

# *Leishmania naiffi* et *lainsoni* en Guyane française: caractéristiques cliniques et variabilité phylogénétique

Océane Ducharme, Stéphane Simon, Marine Ginouves, Ghislaine Prévot, Pierre Couppie, Magalie Demar, Romain Blaizot

Version 2  Publié: 14 août 2020 • <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380>

## Abstrait

En Guyane française, cinq espèces sont associées à la leishmaniose cutanée (CL). Bien que les infections par *Leishmania guyanensis*, *L. (V.) Braziliensis* et *L. (L.) Amazonensis* ont été largement décrits, il existe peu de données cliniques et génétiques disponibles sur *L. (V.) Lainsoni* et *L. (V.) Naiffi*. Nous avons déterminé les caractéristiques cliniques et épidémiologiques de tous les cas de CL en raison de *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* diagnostiqués en Guyane française entre 2003 et 2019. L'analyse phylogénétique a été réalisée par séquençage d'une portion de *HSP70* et *cyt b* gènes. Cinq cas de *L. naiffi* et 25 cas de *L. lainsoni* ont été signalés. Les patients infectés par *L. (V.) Lainsoni* étaient généralement infectés sur les camps d'or, principalement le long de la rivière Maroni (60%), tandis que *L. naiffi* a été observé chez des patients français infectés sur la côte (100%). Un nombre élevé de cas pédiatriques ( $n = 5$ ; 20%) a été observé pour *L. (V.) lainsoni*. Une évolution clinique modérée a été observée pour tous les cas de *L. (V.) Naiffi*. *HSP70* et *cyt b* analyse de la séquence nucléotidique partielle ont révélé différents groupes géographiques au sein *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* mais aucune association n'a été observée entre les caractéristiques cliniques et phylogénétiques. Nos données suggèrent des caractéristiques socio-épidémiologiques distinctes pour ces deux espèces de *Leishmania*. Les patients semblent être infectés par *L. (V.) Naiffi* au cours des activités de loisirs dans les zones côtières anthropisées, tandis que *L. (V.) Lainsoni* partage des caractéristiques communes avec *L. (V.) Guyanensis* et *braziliensis* et semble être acquis au cours des activités professionnelles dans les régions forestières primaires. L'analyse phylogénétique a fourni des informations sur la variabilité génétique intraspécifique de *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* et comment ces génotypes sont distribués au niveau géographique.

## Résumé de l'auteur

La leishmaniose cutanée est une maladie parasitaire touchant au moins 12 millions de personnes dans 96 pays. En Guyane française, cinq espèces de *Leishmania* sont impliqués dans les maladies humaines: *Leishmania (V.) Guyanensis*, *Leishmania (V.) Braziliensis* et *Leishmania (L.) Amazonensis* sont communs et ont été largement étudiés. *Leishmania (V.) Lainsoni* et *Leishmania (V.) Naiffi* sont moins fréquentes et très peu de données sont disponibles sur les patients infectés par ces espèces. Dans cette étude, nous avons identifié cinq cas de patients humains infectés par *L. (V.) Naiffi* et 25 cas de *L. (V.) Lainsoni*. Les patients infectés par *L. (V.) Lainsoni* étaient généralement mineurs de dieu infectés dans la forêt tropicale, tandis que *L. naiffi* a été observé chez des patients infectés sur la côte anthropisée de la Guyane française. *L. naiffi* était associé à des lésions légères. La pentamidine était un traitement efficace pour la plupart des cas des deux espèces.

**Référence:** Ducharme O, Simon S, Ginouves M, Prévot G, Couppie P, Demar M, et al. (2020) *Leishmania naiffi* et *lainsoni* en Guyane française: caractéristiques cliniques et variabilité phylogénétique. *PLoS Negl Trop Dis* 14 (8): e0008380. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380>

**Editor:** Ikram Guizani, Institut Pasteur de Tunis, TUNISIA

**Reçu:** 18 janvier 2020; **Accepté:** 11 mai 2020; **Publié:** 14 août 2020

**Copyright:** © 2020 Ducharme et al. Il s'agit d'un article en libre accès distribué sous les termes de la [licence d'attribution Creative Commons](#), qui permet une utilisation, une distribution et une reproduction sans restriction sur tout support, à condition que l'auteur et la source d'origine soient crédités.

**Disponibilité des données:** Toutes les données pertinentes se trouvent dans le manuscrit et ses fichiers d'informations complémentaires.

**Financement:** Les auteurs n'ont reçu aucun financement spécifique pour ce travail.

**Intérêts concurrents:** les auteurs ont déclaré qu'il n'y avait pas d'intérêts concurrents.

## Introduction

La leishmaniose est considérée comme une «maladie tropicale négligée» par l'Organisation mondiale de la santé [1], touchant au moins 12 millions de personnes dans 98 pays [2]. Elle est causée par des parasites du genre *Leishmania*. Les flagellés de *Leishmania* sont regroupés en deux sous-genres, *Leishmania* et *Viannia*, selon leur développement dans le tube digestif de l'insecte.

En Guyane française, cinq espèces de leishmaniose cutanée (CL): *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni* et *Leishmania (Viannia) naiffi*, sont associées à la CL et à la mucishmaniose (MCL) [3-5]. Les présentations cliniques dépendent de plusieurs facteurs, y compris les espèces infectieuses et la réponse immunologique de l'hôte. *L. (V.) Guyanensis* et *L. (V.) Braziliensis*, les espèces prédominantes en Guyane française, ont été bien documentées dans la littérature [3, 5-7]. *L. (V.) Braziliensis* est une espèce potentiellement virulente responsable de la participation muqueuse, bien que *L. (V.) Guyanensis* a également été mis en cause dans la présentation clinique et diffuse atteinte des muqueuses, dans une moindre mesure [5, 8].

Cependant, *L. (V.) Lainsoni* et *L. (V.) Naiffi* ont rarement été décrits et les caractéristiques cliniques des infections patients ne sont pas soigneusement étudiées. CL due à *L. (V.) Naiffi* a été décrite pour la première fois au Brésil, dans l'état de Para, en 1989 [9, 10] et a été isolé de la peau et des viscères de neuf bandes tatou (*Dasypus novemcinctus*) [9, 11]. Depuis lors, seuls quelques cas ou petites séries ont été signalés [12 - 15]. Ces rapports décrivaient une évolution clinique bénigne avec guérison spontanée ou un bon résultat avec la pentamidine. Cependant, de récents rapports suggèrent que *L. (V.) Naiffi* pourrait être plus graves et résistant à un traitement de première ligne, avec une mauvaise réponse à l'antimoniote de méglumine ou de la pentamidine [16, 17].

CL due à *L. (V.) Lainsoni* a d'abord été décrit en 1987 [18] et semble être largement répandue en Amérique du Sud ont rapporté des cas au Brésil, au Pérou, en Bolivie, le Surinam, la Guyane française et récemment en Colombie et Equateur [5, 19 - 23]. Plusieurs des études ont rapporté un profil phylogénétique atypique avec une lignée distincte d'autres espèces du sous-genre *Viannia* [24 - 26]. *L. (V.) Lainsoni* se caractérise également par la facilité de la culture dans les milieux de culture simples axéniques par rapport aux autres *Leishmaniades* sous-genres *Viannia* [26]. De même à *L. (V.) Naiffi*, il apparaît que *L. (V.) Lainsoni* provoque des ulcères ou des petits nodules [18, 26]. Cependant, ces données sont rares et méritent d'être approfondies.

Cette étude visait à évaluer les caractéristiques cliniques et la distribution de *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* en Guyane française. Notre deuxième objectif était d'examiner la variabilité génétique intra-espèce par analyse phylogénétique, pour rechercher des associations entre le polymorphisme génétique et les caractéristiques cliniques ou épidémiologiques.

## matériaux et méthodes

### Déclaration d'éthique

Selon la loi française sur la santé publique et la bioéthique au moment de la période d'étude, aucune approbation du comité d'éthique n'était nécessaire pour cette étude observationnelle sur du matériel biologique collecté en routine (article L1121-1 et article R1121-3). Cette étude n'a utilisé que des données de soins de santé qui sont couramment utilisées à des fins cliniques et fait partie des travaux de recherche habituels du Centre national de référence pour la leishmaniose cutanée. L'identification des espèces de *Leishmania* fait partie des missions de surveillance et d'alerte du Centre National de Référence (CNR) de *Leishmania*. Tous les patients ont été informés (dépliants, affiches en plusieurs langues locales) que les données peuvent être utilisées pour la recherche et les publications scientifiques, et qu'ils ont le droit de refuser. Toutes les données humaines ont été anonymisées.

### Inclusion criteria

Nous avons mené une étude observationnelle rétrospective à travers la Guyane française. Tous les patients avec diagnostic confirmé de *L. (V.) Lainsoni* ou *L. (V.) Naiffi* infections entre 01/01/2003 et 05/01/2019 ont été inclus. Les données ont été extraites de la base de données appartenant au laboratoire de parasitologie de l'hôpital Andree Rosemon, qui est le centre de référence pour le diagnostic de la CL en Guyane. L'étude a été menée à l'hôpital général de Cayenne et dans les centres de santé des zones reculées (Fig 1, liste de contrôle S1).

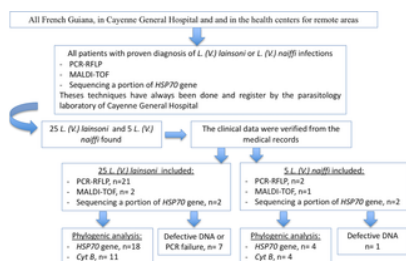


Fig 1. Organigramme de l'étude.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.g001>

Un nouveau cas a été défini par l'absence d'antécédents documentés de leishmaniose dans les douze mois précédant la date de consultation. Le diagnostic positif a été défini par un frottis ou une culture positif, ou une amplification d'ADN positive pendant la PCR-RFLP sur des biopsies cutanées ou une PCR Hsp70 sur des échantillons sur écouvillon. Les biopsies ont été cultivées dans du milieu RPMI pendant jusqu'à 21 jours à 28 ° C. L'identification des espèces a ensuite été faite avec des bandes spécifiques à l'espèce sur séquençage PCR-RFLP [5, 27] et / ou Hsp70 [28] et / ou avec MALDI-TOF sur cultures positives [29].

### Variables d'étude

Les variables de l'étude ont été collectées dans les dossiers médicaux des services de dermatologie et de parasitologie de l'hôpital de Cayenne comme suit: âge, sexe, lieu de naissance et de vie, site de contamination possible, profession et facteurs cliniques: immunodéficience, présentation clinique, nombre et diamètre des lésions, temps d'évolution avant le diagnostic, la lymphadénopathie et le traitement. Les lieux de contamination ont été classés comme dans les études précédentes, en divisant la Guyane en quatre grandes régions [5]: la région côtière, la région de Maroni, la région du Centre et la région d'Oyapock.

### Identification des espèces de *Leishmania*

En raison de la présence de plusieurs espèces de *Leishmania* en Guyane et des implications cliniques de l'identification des espèces, plusieurs techniques ont été développées au cours de la dernière décennie pour améliorer la rapidité et la précision du diagnostic parasitaire. Depuis 2005, le développement d'une technique PCR-RFLP ciblant une région de 615 pb du gène de l'ARN polymérase II a permis une identification précise des espèces dans la plupart des cas [5, 27]. Depuis 2016, une autre technique basée sur MALDI-TOF a été développée et permet l'identification d'espèces sur des cultures de biopsie cutanée positive, même en cas de PCR-RFLP négative [28]. Depuis 2018, la PCR-RFLP a été remplacée par le séquençage de la protéine de choc thermique 70 (HSP70) après PCR sur écouvillons [29]. L'échantillonnage avec des écouvillons a remplacé les biopsies cutanées après 2018, car une sensibilité supérieure a été établie dans plusieurs études à travers l'Amérique du Sud [30 - 32].

On a réalisé une recherche rétrospective pour récupérer tous les échantillons de *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* identifié depuis 2007 avec l'une de ces trois techniques ( **figure 1** ).

#### Extraction d'ADN et amplification par PCR pour l'identification de *Leishmania*

L'extraction d'ADN a été réalisée à l'aide du kit QIAamp DNA Mini (QIAGEN, Hilden, Allemagne), selon les instructions du fabricant. Les amorces Hsp70sen (5'-GACGGTGCCTGCCTACTTCAA-3') et Hsp70ant (5'-CCGCCATGCTCTGGTACATC 3') [ 28 ] ont été utilisées pour amplifier le fragment *HSP70*. Les conditions de PCR étaient de 95 ° C pendant 5 min. suivi de 35 cycles de 95 ° C pendant 1 min, 60 ° C pendant 1 min et 72 ° C pendant 1,5 min, avec une extension finale à 72 ° C pendant 5 min. Pour le gène *cyt b*, LCBF1 (5'-GGTGTAGGTTTTAGTTTAGG3') et LCBR2 (5'-CTACAATAAACAAATCATAATATACAATT-3') [ 33 ] ont été utilisés avec les conditions de PCR suivantes: 95 ° C pendant 5 min. et 35 cycles de 95 ° C pendant 1 min, 58 ° C pendant 1 min et 72 ° C pendant 1,5 min, avec une extension finale à 72 ° C pendant 5 min. Les produits de PCR ont été contrôlés à l'aide du 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) et ont été envoyés à Eurofins (Ivry sur seine, France) pour séquençage. Les séquences géniques obtenues ont été soumises à BLASTn sur GenBank (site Web NCBI) pour rechercher une similitude avec les séquences de *Leishmania*.

#### Alignement des séquences et analyse des séquences nucléotidiques partielles *HSP70* et *cyt b*

Les séquences ont été alignées à l'aide du logiciel CLUSTALX 2.1. En utilisant le logiciel MEGA 7.0 (Penn State University, PA, USA), un arbre phylogénétique a ensuite été construit pour chaque gène. Les distances par rapport aux séquences nucléotidiques ont été estimées avec le modèle de paramètre Kimura-2 [ 34 ], et les arbres ont été construits avec la méthode du maximum de vraisemblance (ML) et un rééchantillonnage bootstrap a été utilisé sur 1000 répliques.

La base de données pour les analyses phylogénétiques se composait de *HSP70* séquences de gènes de *L. (V.) Lainsoni* (GenBank numéro d'accès: FN395047; FN395049; LN907839; GU071179; FN395050), *L. (V.) Naiffi* (FR872767; GU071183; FN395056; KX573968), *L. (V.) Guyanensis* (FN395052), *L. (V.) Braziliensis* (FN395043) *L. (L.) Donovanii* (KX061893), *L. (L.) Infantum* (JX021433), *L. (L.) TROPICA* (KX061899), *L. (V.) Peruviana* (EU599089), *L. (L.) Amazonensis* (EU599090), *L. (L.) Principales* (HF586346), *T. cruzi* (KC959990).

La base de données pour les analyses phylogénétiques est composée de *cyt b* séquences de gène de *L. (V.) Lainsoni* (GenBank numéro d'accès: LC153271), *L. (V.) Naiffi* (LC153257), *L. (V.) Guyanensis* (AB095969), *L. (V.) Braziliensis* (AB095967), *L. (V.) Panamensis* (AB095968), *L. (L.) Amazonensis* (EF579902), *T. Vivax* (KM386446).

Enfin, la diversité génétique des séquences et la diversité des haplotypes ont été calculées pour les gènes *cyt b* et *HSP70* en utilisant DNAsp v.5.0 [ 23 ].

#### analyses statistiques

La relation entre les variables cliniques et démographiques et les espèces infectieuses de *Leishmania* a été analysée en utilisant le test exact de Fisher ou le test  $\chi^2$ , selon le cas.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (v 6.01, San Diego, USA) avec un seuil bilatéral significatif de 0,05.

## Résultats

#### Identification des espèces de *Leishmania* :

Entre 01/01/2003 et 05/01/2019, cinq cas de *L. (V.) Naiffi* et 25 cas de *L. (V.) Lainsoni* ont été diagnostiqués en Guyane française. En ce qui concerne *L. (V.) Naiffi*, toutes les cultures sont positives et la première identification de l'espèce a été faite par PCR-RFLP chez deux patients, MALDI-TOF dans l'un d'eux et par *HSP70* séquençage du gène dans deux autres ( **figure 1** ).

En ce qui concerne *L. (V.) Lainsoni*, 14 (56%) cultures ont été positives, 7 se sont révélés négatifs et cette information était manquante pour quatre patients. L'identification des espèces a été réalisée par PCR-RFLP pour 21 patients, par MALDI-TOF pour deux et par séquençage d'une partie du gène *HSP70* pour deux patients ( **Fig. 1** ).

#### *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* avait des caractéristiques clinico-épidémiologique distincts ( **tableau 1** )

Entre 2003 et 2019, trente patients ont été inclus: cinq avec un diagnostic éprouvé de *L. (V.) Naiffi* et vingt-cinq de *L. (V.) Lainsoni*. L'âge médian des 30 patients au moment du diagnostic était de 33,5 ans [intervalle de 0 à 63] et le sex-ratio était de 1,5 (18 hommes / 12 femmes). La plupart des patients sont nés au Brésil (n = 17, 57%), suivis des patients nés en Guyane française (n = 5, 17%) et en France métropolitaine (n = 5, 17%). Huit des 30 patients (27%) avaient une profession de plein air, 20% étaient des mineurs d'or, 3% des forestiers et 3% des militaires. Pour neuf patients (30%), les données professionnelles étaient manquantes. En ce qui concerne *L. (V.) Naiffi*, aucun des cinq patients enregistrés n'a travaillé comme mineur d'or. Un seul d'entre eux appartenait à l'armée et travaillait vraisemblablement dans la forêt primaire. Au total, la région de Maroni était le site de contamination probable le plus fréquent (n = 15, 50%), suivie de la région côtière (n = 9, 30%), puis de la région du centre (n = 4, 13%) et la région d'Oyapock (n = 2, 7%) ( **Fig 2** ). Le site de contamination était exclusivement la région côtière (100%) pour *L. (V.) Naiffi* et surtout la région de Maroni *L. (V.) Lainsoni* (60%) ( **figure 2** ).



**Fig 2.** Répartition géographique des différents génotypes au sein des 18 *L. (V.) lainsoni* et des 4 *L. (V.) naiffi* de Guyane (dessiné avec <http://jglovis.usgs.gov/>) Chaque cercle bleu foncé représente un patient du groupe I.

Le cercle bleu clair représente le seul patient du groupe II. Le site de contamination exact du seul patient du groupe II est incertain, mais se situe quelque part dans la forêt primaire de la région côtière.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.g002>

Characteristics	Total n = 30	Leishmania naiffi n = 5	Leishmania lainsoni n = 25
Sex, n (%)			
Male	18 (60)	5 (100)	13 (52)
Female	12 (40)	0 (0)	12 (48)
Place of Birth, n (%)			
French Guiana	9 (30)	2 (40)	7 (28)
French Guiana	9 (30)	1 (20)	8 (32)
French Guiana	2 (7)	1 (20)	1 (4)
Other	10 (33)	2 (40)	8 (32)
Occupation, n (%)			
Child	6 (20)	0 (0)	6 (24)
Farmer	1 (3)	0 (0)	1 (4)
Student	1 (3)	1 (20)	0 (0)
Other	12 (40)	4 (80)	8 (32)
Other	9 (30)	0 (0)	9 (36)
Age of diagnosis			
Median (range) (y)	33.3 (8-45)	36	30.8 (4-5)
< 16, n (%)	2 (6.7)	0 (0)	2 (8)
≥ 16, n (%)	28 (93.3)	5 (100)	23 (92)
Site of probable contamination			
Coastal region	6 (20)	0 (0)	6 (24)
Interior region	12 (40)	0 (0)	12 (48)
Coastal region	4 (13)	0 (0)	4 (16)
Other region	2 (7)	0 (0)	2 (8)
Time of evolution before diagnosis, median (range) (months)	2 (0-10)	2 (0-10)	1.7 (0-12)
Type of lesion, n (%)			
Ulcer	20 (67)	0 (0)	20 (80)
Papule	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nodule	3 (10)	1 (20)	2 (8)
Plaques	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Other lesions	7 (23)	0 (0)	7 (28)
Number of lesions, n (%)			
Ulcer	17 (57)	0 (0)	17 (68)
Nodule	3 (10)	0 (0)	3 (12)
Plaques	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Other lesions	2 (7)	0 (0)	2 (8)
Evolution, n (%)**			
Healed	4 (13)	0 (0)	4 (16)
Ulcer	2 (7)	0 (0)	2 (8)
Upper limb	14 (47)	2 (40)	12 (48)
Lower limb	11 (37)	2 (40)	9 (36)
Other	2 (7)	0 (0)	2 (8)
Regional lymph nodes, n (%)			
Enlarged	1 (3)	0 (0)	1 (4)
Other	2 (7)	0 (0)	2 (8)
Other site treatment, n (%)			
Antimony	9 (30)	0 (0)	9 (36)
Antimony	10 (33)	2 (40)	8 (32)
Meglumine antimoniate	1 (3)	0 (0)	1 (4)
Topical antimony	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Other	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Specimens handling	4 (13)	1 (20)	3 (12)

**Tableau 1. Principaux résultats selon les espèces de *Leishmania*.**  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.t001>

La sérologie VIH était positif pour 2 patients infectés par *L. (V.) Lainsoni* mais aucun des patients infectés par *L. (V.) Naiffi*. Ces deux patients avaient plusieurs grosses lésions atteignant respectivement 4 cm et 3 cm.

La durée médiane des symptômes avant le diagnostic était de deux mois [extrêmes 0,5–59]. Les lésions étaient principalement des ulcères (80%), impliquant des zones non couvertes. *L. (V.) Lainsoni* semble être plus fréquemment responsable de lésions multiples (11 cas) que *L. (V.) Naiffi* (0 cas). En effet, pour *L. (V.) Naiffi*, clinique est bénin a été généralement observée, sans ganglions lymphatiques régionaux; une seule lésion par patient a été décrite, touchant exclusivement les membres. Les caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* sont détaillés dans **S1** et **S2 Tableaux** respectivement. Il n'y a eu aucun cas d'atteinte muqueuse dans la population étudiée.

**Données thérapeutiques et de suivi**

*L. (V.) lainsoni*.

Le traitement de première intention était la pentamidine pour 14 (56%) des patients, l'antimoniote de méglumine (dose moyenne de 20 mg d'antimoine / kg / jour) pour un et l'abstention pour deux patients. Au cours du suivi, six patients (35%) ont nécessité un deuxième traitement (nouvelle dose de pentamidine pour cinq patients et passage à l'antimoniote de méglumine pour un (**tableau 1** ; **tableau S2**)).

*Leishmania (Viannia) naiffi*.

Deux sujets ont été initialement traités avec de la pentamidine et trois individus n'ont pas été traités initialement. Un patient a présenté une mauvaise réponse au traitement à la pentamidine et a nécessité une deuxième ligne de traitement par antimoniote de méglumine (dose moyenne de 20 mg d'antimoine / kg / jour) (**tableau 1** ; **tableau S2**)).

Un taux élevé de cas pédiatriques a été observée avec *L. (V.) Lainsoni*

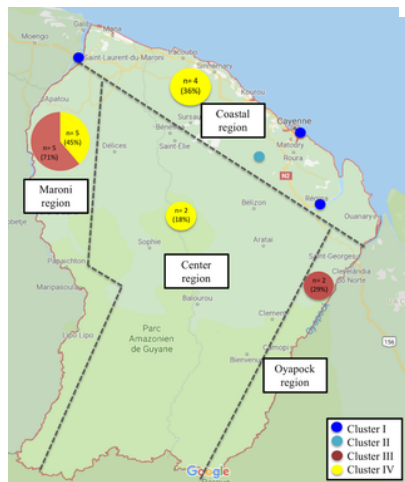
*L. (V.) Lainsoni* a présenté un taux élevé de cas pédiatriques. En effet, cinq patients (20%) étaient des enfants (<16 ans) (**Tableau 1**), avec trois enfants de moins de deux ans. Ils sont majoritairement nés en Guyane française (4/5) et un au Brésil. Trois garçons et deux filles ont été touchés. Ils vivaient préférentiellement en milieu rural, deux sur des sites aurifères près de la rivière Maroni, un à Saint-Elie, un à Cacao et le dernier à Saint-Laurent. Leurs lieux de vie étaient les sites de contamination présumée. Les enfants ont présenté une médiane d'une lésion par patient [intervalle: une à trois]. Le délai de diagnostic était inférieur à trois mois pour tous les enfants. Les ulcères étaient le type de lésion unique avec présence de ganglions lymphatiques régionaux chez deux patients. Deux enfants ont présenté des lésions situées sur la tête. Parmi les cinq enfants, trois ont été initialement traités avec une injection unique de pentamidine avec une guérison des lésions cutanées.

**Analyse des séquences nucléotidiques partielles HSP70 et *cyt b***

Bien que les cultures initiales ne pouvaient pas être récupérés en raison de problèmes logistiques, des échantillons d'ADN correctement stockés ont été récupérés pour tous les patients *L. naiffi* et *L. lainsoni*. Ces échantillons ont ensuite été utilisés pour la PCR ciblant HSP70 et *cyt b*. En ce qui concerne HSP70, l'amplification était réalisable pour quatre échantillons de *L. (V.) Naiffi* et 18 échantillons de *L. (V.) Lainsoni* (**figure 1**). En ce qui concerne *cyt b*, l'amplification était réalisable pour 4 patients atteints de *L. (V.) Naiffi* et 11 échantillons de *L. (V.) Lainsoni* (**figure 1**)

Les séquences obtenues pour les deux gènes ont été alignées et une reconstruction phylogénétique robuste a été réalisée [35, 36]. Les résultats obtenus avec HSP70 et *cyt b* ont montré des grappes différenciés correspondant à *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni*, qui ont également été séparés de tous les autres *Leishmania* espèces (**figure 3**). Une divergence intra-espèce a

également été observée ( **Fig 3** ). Le terme courant d'haplotype est un groupe spécifique de mutations ou une collection de polymorphisme nucléotidique unique (SNP) dans le gène orthologue du parasite. Analyse de la diversité de HSP70 a été réalisée sur les 24 séquences de *L. lainsoni* et 8 séquences de *L. naiffi*, montrant respectivement 3 et 23 sites polymorphes et 3 et 23 mutations ( **tableau 2** ). Sur la base de l'haplotype (HD) et les indices de diversité nucléotidiques (n), de pour chaque espèce, *L. (V.) Naiffi* a montré une diversité génétique plus élevée (Hd = 0,893) et de la diversité nucléotidique ( $\pi = 0,00519$ ), de *L. (V.) Lainsoni*, qui a montré une diversité génétique modérée (Hd = 0,598) et une diversité nucléotidique ( $\pi = 0,00055$ ) ( **tableau 2** ). En ce qui concerne la *cyt b* gène, haplotype et indices de diversité nucléotidiques également révélé que *L. (V.) Naiffi* avait des valeurs plus élevées (Hd = 0,700,  $\pi = 0,00357$ ), par rapport à *L. (V.) Lainsoni* (Hd = 0,318,  $\pi = 0,00132$ ) ( **tableau 2** ).



**Fig 3.**

**Analyse de séquence nucléotidique partielle moléculaire HSP70 (A) et *cyt b* (B) par la méthode du maximum de vraisemblance** L'histoire évolutive a été déduite en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance basée sur le modèle de Tamura-Nei [ 35]. L'arbre avec la probabilité logarithmique la plus élevée (-3176,92) est affiché. Le pourcentage d'arbres dans lesquels les taxons associés se sont regroupés est indiqué à côté des branches. Les arbres initiaux pour la recherche heuristique ont été obtenus automatiquement en appliquant les algorithmes de voisinage-jointure et BioNJ à une matrice de distances par paires estimées à l'aide de l'approche de vraisemblance composite maximale (MCL), puis en sélectionnant la topologie avec une valeur de vraisemblance logarithmique supérieure. L'arbre est dessiné à l'échelle, avec des longueurs de branches mesurées en nombre de substitutions par site. L'analyse a impliqué 42 séquences nucléotidiques. Les positions de codon incluses étaient 1ère + 2ème + 3ème + sans codage. Tous les postes contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminés. Il y avait un total de 1242 positions dans l'ensemble de données final. Des analyses évolutives ont été menées dans MEGA7 [ 36]. L'ombrage bleu foncé représente les patients du groupe I; L'ombrage bleu clair représente les patients du groupe II. L'ombrage rouge indique les patients du groupe III et l'ombrage jaune indique les patients du groupe IV.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.g003>

Species	N	s	HSP70 gene		
			HD	n	$\pi$
<i>L. (V.) Lainsoni</i>	24	3	3	0,598	0,00055
<i>L. (V.) Naiffi</i>	8	23	23	0,893	0,00519
Species	N	s	Cyt b gene		
			HD	n	$\pi$
<i>L. (V.) Lainsoni</i>	22	3	3	0,318	0,00132
<i>L. (V.) Naiffi</i>	5	7	7	0,700	0,00357

N = Number of sequences, s = Number of polymorphic sites.  
 HD = Total number of haplotypes.  
 n = Haplotype diversity, n = Nucleotide diversity.  
 $\pi$  = Average number of nucleotide differences.  
<http://www.mega7.com>

**Tableau 2. Paramètres de diversité génétique des séquences des gènes *Leishmania HSP70* et *Cyt b*.**  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.t002>

Pour *L. (V.) Naiffi*, les séquences obtenues avec *HSP70* ont été fermées à des souches du Brésil (I cluster). Nous avons remarqué que le patient n° 2 correspondant au groupe II (ombrage de bleu clair) divergé des autres et des souches brésiliennes, individualiser deux génotypes différents dans *L. (V.) Naiffi* ( **figure 3A** ). L'analyse avec le gène *cyt b* a confirmé ces résultats ( **figure 3B** ).

Pour *L. (V.) Lainsoni*, analyse phylogénétique réalisée avec *HSP70* gène semble mettre en évidence deux profils, le profil III ( mode plan rouge) constitué par sept souches et le profil IV ( mode plan jaune) constituée par douze souches ( **figure 3** ). Ces deux groupes se distinguaient par une mutation concernant un seul nucléotide c.675G> A. L'analyse avec *cyt b* n'a donné aucun résultat significatif en raison de plusieurs échecs d'amplification ( **Fig 3B** ). Comme ces deux groupes se distinguaient par une seule mutation de *HSP70*, ils pourraient ne pas être entièrement conformes à la définition de «cluster». Cependant, il convient de noter que le profil III comprenait de nombreux échantillons de référence du Pérou, du Brésil et de la Bolivie. A l'inverse, les souches du profil IV sont toutes originaires de Guyane. Les patients du profil III ont été contaminés le long des rivières Maroni et Oyapock pour respectivement cinq et deux patients. Dans le groupe IV, le site de contamination probable était la région côtière et la région centrale pour respectivement quatre et deux patients, et la rivière Maroni pour cinq patients. Les sites de contamination probable de tous les différents groupes sont détaillés dans la **figure 2**.

## Discussion

Jusqu'à présent, *Leishmania lainsoni* et *naiffi* sont les espèces du genre *Leishmania* les moins étudiées dans le Nouveau Monde. Cette étude propose de nouvelles données concernant les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des patients infectés par ces espèces en Guyane.

La Guyane française est divisée en deux régions écologiques différentes, l'arrière-pays couvert par la forêt tropicale primaire, où les petites mines d'or et les villages amérindiens sont les seuls établissements humains. En revanche, la région côtière couvre le nord du territoire et est plus anthropisée [ 6 , 37 , 38 ]. Fait intéressant, nos résultats suggèrent des caractéristiques socio-épidémiologiques distinctes pour *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni*. L'analyse des espèces au niveau régional a montré différents schémas de répartition géographique entre *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni*. En fait, les patients semblaient être infectés par *L. (V.) Naiffi* au cours des activités de loisirs dans les zones côtières anthropisées, tandis que *L. (V.) Lainsoni* semblait être acquis au cours des activités professionnelles (telles que les mines d'or) dans les régions forestières primaires [ 37 ]. *L. (V.) Lainsoni* a également été signalé principalement dans les régions de forêt tropicale au Pérou [ 39 ].

D'ailleurs, notre cohorte de *L. (V.) Naiffi* comprenait aucun patient brésilien et aucun mineur d'or, bien que les mineurs d'or brésiliens sont connus pour compenser la majeure partie de la population de CL en Guyane française [ 5 , 38 ]. D'autre part, les infections par *L. (V.) Lainsoni* concernaient des patients brésiliens dans 68% des cas. Seulement 24% se sont présentés comme mineurs d'or, mais cette activité était probablement sous-déclarée, car elle est exercée illégalement sur le territoire français. Par conséquent, l'épidémiologie de *L. (V.) Lainsoni* en Guyane française semble très similaire à des espèces plus fréquentes comme *L. (V.) Guyanensis* ou *L. (V.) Braziliensis* [ 4 , 5 , 7 , 40 ].

Une évolution clinique modérée a été observée pour tous les cas de *L. (V.) Naiffi* dans cette étude. Ces résultats sont étayés par des études expérimentales montrant que *L. (V.) Naiffi* provoque souvent des infections bénignes ou même non apparentes sur la peau des hamsters [ 9 ]. L'analyse in vitro a également démontré que *L. (V.) Naiffi* avait l'indice d'infection la plus basse et la production d'oxyde nitrique plus élevée par rapport aux autres espèces du *Viannia* sous-genre, et par conséquent est peut-être moins pathogènes chez l'homme [ 41 ]. *L. (V.) Naiffi* infections pourraient également être sous-diagnostiquées, car les patients présentant des lésions cutanées spontanément résolutive ne peuvent pas demander de consultation. En outre, l'introduction de nouvelles techniques d'identification telles que le séquençage du gène améliore la précision de l'isolement des espèces et augmente la probabilité d'identifier de nouveaux cas de *L. (V.) Naiffi* infections.

Fait intéressant, *L. (V.) Lainsoni* semble être associée à un taux élevé de cas pédiatriques. Dans la littérature, un seul cas de CL pédiatrique causée par *L. (V.) Lainsoni* a été signalé à Manaus, Brésil [ 42 ]. Les informations sur la charge de morbidité, le spectre clinique et l'efficacité du traitement dans la CL pédiatrique restent rares. Dans notre cohorte, 3/5 enfants vivaient dans des zones particulièrement exposées, à proximité de sites aurifères avec une déforestation active attirant les vecteurs plus près des habitations humaines [ 43 ]. La présence d'un cas de CL intra-familial s'est avérée être un facteur de risque important dans la littérature [ 44 ]. Cependant, il n'y avait aucun élément dans nos données pour étayer l'hypothèse d'une contamination intra-domiciliaire, car tous les patients appartenaient à des familles différentes. Cependant, les anciennes infections chez les parents auraient pu passer inaperçues. En ce qui concerne les autres caractéristiques cliniques de *L. (V.) Lainsoni*, nos résultats étaient similaires aux précédents rapports, la présentation prédominante étant un ulcère, localisé sur le visage ou les extrémités [ 43 , 45 , 46 ]. Parmi les 4 enfants avec des données disponibles sur le traitement, on avait une guérison spontanée et trois ont été guéries avec pentamidine, contrastant avec plusieurs études indiquant une forte proportion de l'échec du traitement [ 47 - 49 ]. Nos données suggèrent que la pentamidine pourrait être un traitement adéquat pour CL pédiatrique avec *L. (V.) Lainsoni*.

En ce qui concerne les données thérapeutiques chez les adultes, un seul patient avec *L. (V.) Naiffi* a présenté un échec thérapeutique avec la pentamidine et antimoniate de méglumine nécessaire. Ce patient avait des caractéristiques cliniques spécifiques avec une présentation de leishmaniose chronique. Les autres patients avaient une évolution clinique bénigne avec guérison spontanée ou bonne réponse à la pentamidine, comme rapporté dans plusieurs séries [ 12 - 15 ]. Des rapports récents ont suggéré que *L. (V.) Naiffi* peut être résistant au traitement sapsin en ligne, avec une mauvaise réponse à l'antimoniate de méglumine ou de la pentamidine [ 16 , 17 ]. Goncalves et coll. [ 17 ] ont discuté de l'association possible entre une mauvaise réponse et la présence du virus à ARN de *Leishmania* qui pourrait contribuer à l'augmentation de la virulence du parasite en réduisant la sensibilité au stress oxydatif [ 50 ]. D'autres études sont nécessaires pour comprendre les facteurs associés à l'échec du traitement.

En ce qui concerne *L. (V.) Lainsoni*, les données thérapeutiques dans la littérature font défaut. Dans notre cohorte, le traitement de première intention était la pentamidine pour 14 (56%) des patients. Parmi ces patients, 10 étaient guéris ou présentaient une réponse partielle, un n'avait pas d'amélioration et des données manquaient pour trois patients. Nos données semblent indiquer une maladie sensible à la pentamidine.

*HSP70* et *cyt b* analyse de la séquence nucléotidique partielle de 4 *L. (V.) Naiffi* infections et 18 cas de *L. lainsoni* offre de nouvelles connaissances sur leur variabilité génétique intra-espèces. Le séquençage de ces deux cibles identifiées plus la variabilité intra-espèces en *L. (V.) Naiffi* ( tableau 2 ). Dans une étude précédente, les estimations de divergence entre les cinq espèces différentes ont également identifié *L. (V.) Naiffi* comme le plus une polymorphes [ 51 ]. Cependant, ces résultats devraient être confirmés avec un plus grand nombre d'échantillons.

Lors de l'examen des associations possibles entre les groupes génotypiques et les données épidémiologiques ou géographiques, plusieurs liens ont pu être observés. Le seul patient du cluster II (patient 2) appartenait à l'armée et travaillait par conséquent en forêt primaire et aurait pu être infecté sur son lieu de travail, alors que les patients du cluster I étaient contaminés dans la région côtière lors des loisirs. Ces deux distincts *L. (V.) Naiffi* populations pourraient refléter le rôle joué par deux régions écologiques différentes avec des vecteurs et des hôtes différents. En effet, la région côtière est généralement divisée en plusieurs écotopes tels que des plages, des mangroves, des marécages côtiers et de petites parcelles de forêts tropicales primaires. Il a été rapporté en Equateur que les écotopes péri-domiciliaires se caractérisaient par une plus grande diversité et un plus grand nombre de phlébotomes infectés que les écotopes forestiers [ 52 ] en raison de la grande diversité des sources de sang disponibles sur la côte (comme les humains, les poulets, les vaches et les chiens) [ 53 ]. Il est donc essentiel de déterminer si les animaux domestiques sont des réservoirs de CL en Guyane, car le risque d'infection serait plus élevé dans ces zones côtières que dans la forêt de l'arrière-pays.

Alors que le patient 2 est resté séparé, les échantillons du groupe I étaient étroitement liés aux souches brésiliennes publiées antérieurement. Cependant, les caractéristiques cliniques de nos patients n'ont pas pu être comparées aux travaux antérieurs car ces études ne mentionnaient aucun symptôme ou réponse thérapeutique [ 51 , 54 , 55 ].



En ce qui concerne *L. (V.) Lainsoni*, il faut prendre la définition des groupes génotypiques avec prudence, car les groupes III et IV ont été distingués par une mutation d'un seul nucléotide. En outre, les résultats du séquençage HSP 70 n'étaient pas étayés par l'analyse de *cyt b*. L'analyse HSP70 a été utilisée uniquement pour les définitions de groupe en raison de l'amplification de l'ADN moins efficace avec *cyt b* et les nombreux échecs d'amplification. Les souches du groupe III étaient similaires à leurs homologues du Pérou, du Brésil et de la Bolivie, tandis que le groupe IV était constitué uniquement de souches de Guyane française. Nous avons remarqué que dans le groupe IV, le site de contamination signalé était la région côtière et la région centrale chez quatre et deux patients respectivement, alors que ces régions n'étaient jamais impliquées chez les patients du groupe III. Ces derniers étaient tous infectés le long du Maroni et de l'Oyapock, ces deux fleuves étant les frontières naturelles entre la Guyane, le Surinam et le Brésil. On peut donc s'attendre à une proximité génétique avec les souches brésiliennes. En effet, il a été suggéré qu'un degré de similitude était plus élevé entre les souches dont les origines géographiques étaient plus proches [56]. Malheureusement, il n'y avait pas de séquence disponible du Surinam pour permettre une comparaison génétique des souches de Maroni. Ces résultats peuvent suggérer l'existence de souches spécifiques de Guyane (groupe IV), ainsi qu'une circulation transfrontalière de souches moins spécifiques (groupe III). Cependant, nous rapportons pas de différence clinique, épidémiologique ou thérapeutique entre ces deux groupes de *L. (V.) Lainsoni*.

Il n'en demeure pas moins que les différentes expressions cliniques de la CL dépendent à la fois de la diversité génétique intra-espèce de *Leishmania* et du statut immunitaire de l'hôte [57]. En plus de la variabilité génétique intra-espèce de *Leishmania*, la réaction immunitaire de l'hôte remplit une fonction significative dans la présentation clinique de la CL.

Parmi les parasites de *Viannia*, des rapports ont indiqué que les variations génétiques étaient importantes, avec certains clones largement distribués et d'autres localisés à un foyer endémique particulier, avec des cycles de transmission spécifiques, reflétant probablement une adaptation de différents clones aux espèces de vecteurs impliquées [58, 59]. D'autres résultats ont suggéré que leur distribution était liée à l'origine du pool génétique ainsi qu'aux mouvements de vecteurs et de réservoirs [60]. Le polymorphisme génétique parmi les souches de *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* pourrait être associée à l'éco-épidémiologie des domaines, tels que déclarés pour *L. (V.) Braziliensis* [59, 60].

Épidémiologie caractéristiques rapporté dans son étude suggèrent que *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* circulent dans deux régions différentes sur le plan écologique. En effet, *L. (V.) Naiffi* a été associée à *Lu. squamiventris* en Guyane française [61], recueillies dans la zone de savane de Sinnamary [61], dans la région côtière, qui renforcent nos résultats et notre idée que *L. (V.) Naiffi* transmission se produit principalement sur la côte de la Guyane française. *L. (V.) Lainsoni* a d'abord été isolé à partir d'un mammifère sauvage en 1991, à partir de la Agouti paca (*Rodentia: dasyproctidae*), dans l'état de Pará, Brésil [62]. Infections naturelles avec *L. (V.) Lainsoni* dans les mouches des sables ont été détectés dans *Lu. ubiquitousis* dans la forêt primaire du Brésil et de l'Équateur [53, 63, 64], dans *Lu. nuneztovari anglesi* en Bolivie [20], et dans *Lu. Auraensis*, particulièrement abondante dans la forêt tropicale du sud-est du Pérou [65]. Bien que des vecteurs de *L. (V.) lainsoni* n'a pas encore été identifié en Guyane française, les rapports des pays voisins offrent des explications à nos caractéristiques épidémiologiques. *L. (V.) Lainsoni* étant bien adaptée aux environnements forestiers primaires et donc susceptibles de mineurs infectent travaillant dans les camps d'or dans la forêt tropicale.

Il existe plusieurs limites à notre étude. Nous avons effectué une inclusion rétrospective et le nombre de nos patients est resté faible, ce qui ne nous a pas permis de réaliser une analyse statistique approfondie. Par ailleurs, les données cliniques des patients vus dans des centres de santé éloignés ont été fournies par des médecins généralistes et non par des dermatologues, ce qui induit un biais possible. Les données manquantes concernant les résultats après le traitement ont limité nos résultats. En effet, la plupart des mineurs d'or illégaux sont brésiliens, originaires des États les plus pauvres du Brésil avec un accès difficile aux soins de santé [66]. Enfin, les corrélations entre les données cliniques et les caractéristiques génétiques doivent toujours être interprétées avec prudence, en particulier lorsqu'il s'agit d'échantillons de petite taille.

Malgré ces limites, cette étude rapporte d'importantes caractéristiques clinico-épidémiologiques de ces deux espèces rares de *Leishmania* et apporte un nouvel éclairage sur la variabilité génétique intra-espèce. A notre connaissance, c'est la plus grande étude portant sur les cas de *L. (V.) Lainsoni* et la première étude analysant la diversité génétique de ces espèces en Guyane française. Ces résultats seront d'une grande aide pour améliorer la gestion de CL à *L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* en Guyane et de développer de nouvelles études. Pour d'autres études, il est obligatoire de procéder au séquençage du génome entier ou de l'exome de ces parasites pour obtenir une image appropriée de la variabilité intra-espèce.

## Conclusion

*L. (V.) Naiffi* et *L. (V.) Lainsoni* sont significativement présentes en Guyane française et probablement en Amérique du Sud. Nos données suggèrent des caractéristiques socio-épidémiologiques distinctes pour ces deux espèces de *Leishmania*. Les patients semblent être infectés par *L. (V.) Naiffi* au cours des activités de loisirs dans les zones côtières anthropisées, tandis que *L. (V.) Lainsoni* partage des caractéristiques cliniques et épidémiologiques communes avec *L. (V.) Guyanensis* et *braziliensis* et semblent être acquis lors d'activités professionnelles dans les régions forestières primaires. Cette étude fournit un exemple d'associations entre les caractéristiques épidémiologiques et différentes *leishmanies* espèces. L'amélioration des techniques de laboratoire pour l'identification des espèces en Amérique du Sud doit être utilisée pour actualiser et améliorer constamment nos connaissances sur les différentes espèces parasitaires, car ces données peuvent aider à cibler des populations spécifiques dans des actions de santé publique. La détermination des relations vecteur-parasite-réservoir est nécessaire pour comprendre la dynamique de transmission de ces espèces et mettre en œuvre des stratégies de contrôle. L'inclusion de plus de patients à travers l'Amérique du Sud et la généralisation des techniques d'identification telles que le séquençage génique ou la spectrométrie de masse pourrait permettre la constitution de cohortes plus importantes et nous permettent de confirmer suggéré caractéristiques cliniques de *L. naiffi* et *L. lainsoni*.

## Renseignements à l'appui

**Liste de contrôle S1. Liste de contrôle STROBE.**

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.s001>  
(DOCX)

**Tableau S1. Données démographiques et cliniques des patients infectés par *Leishmania (Viannia) naiffi*.**

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.s002>  
(DOCX)

**Tableau S2. Données démographiques et cliniques des patients infectés par *Leishmania (Viannia) lainsoni*.**

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008380.s003>

(DOCX)

## Les références

1. OMS | Leishmaniose [Internet]. QUI. [cité le 7 septembre 2019]. Disponible sur: <http://www.who.int/leishmaniasis/en/>
2. Alvar J, Vélez ID, Berne C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. La leishmaniose dans le monde et estimations mondiales de son incidence. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e35671. pmid: 22693548  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
3. Dedet JP. Leishmaniose cutanée en Guyane française: un bilan. *Suis J Trop Med Hyg*. 1990 juillet; 43 (1): 25–8. pmid: 2200289  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
4. Rotureau B, Couppié P, Nacher M, Dedet JP, Carme B. [Leishmaniose cutanée en Guyane]. *Bull Soc Pathol Exot* 1990. Octobre 2007; 100 (4): 251–60.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
5. Simon S, Nacher M, Carme B, Basurko C, Roger A, Adenis A, et al. Leishmaniose cutanée en Guyane: révision de l'épidémiologie avec PCR-RFLP. *Trop Med Health*. 2017; 45: 5. pmid: 28265182  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
6. Dedet JP, Pradinaud R, Gay F. Aspects épidémiologiques de la leishmaniose cutanée humaine en Guyane française. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1989 septembre; 83 (5): 616–20. pmid: 2617622  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
7. Rotureau B, Ravel C, Nacher M, Couppié P, Curtet I, Dedet JP, et al. Epidémiologie moléculaire de *Leishmania (Viannia) guyanensis* en Guyane française. *J Clin Microbiol*. 1er février 2006; 44 (2): 468–73. pmid: 16455900  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
8. Couppié P, Clyti E, Sainte-Marie D, Dedet JP, Carme B, Pradinaud R. Leishmaniose cutanée disséminée due à *Leishmania guyanensis* : cas d'un patient avec 425 lésions. *Suis J Trop Med Hyg*. 2004 novembre; 71 (5): 558–60. pmid: 15569784  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
9. Lainson R, le juge Shaw. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., un parasite du tatou, *Dasyus novemcinctus* (L.) en Amazonie brésilienne. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1989; 64 (1): 3–9. pmid: 2930120  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
10. Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Braga RR, Ishikawa EA. Leishmaniose cutanée de l'homme due à *Leishmania (Viannia) naiffi* Lainson et Shaw, 1989. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1990; 65 (5–6): 282–4. pmid: 2097934  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
11. Naiff RD, Freitas RA, Naiff MF, Arias JR, Barrett TV, Momen H, et al. Aspects épidémiologiques et nosologiques de *Leishmania naiffi* Lainson & Shaw, 1989. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1991 septembre; 86 (3): 317–21. pmid: 1842423  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
12. Pratlong F, Deniau M, Darie H, Eichenlaub S, Pröll S, Garrabe E, et al. La leishmaniose cutanée humaine causée par *Leishmania naiffi* est largement répandue en Amérique du Sud. *Ann Trop Med Parasitol*. 1 décembre 2002; 96 (8): 781–5. pmid: 12625932  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
13. van der Snoek EM, Lammers AM, Kortbeek LM, Roelfsema JH, Bart A, Jaspers CAJJ. Guérison spontanée de la leishmaniose cutanée américaine due à *Leishmania naiffi* chez deux fantassins néerlandais. *Clin Exp Dermatol*. 2009 Dec; 34 (8): e889–91. pmid: 20055858  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
14. van Thiel P-PAM, Gool T van, Kager PA, Bart A. Premiers cas de leishmaniose cutanée causée par une infection à *Leishmania (Viannia) naiffi* au Surinam. *Suis J Trop Med Hyg*. 2010 avril; 82 (4): 588–90. pmid: 20348504  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
15. Figueira L de P, Soares FV, Junior RDN, Vinhote-Silva AC, Silva SS da, Espir TT, et al. Nouveaux rapports de cas humains de leishmaniose cutanée par *Leishmania (Viannia) naiffi* dans la région amazonienne, Brésil. *Acta Amaz*. 2017 mars; 47 (1): 47–52.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
16. Fagundes-Silva GA, Romero GAS, Cupolillo E, Yamashita EPG, Gomes-Silva A, Guerra JA de O, et al. *Leishmania (Viannia) naiffi* : assez rare pour être négligée? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015 septembre; 110 (6): 797–800. pmid: 26517660  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
17. Vieira-Gonçalves R, Fagundes-Silva GA, Heringer JF, Fantinatti M, Da-Cruz AM, Oliveira-Neto MP, et al. Premier constat d'échec thérapeutique chez un patient atteint de leishmaniose cutanée infecté par *Leishmania (Viannia) naiffi* porteur du virus *Leishmania* RNA: une association fortuite? *Rev Soc Bras Med Trop*. 11 avril 2019 [cité le 14 juillet 2019]; 52 (0).  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
18. Silveira FT, Shaw JJ, Braga RR, Ishikawa E. Dermal leishmaniose dans la région amazonienne du Brésil: *Leishmania (Viannia) lainsoni* sp. n., un nouveau parasite de l'État du Pará. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1987 juin; 82 (2): 289–91. pmid: 3506634  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)



19. Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, Tejada A, Carrizales D, Kreutzer RD. *Leishmania (Viannia) lainsoni* : premier isolement au Pérou. Suis J Trop Med Hyg. 1994 novembre; 51 (5): 533–7. pmid: 7985744  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
20. Bastrenta B, Buitrago R, Vargas F, Le Pont F, Torrez M, Flores M, et al. Première preuve de transmission de *Leishmania (Viannia) lainsoni* dans une région sub andine de Bolivie. Acta Trop. 2002 septembre; 83 (3): 249–53. pmid: 12204398  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
21. van der Meide WF, Jensema AJ, Akrum RAE, Sabajo LOA, Lai A Fat RFM, Lambregts L, et al. Epidémiologie de la leishmaniose cutanée au Suriname: une étude réalisée en 2006. Am J Trop Med Hyg. 2008 août; 79 (2): 192–7. pmid: 18689623  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
22. Kato H, Bone AE, Mimori T, Hashiguchi K, Shiguango GF, Gonzales SV, et al. Premiers cas humains d' infection à *Leishmania (Viannia) lainsoni* et recherche des *phlébotomes* vecteurs en Equateur. PLoS Negl Trop Dis. 18 mai 2016; 10 (5): e0004728. pmid: 27191391  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
23. Patino LH, Mendez C, Rodriguez O, Romero Y, Velandia D, Alvarado M, et al. Distribution spatiale, espèces de *Leishmania* et traits cliniques des cas de *leishmaniose* cutanée dans l'armée colombienne. PLoS Negl Trop Dis. 2017 août; 11 (8): e0005876. pmid: 28850603  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
24. Cupolillo E, Grimaldi Júnior G, Momen H, Beverley SM. Typage de régions intergéniques (IRT): une approche moléculaire rapide de la caractérisation et de l'évolution de *Leishmania* . Mol Biochem Parasitol. 1995 juillet; 73 (1–2): 145–55. pmid: 8577322  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
25. Eresh S, de Bruijn MHL, Mendoza-León JA, Barker DC. *Leishmania (Viannia) lainsoni* occupies a unique niche within the subgenus *Viannia*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1995 Mar;89(2):231–6. pmid:7778160  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
26. Corrêa JR, Brésil RP, Soares MJ. *Leishmania (Viannia) lainsoni* ( *Kinetoplastida: Trypanosomatidae* ), une *Leishmania* divergente du sous-genre *Viannia* - une mini revue. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005 octobre; 100 (6): 587–92. pmid: 16302071  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
27. Simon S, Veron V, Carme B. *Leishmania spp* . identification par réaction en chaîne par polymérase - analyse du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction et ses applications en Guyane française. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010 Février; 66 (2): 175–80. pmid: 19782495  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
28. Lachaud L, Fernández-Arévalo A, Normand AC, Lami P, Nabet C, Donnadiu JL, et al. Identification de la leishmanie par spectrométrie de masse à ionisation par désorption laser assistée par matrice - temps de vol (MALDI-TOF) à l'aide d'une application Web gratuite et d'une bibliothèque de spectres de masse dédiée. Loeffelholz MJ, éditeur. J Clin Microbiol. 2017 octobre; 55 (10): 2924–33. pmid: 28724559  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
29. Garcia L, Kindt A, Bermudez H, Llanos-Cuentas A, De Doncker S, Arevalo J, et al. Typage Des Espèces Indépendantes De La Culture De *Leishmania* Néotropicale Pour La Validation Clinique D'un Dosage PCR Ciblant La Protéine De Choc Thermique 70 Genes. J Clin Microbiol. 1er mai 2004; 42 (5): 2294–7. pmid: 15131217  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
30. Adams ER, Gomez MA, Scheske L, Rios R, Marquez R, Cossio A, et al. Diagnostic sensible de la leishmaniose cutanée par prélèvement de lésion sur écouvillon couplé à la qPCR. Parasitologie. 2014 décembre; 141 (14): 1891–17. pmid: 25111885  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
31. Suárez M, Valence BM, Jara M, Alba M, Boggild AK, Dujardin JC, et al. La quantification de l'ADN du kinétoplaste de *Leishmania (Viannia)* dans les ulcères de la *leishmaniose* cutanée révèle la variabilité inter-site et inter-échantillonnage de la charge parasitaire. Debrabant A, éditeur. PLoS Negl Trop Dis. 23 juillet 2015; 9 (7): e0003936. pmid: 26204525  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
32. Gomes CM, Cesetti MV, de Paula NA, Vernal S, Gupta G, Sampaio RNR, et al. Validation Sur Le Terrain De La PCR En Temps Réel SYBR Green- et TaqMan-Based En Utilisant Des Échantillons De Biopsie Et Sur Écouvillon Pour Diagnostiquer La *Leishmaniose* Tégumentaire Américaine Dans Une Zone Où *Leishmania (Viannia) braziliensis* Est Endémique. Fenwick B, éditeur. J Clin Microbiol. 2017 février; 55 (2): 526–34. pmid: 27927916  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
33. Luyo-Acero GE, Uezato H, Oshiro M, Takei K, Kariya K, Katakura K, et al. Variation de séquence du gène du cytochrome b de divers membres infectieux humains du genre *Leishmania* et leur phylogénie. Parasitologie. 2004 mai; 128 (Pt 5): 483–91. pmid: 15180316  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
34. Kimura M. Une méthode simple pour estimer les taux d'évolution des substitutions de bases grâce à des études comparatives de séquences nucléotidiques. J Mol Evol. 1980 décembre; 16 (2): 111–20. pmid: 7463489  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
35. Tamura K, Nei M. Estimation du nombre de substitutions de nucléotides dans la région de contrôle de l'ADN mitochondrial chez l'homme et les chimpanzés. Mol Biol Evol. 1993 mai; 10 (3): 512–26. pmid: 8336541  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)

36. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Analyse de génétique évolutive moléculaire version 7.0 pour des ensembles de données plus volumineux. *Mol Biol Evol.* 2016 juillet; 33 (7): 1870–4. pmid: 27004904  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
37. Rotureau B. Écologie des espèces de leishmanies dans le complexe écorégional guyanais. *Suis J Trop Med Hyg.* 2006 janvier; 74 (1): 81–96. pmid: 16407350  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
38. Loiseau R, Nabet C, Simon S, Ginouves M, Brousse P, Blanchet D, et al. Leishmaniose cutanée américaine en Guyane française: mise à jour épidémiologique et étude des facteurs de risque environnementaux. *Int J Dermatol.* 2019 novembre; 58 (11): 1323–1328 pmid: 31524286  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
39. Kato H, Cáceres AG, Seki C, Silupu García CR, Holguín Mauricci C, Castro Martínez SC, et al. Un aperçu supplémentaire de la répartition géographique des espèces de *Leishmania* au Pérou par des analyses du cytochrome b et du gène de la mannose phosphate isomérase. *PLoS Negl Trop Dis.* 20 juin 2019; 13 (6): e0007496. pmid: 31220120  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
40. Martin-Blondel G, Iriart X, El Baidouri F, Simon S, Mills D, Demar M, et al. Epidémie de *Leishmania braziliensis* Leishmaniose cutanée, Saül, Guyane française. *Emerg Infect Dis.* 2015 Mai; 21 (5): 892–4. pmid: 25897573  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
41. Campos MB, De Castro Gomes CM, de Souza AAA, Lainson R, Corbett CEP, Silveira FT. Infectiosité in vitro des espèces de *Leishmania (Viannia)* responsables de la leishmaniose cutanée américaine. *Parasitol Res.* 2008 septembre; 103 (4): 771–6. pmid: 18528708  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
42. Dietze R, Talhari S, Chrusciak Talhari C, da Silva RM, Gadelha Yamashita EP, de Oliveira Penna G, et al. Essai clinique contrôlé randomisé pour accéder à l'efficacité et à l'innocuité de la miltefosine dans le traitement de la leishmaniose cutanée causée par *Leishmania (Viannia) guyanensis* à Manaus, Brésil. *Suis J Trop Med Hyg.* 4 février 2011; 84 (2): 255–60. pmid: 21292895  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
43. Paniz-Mondolfi AE, Talhari C, García Bustos MF, Rosales T, Villamil-Gomez WE, Marquez M, et al. Leishmaniose cutanée américaine de la petite enfance et de l'enfance. *Int J Dermatol.* 2017 décembre; 56 (12): 1328–41. pmid: 28741648  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
44. Ampuero J, Urdaneta M, Macêdo V de O. Facteurs de risque de transmission de la leishmaniose cutanée chez les enfants de 0 à 5 ans dans une zone endémique de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Santé publique CAD.* 2005 février; 21 (1): 161–70. pmid: 15692649  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
45. Delgado O, Silva S, Coraspe V, Ribas MA, Rodriguez-Morales AJ, Navarro P, et al. Leishmaniose cutanée américaine chez les enfants et adolescents du centre-nord du Venezuela. *Trop Biomed.* 2008 décembre; 25 (3): 178–83. pmid: 19287354  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
46. Blanco VM, Saravia NG, Cossio A, Martinez JD. Profil clinique et épidémiologique de la leishmaniose cutanée chez les enfants colombiens: considérations pour le traitement local. *Suis J Trop Med Hyg.* 7 août 2013; 89 (2): 359–64. pmid: 23798581  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
47. Grajalew LF, Ochoa MT, Palacios R, Osorio LE. Échec du traitement chez les enfants dans un essai clinique randomisé avec 10 et 20 jours d'antimoniate de méglumine pour la leishmaniose cutanée due à l'espèce *Leishmania viannia*. *Suis J Trop Med Hyg.* 1 mars 2001; 64 (3): 187–93.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
48. Castro M del M, Cossio A, Velasco C, Osorio L. Facteurs de risque d'échec thérapeutique de l'antimoniate de méglumine et de la miltefosine chez les adultes et les enfants atteints de leishmaniose cutanée en Colombie: une étude de cohorte. *Satoskar AR, éditeur. PLoS Negl Trop Dis.* 5 avril 2017; 11 (4): e0005515. pmid: 28379954  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
49. Uribe-Restrepo A, Cossio A, Desai MM, Dávalos D, Castro M del M. Interventions pour traiter la leishmaniose cutanée chez les enfants: une revue systématique. *Laouini D, éditeur. PLoS Negl Trop Dis.* 14 décembre 2018; 12 (12): e0006986. pmid: 30550538  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
50. Hartley MA, Ronet C, Zangger H, Beverley SM, Fasel N. Leishmania RNA virus: quand l'hôte paie le péage. *Microbiol infecté par les cellules avant.* 2012 [cité le 1er septembre 2019]; 2.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
51. da Silva LA, de Sousa CDS, da Graça GC, Porrozzi R, Cupolillo E. Analyse de séquence et profilage PCR-RFLP du gène hsp70 comme un outil précieux pour identifier les espèces de *Leishmania* associées à la leishmaniose humaine au Brésil. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* 2010 janvier; 10 (1): 77–83.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
52. Quiroga C, Cevallos V, Morales D, Baldeón ME, Cárdenas P, Rojas-Silva P, et al. Identification moléculaire de *Leishmania* spp. dans les phlébotomes (*Diptera: Phlebotominae*) d'Équateur. *J Med Entomol.* 7 novembre 2017; 54 (6): 1704–11. pmid: 28981860  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)

53. Anaguano DF, Ponce P, Baldeón ME, Santander S, Cevallos V. Identification de la farine de sang chez les phlébotomes des phlébotomes (Diptera: Psychodidae) de Valle Hermoso, une zone à forte prévalence de la leishmaniose cutanée en Équateur. *Acta Trop.* Décembre 2015; 152: 116-20. pmid: 26361709  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
54. Fraga J, Montalvo AM, De Doncker S, Dujardin JC, Van der Auwera G. Phylogénie des espèces de *Leishmania* basée sur le gène de la protéine 70 de choc thermique. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* 2010 mars; 10 (2): 238–45.  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)
55. Odiwuor S, Veland N, Maes I, Arévalo J, Dujardin JC, Van der Auwera G. Évolution du complexe d'espèces *Leishmania braziliensis* à partir de polymorphismes de longueur de fragments amplifiés, et implications cliniques. *Infect Genet Evol.* 2012 décembre; 12 (8): 1994–2002. pmid: 22516226  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
56. Macedo AM, Melo MN, Gomes RF, Pena SDJ. Les empreintes ADN: un outil d'identification et de détermination des relations entre les espèces et les souches de *Leishmania*. *Mol Biochem Parasitol.* 1992 Juil; 53 (1–2): 63–70. pmid: 1501645  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
57. Silveira FT, Lainson R, De Castro Gomes CM, Laurenti MD, Corbett CEP. Compétences immunopathogènes de *Leishmania (V.) braziliensis* et *L. (L.) amazonensis* dans la leishmaniose cutanée américaine. *Parasite Immunol.* 2009 août; 31 (8): 423–31. pmid: 19646206  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
58. Cupolillo E, Momen H, Grimaldi G Jr. Diversité génétique dans les populations naturelles de *Leishmania* du Nouveau Monde. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998 septembre; 93 (5): 663–8. pmid: 9830535  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
59. Cupolillo E, Brahim LR, Toaldo CB, de Oliveira-Neto MP, de Brito MEF, Falqueto A, et al. Polymorphisme génétique et épidémiologie moléculaire de *Leishmania (Viannia) braziliensis* de différents hôtes et zones géographiques au Brésil. *J Clin Microbiol.* 1 juillet 2003; 41 (7): 3126–32. pmid: 12843052  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
60. Ishikawa EAY, Silveira FT, Magalhães ALP, Guerra RB, Melo MN, Gomes R, et al. Variation génétique des populations d'espèces de *Leishmania* au Brésil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002 avril; 96: S111-21. pmid: 12055823  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
61. Fouque F, Gaborit P, Issaly J, Carinci R, Gantier JC, Ravel C, et al. Phlébotome des phlébotomes (*Diptera: Psychodidae*) associés à l'évolution des schémas de transmission de la leishmaniose cutanée humaine en Guyane. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007 février; 102 (1): 35–40. pmid: 17293996  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
62. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Braga RR, Ishikawa EE, Souza AA. [Leishmaniose cutanée en Amazonie: isolement de *Leishmania (Viannia) lainsoni* from the rodent Agouti paca (*Rodentia: Dasyproctidae*), in the state of Pará, Brazil]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991 Feb;33(1):18–22. pmid:1843391  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
63. Silveira FT, Souza AAA, Lainson R, Shaw JJ, Braga RR, Ishikawa EEA. Leishmaniose cutanée en Amazonie: infection naturelle du phlébotome *Lutzomyia ubiqualis* (*Psychodidae: Phlebotominae*) par *Leishmania (Viannia) lainsoni* dans l'état de Pará, Brésil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1991 mars; 86 (1): 127–30. pmid: 1842393  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
64. Lainson R, Shaw JJ, Souza AA, Silveira FT, Falqueto A. Autres observations sur *Lutzomyia ubiqualis* (*Psychodidae: Phlebotominae*), le phlébotome vecteur de *Leishmania (Viannia) lainsoni*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1992 septembre; 87 (3): 437–9. pmid: 1343653  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
65. Valdivia HO, De Los Santos MB, Fernandez R, Baldeviano GC, Zorrilla VO, Vera H, et al. Infection naturelle par *Leishmania* de *Lutzomyia auraensis* à Madre de Dios, Pérou, détectée par une réaction en chaîne par polymérase en temps réel basée sur un transfert d'énergie de résonance de fluorescence. *Suis J Trop Med Hyg.* 2012 septembre; 87 (3): 511–7. pmid: 22802444  
[View Article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
66. Douine M, Mosnier E, Le Hingrat Q, Charpentier C, Corlin F, Hureau L, et al. Les mineurs d'or illégaux en Guyane française: une population négligée et en mauvaise santé. *Santé publique BMC.* 2018 Dec [cité le 13 août 2019]; 18 (1).  
[View Article](#) • [Google Scholar](#)