



ORIGINAL BREVE

Diagnóstico y tratamiento de la leishmaniasis visceral infantil

L.M. Prieto Tato*, E. La Orden Izquierdo, S. Guillén Martín, E. Salcedo Lobato, C. García Esteban, I. García-Bermejo y J.T. Ramos Amador

Servicio de Pediatría, Hospital Universitario de Getafe, Getafe, Madrid, España

Recibido el 24 de marzo de 2009; aceptado el 23 de diciembre de 2009
Disponibile en Internet el 7 de abril de 2010

PALABRAS CLAVE

Leishmaniasis visceral;
Diagnóstico;
Anfotericina B liposómica

Resumen

Introducción: La leishmaniasis visceral es una enfermedad potencialmente grave y endémica en España. Recientes avances en las técnicas diagnósticas y el tratamiento permiten mejorar el abordaje de la enfermedad.

Objetivos: Analizar las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de leishmaniasis visceral, evaluar las técnicas diagnósticas utilizadas y la eficacia y la seguridad de los tratamientos empleados.

Métodos: Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de los niños diagnosticados de leishmaniasis visceral desde enero de 1994 hasta diciembre de 2007 en un hospital de tercer nivel del área sur de Madrid. Se consideró diagnóstico de enfermedad la existencia de clínica compatible y la visualización del parásito, o el aislamiento en cultivo del aspirado de médula ósea (AMO) o la detección del ADN del parásito mediante técnicas moleculares (reacción en cadena de la polimerasa).

Resultados: En el periodo de tiempo estudiado se diagnosticó de leishmaniasis visceral a 11 pacientes. La mediana de edad fue de 21 meses (rango: 4 meses–13 años). La fiebre estaba presente en todos los casos, y la hepatomegalia y esplenomegalia en el 91%. La anemia fue el hallazgo hematológico más frecuente (100%). El AMO se realizó en todos los pacientes. El examen microscópico del AMO detectó la presencia de amastigotes intracelulares en el 73% de los casos. Se detectó la presencia de ADN del parásito en todos los casos. Los títulos de inmunofluorescencia indirecta fueron superiores a 1/40 en el momento del diagnóstico en el 63%. La determinación del antígeno del parásito en la orina fue positiva en 4 de 6 pacientes (67%). Se trató a 3 pacientes con antimonio de N-metilglucamina y a 8 pacientes (73%) con anfotericina B liposómica. Se observó una respuesta clínica precoz en todos los pacientes. Un paciente tratado con anfotericina B liposómica presentó una recaída de la enfermedad. No se registraron reacciones adversas graves al tratamiento.

Conclusiones: La leishmaniasis visceral sigue siendo una enfermedad frecuente en nuestro medio. Las características clínicas y analíticas al diagnóstico son similares a las observadas en otros estudios del área mediterránea. La técnica de reacción en cadena de la

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: prieto_tatoluis_manuel@hotmail.com (L.M. Prieto Tato).

KEYWORDS

Visceral
leishmaniasis;
Diagnosis;
Liposomal
amphotericin B

polimerasa en el AMO mostró una sensibilidad mayor que las técnicas tradicionales. Las técnicas no invasivas pueden ser de utilidad en pacientes con cuadro clínico compatible. La anfotericina B liposómica en pauta corta se mostró segura y eficaz en el tratamiento de la leishmaniasis visceral.

© 2009 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Visceral childhood leishmaniasis: Diagnosis and treatment**Abstract**

Introduction: Visceral leishmaniasis is endemic in Spain. New diagnostic tools and shorter regimens of treatment are being increasingly used in children.

Objectives: To analyze the clinical and epidemiological characteristics of cases of visceral leishmaniasis, to evaluate the diagnostic techniques tested and the safety and efficacy of treatments used.

Methods: We retrospectively reviewed the medical records of children diagnosed with visceral leishmaniasis between January 1994 and December 2007 in a tertiary public Hospital in the South of Madrid. The diagnosis of visceral leishmaniasis was based on visualization of *Leishmania* sp. in bone marrow aspirate or culture or positive PCR analysis of the bone marrow aspirate.

Results: Eleven immunocompetent children were identified. Median age was 21 months (range: 4 months – 13 years). Fever was present in all cases, and hepatomegaly and splenomegaly in 10 (91%). Anemia was the most frequent haematological finding (100%). A bone marrow aspirate was obtained in all cases. *Leishmania* amastigotes were observed in 8 (73%) cases. *Leishmania* DNA in the bone marrow aspirate was detected in all patients who underwent this procedure. Positive immunofluorescent-antibody test (IFAT) analysis at baseline was observed in 63% of cases tested. The threshold titer for positivity was 1/40. Urinary antigen detection test was positive in 4 out of 6 (67%) children in whom I was performed. Initial treatment consisted of meglumine antimoniate in 3 patients and liposomal amphotericin B (LAB) in 8 (73%) patients. All children had an early clinical response. Only one child treated with LAB relapsed. No severe adverse events were observed with treatment.

Conclusions: Visceral leishmaniasis is still a common disease in our area. Clinical and laboratory findings of visceral leishmaniasis are similar to other Mediterranean area reports. PCR analysis of the bone marrow aspirate was more sensitive than traditional diagnostic techniques. Non-invasive diagnostic techniques may be used as an aid in the diagnosis of visceral leishmaniasis in children. Short course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B has been safe and effective.

© 2009 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La leishmaniasis visceral por *Leishmania infantum* es una zoonosis endémica en nuestro medio¹.

La transmisión al hombre se produce a través de la picadura de artrópodos insectos pertenecientes al género *Phlebotomus*; el principal reservorio es el perro. La enfermedad se caracteriza clínicamente por fiebre, anorexia, pérdida de peso, esplenomegalia, hepatomegalia y alteraciones analíticas, como anemia, leucocitopenia, trombocitopenia, hipoalbuminemia e hipergammaglobulinemia².

El diagnóstico definitivo de la leishmaniasis visceral se realiza mediante la visualización de amastigotes en el examen microscópico del aspirado de médula ósea (AMO) o por la observación de los promastigotes procedentes del cultivo. Las técnicas de biología molecular se han mostrado más sensibles que las técnicas tradicionales³. Los métodos serológicos dirigidos a la detección de anticuerpos son

sencillos, no invasivos y útiles para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral en pacientes con un cuadro clínico compatible⁴.

Sin embargo, los métodos serológicos tienen sus limitaciones, ya que es posible detectar anticuerpos específicos durante un periodo largo de tiempo, y no permiten diferenciar entre infección aguda, pasada o una posible reinfección.

Los test de determinación del antígeno de *Leishmania* sp. en la orina pueden utilizarse como técnicas complementarias para el diagnóstico, aunque es de destacar su mayor sensibilidad en pacientes inmunodeprimidos; asimismo, pueden ser útiles para realizar el seguimiento del paciente tras el tratamiento^{5,6}.

La larga duración de los tratamientos con antimoniales, su toxicidad y una mayor incidencia de fracasos terapéuticos motivaron la utilización de nuevos fármacos, como la anfotericina B liposómica (ABL), que se ha demostrado

eficaz y segura⁷, incluso en pautas cortas de tratamiento en adultos y en niños^{8,9}.

El objetivo de este estudio retrospectivo fue presentar nuestra experiencia en el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo con la revisión de las historias clínicas de los pacientes menores de 15 años con diagnóstico de leishmaniasis visceral desde enero de 1994 hasta diciembre de 2007 en el Hospital Universitario de Getafe, hospital de tercer nivel del área sur de Madrid.

Los datos analizados fueron la edad, el sexo, la temperatura máxima al ingreso, el número de días con fiebre previo al diagnóstico, la hepatomegalia y la esplenomegalia. Las variables analíticas fueron el hemograma y la fórmula leucocitaria y los parámetros bioquímicos relacionados. La fiebre se definió como una temperatura axilar superior o igual a 38°C, la anemia como un valor de hemoglobina inferior a 2 desviaciones estándares para la edad, la leucocitopenia como un recuento de leucocitos totales menor de $4 \times 10^3/\mu\text{l}$ y la trombocitopenia como un número de plaquetas inferior a $150 \times 10^6/\mu\text{l}$.

Se recogieron los siguientes resultados microbiológicos: examen microscópico del AMO, cultivo, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del AMO, estudios serológicos y determinación del antígeno de *Leishmania* sp. en la orina.

Se consideró diagnóstico de la enfermedad la existencia de clínica compatible y la visualización directa del parásito, o su aislamiento en cultivo o una PCR positiva para *Leishmania* sp. en el AMO.

Se registró el tipo de tratamiento, la dosis, la duración, el inicio de defervescencia, las complicaciones de éste y el seguimiento del paciente hasta los 12 meses. Se consideró curación la respuesta clínica satisfactoria y sostenida con desaparición de la fiebre y normalización de las alteraciones analíticas tras el inicio del tratamiento, así como la resolución progresiva de las visceromegalias en el seguimiento. La recaída se definió como la recurrencia de los signos y los síntomas de la enfermedad asociados a la demostración de *Leishmania* sp. después de completar el tratamiento médico.

Como técnica diagnóstica se utilizó la serología por el método de inmunofluorescencia (Leishmania-Spot IF, bioMérieux), y se consideró presuntivo un título superior o igual a 1/40. La detección del antígeno de *Leishmania* sp. en la orina mediante la prueba de aglutinación en látex (KAtex, Kalon Biological Ltd., Aldershot, Reino Unido). El AMO se procesó para la tinción de Giemsa y se cultivó en el medio Novy-Nicolle-McNeal. Las muestras para la realización de la PCR se derivaron para su estudio a un centro de referencia.

El análisis estadístico se realizó con el soporte informático del programa SPSS 11.0 para Windows.

Resultados

Se diagnosticó a 11 pacientes, todos inmunocompetentes, de leishmaniasis visceral durante el periodo estudiado. La

mediana de edad fue de 21 meses (rango: 4 meses–13 años). Cinco pacientes (46%) eran varones.

El 100% de los pacientes tenía fiebre al diagnóstico de la enfermedad. La fiebre fue mayor de 38,5°C en todos los casos y la mediana de duración hasta el diagnóstico fue de 20,2 días (rango: 3–90 días). La hepatomegalia y la esplenomegalia estaban presentes en el 91% (tabla 1).

Todos los pacientes presentaron anemia al diagnóstico. La leucocitopenia al ingreso estuvo presente en el 45% y la trombocitopenia en el 82%. Cinco casos (45%) presentaban pancitopenia. La mediana del valor de la proteína C reactiva fue de 37,6 mg/l (rango: 0,87–7,5) y la de la VSG (determinada en 4 de los 11 pacientes al diagnóstico) de 51,5 mm/h (rango: 25–76). Otros hallazgos de laboratorio al diagnóstico se describen en la tabla 2.

El AMO se realizó en todos los pacientes. En el 73% se visualizaron amastigotes intracelulares en el AMO. El cultivo del AMO fue positivo en 4 casos (36%) y la PCR fue positiva en los 7 casos en que se realizó. En 5 de 8 pacientes (63%) los

Tabla 1 Características clínicas al diagnóstico de los 11 pacientes con leishmaniasis visceral (Hospital Universitario de Getafe, periodo de 1994–2007)

Hallazgos clínicos	
Fiebre, n (%)	11 (100)
Esplenomegalia, n (%)	10 (90,9)
Tamaño de la esplenomegalia en cm, mediana (rango)	6 (2–13)
Hepatomegalia, n (%)	10 (90,9)
Tamaño de la hepatomegalia en cm, mediana (rango)	3,5 (2–4)
Duración de la enfermedad previa al ingreso en días, mediana (rango)	22 (3–90)

Tabla 2 Hallazgos de laboratorio al diagnóstico de los 11 pacientes con leishmaniasis visceral (Hospital Universitario de Getafe, periodo de 1994–2007)

Hallazgos de laboratorio al diagnóstico	Mediana (rango)
Hemoglobina, g/dl	9 (6–10,7)
Leucocitos, $\times 10^3/\mu\text{l}$	4,1 (1–8,9)
Plaquetas, $\times 10^6/\mu\text{l}$	103 (41–255)
VSG, mm/h ^a	51,5 (25–76)
Proteína C reactiva, mg/l	27,7 (8,7–75)
Proteínas totales, g/dl	7 (5–11,1)
Albúmina, g/dl	3,4 (2,7–4,4)
Gammaglobulina, g/dl ^b	2,5 (0,64–6,27)
AST, UI/l	50 (12–183)
ALT, UI/l	30 (10–168)

ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; VSG: velocidad de sedimentación globular.

^aLa VSG solo se determinó al diagnóstico en 4 de los 11 pacientes.

^bLa gammaglobulina solo se determinó al diagnóstico en 6 de los 11 pacientes.

títulos encontrados por la inmunofluorescencia indirecta en el momento del diagnóstico fueron superiores a 1/40. La determinación del antígeno del parásito en la orina fue positiva en 4 de 6 casos (67%).

Se trató a 3 pacientes con antimonio de N-metilglucamina en dosis de 20 mg/kg/día i.m. durante 30 días. Se trató a 8 pacientes (73%) con ABL en dosis de 3–4 mg/kg/día i.v. con administración en los días 1.º–5.º y en el 10.º día. En todos los pacientes tratados con ABL, la fiebre desapareció antes de los 4 días de inicio del tratamiento, lo que permitió el alta precoz y el reingreso para tratamiento en el 10.º día. En este grupo, 3 pacientes (38%) presentaron vómitos o diarrea, uno (13%) exantema urticariforme y otro paciente hipopotasemia. En los pacientes tratados con antimoniales, la fiebre desapareció más lentamente, y persistió al 4.º día de inicio del tratamiento. Un paciente (33%) presentó vómitos y diarrea. En todos los pacientes se realizó un electrocardiograma durante el tratamiento y no se observaron alteraciones cardíacas.

No hubo fracasos del tratamiento en ninguno de los grupos. Tras finalizar el tratamiento, se siguió a los pacientes una mediana de 12 meses (rango: 21 días–12 meses). Un paciente del grupo tratado con ABL (13%) presentó recaída de la enfermedad, con fiebre, esplenomegalia y pancitopenia a las 4 semanas de finalizar el tratamiento. La PCR en el AMO para *Leishmania* fue positiva. Recibió nuevo tratamiento con ABL en dosis de 3 mg/kg/día i.v. durante 10 días consecutivos, sin nueva sintomatología posterior en el seguimiento a 12 meses.

Discusión

En España, la tasa de incidencia de leishmaniasis, a partir de los datos de ingresos hospitalarios, en el grupo de edad de menores de 5 años es de 1,56 por 100.000 y en el grupo de 5–14 años de 0,13 por 100.000 habitantes/año¹. En nuestra área, según los ingresos hospitalarios por leishmaniasis, estimamos una tasa de incidencia por leishmaniasis visceral en el grupo de pacientes menores de 15 años de 1,6 por 100.000 habitantes/año.

Aunque se trata de una serie pequeña, la edad media, la distribución por sexos y los hallazgos clínicos de nuestros pacientes son similares a los descritos en otros estudios del área mediterránea^{10,11}.

Los datos analíticos pueden orientar el diagnóstico. En pacientes con clínica compatible, se ha observado que la pancitopenia es un hallazgo muy específico (98%), pero poco sensible (16%)¹². De igual modo, la hipergammaglobulinemia policlonal, un hallazgo frecuente en la leishmaniasis visceral, presenta una sensibilidad baja (34%)¹⁵.

Las técnicas tradicionales de diagnóstico (visualización directa del parásito en el AMO y el cultivo) presentaron una sensibilidad similar a la observada en otros estudios^{4,10–12}. De igual modo a lo descrito en la literatura médica, la PCR del AMO para *Leishmania* sp. mostró una mayor sensibilidad para el diagnóstico que las técnicas tradicionales^{3,4}. La combinación de técnicas no invasivas (determinación de anticuerpos específicos frente a *Leishmania* sp., determinación del antígeno de *Leishmania* sp. en la orina y PCR de *Leishmania* sp. en la sangre) puede ser de utilidad, en primera instancia, ante la sospecha de la enfermedad⁴.

Los antimoniales han sido el tratamiento de elección de la leishmaniasis visceral durante más de 60 años¹³. La larga duración de estos tratamientos en regímenes hospitalarios, su potencial toxicidad^{14,15} y una mayor incidencia de fracasos terapéuticos¹⁶ llevaron a la utilización de nuevos fármacos. La anfotericina B se utilizó inicialmente como tratamiento alternativo a los antimoniales. En 1991, se estableció la eficacia del tratamiento con ABL como primera elección⁷. Posteriormente, se demostró su eficacia y su seguridad en pautas cortas en adultos⁸ y en niños⁹, y en 1997 la Food and Drug Administration norteamericana la aprobó para el tratamiento de leishmaniasis visceral¹⁷. En 2003, Figueras et al evaluaron la eficacia y la seguridad de una pauta corta de ABL en niños españoles con buenos resultados¹⁰.

En nuestro estudio, todos los pacientes mejoraron rápidamente, y quedaron todos afebriles al 4.º día de iniciarse el tratamiento con ABL. Asimismo, se observó una recuperación de las series hematológicas al 10.º día de iniciar el tratamiento en 6 pacientes (75%).

La tasa de recaídas total fue de uno de 11 pacientes (9%), similar a la encontrada en estudios previos¹⁰. En este caso, la enfermedad remitió tras la administración de un nuevo régimen de ABL durante 10 días consecutivos. En ningún caso se observaron reacciones adversas graves asociadas al tratamiento.

Las pautas cortas de tratamiento con ABL en pacientes que presentan una respuesta clínica rápida permiten acortar los tiempos de estancia hospitalaria. Por esta razón, y a pesar de su elevado precio, la administración de ABL en pauta corta se ha mostrado coste-efectiva¹⁸.

Nuestro estudio presenta limitaciones. Es un estudio retrospectivo, basado en la revisión de las historias clínicas de los pacientes hospitalizados y con un tamaño muestral reducido, que dificulta la comparación con otras series que incluyen más pacientes, y realizadas en el área mediterránea.

No obstante, nuestra serie muestra que la leishmaniasis visceral continúa siendo una enfermedad para tener en cuenta en nuestro medio. Estudios multicéntricos permitirán una mejor valoración de la situación real, las técnicas diagnósticas y los tipos de tratamiento y la dosis óptima de los niños con leishmaniasis visceral.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Valcárcel Y, Bastero R, Anegón M, González S, Gil A. Epidemiología de los ingresos hospitalarios por leishmaniasis en España (1999–2003). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26:278–81.
2. Ortega-Barria E, Romero LI. *Leishmania* species (Leishmaniasis). En: Long S, Pickering LK, Prober CG, editores. *Principles and practice of Pediatric Infectious Diseases*, 3 ed. Philadelphia, USA: Elsevier Inc; 2008. p. 1246–53.
3. Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: Current status and future applications. *J Clin Microbiol*. 2007;45:21–5.
4. Cruz I, Chicharro C, Nieto J, Bailo B, Cañavate C, Figueras MC, et al. Comparison of new diagnostic tools for the management of pediatric mediterranean visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2343–7.

5. Attar ZJ, Chance ML, El-Safi S, Carney J, Azazy A, El-Hadi M, et al. Latex agglutination test for the detection of urinary antigens in visceral leishmaniasis. *Acta Trop*. 2001;78:11–6.
6. Rijal S, Boelaert M, Regmi S, Karki M, Jacquet D, Singh R, et al. Evaluation of a urinary antigen-based latex agglutination test in the diagnosis of kala-azar in eastern Nepal. *Trop Med Int Health*. 2004;9:724–9.
7. Davidson RN, Croft SL, Dcott A, Maini M, Moody AH, Bryceson ADM. Liposomal amphotericin B in drug-resistant visceral leishmaniasis. *Lancet*. 1991;337:1061–2.
8. Davidson RN, Di Martino L, Gradoni L, Giacobino R, Greta GB, Pempirello R, et al. Short course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B. *Clin Infect Dis*. 1996;22:938–93.
9. Di Martino L, Davidson RN, Giachino R, Scotti S, Raimondi F, Castagnola E. Treatment of visceral leishmaniasis in children with liposomal amphotericin B. *J Pediatr*. 1997;131:271–7.
10. Maltezou HC, Sifas C, Mavrikou M, Spyridis P, Stavrinadis C, Karpathios Th, et al. Visceral leishmaniasis during childhood in southern Greece. *Clinical Infectious Diseases*. 2000;31:1139–43.
11. Cascio A, Colomba C, Antinori S, Orobello M, Paterson D, Titone L. Pediatric visceral leishmaniasis in western Sicily, Italy: A retrospective análisis of 111 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:277–82.
12. Boelaert M, Rijal S, Regmi S, Singh R, Karki B, Jacquet D, et al. A comparative study of the effectiveness of diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70:72–7.
13. Murray HW. Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar): A decade of progress and future approaches. *International Journal of Infectious Diseases*. 2000;4:158–77.
14. Herwaldt BL, Berman JD. Recommendation for treating leishmaniasis with Pentostan and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;46:296–306.
15. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*. 1999;354:1191–9.
16. Sundar S, More DK, Singh MK, Singh VP, Sharma S, Makharia A, et al. Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: Report from the center of the Indian epidemic. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1104–7.
17. Meyerhoff A. US Food and Drug Administration approval of Ambisome for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 1999;28:42–4.
18. Kafetzis DA, Velissariou IM, Stabouli S, Mavrikou M, Delis D, Liapi G. Treatment of paediatric visceral leishmaniasis: Amphotericin B or pentavalent antimony compounds? *Int J Antimicrob Agent*. 2005;25:26–30.