovoide, con una longitud cercana a los 1200 nm y un genoma con 2.8 Mpb de largo que codifican cerca de 2.500 proteínas (6, 28, 29). Además, posee una envoltura tipo tegumento que cuenta con un espesor de más o menos 70 nm y un poro apical (2).

Un año más tarde se descubrió *Pithovirus* (Fig. 2, C) y *Mollivirus*, ambos aislados de una muestra de permafrost siberiano de 30.000 años de antigüedad (27). *Pithovirus*, tiene un tamaño de 1500 nm de longitud y 500 nm de diámetro, (27, 28) con un genoma de 610 Mpb y 467 genes (6, 28). Al igual que *Pandoravirus* tiene forma ovoide, cuenta con una envoltura de 60 nm de grosor, adicionalmente se recubre por una membrana lipídica y posee un poro apical sellado que se ha denominado corcho (1, 6, 27).

Por otro lado, el primer representante de la familia *Marseilleviridae* (Fig. 2, D), se aisló en 2009 a partir de una torre de enfriamiento en París (Francia) (6, 24). Esta familia de virus gigantes se caracterizan porque sus viriones son icosaédricos, con un tamaño aproximado de 250 nm y un genoma de 0.346 a 0.380 Mbp y con 457 genes (6, 24, 25)

Mollivirus presenta forma esférica, mide alrededor de 600 nm, su genoma tiene 652 Mpb y 523 genes (6, 27). Se recubre de un tegumento veloso compuesto de dos capas. Una externa con espesor de 10–12 nm compuesta de tiras paralelas espaciadas (30–40 nm), y una capa intermedia de 12 nm a 14 nm de espesor, compuesta de una malla de fibrillas. Adicional a lo anterior, *Mollivirus* cuenta con una apertura del ápice tipo embudo que mide alrededor de 160–200 nm de diámetro (6, 27). Los virus *Faustovirus* y *Kaumoebavirus* fueron aislados de la ameba *Vermamoeba vermiformis* presente en aguas residuales (6). *Faustovirus*, presenta una morfología icosaédrica y su tamaño oscila entre 200 nm a 240 nm (31). Tiene un genoma de 456 a 491 Mpb con 457 a 519 genes y dado que este virus fue aislado de las amebas presentes en aguas residuales se cree que se puede considerar como un indicador de contaminación fecal (6). Por otro

lado, *Kaumoebavirus* tiene una cápside icosaédrica y un genoma de 352 Mbp, con 465 genes (6).

Para el año 2016 en Argelia se descubrió el *Cedratvirus*, el cual fue aislado de una muestra de agua ambiental (32). La morfología de este virus es ovoide, tiene un tamaño de 1200 nm de longitud y 500 nm de diámetro (32), con un genoma que contiene 589 Mbp y aproximadamente 574 genes (6, 29). Dentro de las características más relevantes de este virus es que presenta una estructura de doble corcho y un tegumento de aproximadamente 40 nm de espesor (6, 32). Finalmente *Pacmanvirus* fue descubierto en 2017, aislado de una muestra ambiental de Argelia al igual que *Cedratvirus*, El nombre de este virus se debe a que su cápside presenta una apariencia rota. El tamaño es de 175 nm, su morfología es icosaédrica, su genoma es de 395 Mbp con 465 genes (6).

Particularidades de los virus gigantes

Los virus se han definido como entidades simples caracterizados por su incapacidad de ser observados bajo microscopio óptico debido a su tamaño entre 20 y 300 nm (1, 33). Además de ser dependientes de un hospedero celular para su replicación, pues no

cuentan con la maquinaria necesaria (2, 33). A pesar de este concepto ya establecido, la definición de virus se vio desafiada con el descubrimiento de APMV y posteriormente otros virus gigantes como *Marseillevirus* (30, 35), *Pandoravirus* (36, 37), *Pithovirus* (28, 38), *Faustovirus* (39), *Mollivirus* (40) y *Kaumoebavirus* (41), entre otros que no son filtrables y se observan en microscopio óptico (6, 35, 37), puesto que su tamaño varía de 200 a 2300 nm (6, 9) Adicionalmente, cuentan un genoma capaz de albergar entre 444 y 2544 genes (2, 42, 43, 44).

Aunque los miembros de la familia *Mimiviridae* comparten ciertas propiedades con otros NCLDV como su estructura, ciclo de vida y conjunto de genes centrales correspondientes al factor 3 de transcripción tardía viral, la proteína de la cápside D13, la helicasa-primasa D5, la DNA polimerasa B y la ATPasa de empaque del DNA (6, 45). Estos también poseen varios genes propios de organismos celulares como los son aquellos que codifican componentes para el proceso de traducción (como las Sintetasas aminoacyl-tRNA) (46, 47). También se han identificado genes relacionados con topoisomerasas (nunca antes vistos en virus) (7) y enzimas relacionadas con el metabolismo de la glutamina y la biosíntesis de los polisacáridos (16). Sin embargo, no todos los virus gigantes identificados comparten las

mismas dimensiones estructurales y complejidad genética, es el caso de *Pithovirus sibericum* uno de los virus más grandes conocidos con dimensiones cercanas a los 1500 nm de longitud y 900 nm de diámetro (48) y un genoma de menor tamaño, en el que no se ha evidenciado genes relacionados con sintetisas aminoacil-tRNA o algún factor asociados a la traducción (6, 7).

Se ha comprobado que los genomas de algunos de los virus gigantes contienen cuatro tipos de genes correspondientes a los genes centrales (compartidos con otros NCLDV) (4, 6). Entre ellos se encuentran los genes duplicados (49), los obtenidos por TGH y los marcos de lectura abiertos

huérfanos (ORFans) que representan funciones y estructuras nuevas para los virus gigantes (6). Además, alojan elementos putativos móviles como los intrones autotranspasados, secuencias de inserción, provirofagos y transpoviros (44, 50, 51, 52). Algunos de estos virus tienen ciertas particularidades únicas de su género o especie, como Pandoravirus salinus cuyo genoma contiene elementos transponibles de repetición invertida en miniatura (MITEs) (50). Otros, como *Pithovirus sibericum* y *Mollivirus sibericum* se diferencian estructuralmente al carecer de cápside y poseer un tegumento de capa gruesa con un hueco interior entre la membrana putativa y el tegumento (6, 48).

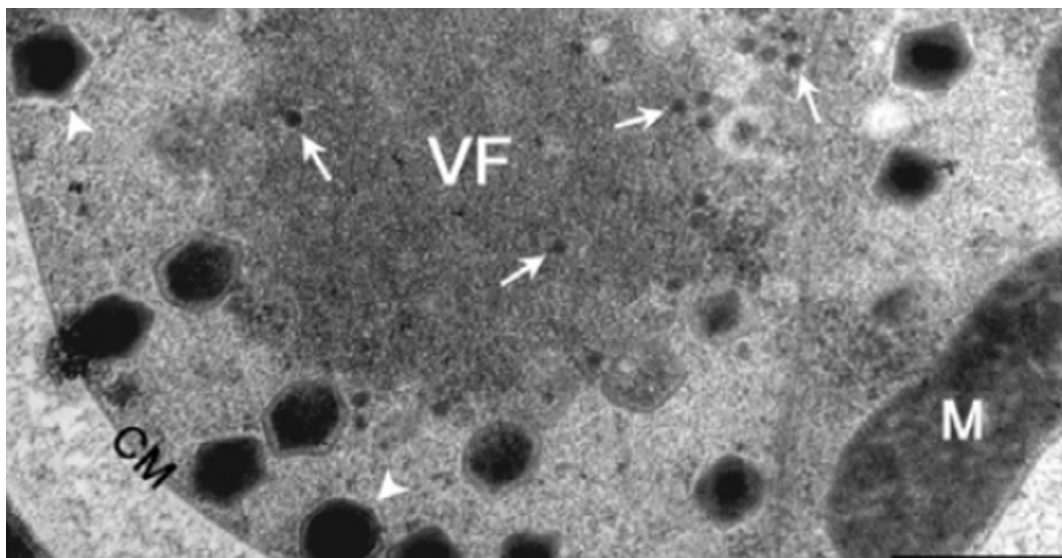


Figura 3. Microscopía electrónica de transmisión de células de *Cafeteria roenbergensis* coinfectadas con CroV y *Mavirus* tomada de Fischer et al. Fábrica viral de CroV con partículas del CroV maduras (puntas de flecha blancas) y partículas pequeñas correspondientes a *Mavirus* (flechas blancas) (59).

El mobiloma de los virus gigantes incluye también a los virofagos (53, 54). Quienes actúan de manera similar a los virus satelitales (54, 55), ya que para replicarse en el hospedero amebal necesita de la coinfección con un virus gigante (45, 56, 57). El primer virofago aislado correspondió a Sputnik, identificado al descubrir al *Mamavirus*, un virus gigante que infecta a *Acanthamoeba castellanii* (54, 56, 58). Sputnik cuenta con una cápside icosaédrica de 75 nm y un genoma circular de $1,8 \times 10^{-2}$ Mb (58). A partir del descubrimiento de este primer virofago, se han identificado otros como el *Mavirus* (Fig. 3) (59, 60) asociado con el *Virus Cafeteria Roenbergensis* (Fig. 3) (59), *Sputnik 2* (51, 61), *Sputnik 3* (60, 62) y el Zamilon (60, 63). Todos asociados con diferentes aislados de *Mimivirus* (56, 64). El virofago Zamilon se caracteriza por poseer partículas esféricas, con un diámetro de 50 a 60 nm y un genoma de $1,7 \times 10^{-2}$ Mpb (65). Sin embargo, la característica más llamativa del virofago Zamilon es la incapacidad de replicarse en *Mimivirus* del linaje A (44) debido a que estos *Mimivirus* dentro de su genoma contienen una secuencia repetida del Zamilon en un operón, secuencia conocida como MIMIVIRE (elementos resistentes al virofago *Mimivirus*), razón por la cual la única manera de que el virofago pueda actuar es a través del silenciamiento del MIMIVIRE (64, 66).

Ciclo infeccioso de los virus gigantes

La capacidad de los virus gigantes de infectar amebas ha dado a los investigadores las herramientas necesarias para poder estudiar las características particulares de cada género (2, 6, 16), así mismo ha permitido conocer la manera como ingresan a la célula hospedera, la duración y características particulares de alguno de estos virus (2). Los virus gigantes ingresan a la célula hospedera mediante fagocitosis (27, 67). Sin embargo, para que ocurra el proceso infeccioso por fagocitosis, la partícula debe tener un tamaño mínimo de 5000 nm (6, 7, 65). Este mecanismo de infección representa una ventaja para la infección viral, pues, permite un ingreso rápido a la célula (65).

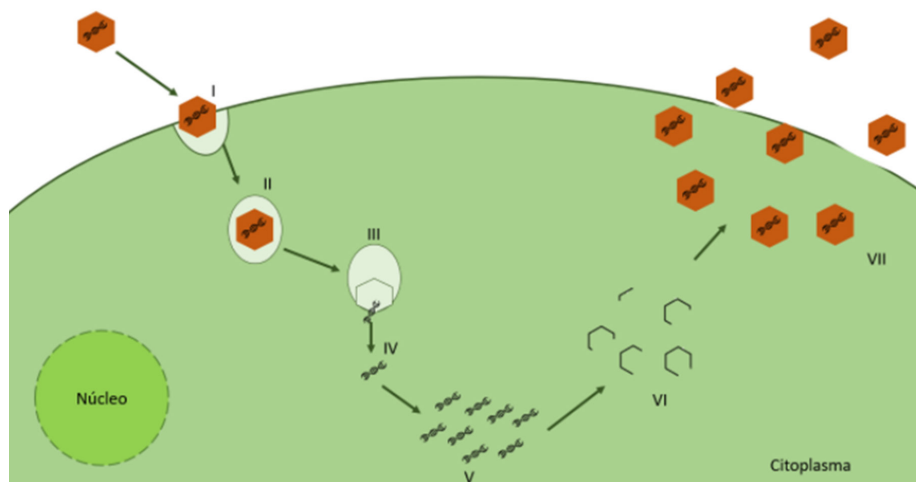


Figura 4. Ciclo de replicación de virus gigantes. Representación de ciclo de replicación en amebas de vida libre. La replicación viral inicia con la entrada del virus gigante en la ameba la cual ocurre mediante fagocitosis I. Posteriormente el virus es transportado al citoplasma en un fagosoma II y mediante la fusión de membranas entre el fagosoma y el virus III ocurre la liberación del ADN viral en el citoplasma IV, para dar inicio a la replicación viral V y a la morfogénesis VI, Finalmente de ocurre ensamblaje de las partículas virales y la liberación mediante lisis celular VII.

El ciclo infeccioso inicia con la entrada de la partícula viral, donde el contenido genético ingresa mediante la apertura del poro apical y posteriormente por la fusión de membranas del virus y del fagosoma (2, 27, 64). El material genético viral llega al citoplasma celular donde ocurre la replicación del genoma viral y la morfogénesis (36, 64). Tiempo después los viriones maduros se hacen visibles en las vacuolas, las cuales se liberan por exocitosis terminando con la lisis celular (Fig. 4) (36, 64). No obstante, se ha evidenciado que los virus gigantes presentan algunas diferencias en los ciclos de infección, como la entrada del virus al hospedero, el tiempo de replicación viral y la interacción del ADN viral con el núcleo del hospedero (2).

En APMV, su ciclo dura aproximadamente 12h (2, 27) y utiliza fibrillas glicoproteicas que interactúan con azúcares (N-acetilglucosamina y manosa) presentes en la membrana amebal para promover el proceso de fagocitosis y con ayuda del Stargate (estructura en forma de estrella en uno de los vértices de la cápside) ocurre la fusión entre la membrana interna del virus y la membrana del fagosoma para que finalmente ocurra la liberación del genoma viral en el citoplasma del hospedero (5). No obstante, se cree que la transcripción del genoma viral puede iniciar antes de que el genoma sea liberado en el citoplasma (2, 6, 27, 28).

Para el caso de *Marseillevirus*, el tiempo del ciclo infeccioso es de

aproximadamente de 6 hrs a 16 hrs (2). Además, el mecanismo de entrada es distinto, aunque se cree que lo realiza por fagocitosis, el tamaño de este virus gigante no alcanza para estimular este proceso, ya que este mide alrededor de 220 nm (6). Aun así se ha demostrado que el *Marseillevirus* puede inducir la formación de vesículas multimembranosas en la que se alberga una gran cantidad de partículas virales. A pesar de ello existe evidencia de que este virus práctica la endocitosis (5, 6). Por otro lado, *Mollivirus sibericum*, tiene un ciclo de infección que dura aproximadamente de 10h a 20h (2). Aunque la entrada del virus al hospedero se realiza por fagocitosis lo novedoso de este virus es la salida de las partículas virales, pues a diferencia de los demás virus donde ocurre lisis, este virus libera las partículas virales sin causar la lisis celular (2, 6).

Otro aspecto durante el ciclo infeccioso que varía dependiendo del virus y sus características es la implicación del núcleo amebal. En el caso de APMV se ha evidenciado que no hay alteración en el núcleo amebal (6), al igual que *Pithovirus* (28). Por el contrario *Mollivirus sibericum* y *Pandoravirus* durante el ciclo infeccioso afectan el núcleo amebal provocando numerosas invaginaciones (6, 27) y reemplazando el núcleo por la fábrica viral respectivamente (a excep-

ción de *Pandoravirus salinus*, el cual no presenta afectación del núcleo) (2).

Importancia ambiental de los virus gigantes

Con el descubrimiento del primer virus gigante en 2003, los aislamientos a partir de diferentes entornos ambientales y nichos geográficos (12) han aumentado hasta el día de hoy y se ha comprobado la presencia y abundancia de estos virus principalmente en ecosistemas acuáticos (68, 69, 70), donde son el segundo grupo más abundante después de los fagos (15, 68, 71, 72, 73). Sin embargo, algunos estudios demuestran una amplia variedad de virus gigantes en muestras de suelo (74, 75, 76). Es así como una investigación realizada en el año 2010 reportó el aislamiento e identificación de dos virus gigantes correspondientes a Terra1 y Terra2 recuperados a partir del cocultivo con *Acanthamoeba sp.* (74, 75) y asociados con los linajes de Mimivirus debido a la presencia de proteínas homólogas como la superóxido dismutasa (enzima que convierte radicales superóxido tóxicos en oxígeno atmosférico) (75). Además, evidenciaron un conjunto de proteínas propias de bacterias como la UDP-N-acetilglucosamina-epimerasa (enzima importante en el metaboli-

mo de los azúcares), hallazgo que refuerza la teoría de la adquisición de genes por medio de la transferencia horizontal. Por otra parte, en un estudio realizado en 2018, se llevaron a cabo técnicas independientes al cultivo como la mini-metagenómica e identificaron a partir de estas 16 nuevos virus, de muestras tomadas del suelo del bosque de Harvard relacionados principalmente con virus gigantes como *Klosneuvirus*, *Virus Cafetería Roenbergensis* y *Tupanvirus* (76). A pesar de ello, todavía se desconoce el papel específico de los virus gigantes sobre estos ecosistemas, aún así, se les ha atribuido funciones importantes en los ciclos naturales de otros organismos y en los ciclos biogeoquímicos (15, 73).

Control de floraciones de algas

Dentro de las funciones ecológicas más relevantes que se les ha atribuido a los NCLDV en ecosistemas acuáticos, se encuentra la desaparición de las floraciones de algas (77). Las floraciones son la proliferación celular excesiva de las algas, debido a fenómenos como la eutrofización, un cambio del pH en el ambiente o cambio de la temperatura del agua (78). Estas floraciones a su vez presentan un impacto negativo en los ecosistemas acuáticos, pues algunas pueden

producir toxinas que son letales para los peces y humanos (78). Además de que se ha reportado que causan una disminución del oxígeno en el medio, generando hipoxia/anoxia que provoca la muerte de los organismos presentes en el ambiente (79).

En cuanto a los virus que se relacionan con la desaparición de las floraciones de algas, se ha reportado a *Heterosigma akashiwo virus* (HaV), el cual pertenece a la familia *Phicodnaviridae* e infecta al alga marina *Heterosigma akashiwo* formadora de floraciones nocivas (marea roja) para peces como el salmón (80). Sobre el HaV se han desarrollado diferentes investigaciones incluida la publicada en el año 2000 por Tarutani *et al*, en donde se monitoreo la dinámica poblacional del alga *Heterosigma akashiwo* y el HaV en la bahía de Hiroshima, Japón. Además de que aislaron diferentes clones tanto del alga como del virus y las susceptibilidades de *H. akashiwo* por el virus (81). Los resultados de este estudio mostraron que una vez disminuyó la densidad celular del alga, aumentó radicalmente la abundancia del virus, por lo que se cree que el HaV se relaciona con la desaparición repentina de las floraciones de *H. akashiwo*. Sin embargo, se evidenció que algunas de las células del alga sobrevivieron a la lisis provocada por el virus, demostrando la existencia de células resistentes a muchos de los clones del HaV

(81). No obstante, aparentemente las células resistentes se consideraron un componente menor al momento en el que se forman las floraciones (81). A nivel ambiental, el uso de este virus como controlador microbiológico de la marea roja, podría llegar a ser altamente efectivo, pues además de que cumple con las condiciones necesarias (no es tóxico para otros seres vivos, ni es costosa su producción) existen diferentes clones de *H. akashiwo* susceptibles a la infección y lisis por HaV (80). A pesar de lo anterior, se ha sugerido el uso de cócteles virales (con varios clones de HaV) con el fin de hacer más efectivo el control de estas floraciones pues el virus por sí solo no logra controlar una población entera en condiciones naturales (80).

Por otro lado, *Emiliana huxleyi* es un cocolitóforo cosmopolita, ampliamente estudiado, ya que se considera una microalga de fácil cultivo que ejerce un impacto a nivel ecológico (82, 83, 84, 85), principalmente debido a la producción de calcita (mineral formado por carbonato de calcio) que modifica la alcalinidad del océano aumentando además la liberación de CO₂ atmosférico (Fig. 5) (82, 83, 84). No obstante, también participa en diferentes ciclos biogeoquímicos donde es relevante la producción de sulfuro de dimetilo en la superficie de océano y el flujo en la atmósfera (83) y la formación de floraciones de *E. huxleyi*,

pues son fuente de carbono una vez se da su proceso de terminación (Fig. 5), relacionado con la lisis producida por la infección del virus *Emiliana huxleyi* (EhV), un cocolitovirus que pertenece a la familia Phicodnaviridae (83, 84). Es por esta razón que una gran parte de las investigaciones, se enfocan en comprender con mayor claridad la interacción virus- hospedero, pues al entender los mecanismos en los que se lleva a cabo la lisis celular de *E. huxleyi*, se podrá estimar como se da la liberación del carbono y cual es el destino del carbonato de calcio y del carbono orgánico en el océano que se producen y liberan a través de estas floraciones (82, 83, 84)

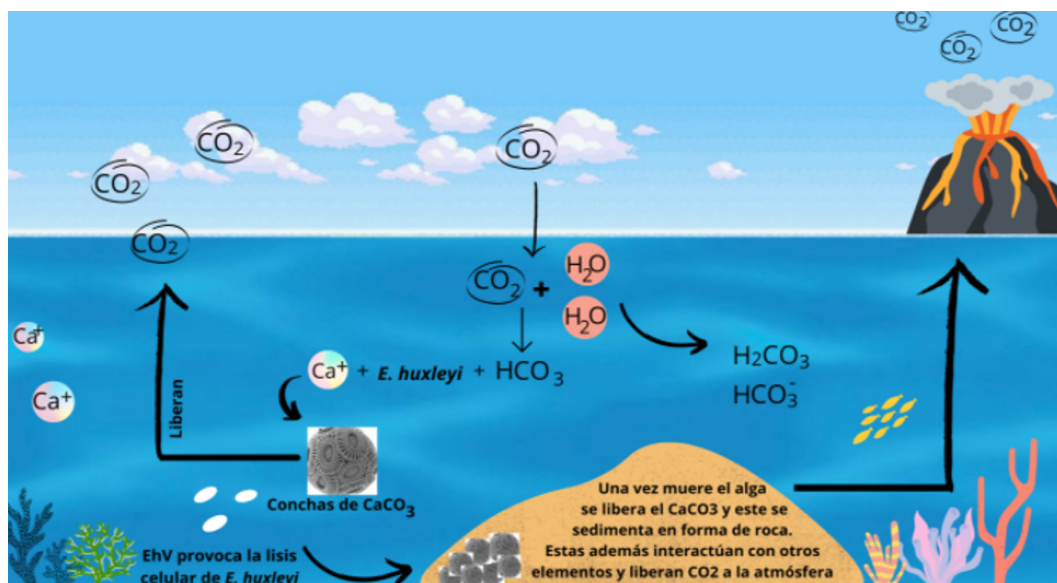


Figura 5. Ciclo del carbono. El carbono atmosférico se disuelve en el océano e interactúa con las moléculas de agua (H₂O) generando carbono inorgánico como el ácido carbónico (H₂CO₃), iones de carbonato (HCO₃⁻) e iones de bicarbonato (CO₃²⁻), estos últimos son fijados por algas como *E. huxleyi* formando las conchas de carbonato cálcico (CaCO₃) que a su vez liberan CO₂ a la atmósfera. Por otro lado, cuando el CaCO₃ se sedimenta en forma de roca, reacciona con otros elementos liberando también CO₂ a la atmósfera.

Son varios los estudios que han explicado, mediante diferentes técnicas, la relación entre la desaparición de las floraciones de *E. huxleyi* y la infección por EhV, además del posible impacto ecológico que conlleva esta relación. Por ejemplo, Wilson, et al para el año 2002 mediante el uso de técnicas como citometría de flujo, observaron la abundancia del fitoplancton, cocolitóforos, bacterias y virus en una zona con alta reflectancia (debido a la desaparición de las floraciones de *E. huxleyi*) en el canal de la Mancha occidental (82) los resultados obtenidos reportaron un aumento de la concentración viral seguida de una disminución repentina de la concentración celular de *E. huxleyi*, por lo que

se interpretó que el incremento de la reflectancia correspondía a la lisis celular provocada por un virus, posteriormente se aislaron e identificaron dos virus de esta misma zona los cuales corresponden a EhV84 y EhV86 (82). Además mencionaron que la interacción de esta alga con bacterias y virus se relaciona con la liberación o entrada del carbonato de calcio (82). Del mismo modo, Pagarete, et al, reportaron un patrón consistente de desarrollo de las floraciones del alga seguido de la infección por EhV en todas las muestras estudiadas, ya que se observó que la fase de crecimiento exponencial de *E. huxleyi* fue seguida por una fuerte disminución de la misma, lo que coincidió con el aumento

exponencial del virus, lo anterior, se comprobó al monitorear las características transcriptómicas, tanto del cocolitóforo como de su respectivo virus, que mostraron cambios significativos en el perfil transcriptómico al momento de la infección y lisis celular (85).

Finalmente, uno de los estudios más actuales publicado en el año 2019 analizó la interacción entre *E. huxleyi* y EhV con el fin de entender la relevancia de la producción de óxido nítrico (NO) en el momento de la infección, describiendo el NO como un sello distintivo del proceso de infección viral en *E. Huxleyi*, debido a que este se libera tanto intracelularmente como extracelularmente y actúa como antioxidante celular en respuesta a las especies reactivas de oxígeno (ROS) que se producen en el momento de la infección, lo anterior le permite al cocolitovirus replicarse y ensamblarse en un ambiente favorable a redox (84). Con el fin de entender mejor el proceso de infección, este estudio propuso también que la dinámica intracelular del NO, la producción de ROS y la muerte celular programada podrían actuar como biomarcadores moleculares importantes para los océanos (84, 86, 87) en conjunto con la biosíntesis esfingolípida (86, 86, 89), ya que por la acumulación de glucoesfingolípidos, el EhV induce de manera conjunta especies reactivas de oxígeno,

actividad específica de la caspasa, expresión de metacaspasa y muerte celular programada (86, 87).

Impacto de los virus gigantes en el metabolismo de las algas.

Los virus gigantes se caracterizan por tener un genoma complejo capaz de codificar genes adquiridos de las células a las que infecta (86, 90), característica que se cree que ha sido obtenida mediante la THG (7,15,20) y es lo que le permite al virus manipular el metabolismo del hospedero, facilitando la absorción de nutrientes y afectando vías de fermentación, entre otras funciones (86, 90), razón por la cual se atribuye un posible impacto a nivel ecológico. Por ejemplo, una investigación realizada por Monier et al, demostró que el virus OtV6, integrante de la familia *Phicodnaviridae* y quien infecta al alga verde *Ostreococcus tauri*, codifica un transportador de amonio (vAmt) similar al presente en el alga, el cual facilita a su hospedero la absorción del nitrógeno (86). Los investigadores evidenciaron que la expresión de dicho receptor ocurre durante la replicación viral, que es funcional y que además garantiza una alta captación de amonio cuando sus concentraciones en el medio son bajas, esto proporciona al hospedero una ventaja temporal sobre otros mi-

croorganismos en ambientes donde las fuentes de nitrógeno son limitadas (86).

Por otra parte un estudio realizado por Schvarcz y Steward, reveló que el genoma del virus *TetV-1*, un Mimivirus que infecta al alga verde del género *Tetraselmis* (90) contiene genes claves en la vía de fermentación celular correspondientes a piruvato formiato liasa y a la enzima activadora de la piruvato formiato-liasa (90), enzimas importantes pues asegura la supervivencia en ambientes con bajas concentraciones de oxígeno (91). La presencia de estos genes sugiere que *TetV-1* manipula dicha vía de fermentación, garantizando que el alga obtenga energía en ambientes con baja concentración de oxígeno y que a su vez le asegura al virus la propagación en ambientes hipóxicos/anóxicos (90). Otra posible ventaja de la codificación de estas enzimas es que el virus puede provocar que el hospedero utilice esta ruta de fermentación aun cuando los niveles de oxígeno son óptimos, para así lograr una mayor liberación de etanol (producto de la ruta de fermentación) lo cual provocaría una alteración en el depósito de carbono orgánico disuelto y a la vez una alteración en la respuesta microbiana presente en el medio ambiente (90). Además de las proteínas anteriormente mencionadas, los investigadores encontraron que este virus tam-

bién contienen genes para proteínas homólogas de alfa-galactosidasa, la cual es posible que ayude al virus a romper la pared del alga tras la lisis celular (90) y manitol 1-fosfato deshidrogenasa importante para la conversión de fructosa 6-fosfato en manitol y manitol 2-deshidrogenasa bacteriana la cual es utilizada por algunas bacterias marinas para metabolizar el manitol derivado de algas en fructosa (92). Se cree que estas dos enzimas las puede usar el virus para manipular el metabolismo del manitol en el alga, controlando el equilibrio osmótico (93), e induciendo lisis celular (90).

Adicional a los hallazgos ya mencionados se cree que varios de los virus NCLDV contienen genes relacionados con la adquisición de nutrientes y energía a partir de la luz (86, 94). Moniruzzaman et al, reconocieron genes importantes en el metabolismo del carbono, como enzimas para la glucólisis (G3P, PGM y PGK), la gluconeogénesis, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos (aconitasa y SDH) y la derivación de glioxilato (94). Aunque aún no se conoce si estas enzimas cumplen las mismas funciones en el hospedero y en la replicación viral, los autores resaltan que la presencia de estos genes refuerza la hipótesis de que los virus presentan un alto potencial para reprogramar el metabolismo del hospedero y cambiar los flujos de carbono intracelulares, para tener ventajas

en ambientes donde las condiciones son limitadas (94). Adicionalmente se han reportado genes que codifican proteínas de unión a la clorofila, ferritina y algunos otros relacionados con el transporte de nutrientes (95) La importancia de estos genes radica en las funciones sensoriales que pueden modificar el comportamiento del hospedero al estimular el movimiento de este a zonas ricas en nutrientes por medio de fototaxis (94, 96).

Discusión y Conclusiones

Aunque el primer reporte realizado de virus gigantes fue en 2003 con la identificación de APMV aislado por primera vez en 1992 (3,6,7,8), es importante precisar que estudios realizados en microalgas reportan la presencia de virus gigantes desde 1970. Se aísla el primer virus gigante a partir de la microalga *Micromonas pusilla* en 1979, pero solo hasta 1990 se tuvo en cuenta el reporte realizado tras haber encontrado altas concentraciones de estos virus en ecosistemas acuáticos (97). Es a partir de este momento que estos virus se incluyen dentro de la superfamilia de los NCLDV (98).

Por otro lado, aunque ha sido ampliamente estudiada la filogenia de los virus gigantes, su origen y evolución aún representan un gran interro-

gante, en especial cuando se plantea un cuarto dominio de la vida. Wilians *et al.*, refutan esta hipótesis, pues, al plantear nuevos árboles filogenéticos teniendo en cuenta genes universales presentes en los virus gigantes que se cree, se han ido adquiriendo por transferencia horizontal, se evidenció que los diferentes virus gigantes se relacionan con los tres dominios de la vida ya conocidos, razón por la cual este autor descarta la hipótesis de un cuarto dominio (99). De manera similar Yutin *et al.*, en su estudio sugieren el origen de virus gigantes a partir de un ancestro común viral, que evolucionó de manera independiente mediante la THG a partir de células eucariotas y procariotas hasta adquirir la complejidad de un virus gigante conocido a la fecha. (15) Legendre *et al.*, apoyan la teoría en la que los virus gigantes se derivan de un ancestro común celular mediante la pérdida de genes (100). Aunque aún no se ha establecido con certeza el origen de los virus gigantes, se tiene claro que su genoma es el más complejo entre todos los virus conocidos y es por esta razón que, aunque se descarta la posibilidad de un cuarto dominio de la vida, las teorías establecidas alrededor del ancestro común y la TGH son las más probables debido a la presencia de genes propios de organismos celulares como las sintetasas de aminoácil de ARNt.

Dentro de la teoría de la TGH, planteada anteriormente como posible origen de los virus gigantes es importante resaltar que su genoma es diverso, en comparación con el de otros virus y alberga genes característicos de células eucariotas, que otorgan algunas características adicionales a las células que infectan, como manipular el metabolismo celular al adquirir genes que les permitirá la captación de nutrientes o de compuestos nitrogenados (86), la recolección de luz (94). Lo anterior sugiere que estos virus probablemente presenten la capacidad de reprogramar el metabolismo del hospedero y por ende se podría considerar la posibilidad de que funcionan como reservorios de genes y como posible fuente de adquisición de nuevos genes.

A pesar de que aún no se comprende completamente la función que desempeñan los virus gigantes en los diferentes ecosistemas, se ha presumido acerca de su relevancia en ecosistemas acuáticos (68), específicamente en organismos fotosintéticos como las algas, pues se ha estudiado la desaparición mediada por virus gigantes de floraciones masivas y altamente tóxicas formadas por algas como *Heterosigma akashiwo* (77, 80) o *Emiliana huxleyi* (82) evitando así una desoxigenación del ecosistema y eventualmente de los organismos que allí habitan. Además, los vi-

rus gigantes se han relacionado con la adquisición de algunos nutrientes que favorecen el metabolismo de su hospedero como el nitrógeno y el carbono (86, 94).

Según el sistema de información ambiental, Colombia cuenta con más de 8000 ecosistemas específicos, en los que se incluyen los terrestres, insulares, marinos, costeros y acuáticos (101), ecosistemas en los que junto a otros organismos habitan las amebas de vida libre y algas que en estudios previamente realizados a nivel internacional se han relacionado con virus gigantes (102, 103). Por ejemplo, Duque *et al.*, en el año 2013 estudiaron la presencia de amebas de vida libre como *Acanthamoeba sp.* y *Naegleria sp.* en el río Pamplonita en la zona metropolitana de Cúcuta, evidenciando una mayor presencia de *Acanthamoeba sp.* (102), este género de ameba es el género más común a partir del cual se ha aislado virus gigantes como *Mimivirus (Acanthamoeba polyphaga)* (3) o el *Mamavirus (Acanthamoeba castellanii)* (104). Del mismo modo diferentes géneros de microalgas que habitan los ecosistemas acuáticos colombianos se asocian con virus gigantes como los *Phicodnavirus* según reportes realizados en otros países, como es el caso del cocolitóforo *Emiliana huxleyi* (94) presente en cuencas del Chocó y Tumaco, en el Pacífico colombiano (105). *Chlorella sp.* (106) quien se ha utilizado

en Colombia para estudios de biorremediación (107) y *Tetraselmis sp.* (90) evidenciada en ecosistemas del Caribe colombiano (108). Aun así, en Colombia se desconoce la presencia de virus gigantes y por ende sus implicaciones a nivel ambiental, sin embargo, parece posible encontrar estos organismos en los diferentes ecosistemas colombianos, teniendo en cuenta la gran diversidad no solo de este país sino también de los virus gigantes, en especial en entornos marinos y acuáticos.

Si bien aún falta mucho por estudiar acerca de los virus gigantes, la información conocida hasta la fecha ha permitido interpretar la importancia de su presencia en el ambiente, teniendo en cuenta la complejidad de su genoma al albergar diversos genes propios de organismos celulares. Además, de que pueden manipular el metabolismo de su hospedero causando muerte celular programada en algunos de ellos y en otros otorgado la capacidad de captar nutrientes importantes en los ciclos biogeoquímicos. Colombia en la actualidad no ha registrado el aislamiento de ningún virus gigante, no obstante, parece evidente su presencia en los diferentes ecosistemas colombianos debido a los ambientes y hospederos que frecuentan estos virus, promoviendo la creación de nuevas líneas de investigación entorno a la importancia de

los virus gigantes en ambientes acuáticos colombianos.

Es importante recalcar que los virus gigantes no solo presentan importancia ambiental, como se ha mencionado anteriormente, sino que también han tomado importancia a nivel clínico, por su posible asociación con enfermedades como neumonía (15,109) artritis reumatoidea (6, 110), afecciones gastrointestinales (6, 111) y leucemias y linfomas (112). Además, tras análisis metagenómicos se ha evidenciado la presencia de estos virus en muestras de donantes de sangre asintomáticos, en quienes también se han detectado antígenos y anticuerpos contra el *Marseillevirus* y el ADN del *Marseillevirus* (6, 109).

Referencias

1. Claverie, Albergel C. Giant viruses: The difficult breaking of multiple epistemological barriers. *Studies in history and philosophy of science*. 2016, 59: 89-99. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2016.02.015>
2. Colson P, La Scola B, Levasseur A, Caetano-anollér G. Mimivirus: leading the way in the discovery of giant viruses of amoebae. *Nature reviews*. 2017; 15(4):243-254. Available in: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.197>

3. la Scola B, Audic S, Robert C, Jungang L, Lamballerie X, Drancourt M, et al. A Giant Virus in Amoebae. *Science*. 2003; 299(5625):2033. Available in: A Giant Virus in Amoebae | Science (sciencemag.org)
4. Colson P, De lamballerie X, Yutin N, Asgari S, Bigot Y, Bideshi D, et al. "Megavirales", a proposed new order for eukaryotic nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Arch Virol*. 2013; 158(12):2517-2521. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4066373/>
5. Lima R, Santos J, Paiva B, Geessien E. Giants among larges: how gigantism impacts giant virus entry into amoebae. *Current Opinion in Microbiology*. 2016; 31:88-93. Available in: Giants among larges: how gigantism impacts giant virus entry into amoebae - ScienceDirect (doi.org)
6. Colson P, La Scola B, Raoult D. Giant Viruses of Amoebae: A Journey Through Innovative Research and Paradigm Changes. *Annual Reviews of Virology*. 2017; 4:61-85. Available in: https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-virology-101416-041816?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3A-crossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
7. Brandes N, Linial M. Giant Viruses—Big Surprises. *Viruses*. 2019; 11(5):404. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6563228/>
8. Love LG. Does the discovery of the mimivirus call into question attempts to define life?. *The International Journal of Student Research*. 2018; 11. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2389/biohorizons/article/doi/10.1093/biohorizons/hzy006/5102358?searchresult=1#129404610>
9. Xiao C, Chipman PB, Battisti AJ, Bowman VD, Renesto P, Raoult D, et al. Cryo-electron Microscopy of the Giant Mimivirus. *Journal of molecular biology*. 2015; 353(3):493-496. Available in: Cryo-electron Microscopy of the Giant Mimivirus - ScienceDirect
10. Azza S, Cambillau C, Baoult D, Suzan-Monti M. Revised Mimivirus major capsid protein sequence reveals intron-containing gene structure and extra domain. *BMC molecular biology*. 2009; 10(1):39. Available in: <https://bmcmolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2199-10-39>
11. Scheid P, Balczun C, Schaub G. Some secrets are revealed: parasitic keratitis amoebae as vectors of the scarcely described pandoraviruses to humans. *Parasitol Res*. 2014; 113(10):3759-3767. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-014-4041-3>
12. Dos Santos RN, Campos ES, Meideros de albuquerque N, Finoketti F, Côrrea RA, Cano-Ortiz L, et al. A new marseillevirus isolated in Southern Brazil from Limno-

- perna fortunei. Scientific reports. 2016; 6(1):35237. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2395/articles/srep35237#Sec2>
13. Koonin EV, Yutin N. Origin and evolution of eukaryotic large nucleo-cytoplasmic DNA viruses. Intervirology. 2010;53(5):284-292. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2895762/>
 14. Yutin N, Wolf TI, Koonin EV. Origin of giant viruses from smaller DNA viruses not from a fourth domain of cellular life. Virology. 2014; 466-467:38-52. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682214003006>
 15. Van Etten J. Giant Viruses. American Scientist. 2011; 99(4):304. Available in: <https://www.americanscientist.org/article/giant-viruses>
 16. Yamada T. Giant viruses in the environment: their origins and evolution. Current opinion in virology. 2011;1(1):58-62. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1879625711000137>
 17. Katzourakis, A, Aswad A. The origins of giant viruses, virophages and their relatives in host genomes. BMC Biol 12, 51 (2014). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2425/article/10.1186/s12915-014-0051-y#Sec2>
 18. Yutin N, Koonin EV. Hidden evolutionary complexity of Nucleo-Cytoplasmic Large DNA viruses of eukaryotes. Virol J. 2012;9:161. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3493329/>
 19. Iyer LM, Aravind L, Koonin EV. Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. J Virol. 2001;75(23):11720-11734. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC114758/>
 20. Iyer LM, Balaji S, Koonin EV, Aravind L. Evolutionary genomics of nucleo-cytoplasmic large DNA viruses. Virus research, 2006; 117(1):156-184. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168170206000281?via%3Dihub>
 21. Sharma, V., Colson, P., Pontarotti, P., y Raoult, D. Mimivirus inaugurated in the 21st century the beginning of a reclassification of viruses. Current opinion in microbiology. 2016; 31:16-24. Available in: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/journal/1-s2.0-S1369527416000023>
 22. Koonin, E. V., y Yutin, N. Multiple evolutionary origins of giant viruses. F1000Research. 2018; 7. Available in: Multiple evolutionary origins of giant viruses (nih.gov)
 23. Visvesvara, G. S., Moura, H., y Schuster, F. L. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2007;50(1),1-26. Available in: Pathogenic and opportu-

- nistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea* - *Visvesvara* - 2007 - *FEMS Immunology & Medical Microbiology* - Wiley Online Library
24. Doutré, G., Philippe, N., Abergel, C., y Claverie, J. M. Genome analysis of the first *Marseilleviridae* representative from Australia indicates that most of its genes contribute to virus fitness. *Journal of Virology*. 2014;88(24), 14340-14349. Available in: <https://jvi.asm.org/content/88/24/14340>. long
 25. Fabre E, Jeudy S, Santini S, Legendre M, Trauchessec M, Couté Y, Et al. *Noumeavirus* replication relies on a transient remote control of the host nucleus. 2017; 8(15087). Available in: <https://www.nature.com/articles/ncomms15087>
 26. Philippe, N., Legendre, M., Doutré, G., Couté, Y., Poirot, O., Lescot, M., ... y Garin, J. *Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes*. *Science*. 2013;341(6143), 281-286. Available in: *Pandoraviruses: Amoeba Viruses with Genomes Up to 2.5 Mb Reaching That of Parasitic Eukaryotes* | *Science* (sciencemag.org)
 27. Abergel, C., Legendre, M., y Claverie, J. M. The rapidly expanding universe of giant viruses: *Mimivirus*, *Pandoravirus*, *Pithovirus* and *Mollivirus*. *FEMS microbiology reviews*. 2015;39(6),779-796. Available in: <https://academic.oup.com/femsre/article/39/6/779/550971>
 28. Legendre M, Bartoli J, Shmakova L, Jeudy S, Labadie K, Adrait A, et al. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(11):4274-4279. Available in: <https://www.pnas.org/content/111/11/4274>. long
 29. Jeudy S, Rigou S, Alempic JM, Claverie JM, Abergel C, Legendre M. The DNA methylation landscape of giant viruses. 2020; 11(2657). Available in: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16414-2>
 30. Boyer M, Yutin N, Pagnier I, Barrassi L, Fournous G, Espinosa L, ... y Raoult D. *Giant Marseillevirus highlights the role of amoebae as a melting pot in emergence of chimeric microorganisms*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(51):21848-21853. Available in: <https://www.pnas.org/content/106/51/21848.short>
 31. Chelkha, N., Hasni, I., Louazani, A. C., Lévasseur, A., La Scola, B., y Colson, P. *Vermaamoeba vermiformis* CDC-19 draft genome sequence reveals considerable gene trafficking including with candidate phyla radiation and giant viruses. *Scientific reports*. 2020;10(1),1-11. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-62836-9>

32. Dos Santos Silva, L. K., Andrade, A. C. D. S. P., Dornas, F. P., Rodrigues, R. A. L., Arantes, T., Kroon, E. G., ... y Abrahão, J. S. Cedratvirus getuliensis replication cycle: an in-depth morphological analysis. *Scientific Reports*. 2018;8(1),1-11. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22398-3>
33. Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 2a ed. Buenos aires. Médica Panamericana; 2009
34. Lwoff A. The Concept of Virus. *J. gen. Microbiol.* 1957; 17(1):239-253. Available in: download (psu.edu)
35. Aherfi S, La Scola B, Pagnier L, Raoult D, Colson P. The expanding family Marseilleviridae. *Virology*. 2014; 466:27-37. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682214003201#s0010>
36. Legendre, M., Fabre, E., Poirot, O. et al. Diversity and evolution of the emerging Pandoraviridae family. *Nat Commun*. 2018; 9, 2285. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04698-4>
37. Scheid P. A strange endosymbiont revealed as largest virus. *Current Opinion in Microbiology*. 2016; 31:58-62. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527416300054>
38. Sharma V, Colson P, Chabrol O, Pontarotti P, Raoult D. Pithovirus sibericum, a new bona fide member of the "Fourth TRUC" club. *Front Microbiol.* 2015;6:722. Published 2015 Aug 4. Available in: Pithovirus sibericum, a new bona fide member of the "Fourth TRUC" club (nih.gov)
39. Reteno DG, Bernamar S, Khalil JB, Adreani J, Armstrona N, Klose T, et al. Faustovirus, an Asfarvirus-Related New Lineage of Giant Viruses Infecting Amoebae. *Journal of virology*. 2015;89(13):6585-6594. Available in: <https://jvi.asm.org/content/89/13/6585#sec-20>
40. Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, Jeudy S, Bartoli J, Lescot M., et al. In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-y-old giant virus infecting Acanthamoeba. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015; 112(38):5327-5335- Available in: <https://www.pnas.org/content/pnas/early/2015/09/02/1510795112.full.pdf>
41. Bajrai LH, Benamar S, Azhar El, Robert C, Lévassieur A, Raoult D, et al. Kaumobavirus, a New Virus That Clusters with Faustoviruses and Asfarviridae. *Viruses*. 2016;8(11):278. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5127008/>
42. Raoult D, Audic S, Robert C, Abergel C, Renesto P, Ogata H, La Scola B, Suzan M, Claverie JM. The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. *Science*. 2004;306(5700):1344-50. Available in: <https://science.sciencemag.org/content/306/5700/1344.abstract>

43. Renesto P, Abergel C, Decloquement P, Moinier D, Azza S, Ogata H, Fourquet P, Gorvel JP, Claverie JM. Mimivirus giant particles incorporate a large fraction of anonymous and unique gene products. *J Virol.* 2006;80(23):11678-85. Available in: <https://jvi.asm.org/content/80/23/11678.full>
44. Colson P, Ominami Y, Hisada A, La Scola B, Raoult D. Giant mimiviruses escape many canonical criteria of the virus definition. *Clinical microbiology and infection.* 2019;25(2):147-154. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X18306323#bib2>
45. Claverie J, Gizela R, Lartique A, Bernadac A, Nitsche S, Vacelet J, et al. Mimivirus and Mimiviridae: Giant viruses with an increasing number of potential hosts, including corals and sponges. *Journal of invertebrate pathology.* 2009;101(3):172-180. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002220110900086X?via%3Dihub>
46. Abergel C, Rudinger-Thirion J, Giegé R, Claverie JM. Virus-encoded aminoacyl-tRNA synthetases: structural and functional characterization of mimivirus TyrRS and MetRS. *J Virol.* 2007;81(22):12406-17. Available in: <https://jvi.asm.org/content/81/22/12406.full>
47. Boratto PV, Arantes TS, Silva LC, Assis FL, Kroon EG, La Scola B, et al. Niemeyer Virus: A New Mimivirus Group A Isolate Harboring a Set of Duplicated Aminoacyl-tRNA Synthetase Genes. *Front Microbiol.* 2015 Nov 10;6:1256. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01256/full>
48. Okamoto K, Miyazaki N, Song C, Maia F, Reddy H, Abergel C, et al. Structural variability and complexity of the giant Pithovirus sibericum particle revealed by high-voltage electron cryo-tomography and energy-filtered electron cryo-microscopy. 2017; 7, 13291. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2395/articles/s41598-017-13390-4>
49. Suhre K. Gene and Genome Duplication in *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. *Journal of virology.* 2005; 79(22): 14095-14101. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1280231/>
50. Sun, C., Feschotte, C., Wu, Z. Mueller R. DNA transposons have colonized the genome of the giant virus Pandoravirus salinus. *BMC Biol.* 2015; 13:38. Available in: [DNA transposons have colonized the genome of the giant virus Pandoravirus salinus | BMC Biology | Full Text \(biomedcentral.com\)](https://www.biomedcentral.com/fulltext/BMCBiol-13-38)
51. Desnues C, La Scola B, Yutin N, Fourcous G, Robert C, Azza S, et al. Provirophages and transpovirons as the diverse mobilome of giant viruses. *Proc Natl Acad.* 2012;109(44):18078-83. Available in: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1207883109>

- lable in: <https://www.pnas.org/content/109/44/18078.short>
52. Jeudy, S., Bertaux L, Alempic J, Lartigue A, Legendre M, Belmudes L, et al. Exploration of the propagation of transpovirons within Mimiviridae reveals a unique example of commensalism in the viral world. *ISME J.* 2020;14:727–739. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2395/articles/s41396-019-0565-y>
 53. La Scola, B., Desnues, C., Pagnier, I. et al. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature* 455, 100–104 (2008). <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2162/10.1038/nature07218>
 54. Koonin E, Krupovic M. Polintons, virophages and transpovirons: a tangled web linking viruses, transposons and immunity. *Current Opinion in Virology.* 2017; 25: 7-15. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.06.008>.
 55. Mougari, S., Chelkha, N., Sahmi-Bounsiar, D. et al. A virophage cross-species infection through mutant selection represses giant virus propagation, promoting host cell survival. *Commun Biol* 3. 2020; 248. Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2162/10.1038/s42003-020-0970-9>
 56. Krupovic, M., Kuhn, J.H. & Fischer, M.G. A classification system for virophages and satellite viruses. *Arch Virol.* 2016; 161: 233–247. Available in: <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2622-9>
 57. Liu H, Aris-Brosou S, Probert I, Colom-ban de Vargas, A Time line of the Environmental Genetics of the Haptophytes, *Molecular Biology and Evolution.* 2010; 27(1): 161–176. Available in: <https://doi.org/10.1093/molbev/msp222>
 58. Claverie JM, Abergel C. Mimivirus and its Virophage. *Annual Review of Genetics.* 2009; 43: 49-66. Available in: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-genet-102108-134255?journalCode=-genet>
 59. Fischer M, Suttle C. A Virophage at the Origin of Large DNA Transposons. *Science.* 2011; 332(6026): 231-234. Available in: <https://science.sciencemag.org/content/332/6026/231.long>
 60. Bekliz M, Colson P, La Scola B. The Expanding Family of Virophages. *Viruses.* 2016;8(11):317. Available in: [The Expanding Family of Virophages \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27011111/)
 61. Cohen G, Hoffart L, La Scola B, Raoult D, Drancourt M. Ameba-associated Keratitis, France. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(7):1306-1308. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3381398/>
 62. Gaia M, Pagnier I, Campocasso A, Fournous G, Raoult D, La Scola B. Broad spectrum of mimiviridae virophage allows its isolation using a mimivirus reporter. *PLoS One.* 2013;8(4): 61912. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3626643/>

63. Gaia M, Benamar S, Boughalmi M, Pagnier I, Crose O, Colson P. Zamilon, a novel virophage with Mimiviridae host specificity. *PLoS One*. 2014;9(4):e94923. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991649/>
64. Rodrigues, R. A., Andrade, A. C., Oliveira, G. P., y Abrahão, J. S. Giant Viruses and Their Virophage Parasites. 2019. Available in: *Giant Viruses and Their Virophage Parasites - ScienceDirect*
65. Raoult D, Boyer M. Amoebae as genitors and reservoirs of giant viruses. *Intervirology*. 2010;53(5):321-9. Available in: <https://www.karger.com/Article/Abstract/312917>
66. Claverie, J., Abergel, C. CRISPR-Cas-like system in giant viruses: why MIMIVIRE is not likely to be an adaptive immune system. *Viol.* 2001; 31:193–196. Available in: <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3801-x>
67. Ghigo, E. A dilemma for viruses and giant viruses: which endocytic pathway to use to enter cells?. *Intervirology*. 2010;53(5), 274-283. Available in: *A Dilemma for Viruses and Giant Viruses: Which Endocytic Pathway to Use to Enter Cells? (karger.com)*
68. Monier, A., Claverie, J. M., y Ogata, H. Taxonomic distribution of large DNA viruses in the sea. *Genome biology*. 2008;9(7), R106. Available in: *Taxonomic distribution of large DNA viruses in the sea | SpringerLink*
69. Wilson, W. H., Gilg, I. C., Duarte, A., y Ogata, H. Development of DNA mismatch repair gene, MutS, as a diagnostic marker for detection and phylogenetic analysis of algal Megaviruses. *Virology*. 2014;466, 123-128. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682214003043>
70. Mihara, T., Koyano, H., Hingamp, P., Grimsley, N., Goto, S., y Ogata, H. Taxon richness of "Megaviridae" exceeds those of bacteria and archaea in the ocean. *Microbes and environments*. 2018;ME17203. Available in: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/advpub/0/advpub_ME17203/_article/-char/ja/
71. Hingamp, P., Grimsley, N., Acinas, S. G., Clerissi, C., Subirana, L., Poulain, J., ... y Faust, K. Exploring nucleo-cytoplasmic large DNA viruses in Tara Oceans microbial metagenomes. *The ISME journal*. 2013;7(9), 1678-1695. Available in: <https://www.nature.com/articles/ismej201359>
72. Dion, M. B., Oechslin, F., y Moineau, S. Phage diversity, genomics and phylogeny. *Nature Reviews Microbiology*. 2020;1-14. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41579-019-0311-5>
73. Suttle, C. A. Marine viruses—major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*. 2007;5(10), 801-812. Available in: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1750>

74. La Scola B, Campocasso A, N'Dong R, Fournous G, Barrassi L, Flaudrops C, et al. Tentative characterization of new environmental giant viruses by MALDI-TOF mass spectrometry. *Intervirology*. 2010;53(5):344-53. Available in: <https://www.karger.com/Article/Abstract/312919>
75. Yoosuf N, Pagnier I, Fournous G, Robert C, Raoult D, La Scola B, Colson P. Draft genome sequences of Terra1 and Terra2 viruses, new members of the family Mimi-*viridae* isolated from soil. *Virology*. 2014 Mar;452-453:125-32. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682213007022#bib37>
76. Schulz, F., Alteio, L., Goudeau, D. et al. Diversidad oculta de virus gigantes del suelo. *Nat Commun*. 2018;9(4881). Available in: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07335-2>
77. Moniruzzaman, M., Wurch, L. L., Alexander, H., Dyhrman, S. T., Gobler, C. J., y Wilhelm, S. W. Virus-host relationships of marine single-celled eukaryotes resolved from metatranscriptomics. *Nature Communications*. 2017;8(1),1-10. Available in: <https://www.nature.com/articles/ncomms16054>
78. Cressey D. Climate change is making algal blooms worse. *Nature*. 2017. Available in: <https://www.nature.com/news/climate-change-is-making-algal-blooms-worse-1.21884>
79. Huisman J, Codd G, Paerl H, Ibelings B, Verspagen J, Visser P. Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*. 2018; 16: 471-483 Available in: https://www.nature.com/articles/s41579-018-0040-1?WT.feed_name=subjects_bacteria
80. Tomaru, Y., Shirai, Y., Nagasaki, K., Ecology, physiology and genetics of a phycodnavirus infecting the noxious bloom-forming raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Fisheries Science*. 2008;74(4), 701-711. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1444-2906.2008.01580.x>
81. Tarutani K, Nagasaki K, Yamaguchi M. Viral impacts on total abundance and clonal composition of the harmful bloom-forming phytoplankton *Heterosigma akashiwo*. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(11):4916-4920. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92399/>
82. Wilson, W. H., Tarran, G. A., Schroeder, D., Cox, M., Oke, J., y Malin, G. Isolation of viruses responsible for the demise of an *Emiliania huxleyi* bloom in the English Channel. *Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 2002;82(3), 369. Available in: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-the-marine-biological-association-of-the-united-kingdom/article/isolation-of-viruses-responsi->

- ble-for-the-demise-of-an-emiliana-huxleyi-bloom-in-the-english-channel/FF-5DFAA093DF7C6CA3B6513137455824
83. Highfield, A., Evans, C., Walne, A., Miller, P. I., y Schroeder, D. C. How many Coccolithovirus genotypes does it take to terminate an *Emiliana huxleyi* bloom?. *Virology*. 2014;466, 138-145. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682214003250#s0010>
84. Schieler, B. M., Soni, M. V., Brown, C. M., Coolen, M. J., Fredricks, H., Van Mooy, B. A., ... y Bidle, K. D. Nitric oxide production and antioxidant function during viral infection of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*. *The ISME journal*. 2019;13(4), 1019-1031. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41396-018-0325-4>
85. Pagarete, A., Le Corguille, G., Tiwari, B. de Vargas, C., Wilson, W. H., y Allen, M. J. Unveiling the transcriptional features associated with coccolithovirus infection of natural *Emiliana huxleyi* blooms. *FEMS microbiology ecology*. 2011;78(3), 555-564. Available in: <https://academic.oup.com/femsec/article/78/3/555/601908>
86. Monier, A., Chambouvet, A., Milner, D. S., Attah, V., Terrado, R., Lovejoy, C., ... y Richards, T. A.. Host-derived viral transporter protein for nitrogen uptake in infected marine phytoplankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(36), E7489-E7498. Available in: <https://www.pnas.org/content/114/36/E7489>
87. Vardi, A., Van Mooy, B. A., Fredricks, H. F., Popenorf, K. J., Ossolinski, J. E., Haramaty, L., y Bidle, K. D. Viral glycosphingolipids induce lytic infection and cell death in marine phytoplankton. *Science*. 2009;326 (5954),861-865. Available in: [Viral Glycosphingolipids Induce Lytic Infection and Cell Death in Marine Phytoplankton | Science \(sciencemag.org\)](https://www.pnas.org/content/114/36/E7489)
88. Han, G., Gable, K., Yan, L., Allen, M. J., Wilson, W. H., Moitra, P., ... y Dunn, T. M. Expression of a novel marine viral single-chain serine palmitoyltransferase and construction of yeast and mammalian single-chain chimera. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(52),39935-39942. Available in: <https://www.jbc.org/content/281/52/39935.long#ref-6>
89. Wilson, W. H., Schroeder, D. C., Allen, M. J., Holden, M. T., Parkhill, J., Barrell, B. G., ... y Quail, M. A. Complete genome sequence and lytic phase transcription profile of a Coccolithovirus. *Science*. 2005;309(5737),1090-1092. Available in: <https://science.sciencemag.org/content/309/5737/1090.long>
90. Schvarcz, C. R., y Steward, G. F. A giant virus infecting green algae encodes key fermentation genes. *Virology*. 2018;518, 423-433. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682218300904?via%3Dihub>

91. Catalanotti C, Yang W, Posewitz MC, Grossman AR. Fermentation metabolism and its evolution in algae. *Front Plant Sci.* 2013;4:150. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3660698/>
92. Groisillier A, Labourel A, Michel G, Tonon T. The mannitol utilization system of the marine bacterium *Zobellia galactanivorans*. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(5):1799-1812. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4325148/>
93. Kirst, G. O. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annual review of plant biology*, 1990;41(1), 21-53. Available in: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pp.41.060190.000321>
94. Moniruzzaman, M., Martinez-Gutierrez, C. A., Weinheimer, A. R., y Aylward, F. O. Dynamic genome evolution and complex virocell metabolism of globally-distributed giant viruses. *Nature communications.* 2020;11(1), 1-11. Available in <https://www.nature.com/articles/s41467-020-15507-2>
95. D., Jungbluth, S., Walsh, D. A., Deneff, V. J., ...Woyke, T. Giant virus diversity and host interactions through global metagenomics. *Nature.* 2020;578 (7795),432-436. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-1957-x>
96. Yutin, N., y Koonin, E. V. Proteorhodopsin genes in giant viruses. *Biology direct.* 2012;7(1), 1-6. Available in: <https://biologydirect.biomedcentral.com/articles/10.1186/1745-6150-7-34>
97. Wilson WH, Van Etten JL, Allen MJ. The Phycodnaviridae: the story of how tiny giants rule the world. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009;328:1-42. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19216434/>
98. Johannessen TV, Bratbak G, Larsen A, Ogata H, Egge ES, Edvardsen B, Eikrem W, Sandaa RA. Characterisation of three novel giant viruses reveals huge diversity among viruses infecting Prymnesiales (Haptophyta). *Virology.* 2015; 476:180-188. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25546253/>
99. Williams TA, Embley TM, Heinz E. Informational gene phylogenies do not support a fourth domain of life for nucleocytoplasmic large DNA viruses. *PLoS One.* 2011;6(6):e21080. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21698163/>
100. Legendre M, Arslan D, Abergel C, Claverie JM. Genomics of Megavirus and the elusive fourth domain of Life. *Commun Integr Biol.* 2012;5(1):102-106. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3291303/>
101. Sistema de información ambiental de Colombia [Internet]. 2020 [citado 18 octubre 2020]. Available in: <http://www.siac.gov.co/ecosistemas>

102. Duque V, Gelvis V, Ríos Y. Acanthamoeba spp. y Naegleria spp. aisladas del Río Pamplonita, zona metropolitana de Cúcuta, Colombia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2018; 70(3). Available in: www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/219/213
103. Reyes L, Alarcón L, Morales M, Orozco M. Amebas de Vida Libre aisladas en aguas superficiales del municipio de Turbaco, Bolívar-Colombia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2016; 68(1). Available in: Amebas de Vida Libre aisladas en aguas superficiales del municipio de Turbaco, Bolívar-Colombia (sld.cu)
104. Pagnier I, Reteno DG, Saadi H, Boughalmi M, Gaia M, Slimani M, Ngounga T, Bekliz M, Colson P, Raoult D, La Scola B. A decade of improvements in Mimiviridae and Marseilleviridae isolation from amoeba. *Intervirology*. 2013;56(6):354-63. Available in: A Decade of Improvements in Mimiviridae and Marseilleviridae Isolation from Amoeba - FullText - Intervirology 2013, Vol. 56, No. 6 - Karger Publishers
105. Osorio E, Vallejo D, Rincón D, Pardo A, Restrepo S, Trejos R. Characterization of coccolithophore assemblages in the offshore basins of the Colombian Pacific. *Bol. Invest. Mar. Cost.* 2019; 48(2): 95-117. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612019000200095&lng=en.
106. Van Etten JL, Dunigan DD. Chloroviruses: not your everyday plant virus. *Trends Plant Sci.* 2012;17(1):1-8. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22100667/>
107. Ortiz M, Romero M, Meza L. La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*. 2018; 9(1), 163-176. Available in: The bioremediation with microalgae (*Spirulina maxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) as an alternative to treat the eutrophication of the Ubaque lagoon, Colombia (scielo.org.co)
108. Barreto Hernández A, Velasco LA. Aislamiento y cultivo de microalgas bentónicas del Caribe colombiano bajo diferentes condiciones de temperatura. *Intropica* [Internet]. 30 de mayo de 2014;9(1):23-2. Disponible en: <http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/intropica/article/view/1422>
109. Abrahão JS, Dornas FP, Silva LC, et al. Acanthamoeba polyphaga mimivirus and other giant viruses: an open field to outstanding discoveries. *Virology*. 2014;11:120. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083134/>
110. Colson P, Aherfi S, La Scola B, Raoult D. The role of giant viruses of amoebas in humans. *Curr Opin Microbiol*. 2016;31:199-

208. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27131020>
111. Colson P, Aherfi S, La Scola B. Evidence of giant viruses of amoebae in the human gut. *Human Microbiome Journal*. 2017; 5–6: 14-19. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452231717300234>
112. Aherfi S, Colson P, Audoly G, Nappez C, Xerri L, Valensi A, Million M, Lepidi H, Costello R, Raoult D. Marseillevirus in lymphoma: a giant in the lymph node. *Lancet Infect Dis*. 2016 Oct;16(10):e225-e234. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27502174>