

***Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: ¿nativa o introducida? Una breve revisión**

Leishmania chagasi Cunha & Chagas, 1937: indigenous or introduced?

A brief review *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: nativa ou introduzida? Uma breve revisão

Fernando Tobias Silveira

Seção de Parasitologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Carlos Eduardo Pereira Corbett

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil

RESUMEN

Esta revisión aborda la etiología de la leishmaniasis visceral americana debido a una reciente polémica sobre el origen de su agente etiológico, la *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937. Como se sabe, este parásito fue destruido como una nueva especie de *Leishmania* en razón de su incapacidad de producir, experimentalmente, la leishmaniasis visceral en el perro doméstico; este carácter la diferenció de otro agente etiológico ya conocido de leishmaniasis visceral en la Cuenca del Mediterráneo en Europa: *Leishmania infantum* Nicolle, 1908. Luego de 50 años de la descripción de la *Leishmania chagasi*, el género *Leishmania* ha sufrido amplia revisión y el parásito fue reclasificado como un miembro del subgénero *Leishmania*, especie *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Recientemente, en seguida a un análisis molecular usando la técnica de amplificación aleatoria polimórfica del DNA (RAPD), que comparó *L. (L.) chagasi* con *L. (L.) infantum*, se concluye que ambos parásitos eran genéticamente indistinguibles y, por lo tanto, que *L. (L.) chagasi* era sinónimo de *L. (L.) infantum*. Por ese motivo, esta revisión buscó agregar todo el conocimiento sobre la ecoepidemiología de *L. (L.) chagasi* en la Amazonía brasileña, principalmente acerca de los hábitos silvestres de su flebótomo vector, *Lutzomyia longipalis*, y su reservorio vertebrado, el zorro de campo *Cercyon thous*, con el propósito de demostrar que no se debe ser negligente con *L. (L.) chagasi* en el escenario parasitológico de la leishmaniasis visceral en el Nuevo Mundo; debe ser considerada, al menos en un nivel subespecífico, como *Leishmania (L.) infantum chagasi*.

Palabras clave: *Leishmania*; Leishmaniasis Visceral; *Leishmania chagasi*.

REVISIÓN HISTÓRICA SOBRE EL ESTATUS TAXONÓMICO DEL AGENTE ETIOLÓGICO DE LA LEISHMANIASIS VISCERAL AMERICANA

El agente etiológico de la leishmaniasis visceral americana (LVA) fue descrito por primera vez por Cunha y Chagas³, habiendo recibido el nombre específico de *chagasi*, un parásito protozooario perteneciente a la familia Trypanosomatidae Doflein, 1901 emend Grobben, 1905 y al género *Leishmania* Ross, 1903. La decisión de considerarlo una nueva especie de *Leishmania* se debió a los repetidos resultados negativos que se siguieron a los intentos de infección experimental de perros por el parásito, lo que lo distinguió del otro agente etiológico de la leishmaniasis visceral ya conocido en algunos países europeos de la Cuenca del Mediterráneo, *Leishmania infantum* Nicolle, 1908. Sin embargo, solamente cincuenta años después de la descripción de *Leishmania chagasi*, Lainson y Shaw¹⁰ realizaron una revisión profunda del género *Leishmania* y reclasificaron el parásito como miembro del subgénero *Leishmania* Safjanova 1982 (= Ross 1903), especie *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Recientemente, luego de una amplia comparación entre varias cepas de *L. (L.) chagasi* que habían sido aisladas en diferentes orígenes y países de América del Sur, particularmente Brasil (en humanos, perros domésticos y zorro de monte *Cercyon thous*), y cepas de *L. (L.) infantum* originadas del área endémica para leishmaniasis visceral en países europeos de la Cuenca del Mediterráneo, tales como Portugal y España, la técnica de amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD) demostró que las secuencias de ADN de ambas especies de parásito eran idénticas. Por este motivo, los autores del referido análisis concluyeron que *L. (L.) chagasi* es sinónimo de *L. (L.) infantum* y, consecuentemente, propusieron que *L. (L.) chagasi* no debería ser considerado una especie válida¹⁵.

Más recientemente, sin embargo, Lainson y Shaw¹¹ defendieron mantener el parásito en un nivel subespecífico, como *Leishmania (L.) infantum chagasi*, con base en sus características etiológicas, como el hábitat silvestre de su flebótomo vector, *Lutzomyia longipalpis*⁷, y su reservorio vertebrado natural, el zorro de monte *Cercyon thous*²⁰, así como en las diferencias previamente establecidas entre los perfiles de los fragmentos de kADN de *L. (L.) chagasi* y *L. (L.) infantum*, demostradas por el uso de la técnica de digestión por endonucleasas de restricción^{6,5}, de proteínas de superficie radioiodinadas en sus formas promastigotes, de la generación de anticuerpos monoclonales contra superficies promastigotes¹⁸ y de estudios comparativos de radorrespirometría⁴.

Correspondence / Correspondência / Correspondencia:

Fernando Tobias Silveira
Instituto Evandro Chagas, Seção de Parasitologia
Rodovia BR 316, km 07, s/nº. Bairro: Levilândia
CEP: 67030-000 Ananindeua-Pará-Brasil
E-mail: fernandotobias@iec.pa.gov.br

Traducido por / Traduzido por / Translated by:

Lota Moncada

EL ACTUAL DILEMA A RESPECTO DEL ORIGEN DE *LEISHMANIA CHAGASI*: ¿NATIVA O INTRODUCIDA?

A pesar de los comprensibles argumentos presentados por Lainson y Shaw¹¹ defendiendo mantener el nombre científico de *L. (L.) i. chagasi* en un nivel subespecífico, lo que parece ser absolutamente justificable, llevando en consideración su largo histórico científico de más de cincuenta años de trabajos publicados con respecto a la ecoepidemiología, las manifestaciones clínicas y la inmunopatología de la enfermedad causada por este parásito en América, algunos autores^{15,16,14} han intentado descalificar cualquier esfuerzo para mantener este parásito, sea a nivel específico, *L. (L.) chagasi* Lainson and Shaw, 1987, sea a nivel subespecífico *L. (L.) i. chagasi* Lainson and Shaw, 2005. Para esos autores, apenas *L. (L.) infantum* y *L. (L.) donovani* serían reconocidos como agentes etiológicos de la leishmaniasis visceral, siendo que el primero se encuentra en las áreas endémicas de la Cuenca del Mediterráneo, en Europa, en el norte de África y en las Américas Central y del Sur, y el segundo, en las áreas endémicas de India, este de África y Oriente Medio.

Delante de lo expuesto, creemos oportuno expresar nuestra opinión con relación a la propuesta taxonómica de Mauricio et al^{15,16}, que utilizó el análisis molecular del ADN del parásito como criterio único y definitivo para decidir sobre la originalidad de la especie de *Leishmania* en estudio. Es necesario destacar que la definición de una especie no puede basarse tan sólo en sus características filogenéticas, sino también en sus aspectos biológicos, fenéticos y fenotípicos, resultantes de su carga parásito-genómica, y sus interacciones con el medio ambiente. Consecuentemente, para manejarlos, deben llevarse en consideración conceptos y tecnologías de la genética moderna²⁴. A este respecto, parece claro que Mauricio et al^{15,16} ignoraron aspectos fenotípicos utilizados para clasificar a los parásitos de *Leishmania*, tales como: la morfología de las formas amastigotes y promastigotes; el comportamiento biológico experimental del parásito en animales domésticos y salvajes, bien como en vectores flebótomos; y la inmunología, la bioquímica, la ecoepidemiología y patología, o sea, las manifestaciones clínicas de la infección^{10,19}.

En contraposición a lo defendido por estos autores^{15,16,14}, que *L. (L.) chagasi* (sinónimo de *L. (L.) infantum*) habría sido introducido en América durante la colonización, dos cuestionamientos deben considerarse antes de cualquier afirmación. Primero, considerando que los primeros casos de LVA en Brasil fueron diagnosticados en 1934¹⁷, ¿cómo explicar que, en un corto intervalo de tiempo, poco más de 400 años de colonización, *L. (L.) infantum* se haya vuelto capaz de rápidamente sobrevivir en *Cercaria thous*, que, diferentemente del perro doméstico, no presenta cualquier señal o síntoma debido a la acción patógena inducida por el parásito? Esta adaptación refleja un estadio de coexistencia entre el parásito y su huésped vertebrado generalmente aceptado luego de un largo proceso interactivo entre aquél y la respuesta inmune de éste, lo que ocurre tan sólo luego de miles de años. Segundo, *L. (L.) infantum*, que estaba adaptado a su vector flebótomo, *Phlebotomus dubosqi*, en países endémicos de Europa,

tendría que haberse adaptado rápidamente a otra especie de vector flebótomo, *Lutzomyia longipalpis*, originario de un continente que presenta condiciones climáticas y ecología completamente distintas a las observadas en el continente europeo. Además, es importante destacar evidencias recientes que sugieren que este proceso de especialización entre el parásito y su vector flebótomo está fuertemente influenciado por una interacción específica entre las moléculas de ligandos glicoconjugados, especialmente el lipofosfoglicano (LPG), presentes en la membrana plasmática de superficie de las formas promastigotes metacíclicas de las especies de *Leishmania* y sus receptores en la membrana de las células epiteliales de la pared del intestino medio del vector flebótomo^{2,22,21}. El LPG fue implicado como una molécula de adhesión específica que intermedia la interacción entre *Leishmania* y el epitelio del intestino medio del vector flebótomo. Delante de esto, debería suponerse que *L. (L.) infantum*, que es transmitido naturalmente por *Phlebotomus dubosqi*, sería capaz de adaptarse rápidamente al epitelio del intestino medio de *Lutzomyia longipalpis*, un vector flebótomo de especie y género completamente diferentes de *L. (L.) infantum* encontrado en un área endémica de Europa.

Como afirmado anteriormente, este proceso de especialización entre el parásito, su vector biológico y su reservorio salvaje, que caracteriza un ciclo enzoótico natural de las especies de *Leishmania*, fue bastante fundamentado en el caso de un parásito de *Leishmania* ser muy próximo a un parásito de *L. (L.) chagasi* aislado de las vísceras (hígado y bazo) de tres zorros cangrejeros salvajes *Cercaria thous* saludables, capturados en un área de bosque periurbano denominado "Parque Ambiental do Utinga" (Figura 1), próximo a Belém, Estado de Pará, Amazonía Brasileña, en donde no hay evidencias de enfermedades en humanos o en cánidos hasta el presente. Sin embargo, ya ha sido comprobado que este parásito de *Leishmania* causa infección visceral letal en hámsteres dorados luego de tres meses de inoculación vía intraperitoneal¹². Por tanto, considerando que esta área todavía no está habitada ni por humanos ni por perros, este descubrimiento representa una fuerte evidencia de la existencia de un ciclo enzoótico indígena de parásitos de *L. (L.) chagasi*-like en la Amazonía Brasileña, que seguramente tuvo su origen antes del histórico reciente de la colonización del Continente Americano.



a: Estación de tratamiento de agua de la Compañía de Saneamiento de Pará; b: Lago Água Preta, fuente natural de agua potable de la Compañía de Saneamiento de Pará.

Figura 1 – El Parque Ambiental do Utinga, en área de bosque periurbano próximo a la Ciudad de Belém, capital del Estado de Pará, Brasil

Otro punto que contradice la hipótesis evolucionista^{15,16,14}, que está de acuerdo con la tesis de que el género *Leishmania* tuvo origen en América del Sur en el Paleoceno o el Eoceno, con posterior diversificación luego de su migración para Asia, dice respecto a la interpretación de lo que sucedió con el ancestral de *Leishmania* que migró para el continente asiático. La hipótesis evolucionista afirma que ningún ancestral de *Leishmania* permaneció en América del Sur. Sin embargo, ¿cómo explicar el origen de un vasto número de especies de *Leishmania* existente en la región? En verdad, hay más de veinte especies de *Leishmania* reconocidas que pertenecen a los subgéneros *Leishmania* y *Viannia*, incluyendo a *L. (L.) chagasi*, el único parásito de *Leishmania* responsable por la LVA¹¹.

CONSIDERACIONES FINALES

Considerando los argumentos antes mencionados, dos aspectos importantes deben ser destacados. El primero se refiere a la considerable especulación acerca de la hipótesis evolucionista propuesta por Lukes et al¹⁴, basada en el análisis filogenético entre *L. (L.) chagasi* y *L. (L.) infantum*. Como ya hemos dicho, a pesar de haber sido demostrada una gran semejanza filogenética entre estos dos parásitos, los autores han propuesto que el género *Leishmania* habría tenido origen en América del Sur, en el Paleoceno o el Eoceno, con posterior diversificación luego de su migración a Asia. Este hecho produjo dos ramificaciones: *Leishmania donovani*, en el subcontinente indio, y *Leishmania infantum*, en el continente europeo. Más recientemente, también fue sugerido que *Leishmania infantum* habría sido introducido en América por sus colonizadores. Esta hipótesis evolucionista parece ser especulativa y contradictoria: es imposible creer que un ancestral de *Leishmania* migraría al continente asiático sin dejar un parásito descendiente en su lugar de origen. Recientemente, en el Parque Ambiental do Utinga, en la misma área en que Lainson et al¹² encontraron un parásito *L. (L.) chagasi*-like de una infección visceral natural en un zorro *Cercopithecus thous*, fue identificado un parásito de *Leishmania* en *Lutzomyia tuberculata*, *Leishmania (Viannia) utingensis* Braga, Lainson, Ishikawa y Shaw¹. No hay registros de este parásito fuera de la localidad tipo en la que fue aislado por primera vez, lo que demuestra claramente que, como en otros parásitos de *L.*

(*L.*) *chagasi*-like, existen ciclos enzoóticos indígenas cerrados de parásitos de *Leishmania* en el Nuevo Mundo que indudablemente descendieron directamente de un ancestral indígena de *Leishmania*. De acuerdo con estos datos, también se debe destacar el hallazgo reciente de *Lutzomyia longipalpis* en un área de bosque dentro de la sede del Instituto Evandro Chagas, en el Municipio de Ananindeua, Estado de Pará, Brasil²³, área esta contigua al Parque Ambiental do Utinga. Este hecho confirma la existencia de un ciclo enzoótico indígena de *L. (L.) chagasi* en esta área, en la que no hay ninguna evidencia de enfermedad visceral humana o canina.

El segundo aspecto a ser considerado son los criterios (morfología, biología experimental, ecoepidemiología, inmunología, bioquímica y patogenicidad) utilizados para la identificación y clasificación de los parásitos de *Leishmania*, ampliamente discutidos por Lainson y Shaw¹⁰ en su última revisión del género *Leishmania*. Como recientemente observado por Tibayrenc²⁴, a pesar de haber sido reconocidas grandes ventajas en el análisis del ADN de *Leishmania* por medio de técnicas de biología molecular para diferentes objetivos, el análisis de ADN debe ser utilizado como una herramienta complementar para la identificación precisa de una especie de *Leishmania*, y no como un factor determinante en su identificación. De este modo, no podemos omitir la importancia de algunos estudios acerca, principalmente, de la originalidad de la biología y la ecoepidemiología de *L. (L.) chagasi* en América^{7,20,12,13,9,8}.

En conclusión, no estamos de acuerdo con la propuesta de descalificar a *L. (L.) chagasi*, que ha sido reconocido durante más de cincuenta años como el agente etiológico de LVA, con base en la similitud de su ADN con el de *L. (L.) infantum*. Este hallazgo, por sí solo, no confirma sus características taxonómicas de forma suficiente para anular todo el conocimiento científico acumulado sobre este parásito de *Leishmania* en los últimos cincuenta años. Por lo tanto, creemos que la mejor decisión a ser tomada en referencia a este tema sería la de mantener el estatus subespecífico del agente etiológico de LVA como *L. (L.) i. chagasi*, como propuesto por Lainson y Shaw¹¹ en su última revisión de los parásitos neotropicales de *Leishmania* con importancia médica.

Leishmania chagasi Cunha & Chagas, 1937: indigenous or introduced?

RESUMO

Esta revisão aborda a etiologia da leishmaniose visceral americana devido a uma recente polêmica sobre a origem do seu agente etiológico, a *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937. Conforme é sabido, este parasito foi descrito como uma nova espécie de *Leishmania* em razão da sua incapacidade de produzir, experimentalmente, a leishmaniose visceral no cão doméstico; este caráter a diferenciou de outro agente etiológico já conhecido da leishmaniose visceral na Bacia do Mediterrâneo na Europa: *Leishmania infantum* Nicolle, 1908. Após 50 anos da descrição da *Leishmania chagasi*, o gênero *Leishmania* sofreu ampla revisão e o parasito foi reclassificado como um membro do subgênero *Leishmania*, espécie *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Recentemente, em seguida a uma análise molecular usando a técnica da amplificação aleatória polimórfica do DNA (RAPD), que comparou a *L. (L.) chagasi* com a *L. (L.) infantum*, foi concluído que ambos os parasitos eram geneticamente indistinguíveis e, portanto, que a *L. (L.) chagasi* era sinônimo de *L. (L.) infantum*. Por esse motivo, esta revisão procurou agregar todo o conhecimento sobre a eco-epidemiologia da *L. (L.) chagasi* na Amazônia brasileira, principalmente acerca dos hábitos silvestres de seu flebotomíneo vetor, *Lutzomyia longipalpis*, e seu reservatório vertebrado, a raposa do campo *Cercopithecus thous*, com o propósito de demonstrar que a *L. (L.) chagasi* não pode ser negligenciada do cenário parasitológico da leishmaniose visceral no Novo Mundo; ela deve ser considerada, pelo menos em um nível subespecífico, como *Leishmania (L.) infantum chagasi*.

Palavras-chave: *Leishmania*; Leishmaniose Visceral; *Leishmania chagasi*.

***Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: indigenous or introduced? A brief review**

ABSTRACT

This review focused on the etiology of American visceral leishmaniasis due to a recent polemic regarding the origin of its etiological agent, *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937. This parasite was described as a new *Leishmania* species in light of its inability to produce experimentally visceral disease in domestic dogs; this characteristic distinguished it from the other prior known etiologic agent of visceral leishmaniasis in the Mediterranean Basin of Europe, *Leishmania infantum* Nicolle, 1908. After 50 years of *Leishmania chagasi* investigation, the genus *Leishmania* was reviewed and the parasite was reclassified as a member of the subgenus *Leishmania*, species *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Recently, after molecular analysis using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique that compared *L. (L.) chagasi* with *L. (L.) infantum*, it was concluded that these species were genetically indistinguishable and, therefore, *L. (L.) chagasi* was regarded as synonymous with *L. (L.) infantum*. For this reason, this review has evaluated all knowledge concerning the eco-epidemiology of *L. (L.) chagasi* in the Brazilian Amazon, principally in regard to the sylvatic habits of its phlebotomine sandfly vector, *Lutzomyia longipalpis*, and its vertebrate reservoir, the wild fox *Cerdocyon thous*, with the aim of showing that *L. (L.) chagasi* cannot be neglected from the parasitological investigation of visceral leishmaniasis in the New World; it must be considered, at least, at the subspecific level as *Leishmania (L.) infantum chagasi*.

Keywords: *Leishmania*; Leishmaniasis, Visceral; *Leishmania chagasi*.



REFERENCIAS

- 1 Braga RR, Lainson R, Ishikawa EA, Shaw JJ. *Leishmania (Viannia) utingensis* n. sp., a parasite from the sandfly *Lutzomyia (Viannomyia) tuberculata* in Amazonian Brazil. Parasite. 2003 Jun;10(2):111-8.
- 2 Butcher BA, Turco SJ, Hilty BA, Pimenta PF, Panunzio M, Sacks DL. Deficiency in β 1,3-galactosyltransferase of a *Leishmania major* lipophosphoglycan mutant adversely influences the *Leishmania*-sand fly interaction. J Biol Chem. 1996 Aug;271(34):20573-9.
- 3 Cunha AM, Chagas E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem. *Leishmania chagasi* n.sp. Nota prévia. Hospital (Rio J) 1937;11:3-9.
- 4 Decker-Jackson FE, Tang DB. Identification of *Leishmania* spp. by radiorespirometry: II. A statistical method of data analysis to evaluate the reproductibility and sensitivity of the technique. In: Chance ML, Walton BC, editors. Biochemical Characterization of *Leishmania*. Geneva: Pan American Health Organization; 1982. p. 205-45.
- 5 Jackson PR, Stiteler JM, Wohlieter JA, Reed SG, Badaró R, Inverso JA, et al. Characterization of *Leishmania* responsible for visceral disease in Brazil by restriction endonuclease digestion and hybridization of kinetoplastic DNA. In: 11th Congress International Tropical Medicine and Malaria, Calgary, Canada; 1984. p. 68.
- 6 Jackson PR, Wohlieter JA, Hockmeyer WT. *Leishmania* characterization by restriction endonuclease digestion of kinetoplastic DNA. 5th Congress International Parasitology, Toronto, Canada; 1982. p. 342.
- 7 Lainson R, Dye C, Shaw JJ, MacDonald DW, Courtenay O, Souza AAA, et al. Amazonian visceral leishmaniasis – distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990 Jan-Mar;85(1):135-7.
- 8 Lainson R, Ishikawa EA, Silveira FT. American visceral leishmaniasis: wild animal hosts. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 2002 Nov-Dec;96(6):30-1.
- 9 Lainson R, Shaw JJ. A brief history of the genus *Leishmania* (Protozoa: Kinetoplastida) in the Americas with particular reference to Amazonian Brazil. Cienc Cult. 1992 Mar-Abr;44(2-3):94-106.
- 10 Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peteers W, Killick-Kendrick R, editors. The Leishmaniasis in Biology and Medicine. London: Press Inc; 1987. p. 12-120.
- 11 Lainson R, Shaw JJ. Leishmaniasis in the new world. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th ed. London: E Arnold; 2005. p. 313-49.
- 12 Lainson R, Shaw JJ, Lins ZC. Leishmaniasis in Brazil: IV. The fox, *Cerdocyon thous* (L) as a reservoir of *Leishmania donovani* in Para State, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1969;63(6):741-5.
- 13 Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Braga RR. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1987;81(3):517.

- 14 Lukes J, Mauricio IL, Schönian G, Dujardin JC, Soteriadou K, Dedet JP, et al. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 May;104(22):9375-80.
- 15 Mauricio IL, Howard MK, Stothard JR, Miles MA. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. *Parasitology*. 1999 Sep;119(Pt 3):237-46.
- 16 Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today*. 2000 May;16(5):188-9.
- 17 Penna HA. Leishmaniose visceral no Brasil. *Bras Med*. 1934;48:949-50.
- 18 Santoro F, Lemesre JL, Rizvi FS, Afchain D, Sadogirsky M. Spécificité au niveau de protéines de surface des promastigotes de *Leishmania donovani* (Laveran et Mesnil, 1903), *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 et *Leishmania chagasi* Cunha et Chagas, 1937. In: Rioux JA, editor. *Leishmania*. Taxonomie et Phylogénèse. Applications Éco-Épidémiologiques. Colloque International; 1984 July 2-6; Montpellier: L'Institut Méditerranéen d'Études Épidémiologiques et Écologiques; 1986. p. 71-6.
- 19 Silveira FT, Ishikawa EA, Souza AAA, Lainson R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania* (*Viannia*) *lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. *Parasite*. 2002 Mar;9(1):43-50.
- 20 Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Póvoa MM. Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous* (L) as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1982;76(6):830-2.
- 21 Soares RP, Cardoso TL, Barron T, Araújo MS, Pimenta PF, Turco SJ. *Leishmania braziliensis*: a novel mechanism in the lipophosphoglycan regulation during metacyclogenesis. *Int J Parasitol*. 2005 Mar;35(3):245-53.
- 22 Soares RP, Macedo ME, Ropert C, Gontijo NF, Almeida IC, Gazzinelli RT. *Leishmania chagasi*: lipophosphoglycan characterization and binding to the midgut of the sand fly vector *Lutzomyia longipalpis*. *Mol Biochem Parasitol*. 2002 May;121(2):213-24.
- 23 Souza AAA, Silveira FT, Silva FMM, Silva LA, Leão EF, Barata IR, et al. Flebotomíneos capturados e identificados no Campus II do Instituto Evandro Chagas – Ananindeua – Estado do Pará, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42 Supl 1:441.
- 24 Tibayrenc M. The species concept in parasites and other pathogens: a pragmatic approach? *Trends in Parasitol*. 2006 Feb;22(2):66-70.

Recebido em / Recibido em / Received: 1/21/2010
Aceito em / Aceito em / Accepted: 6/25/2010