

Artículo De Revisión – Review Article**ASPECTOS RELEVANTES DE LEISHMANIAVIRUS EN AISLADOS DE
*Leishmania spp.*****RELEVANT ASPECTS OF LEISHMANIAVIRUS IN ISOLATES OF
*Leishmania spp.*****Armando Assair Bonilla Fong¹**

¹Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología. Programa de Maestría en Ciencias Parasitológicas. Panamá. Correo: aabonillaf22@gmail.com <https://orcid.org/0000-0001-8111-2511>,

Recepción

08-11-2021

Aprobación

17-11-2022

Resumen

La leishmaniasis es una enfermedad vectorial causada por protozoarios del género *Leishmania* que afecta a células macrófagas del hospedero. Las complicaciones clínicas y fallas en el tratamiento se han relacionado con la presencia de un virus de ácido ribonucleico de doble cadena de la familia Totiviridae. En el nuevo mundo se encuentra exclusivamente el virus de *Leishmania* 1 y en el viejo mundo, el virus de *Leishmania* 2. Se conoce que el virus interactúa con el receptor tipo Toll 3 en las células del hospedador para estimular la producción de citoquinas proinflamatorias que resulta en la gravedad de la enfermedad y la supervivencia del parásito. Esta revisión corta explora lo observado y estudiado sobre el leishmaniovirus desde la perspectiva histórica e inmunológica.

Palabras claves: ácido ribonucleico, citoquinas, protozoo, respuesta inmunológica, Totiviridae.

Abstract

Leishmaniasis is a vectorial disease caused by protozoa of the genus *Leishmania* that affects macrophage cells of the host. Clinical complications and treatment failures have been related to the presence of a double-stranded ribonucleic acid virus of the Totiviridae family. *Leishmania* virus 1 is found exclusively in the New World and *Leishmania* virus 2 in the Old World. The virus is known to interact with Toll-like receptor 3 on host cells to stimulate the production of proinflammatory cytokines that result in on disease severity and parasite survival. This short review explores what has been observed and studied about leishmaniovirus from a historical and immunological perspective.

Keywords: cytokines, immune response, ribonucleic acid, protozoan, Totiviridae.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad tropical desatendida transmitida por vectores causada por organismos protozoarios intracelulares obligados del género *Leishmania* (Néris et al., 2013)

Esta enfermedad se ha caracterizado por ir en aumento debido a la aparición de nuevos focos endémicos, potenciados por modificaciones de hábitos, cambio climático y la amplia gama de vectores. Se encuentra distribuida en 98 países, y aproximadamente 350 millones de personas están en riesgo de infección; se estima que entre 500 mil y 2 millones casos nuevos y 20 mil a 50 mil muertes ocurren anualmente en todo el mundo, afectando a un total de 12 millones de personas (Barrett y Croft, 2012).

Los parásitos de *Leishmania* son transmitidos a los hospedadores mediante el vector flebótomo que se alimenta de sangre y libera formas de promastigotes en el sitio de la picadura. Allí crecen dentro de las células del sistema fagocítico mononuclear, especialmente macrófagos, como formas de amastigote.

La presentación clínica depende de factores relacionados con la virulencia del parásito, la respuesta inmune y la susceptibilidad genética del hospedador, así como del sitio de las lesiones (Ashford, 2000; Mokni, 2019).

La leishmaniasis cutánea (LC) se presenta como una roncha inicial que puede volverse escamosa, aumentar de tamaño y convertirse en un nódulo con un borde grueso e indurado con ulceración central. Como secuela de la LC, la leishmaniasis mucosa (LM) es una forma de la enfermedad que afecta la nariz, boca, faringe y laringe, mientras que la leishmaniasis mucocutánea (LMC) implica lesiones tanto cutáneas como mucosas (Reithinger et al., 2007), caracterizada por lesiones intensamente inflamadas y crónicas que se esparcen a otros sitios las cuales son refractarias a terapias (Adui et al., 2016).

Existen parásitos protozoarios que son portadores de virus endosimbiontes de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc). Estos virus no se replican en los hospederos vertebrados, pero su ARNbc genómico, productos génicos o viriones en los parásitos pueden activar el

sistema inmunológico, lo que lleva a complicaciones inflamatorias de la enfermedad (Mertens, 2004).

La relación endosimbionte de los virus en los parásitos de la familia Trypanosomatidae sugiere que la adquisición es antigua. Por esta razón, el entendimiento de la leishmaniasis desde el punto de vista clínico y fisiopatológico representan las bases para explicar las complicaciones de la enfermedad, así como la asociación multifactorial que existe entre el parásito, vector y hombre.

Esta revisión corta proporciona información actualizada del virus que afecta a la *Leishmania* y el impacto que genera en las especies que lo hospedan.

Primeros hallazgos de virus en protozoarios

Los virus son parásitos intracelulares obligados que no tienen metabolismo propio, por lo que necesitan utilizar los recursos de sus hospedadores. Debido a su alta adaptabilidad y diversidad, se les considera los objetos biológicos más abundantes en la Tierra (Forterre, 2010).

Además, tienen una serie de mecanismos para realizar infecciones exitosas desarrolladas a lo largo de su evolución (Dreux et al., 2012). Uno de los mecanismos más estudiados es el uso del exosoma del hospedador parásito, que constituye un conjunto de vesículas extracelulares utilizadas en su biogénesis, propagación y manipulación del microambiente (Chahar et al., 2015).

Las partículas similares a virus (VLP) en protozoos parásitos se describieron por primera vez en *Entamoeba histolítica* en la década de 1960 (Miller and Swartzwelder, 1960). Posteriormente, estudios reportaron estructuras similares en muchos eucariotas unicelulares, como *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis* y miembros de la familia Trypanosomatidae, incluyendo *Leishmania spp.* y *Trypanosoma spp.*, y para algunos de ellos existen estudios que informan VLP basados en microscopía electrónica pero no por

métodos moleculares. El Comité Internacional de Taxonomy of Viruses (ICTV) reconoció solo a la familia Totiviridae (Walker et al., 2019).

Además, esta familia de virus está compuesta por cinco géneros: Giardiavirus, Leishmanivirus (LRV), Trichomonasvirus, Totivirus y Victorivirus, que según ICTV, Leishmania RNA virus 1 (LRV1) y Leishmania RNA virus 2 (LRV2) pertenecen al género Leishmanivirus y que sólo es capaz de infectar al género de *Leishmania spp.*, sin embargo, recientemente también se encontró un miembro de este género en *Blechnomonas spp.*, un tripanosomátido monoxeno que parasita pulgas (Grybchuk et al., 2018).

Este descubrimiento se basó en la observación de ARNbc provenientes de extractos de ARN celular, lo cual facilitó su hallazgo, pero también este método fue aplicado con éxito para virus de ARN monocatenario (ARNmc) (Cai et al., 2009).

El desarrollo de nuevos protocolos basado en la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) y la ultracentrifugación para la purificación viral, combina la identificación molecular con la microscopía electrónica de transmisión y tiene un potencial para facilitar en gran medida la detección viral (de Souza et al., 2014).

Características del leishmanivirus

La familia Totiviridae abarca una amplia gama de virus caracterizados por viriones isométricos, que varían entre 30 a 40 nm de diámetro, cada uno de los cuales contiene una estructura no segmentada en su genoma de ARNbc y generalmente con dos marcos abiertos de lectura (ORF). El LRV es un miembro de esta familia de ARNbc de aproximadamente 5,3 kb en su genoma (Widmer & Patterson, 1991) y se conoce que las especies de LRV1 están asociada con *Leishmania (Viannia)* encontrada exclusivamente en el continente americano, mientras que LRV2 con especies de *Leishmania (Leishmania)* del Viejo Mundo (Zangger et al., 2014).

Además de la diferencia por localización de LRV, también existen en sus ORFs y hay descritos 3 de ellos. El ORF 1 se considera una secuencia de proteína preestablecida y se ha demostrado una homología significativa con proteínas conocidas, mientras que los ORF

2 y 3 codifican una proteína de la cápside (CP) y una de ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRP), respectivamente (Tang et al., 2008). Mientras que LRV1 tiene una superposición entre las regiones que codifican la proteína de la cápside viral y la ARN polimerasa; dicha condición no se observa en LRV2 (Scheffter et al., 1994)

Este conocimiento aporta valiosa información al momento de caracterizar a las especies de Leishmanias y permite posteriormente esclarecer del posible origen de los virus.

Los ARNbc tienen también la característica de replicarse dentro de la cápside por lo que su genoma nunca está expuesto en el citoplasma de la célula, esto le confiere un mecanismo de protección y evasión tanto a la respuesta inmune del hospedero como de la acción antiviral de otras células (Maga et al., 1995).

Reportes de leishmanivirus en aislados de *Leishmania* spp.

Los virus de ARN se han descrito en una variedad de parásitos protozoarios patógenos siendo el primer registro de LRV en la cepa M4147 de *L. guyanensis* en términos moleculares en 1988 (Tarr et al., 1988), y cuatro años más tarde se completó su secuenciación (Stuart, 1992).

En las regiones de América Central y del Sur, estudios basados en análisis de hibridación, se definieron doce tipos de LRV1 (LRV1-1–LRV1-12) (Guilbride et al., 1992), y se detectó que este LRV1 puede infectar a cepas del complejo *L. Viannia* como es el caso de *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) panamensis*, *L. (V.) lainsoni* y del complejo de *L. Mexicana* a *L. amazonensis* (Cantanhêde et al., 2015; Kariyawasam et al., 2017).

No obstante, la comparación de dos regiones genómicas de siete tipos de LRV llevó a la descripción de dos nuevos tipos, LRV1-13 y LRV1-14, detectados en cepas de *L. braziliensis* aisladas de pacientes humanos en Bolivia (Widmer y Dooley, 1995).

Por un tiempo se relacionó que la distribución geográfica y presencia de LRV1 sólo estaba restringida a la cuenca del Amazonas, a pesar de que la *L. braziliensis* había sido identificada en otras regiones del continente americano. Por lo que, un estudio de Oliveira

Ramos Pereira et al. (2013), evaluó muestras clínicas de *L. braziliensis* en el sureste de Brasil, resultando negativas a LRV1.

Más tarde, un estudio de Kariyawasam et al. (2019), detectaron una cepa de *L. guyanensis* positiva para LRV1 lo que refuerza hallazgos recientes de circulación de LRV fuera de la cuenca del Amazonas. Así mismo, Parra-Muñoz et al. (2021), reportaron la presencia de LRV1 en Colombia a partir de muestras clínicas de pacientes con leishmaniasis cutánea.

Interacción inmunológica entre el leishmaniavirus y *Leishmania* spp.

A diferencia de las bacterias y los hongos, los protozoarios del género *Leishmania* son conocidos como inmunológicamente silenciosos, ya que estos parásitos inhiben y contienen un número bajo de moléculas que desencadenen fuertemente una respuesta inmune (Olivier y Zamboni, 2020).

La patogénesis de la enfermedad comienza con una compleja interacción de muchos factores debido a la respuesta inmune innata y adquirida del hospedador, siendo los macrófagos las células dianas del parásito. Esta interacción es mediada por las células T auxiliares tipo 1 (Th1) que también previene que la infección sea crónica y latente. La respuesta está caracterizada por la secreción de citoquinas proinflamatorias (Scott, 2005).

Cuando un protozoario tiene el virus, ha quedado demostrado que el ARNbc interactúa con los receptores tipo Toll-3 (TLR3) para estimular la producción de interferón beta (IFN- β), una citoquina proinflamatoria que conduce a la inflamación crónica y a la supervivencia del parásito (Hartley et al., 2014).

Estudios realizados por Saberi et al. (2019), indican que existe una alta prevalencia de LRV entre los aislados de *Leishmania* spp. del Nuevo Mundo y que este virus está probablemente asociado con lesiones metastásicas de la enfermedad.

Los LRV confieren una ventaja para el parásito al suprimir la inmunidad antileishmanial en el hospedero vertebrado (Brettmann et al., 2016), ya que puede actuar como un inmunomodulador a través de la interacción entre su genoma de ARNbc y TLR3 del

hospedador que conduce a una mayor expresión de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (Ives et al., 2011).

De igual manera, se ha demostrado que la activación de TLR3 por ARNbc viral también conduce a la fosforilación de una proteína quinasa B que facilita la supervivencia y proliferación de macrófagos infectados complicando las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Eren et al., 2016).

Estas complicaciones no sólo se asocian a la presencia del LRV en el parásito, al producir hiperinflamación destructiva en el hospedador que resulta en la gravedad de la enfermedad y la diseminación del parásito (Hartley et al., 2014), sino que también se correlaciona con la carga viral en los parásitos (Zangger et al., 2013).

Algunos estudios utilizan células del linaje monocítico humano y han demostrado que el LRV-1 infectando a *L. (V.) braziliensis* es capaz de disminuir la producción de citoquinas Th1 y aumentar las citoquinas Th2, lo que se relaciona con un pobre control inmunológico y una mayor severidad de la enfermedad (Kariyawasam et al., 2020).

¿Cómo se transmite el LRV-1 de un parásito a otro?

Los ensayos realizados por Atayde et al. (2019), demostraron, mediante análisis bioquímicos y microscopía electrónica, que los exosomas del parásito transportan ARNbc de LRV-1; así mismo, sus ensayos con modelos murinos revelaron que los parásitos recién infectados con LRV-1 mediante exosomas generan lesiones más graves en comparación con los no infectados.

CONCLUSIÓN

La comprensión de la fisiopatología de la leishmaniasis y la relación endosimbiótica entre el parásito *Leishmania* con el leishmaniavirus representan las bases que conducen a la aplicación de mejores estrategias para la prevención y el control de la enfermedad. En este sentido, las investigaciones enfocadas en demostrar lo que ocurre en la infección cuando el virus está presente determina el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas e inmunológicas.

Por último, es fundamental el reporte de lo que se conoce hasta el momento de este virus dado su alto potencial de mutación, evasión de los mecanismos de defensas y el establecimiento del parásito de forma crónica y agresiva en el hospedador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adaui, V., Lye, L. F., Akopyants, N. S., Zimic, M., Llanos-Cuentas, A., Garcia, L., Maes, I., de Doncker, S., Dobson, D. E., Arevalo, J., Dujardin, J. C., & Beverley, S. M. (2016). Association of the endobiont double-stranded RNA virus LRV1 with treatment failure for human leishmaniasis caused by leishmania braziliensis in Peru and Bolivia. *Journal of Infectious Diseases*, 213(1), 112–121. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv354>
- Atayde, V. D., da Silva Lira Filho, A., Chaparro, V., Zimmermann, A., Martel, C., Jaramillo, M., & Olivier, M. (2019). Exploitation of the Leishmania exosomal pathway by Leishmania RNA virus 1. *Nature Microbiology*, 4(4), 714–723. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0352-y>
- Barrett, M. P., & Croft, S. L. (2012). Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. In *British Medical Bulletin* (Vol. 104, Issue 1, pp. 175–196). <https://doi.org/10.1093/bmb/lds031>
- Brettmann, E. A., Shaik, J. S., Zangger, H., Lye, L. F., Kuhlmann, F. M., Akopyants, N. S., Oswald, D. M., Owens, K. L., Hickerson, S. M., Ronet, C., Fasel, N., & Beverley, S. M. (2016). Tilting the balance between RNA interference and replication eradicates Leishmania RNA virus 1 and mitigates the inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(43), 11998–12005. <https://doi.org/10.1073/pnas.1615085113>
- Cai, G., Myers, K., Hillman, B. I., & Fry, W. E. (2009). A novel virus of the late blight pathogen, *Phytophthora infestans*, with two RNA segments and a supergroup 1 RNA-dependent RNA polymerase. *Virology*, 392(1), 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.06.040>
- Cantanhêde, L. M., da Silva Júnior, C. F., Ito, M. M., Felipin, K. P., Nicolete, R., Salcedo, J. M. V., Porrozi, R., Cupolillo, E., & Ferreira, R. de G. M. (2015). Further Evidence of an Association between the Presence of Leishmania RNA Virus 1 and the Mucosal Manifestations in Tegumentary Leishmaniasis Patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004079>
- Chahar, H. S., Bao, X., & Casola, A. (2015). Exosomes and their role in the life cycle and pathogenesis of RNA viruses. In *Viruses* (Vol. 7, Issue 6, pp. 3204–3225). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/v7062770>
- de Oliveira Ramos Pereira, L., Maretti-Mira, A. C., Rodrigues, K. M., Lima, R. B., de Oliveira-Neto, M. P., Cupolillo, E., Pirmez, C., & de Oliveira, M. P. (2013). Severity of tegumentary leishmaniasis is not exclusively associated with Leishmania RNA virus 1 infection in Brazil.

Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz, 108(5), 665–667. <https://doi.org/10.1590/0074-0276108052013021>

de Souza, M. M., Manzine, L. R., da Silva, M. V. G., Bettini, J., Portugal, R. V., Cruz, A. K., Arruda, E., & Thiemann, O. H. (2014). An improved purification procedure for Leishmania RNA virus (LRV). In *Brazilian Journal of Microbiology* (Vol. 45, Issue 2). <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000200044>

Dreux, M., Garaigorta, U., Boyd, B., Décembre, E., Chung, J., Whitten-Bauer, C., Wieland, S., & Chisari, F. v. (2012). Short-range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell Host and Microbe*, 12(4), 558–570. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.010>

Eren, R. O., Reverte, M., Rossi, M., Hartley, M. A., Castiglioni, P., Prevel, F., Martin, R., Desponds, C., Lye, L. F., Drexler, S. K., Reith, W., Beverley, S. M., Ronet, C., & Fasel, N. (2016). Mammalian Innate Immune Response to a Leishmania-Resident RNA Virus Increases Macrophage Survival to Promote Parasite Persistence. *Cell Host and Microbe*, 20(3), 318–328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.08.001>

Forterre, P. (2010). Defining Life: The Virus Viewpoint. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 40(2), 151–160. <https://doi.org/10.1007/s11084-010-9194-1>

Grybchuk, D., Akopyants, N. S., Kostygov, A. Y., Konovalovas, A., Lye, L. F., Dobson, D. E., Zangger, H., Fasel, N., Butenko, A., Frolov, A. O., Votýpka, J., D'Avila-Levy, C. M., Kulich, P., Moravcová, J., Plevka, P., Rogozin, I. B., Serva, S., Lukeš, J., Beverley, S. M., & Yurchenko, V. (2018). Viral discovery and diversity in trypanosomatid protozoa with a focus on relatives of the human parasite Leishmania. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(3), E506–E515. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717806115>

Guilbride, L., Myler, P. J., & Stuart, K. (1992). Distribution and sequence divergence of LRV1 viruses among different Leishmania species. In *Molecular and Biochemical Parasitology* (Vol. 54, Issue 1). [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(92\)90099-6](https://doi.org/10.1016/0166-6851(92)90099-6)

Hartley, M. A., Drexler, S., Ronet, C., Beverley, S. M., & Fasel, N. (2014). The immunological, environmental, and phylogenetic perpetrators of metastatic leishmaniasis. In *Trends in Parasitology* (Vol. 30, Issue 8, pp. 412–422). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.05.006>

Ives, A., Ronet, C., Prevel, F., Ruzzante, G., Fuertes-Marraco, S., Schutz, F., Zangger, H., Revaz-Breton, M., Lye, L. F., Hickerson, S. M., Beverley, S. M., Acha-Orbea, H., Launois, P., Fasel, N., & Masina, S. (2011). Leishmania RNA virus controls the severity of mucocutaneous leishmaniasis. *Science*, 331(6018), 775–778. <https://doi.org/10.1126/science.1199326>

Kariyawasam, R., Grewal, J., Lau, R., Pursell, A., Valencia, B. M., Llanos-Cuentas, A., & Boggild, A. K. (2017). Influence of Leishmania RNA Virus 1 on Proinflammatory Biomarker

Expression in a Human Macrophage Model of American Tegumentary Leishmaniasis. *Journal of Infectious Diseases*, 216(7), 877–886. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix416>

Kariyawasam, R., Lau, R., Valencia, B. M., Llanos-Cuentas, A., & Boggild, A. K. (2020). Leishmania RNA Virus 1 (LRV-1) in leishmania (viannia) braziliensis isolates from Peru: A description of demographic and clinical correlates. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(2), 280–285. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0147>

Kariyawasam, R., Mukkala, A. N., Lau, R., Valencia, B. M., Llanos-Cuentas, A., & Boggild, A. K. (2019). Virulence factor RNA transcript expression in the Leishmania Viannia subgenus: Influence of species, isolate source, and Leishmania RNA virus-1. *Tropical Medicine and Health*, 47(1). <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0153-x>

Maga, J. A., Widmer, G., & LeBowitz, J. H. (1995). Leishmania RNA virus 1-mediated cap-independent translation. In *Molecular and Cellular Biology* (Vol. 15, Issue 9). <https://doi.org/10.1128/mcb.15.9.4884>

Mertens, P. (2004). The dsRNA viruses. *Virus Research*, 101(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2003.12.002>

Miller, J. H., & Swartzwelder, J. C. (1960). Virus-like Particles in an Entamoeba histolytica Trophozoite. In *The Journal of Parasitology* (Vol. 46, Issue 4). <https://doi.org/10.2307/3275152>

Mokni, M. (2019). Cutaneous leishmaniasis. In *Annales de Dermatologie et de Venereologie* (Vol. 146, Issue 3, pp. 232–246). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2019.02.002>

Néris, P. L. N., Caldas, J. P. A., Rodrigues, Y. K. S., Amorim, F. M., Leite, J. A., Rodrigues-Mascarenhas, S., Barbosa-Filho, J. M., Rodrigues, L. C., & Oliveira, M. R. (2013). Neolignan Licarin A presents effect against Leishmania (Leishmania) major associated with immunomodulation in vitro. *Experimental Parasitology*, 135(2), 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.07.007>

Olivier, M., & Zamboni, D. S. (2020). Leishmania Viannia guyanensis, LRV1 virus and extracellular vesicles: a dangerous trio influencing the faith of immune response during mucocutaneous leishmaniasis. In *Current Opinion in Immunology* (Vol. 66, pp. 108–113). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.08.004>

Parra-Muñoz, M., Aponte, S., Ovalle-Bracho, C., Saavedra, C. H., & Echeverry, M. C. (2021). detection of leishmania RNA virus in clinical samples from cutaneous leishmaniasis patients varies according to the type of sample. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(1), 233–239. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.20-0073>

Reithinger, R., Dujardin, J. C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., & Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. In *Lancet Infectious Diseases* (Vol. 7, Issue 9, pp. 581–596). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70209-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70209-8)

- Saberi, R., Fakhar, M., Mohebali, M., Anvari, D., & Gholami, S. (2019). Global status of synchronizing Leishmania RNA virus in Leishmania parasites: A systematic review with meta-analysis. In *Transboundary and Emerging Diseases* (Vol. 66, Issue 6, pp. 2244–2251). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/tbed.13316>
- Scheffter, S., Widmer, G., & Patterson, J. L. (1994). Complete Sequence of Leishmania RNA Virus 1-4 and Identification of Conserved Sequences. In *Virology* (Vol. 199, Issue 2, pp. 479–483). <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1149>
- Scott, P. (2005). Immunologic memory in cutaneous leishmaniasis. In *Cellular Microbiology* (Vol. 7, Issue 12, pp. 1707–1713). <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00626.x>
- Stuart, K. D., Weeks, R., Guilbride, L., & Myler, P. J. (1992). Molecular organization of Leishmania RNA virus 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(18), 8596–8600. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.18.8596>
- Tang, J., Ochoa, W. F., Sinkovits, R. S., Poulos, B. T., Ghabrial, S. A., Lightner, D. v., Baker, T. S., & Nibert, M. L. (2008). Infectious myonecrosis virus has a totivirus-like, 120-subunit capsid, but with fiber complexes at the fivefold axes. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Vol. 105, Issue 45). <https://doi.org/10.1073/pnas.0806724105>
- Tarr, P. I., Aline, R. F., Smiley, B. L., Scholler, J., Keithly, J., & Stuart, K. (1988). LR1: A candidate RNA virus of Leishmania. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Vol. 85, Issue 24). <https://doi.org/10.1073/pnas.85.24.9572>
- Tsirigotakis, N., Pavlou, C., Christodoulou, V., Dokianakis, E., Kourouniotis, C., Alten, B., Antoniou, M., Tsirigotakis, N., Christodoulou, V., Poulakakis, N., Antoniou, M., Engel, P., Moran, N. A., Sunter, J., Gull, K., BLUM, J. J., Marayati, B. F., Schal, C., Ponnusamy, L., ... Bates, P. A. (2018). Chapter 7 – Reduviid Predators. In *Parasites and Vectors* (Vol. 3, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1261-z>
- Walker, P. J., Siddell, S. G., Lefkowitz, E. J., Mushegian, A. R., Dempsey, D. M., Dutilh, B. E., Harrach, B., Harrison, R. L., Hendrickson, R. C., Junglen, S., Knowles, N. J., Kropinski, A. M., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Nibert, M., Rubino, L., Sabanadzovic, S., Simmonds, P., Varsani, A., ... Davison, A. J. (2019). Changes to virus taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2019). *Archives of Virology*, 164(9), 2417–2429. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04306-w>
- Widmer, G., & Dooley, S. (1995). Phylogenetic analysis of Leishmania RNA virus and leishmania suggests ancient virus-parasite association. In *Nucleic Acids Research* (Vol. 23, Issue 12). <https://doi.org/10.1093/nar/23.12.2300>
- Widmer, G., & Patterson, J. L. (1991). Genomic structure and RNA polymerase activity in Leishmania virus. In *Journal of Virology* (Vol. 65, Issue 8). <https://doi.org/10.1128/jvi.65.8.4211-4215.1991>

Zangger, H., Ronet, C., Desponds, C., Kuhlmann, F. M., Robinson, J., Hartley, M. A., Prevel, F., Castiglioni, P., Pratlong, F., Bastien, P., Müller, N., Parmentier, L., Saravia, N. G., Beverley, S. M., & Fasel, N. (2013). Detection of Leishmania RNA Virus in Leishmania Parasites. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002006>