

L. Moral Gil, M. Moya Benavent

An Esp Pediatr 1998;49:5-10.

La leishmaniasis es la enfermedad producida por protozoos de diferentes especies del género *Leishmania*. En el ser humano se han diferenciado clásicamente las formas viscerales (kala-azar), producidas, generalmente, por las especies *L. donovani*, *L. infantum* y *L. chagasi*, anteriormente englobadas en el complejo *L. donovani*⁽¹⁾, de las formas cutáneas y mucocutáneas, producidas por gran variedad de especies, incluyendo *L. infantum*. En nuestro país se sabe desde hace tiempo que todas las infecciones son producidas por la especie *L. infantum*⁽²⁾, responsable, tanto de la enfermedad visceral, como de la leishmaniasis cutánea localizada (botón de oriente), aunque todavía se atribuye esta última, erróneamente, a *L. tropica*⁽³⁻⁵⁾.

Los pediatras de nuestro país han sido expertos en el diagnóstico y tratamiento de las formas viscerales dada la situación endémica de la mayor parte de nuestro territorio, con máxima incidencia en las regiones que bordean la costa mediterránea y el centro peninsular y mínima afectación en la España verde o húmeda y en el archipiélago canario. Esta situación se ha mantenido estable en el tiempo, si bien con mucha menor intensidad de lo que representó en la primera mitad del siglo^(6,7); actualmente para publicar series con un número significativo de pacientes, los grandes servicios de pediatría de las zonas endémicas han de revisar períodos de 10 años o más, observándose en estos centros una media de 2-3 casos al año⁽⁸⁻¹⁰⁾. La menor morbilidad por leishmaniasis visceral infantil en las últimas décadas nos ha mantenido relativamente al margen de los avances en los aspectos patogénicos de la infección y de los cambios epidemiológicos que se han producido, algunos de los cuales tienen precisamente a nuestro país por protagonista destacado. Y ello apoyado por la ausencia de cambios sustanciales en el terreno diagnóstico y terapéutico, que es el que más interesa al pediatra clínico, ya que la observación directa del parásito y el empleo de antimoniales pentavalentes siguen siendo las piedras angulares. Existen muchas nuevas técnicas diagnósticas, además de la clásica serología por inmunofluorescencia indirecta, algunas de ellas aplicables en laboratorios de referencia cuando no es posible la observación directa del parásito. En el tratamiento destaca la irrup-

¿Qué ha sido de la leishmaniasis?

ción de las nuevas formulaciones de anfotericina B, especialmente la anfotericina B liposomal, en la segunda línea del tratamiento^(11,12).

Así, el título de este artículo hace referencia, tanto a la menor frecuencia con que el pediatra se enfrenta a niños enfermos de kala-azar, como a los conceptos novedosos que se han desarrollado en torno a la enfermedad en este período de relativo descenso de la morbilidad pediátrica y que es preciso actualizar.

¿Por qué ha disminuido la leishmaniasis visceral infantil en España?

Como se ha comentado, la leishmaniasis constituyó un serio problema de salud pública en la primera mitad del presente siglo, disminuyendo a partir de los años 50 hasta alcanzar un nivel hipoendémico en las siguientes décadas^(7,13). Por su severidad, la leishmaniasis visceral ha acaparado mucha más atención que la cutánea y, por ser más propia del ámbito pediátrico, nos referiremos a ella en este apartado. La mortalidad del kala-azar en el primer tercio del siglo era muy alta, del 60-90%, dada la ausencia de un tratamiento efectivo, lo que resaltaba la importancia de la enfermedad. Por otra parte, la guerra civil produjo un incremento de los casos en el litoral mediterráneo relacionado con el desplazamiento masivo de la población y posiblemente por el deterioro higiénico-sanitario y el recrudecimiento de la malnutrición, especialmente infantil, circunstancias similares a las que siguen produciendo grandes epidemias de kala-azar en otras partes del mundo⁽¹⁴⁾.

Sin embargo, desde el ecuador del siglo se ha venido produciendo un descenso de la mortalidad y la morbilidad por kala-azar. La primera, obviamente, debida a la generalización del tratamiento con antimoniales pentavalentes, así como a la universalización y mejora de la asistencia sanitaria. La segunda es más difícil de interpretar y posiblemente dependa de la concatenación de varias circunstancias, dado que ninguna medida específica se ha tomado nunca en nuestro país de un modo amplio o institucional para controlar esta enfermedad, en la primera mitad del siglo por el confusiónismo en cuanto a los mecanismos de transmisión⁽⁶⁾, en la segunda mitad por la disminución aparentemente espontánea del problema. Por lo tanto, el descenso de la morbilidad ha debido ser el resultado indirecto de otros factores que han producido este efecto de manera colateral o secundaria.

Efectivamente, nunca se han tomado medidas específicas

Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina.

Universidad Miguel Hernández. 03550. San Juan. Alicante.

Financiación: Este trabajo contiene datos preliminares de un proyecto de investigación sufragado por una beca de ayuda a la investigación de la Fundación Navarro-Tripodi.

Correspondencia: Luis Moral Gil. C./ la Dorada, nº 6, pta. 49. 03540-Alicante.

para controlar al principal reservorio de *L. infantum*, el perro. No existe ningún censo real de la población canina, con lo que es difícil conocer la verdadera prevalencia de leishmaniasis en el perro aunque la mayoría de los estudios en zonas endémicas de nuestro país la sitúan entre el 10 y el 25% o incluso más. Y aunque la actitud deseable sería la de detectar y sacrificar a los animales enfermos, la dificultad para llevarlo a la práctica ha propiciado otras medidas más conservadoras que son objeto de polémica⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. De todos modos, el fracaso de este tipo de abordaje para el control de la enfermedad, allí donde se ha realizado, ha hecho evidente la necesidad de desarrollar una vacuna que proteja al perro de la infección, eliminando, así, su papel de reservorio⁽¹⁸⁾. Esta medida sería especialmente útil en el área endémica de Europa⁽¹⁹⁾.

Tampoco se han realizado campañas específicas para combatir al vector, *Phlebotomus*, pero en este caso podría haberse obtenido un resultado indirecto de las campañas de desinsectación masiva llevadas a cabo en los años 40 para combatir al vector de la malaria, *Anopheles*, así como de la generalización del empleo de los insecticidas agrícolas y domésticos⁽¹³⁾. Ejemplo de ello, en la provincia de Alicante, es el foco de leishmaniasis de los alrededores de Orihuela, casi extinguido desde el inicio de las campañas antipalúdicas de finales de los años 40^(20,21). Por contra, en las poblaciones litorales y prelitorales situadas entre Alicante y el eje Altea-Callosa, en las que por su estructura agrícola no se utilizaron los insecticidas, persistió la situación endémica que conocemos hasta la actualidad⁽²²⁾. Resultados similares se han observado en Italia⁽²³⁻²⁵⁾ y en otros lugares⁽²⁶⁾, mientras que la interrupción de tales campañas se ha relacionado con la reemergencia de la enfermedad⁽¹⁸⁾.

Hemos explorado los factores que han podido relacionarse con la disminución de la infección por *L. infantum* en España, pero no podemos afirmar que tal disminución se haya producido realmente. Se sabe ahora que los casos clínicos de leishmaniasis no son, sino una pequeña fracción del total de las infecciones y podría ocurrir que el menor número de pacientes de leishmaniasis, se debiera en realidad a una mayor resistencia del niño frente a la infección, aunque ésta fuera tan frecuente como en otras épocas. Entonces, ¿cómo conocer la frecuencia de infección asintomática en España?

¿Existen infecciones asintomáticas por *Leishmania* en España?

La leishmaniasis, como la tuberculosis y otras infecciones, puede producir, desde una respuesta inmune detectable en ausencia de síntomas, hasta una enfermedad diseminada. La existencia de infecciones asintomáticas u oligosintomáticas por especies de *Leishmania* se conoce desde antiguo y se ha demostrado reiteradamente⁽²⁷⁻²⁹⁾. La multitud de estudios en diversas áreas endémicas que evidencian la existencia de porcentajes variables de población que reacciona positivamente al test de leishmanina (análogo al de tuberculina e indicativo de contacto pasado con el parásito), sin presentar síntomas actuales ni antecedentes de haber padecido leishmaniasis, confirma el concep-

to de que sólo una pequeña proporción de las personas infectadas padece la enfermedad. En nuestro entorno más cercano, en las zonas endémicas de Italia y Francia, se han encontrado altas tasas de positividad a dicho test^(23-25,30-34).

Todo ello parece indicar que en las zonas endémicas de España se debe estar produciendo un fenómeno parecido, pero muy pocos estudios lo han puesto de manifiesto. El Departamento de Parasitología de la Universidad de Granada está trabajando últimamente en esta línea aportando datos muy interesantes. En comarcas como la Alpujarra granadina o la Axarquía malagueña, con una importante endemia para la leishmaniasis, especialmente en su forma cutánea, el porcentaje de positividad al test en una población fundamentalmente escolar fue superior al 40 %, aumentando rápidamente con la edad de manera que más del 50 % de la población es positiva al cumplir los 14 años de edad^(35,36). La conversión al test en edades tan tempranas indica la existencia de un activo ciclo biológico del parásito, sustentado por una elevada prevalencia de leishmaniasis canina y una alta densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Por contra, en un estudio en la población de Majadahonda la positividad total fue tan sólo del 1,4%, con lo que se calculó que 3 de cada 1.000 personas se infectan anualmente en esa localidad⁽³⁷⁾. Algunos estudios serológicos (que detectan infección aguda) han mostrado una incidencia casi nula en población sana^(38,39).

La provincia de Alicante ha sido endémica para la leishmaniasis, tanto cutánea, como visceral, desde principios de siglo y es actualmente una de las de mayor tasa de enfermedad declarada en España (0,81 casos anuales por 100.000 habitantes entre 1982 y 1994, sólo por debajo de Baleares, Ceuta y Guadalajara), alcanzando algunas de sus comarcas tasas de 6-10/100.000 en algunos años^(40,41), lo que nos ha motivado a determinar la frecuencia de infección asintomática por *Leishmania* en las poblaciones de los alrededores de la ciudad de Alicante. En un estudio piloto en dos pequeñas poblaciones rurales con una endemia significativa de leishmaniasis visceral y cutánea, Busot y Aigües, se han obtenido resultados cercanos a los de la Alpujarra y la Axarquía: casi un 40% de positividad global, con un 11% de positividad en el grupo de población menor de 15 años de edad y más del 50% en el de población mayor de 14 años. Este dato viene a confirmar la existencia de focos en diversos puntos del país donde se mantiene un ciclo activo del parásito, con una alta prevalencia de infección humana en el foco. La punta del iceberg de esta situación la constituyen los casos clínicos de leishmaniasis que son diagnosticados. Entonces, ¿por qué en la mayoría de los casos el sistema inmune es capaz de controlar la infección, mientras en unos pocos se produce la progresión y la aparición de síntomas clínicos?

¿Cuál es el curso natural de la infección por *Leishmania*?

La leishmaniasis se entiende actualmente como un espectro de manifestaciones producidas por la infección por especies del género *Leishmania*, que abarca, desde la ausencia de síntomas hasta la enfermedad visceral diseminada que puede conducir a

la muerte. En medio de estos dos extremos se encuentra una gran variedad de cuadros clínicos que se resumen a continuación:

- Infección asintomática, detectable sólo por métodos indirectos (serología o test cutáneo) en ausencia de síntomas atribuibles a la enfermedad⁽²⁷⁻²⁹⁾.

- Infección oligosintomática, mostrando una serie de síntomas inespecíficos digestivos y respiratorios, febrícula, decaimiento, escaso incremento ponderal, hepatomegalia y frecuente esplenomegalia. Algunos de estos pacientes pueden progresar hasta el kala-azar clásico, mientras que otros se reponen espontáneamente⁽²⁹⁾.

- Enfermedad cutánea localizada, el clásico "botón de Oriente", con sus formas seca y húmeda y curso agudo, crónico o recidivante.

- Enfermedad mucosa y mucocutánea, conocida como espondia.

- Enfermedad cutánea difusa, diseminada o pseudolepromatosa.

- Leishmaniasis dérmica postkala-azar, enfermedad cutánea diseminada que ocurre en algunos antiguos pacientes de kala-azar.

- Leishmaniasis visceral o kala-azar.

La forma clínica que adopta una infección por *Leishmania* depende de varios factores, pero, fundamentalmente, de la especie infectante y de la respuesta inmunitaria del huésped⁽⁴²⁻⁴⁵⁾. La leishmaniasis se ha constituido en un modelo para el estudio de la inmunidad celular, por lo que el conocimiento de la inmunología de esta infección está en continua evolución. Los amastigotes son destruidos dentro de los macrófagos cuando son activados con interferón γ o por contacto directo con linfocitos T CD4⁺ específicos de *Leishmania*. Se piensa que la resolución de la infección y la protección frente a la reinfección depende del aumento de linfocitos T específicos de *Leishmania* de tipo CD4⁺ Th1 productores de interferón γ . También es importante la participación de las interleuquinas 2 y 12⁽⁴⁶⁾. En la infección progresiva del ratón se produce un aumento de los linfocitos CD4⁺ Th2 que secretan interleuquina 4 que suprime la respuesta protectora de las células Th1. En el hombre sería la interleuquina 10 la responsable de la falta de respuesta protectora. Los factores que determinan el predominio de los linfocitos CD4⁺ Th1 o Th2 durante la infección por *Leishmania* no están aclarados y ésta constituye la cuestión central en la patogenia de la enfermedad, aunque posiblemente dependa de varios factores, uno de los cuales parece ser la malnutrición⁽⁴⁷⁾. Otros componentes que han sido implicados en el desarrollo de la respuesta inmune son los linfocitos T CD8⁺, otras citoquinas, como el factor de necrosis tumoral TNF- α , la producción de óxido nítrico dependiente de L-arginina en los macrófagos y la presencia de antígenos de *Leishmania* capaces de inducir la respuesta de los linfocitos T⁽⁴⁸⁾. En definitiva, muchos aspectos de la inmunobiología de la leishmaniasis continúan siendo un enigma y el tema está sujeto a continuas revisiones^(49,50).

Cada especie de *Leishmania* tiene diferente tropismo para invadir órganos internos o afectar a los tegumentos. Sin em-

bargo, algunos autores piensan que la forma clínica que adopta la infección depende, fundamentalmente, de la respuesta inmunitaria del huésped⁽⁵¹⁾, apoyándose en la existencia de casos de enfermedad visceral por especies ajenas al complejo *L. donovani*^(52,53), así como formas cutáneas y mucosas por especies inhabituales⁽⁵⁴⁾. En el caso de *L. infantum* parece existir un grupo de cepas viscerotrópicas responsables de la leishmaniasis visceral zoonótica, infantil o mediterránea y de la leishmaniasis canina, frente a otras cepas dermatotrópicas responsables de la enfermedad cutánea o incluso mucosa que difieren genética y enzimáticamente de las cepas viscerotrópicas⁽⁴⁴⁾.

Una vez producida la infección aparece una respuesta humoral de anticuerpos de nula o desconocida utilidad protectora, debido al acantonamiento del parásito en las vacuolas parasitóforas de las células del sistema reticuloendotelial. En este momento el control de la infección o la progresión de la enfermedad dependerá de la capacidad del huésped para establecer una respuesta inmunitaria de tipo celular efectiva, según lo expresado antes. Estos factores propios del huésped parecen incluir aspectos genéticos^(55,56) y ambientales, muy especialmente el estado nutricional^(47,57-60). Mientras no existe una respuesta protectora el parásito se multiplica, colonizando nuevas células, con persistencia o progresión de las manifestaciones clínicas. Cuando se produce una respuesta protectora, bien espontáneamente (la mayoría de las veces) o por el tratamiento (en los sujetos enfermos), se controla la replicación del parásito apareciendo la positividad al test cutáneo, como indicador de la inmunidad celular efectiva, que puede permanecer de por vida. Lo que no queda claro es si se produce la erradicación del germen, o bien si lo que se consigue es su control y estado de quiescencia intracelular⁽⁶¹⁾. Posiblemente ocurra esto último, manteniéndose una situación de equilibrio que puede romperse, con reactivación de la enfermedad silente en pacientes malnutridos, en ancianos o en personas que se encuentran en estado de inmunodepresión, como consecuencia de enfermedades que alteran la inmunidad o de tratamientos con esteroides o inmunosupresores^(42,62,63). Existen casos de reactivación después de 10, 15 y hasta 40 años de la infección⁽⁶⁴⁻⁶⁷⁾. En las dos últimas décadas la principal causa de inmunodepresión la constituye el SIDA, muy especialmente en nuestro país. La coincidencia geográfica de ambas infecciones ha originado importantes cambios en la leishmaniasis que a continuación se comentan.

¿Cómo influye la infección por VIH en la infección por *Leishmania*?

La irrupción del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los países mediterráneos de Europa, tradicionalmente endémicos para la leishmaniasis, ha producido importantes cambios en la epidemiología, el curso clínico y la respuesta al tratamiento de la enfermedad, por lo que se ha propugnado la inclusión de la leishmaniasis como infección oportunista en el paciente infectado por VIH⁽⁶²⁾. En estos países, y muy especialmente en España donde se han detectado más de la mitad de todos los casos de coinfección del mundo^(68,69), la epidemiología de la en-

fermedad ha sufrido un vuelco dramático de manera que en la actualidad la mayor parte de los casos de leishmaniasis se producen en adultos, principalmente infectados por VIH⁽⁷⁰⁻⁷²⁾, frente al patrón endémico clásico de leishmaniasis visceral infantil que se continúa produciendo e incluso parece recrudecerse en los países del Magreb⁽⁷³⁻⁷⁷⁾. Se remite al lector a una reciente y completa revisión de la coinfección VIH-*L. infantum* por Alvar y colaboradores⁽⁶⁹⁾.

La cuestión que se plantea en estos pacientes es si la leishmaniasis se reactiva en el sujeto infectado por VIH o si se trata de una infección primaria sobre un paciente inmunodeprimido. Existe una evidencia creciente de que la infección por *Leishmania* es más frecuente en los individuos adictos a drogas por vía parenteral que en otros grupos de infección VIH, lo que indica la posible transmisión de la infección al compartir las jeringuillas^(37,39,78). También se explica así la presencia de cepas de *L. infantum* no conocidas hasta ahora casi exclusivas de este colectivo, posiblemente por su escasa patogenicidad. Además, los sujetos coinfectados pueden comportarse como reservorios secundarios, dada la frecuencia con que estos pacientes albergan parásitos en su piel sana⁽⁷⁹⁾, así como la facilidad con que se aísla *Leishmania* de los flebotomos que se alimentan sobre ellos⁽⁸⁰⁾. La infección asintomática es muy frecuente en este grupo de pacientes⁽⁸¹⁾.

Hasta la fecha se han descrito casos aislados de la coinfección en pacientes pediátricos^(82,83). Tal vez se debería aumentar la sospecha diagnóstica e investigar la presencia de *Leishmania* sistemáticamente en pacientes de VIH, así como a la inversa, investigar infección por VIH en pacientes con leishmaniasis, para detectar precozmente sujetos con esta coinfección, comprobar su curso natural e iniciar medidas profilácticas o terapéuticas precoces.

Conclusiones

La incidencia de leishmaniasis en población inmunocompetente ha decrecido paulatinamente en España, como en otros países de Europa, debido a la interrupción del ciclo biológico natural en los focos donde se han llevado a cabo campañas de desinsectación masivas, como profilaxis antimalárica o por motivos agrícolas, de manera que la virtual desaparición del vector habría disminuido, tanto la infección humana, como la canina, disminuyendo el reservorio de parásitos disponibles en esos focos, con lo que el efecto se ha mantenido en el tiempo. Esta hipótesis implicaría la disminución de la tasa de infección respecto a épocas pasadas y podría demostrarse mediante la realización del test de leishmanina a una muestra representativa de la población de esos núcleos, donde debería apreciarse el descenso súbito de la frecuencia de positividad en las cohortes nacidas después de las campañas de desinsectación, como se ha visto en otros lugares⁽²³⁻²⁵⁾. La confirmación de esta hipótesis ratificaría la eficacia de tales campañas en la disminución o erradicación de la enfermedad en ausencia de una vacuna utilizable en el perro, con el objetivo final de reducir el volumen de parásitos disponibles en un foco.

En los focos que no han sido sometidos a la desinsectación y que mantienen un ciclo activo del parásito, como se demuestra por una frecuencia elevada de sujetos reactivos al test de leishmanina, sobre todo en edades tempranas, la mejora de las condiciones higiénico-sanitarias ha influido también en la menor frecuencia de la enfermedad, ya sea disminuyendo la probabilidad de la infección en los niños más pequeños (menor hacinamiento, mejoría de las condiciones de la vivienda, abandono del medio rural por las familias jóvenes), o reforzando la situación inmunitaria de los individuos (mejoría del estado nutricional, disminución de las infecciones infantiles debilitantes por las vacunaciones). Ello confirma el carácter parcialmente oportunista de *L. infantum* que, en la mayoría de las ocasiones, sólo es capaz de diseminarse en los organismos más susceptibles: el niño de corta edad, sujetos malnutridos o inmunodeprimidos y el perro.

El mayor riesgo de enfermar tras la infección lo correrían, como ha sido siempre, los niños pequeños de colectivos desfavorecidos, con peor estado nutricional, viviendo en zonas periurbanas y más expuestos al vector. Otro grupo susceptible lo constituye la población del centro y norte de Europa, sin contacto previo con el parásito y tal vez menos seleccionada genéticamente, que acude a nuestro país por motivos turísticos en la época de máximo riesgo epidemiológico⁽⁸⁴⁻⁸⁹⁾, padeciendo la enfermedad con mayor frecuencia relativa que la población autóctona^(13,36), lo que también hemos encontrado durante nuestro estudio.

La aparición de un colectivo de población inmunodeprimida por la infección por VIH, con hábitos que favorecen la transmisión directa del parásito, ha originado un nuevo reservorio de *L. infantum*, particularmente de cepas dermatrópicas o poco patógenas, que a su vez pueden ser transmitidas a través del vector por su presencia en la piel sana de estos sujetos. Se ignora la repercusión de la posible diseminación de estas cepas, en muchos casos sometidas a tratamientos repetidos, lo que favorece la aparición de resistencias.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Alvar, del Laboratorio de Referencia para la Leishmaniasis del Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, por facilitarnos la leishmanina y por la revisión crítica del manuscrito.

A los médicos y enfermeros, y a los Ayuntamientos y población general de Busot y Aigües, por su colaboración en el trabajo de campo.

Bibliografía

- 1 WHO expert committee. Control of the leishmaniasis. Geneva: World Health Organization; 1990.
- 2 Alvar J. Leishmaniasis. En: Tratado de Medicina Interna. Medicine. 4ª ed. Barcelona: Idpsa, 1986: 3025-3032.
- 3 Cruz M, Ferrando J, Corretger JM. Dermatología pediátrica. En: Cruz M, ed. Tratado de Pediatría. 7ª ed. Barcelona: Espaxs, 1993: 2090-2106.

- 4 Aguilera L, Pérez M, García MJ. Leishmaniasis. Paludismo. En: Zafra MA, Calvo C, García ML, Baquero F, Arribas N, Jiménez J, Bueno M, eds. Manual de diagnóstico y terapéutica en pediatría. 3ª ed. Madrid: Publires, 1996: 374-379.
- 5 Izento C, González-Enseñat MA. Cas 97.2. *Pediatr Catalana* 1997; **57**:188-189.
- 6 Comín J, Herrero P, Sancho V. El problema del kala-azar infantil en el Levante español. *Act Ped Esp* 1947; **5**:379-407.
- 7 Botet J, Portús M. La leishmaniosis en la España peninsular. Revisión histórico-bibliográfica (1912-1985). *Rev San Hig Pub* 1993; **67**:255-266.
- 8 Gómez J, Medrano C, Navarro M, et al. Kala-azar en la infancia: a propósito de 34 casos y revisión de la literatura. *Rev Esp Pediatr* 1994; **50**:339-343.
- 9 Amat A, Ros J, Roca J, Pou J. Leishmaniasis visceral. A propósito de 31 casos. Revisión de 14 años. *Arch Pediatr* 1995; **46**:254-259.
- 10 López LF, Clemente F, de la Cruz E, et al. Kala-azar infantil: casuística de una década. *An Esp Pediatr* 1993; **39**:199-201.
- 11 Gradoni L, Bryceson A, Desjeux P. Treatment of Mediterranean visceral leishmaniasis. *Bull WHO* 1995; **73**:191-197.
- 12 Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis* 1997; **24**:684-703.
- 13 Gil J. Phlébotomes et leishmanioses en Espagne. En: Ecologie des leishmanioses. *Colloques Int CNRS (Montpellier)* 1977; **239**:177-190.
- 14 Anónimo. Leishmaniasis epidemic in Southern Sudan. *Wkly Epidemiol Rec* 1993; **68**:41-42.
- 15 Ferrer Ll. Leishmaniosis canina en España: datos para el clínico. *Enf Infec Microbiol Clin* 1989; **7**:293-295.
- 16 Portús M. Leishmaniosis canina. *Enf Infec Microbiol Clin* 1990; **8**:251.
- 17 Alvar J, Amela C, Molina R. El perro como reservorio de la leishmaniosis. *Med Vet* 1995; **12**.
- 18 Tesh RB. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: Is it time to change strategies? *Am J Trop Med Hyg* 1995; **52**:287-292.
- 19 Dye C. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **55**:125-130.
- 20 Quiles J. La leishmaniosis visceral infantil durante la década 1943-1952 en la Vega Baja del Río Segura. *Arch Pediatr* 1953; **3**:497-506.
- 21 Quiles J. Leishmaniosis infantil. *Bol Soc Val Ped* 1962; **4**:437-442.
- 22 Orts P. Leishmaniosis infantil. Comentarios a nuestra casuística en una comarca de la provincia de Alicante. *Bol Soc Val Ped* 1964; **6**:235-242.
- 23 Pampiglione S, Manson-Bahr PEC, La Placa M, et al. Studies in Mediterranean leishmaniasis. 3. The leishmanin skin test in kala-azar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1975; **69**:60-68.
- 24 Pampiglione S, Manson-Bahr PEC, La Placa M, et al. Studies on Mediterranean leishmaniasis. IV. The leishmanin skin test in cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1976; **70**:62-65.
- 25 Gramiccia M, Bettini S, Gradoni L, et al. Leishmaniasis in Sardinia. 5. Leishmanin reaction in the human population of a focus of low endemicity of canine leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; **84**:371-374.
- 26 el Hassan AM, Zijlstra EE, Ismael A, Ghalib HW. Recent observations on the epidemiology of kala-azar in the eastern and central states of the Sudan. *Trop Geogr Med* 1995; **47**:151-156.
- 27 Pampiglione S, Manson-Bahr PEC, Giungi F, et al. Studies on Mediterranean leishmaniasis. 2. Asymptomatic cases of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1974; **68**:447-453.
- 28 Badaró R, Jones TC, Lorengo R, et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis* 1986; **154**:639-649.
- 29 Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, et al. New perspectives on a sub-clinical form of visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1986; **154**:1003-1011.
- 30 Bettini S, Pampiglione S, Maroli M. Studies on Mediterranean leishmaniasis. V. A preliminary epidemiological survey of human leishmaniasis in Tuscany. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1977; **71**:73-79.
- 31 Bettini S, Gramiccia M, Gradoni L, et al. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VIII. Human population response to leishmanin in the focus of Monte Argentario (Grosseto) and epidemiological evaluation. *Ann Parasitol Hum Comp* 1983; **58**:539-547.
- 32 Gradoni L, Pizzuti R, di Martino L, et al. The epidemiology and surveillance of visceral leishmaniasis in the Campania region of Italy. The value of zymodeme typing. *Epidemiol Infect* 1993; **111**:297-306.
- 33 Marty P, Le Fichoux Y, Giordana D, Brugnetti A. Leishmanin reaction in the human population of a highly endemic focus of canine leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; **86**:249-250.
- 34 Marty P, Lelievre A, Quaranta J-F, et al. Use of the leishmanin skin test and Western blot analysis for epidemiological studies in visceral leishmaniasis areas: experience in a highly endemic focus in Alpes-Maritimes (France). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; **88**:658-659.
- 35 Acedo C, Martín J, Vélez ID, et al. Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada province, southern Spain). *Int J Parasitol* 1996; **26**:303-310.
- 36 Morillas F, Sánchez Rabasco F, Ocaña J, et al. Leishmaniosis in the focus of the Axarquía region, Malaga province, southern Spain: a survey of the human, dog, and vector. *Parasitol Res* 1996; **82**:569-570.
- 37 Alvar J, Gutiérrez-Solar B, Pachón I, et al. AIDS and *Leishmania infantum*. New approaches for a new epidemiological problem. *Clin Dermatol* 1996; **14**:541-546.
- 38 Taberner M, Barrio MI, García MJ, Zapico R. ¿Existen leishmaniasis asintomáticas en España? *An Esp Pediatr* 1990; **33**:96-97.
- 39 Gutiérrez J, Maroto MC, Piédrola G, Higuera A. Prevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en individuos adictos a drogas por vía parenteral. Rentabilidad de dos técnicas de estudio. *Med Clin (Barc)* 1993; **100**:168-170.
- 40 Anónimo. Vigilancia epidemiológica de la leishmaniasis. *Butll Epidemiol* 1988; n° 77 y n° 78.
- 41 Generalitat Valenciana. Conselleria de Sanitat i Consum. Gabinet Técnico de la Secretaria General. Libro Blanco de la Salud en la Comunidad Valenciana. Generalitat Valenciana, Valencia; 1991. pp 515 y 531.
- 42 Wilson ME. Leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 1993; **6**:331-341.
- 43 Baily GG, Nandy A. Visceral leishmaniasis: more prevalent and more problematic. *J Infect* 1994; **29**:241-247.
- 44 Gradoni L, Gramiccia M. *Leishmania infantum* tropism: Strain genotype or host immune status? *Parasitol Today* 1994; **10**:264-267.
- 45 Pearson RD, De Queiroz Sousa A. Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1996; **22**:1-13.
- 46 Bacellar O, Brodskyn C, Guerreiro J, et al. Interleukin-12 restores interferon- γ production and cytotoxic responses in visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1996; **173**:1515-1518.
- 47 Pearson RD, Cox G, Jeronimo SMB, et al. Visceral leishmaniasis: a

- model for infection-induced cachexia. *Am J Trop Med Hyg* 1992; **47** Suppl:8-15.
- 48 Locksley RM, Louis JA. Immunology of leishmaniasis. *Curr Opin Immunol* 1992; **4**:413-418.
- 49 Tanner C. Immunobiology of visceral leishmaniasis. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; **78**:105-111.
- 50 Kemp M. Regulator and effector functions of T-cell subsets in human *Leishmania* infections. *APMIS* 1997; **105** (Suppl. 68):1-33.
- 51 Azulay RD, Azulay DR. Immune-clinical-pathologic spectrum of leishmaniasis. *Int J Dermatol* 1995; **34**:303-307.
- 52 Magill AJ, Grögl M, Gasser RA, et al. Visceral infection caused by *Leishmania tropica* in veterans of operation desert storm. *N Engl J Med* 1993; **328**:1383-1387.
- 53 Sacks DL, Kenney RT, Kreutzer RD, et al. Indian kala-azar caused by *Leishmania tropica*. *Lancet* 1995; **345**:959-961.
- 54 Alvar J, Ballesteros A, Soler R, et al. Mucocutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) infantum*: Biochemical characterization. *Am J Trop Med Hyg* 1990; **43**:614-618.
- 55 Cabello PH, Dias Lima AMVM, Azevedo ES, Krieger H. Familial aggregation of *Leishmania chagasi* infection in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1995; **52**:364-365.
- 56 Blackwell JM. Genetic susceptibility to leishmanial infections: studies in mice and man. *Parasitology* 1996; **112** Suppl:S67-S74.
- 57 Harrison LH, Naidu TG, Drew JS, et al. Reciprocal relationships between undernutrition and the parasitic disease visceral leishmaniasis. *Rev Infect Dis* 1986; **8**:447-453.
- 58 Cerf BJ, Jones TC, Badaro R, et al. Malnutrition as a risk factor for severe visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1987; **156**:1030-1033.
- 59 Dye C, Williams BG. Malnutrition, age and the risk of parasitic disease: visceral leishmaniasis revisited. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1993; **254**:33-39.
- 60 Bhattacharyya J, Bhattacharyya A, Hati AK. Visceral leishmaniasis: an anthropometric study. *Ann Trop Med Parasitol* 1995; **89**:83-84.
- 61 De Rossell RA, De Durán RJ, Rossell O, Rodríguez AM. Is leishmaniasis ever cured? *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; **86**:251-253.
- 62 Montalbán C, Calleja JL, Erice A, et al. Visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect* 1990; **21**:261-270.
- 63 Golino A, Duncan M, Zeluff B, et al. Leishmaniasis in a heart transplant patient. *J Heart Lung Transplant* 1992; **11**:820-823.
- 64 Wright MI. Kala-azar of unusual duration, associated with agammaglobulinaemia. *BMJ* 1959; **1**:1218-1221.
- 65 Symmers WSC. Leishmaniasis acquired by contagion. A case of marital infection in Britain. *Lancet* 1960; **ii**:127-132.
- 66 Bada JL, Arderiu A, Giménez J, Gómez-Acha JA. Kala-azar of long-standing evolution in an asplenic patient. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1979; **73**:347-348.
- 67 Jewell AP, Giles FJ. Cutaneous manifestation of leishmaniasis 40 years after exposure in a patient with chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Lymphoma* 1996; **21**:347-349.
- 68 Dedet JP, Lambert M, Pratlong F. Leishmanioses et infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Presse Med* 1995; **24**:1036-1040.
- 69 Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, et al. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev* 1997; **10**:298-319.
- 70 Alvar J. Leishmaniasis and AIDS co-infection: The Spanish example. *Parasitol Today* 1994; **10**:160-163.
- 71 De Górgolas M, Miles MA. Visceral leishmaniasis and AIDS. *Nature* 1994; **372**:734.
- 72 Dereure J, Reynes J, Pratlong, et al. Visceral leishmaniasis in HIV-infected patients in the south of France. *Bull WHO* 1995; **73**:245-246.
- 73 Mikou N, Balafrej A, Benhamou B, et al. Leishmaniose viscérale infantile au Maroc. *Ann Pediatr (Paris)* 1991; **38**:497-502.
- 74 Lagardere B, Chevallier B, Cheriet R. Le kala azar. *Ann Pediatr (Paris)* 1992; **39**:159-164.
- 75 Pousse H, Besbes A, Ben Said M, et al. Epidemiology of human visceral leishmaniasis in Tunisia. *J Trop Pediatr* 1995; **41**:191-192.
- 76 Harrat Z, Pratlong F, Belazzoug S, et al. *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; **90**:625-629.
- 77 Belhadj S, Djaiet-Baraket Z, Jemli B, et al. Leishmanioses viscérales et cutanées du nord. Etude rétrospective des cas diagnostiqués à l'hôpital La Rabta de Tunis. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; **89**:269-273.
- 78 Amela C, López Gay D, Alberdi JC, Castilla J. Injecting drug use as a risk factor for visceral leishmaniasis in AIDS patients. *Eur J Epidemiol* 1996; **12**:91-92.
- 79 Perrin C, Taillan B, Del Guidice P, et al. Dermonodular and visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum* with a new isoenzyme pattern. *Clin Infect Dis* 1997; **24**:1283.
- 80 Molina R, Cañavate C, Cercenado E, et al. Indirect xenodiagnosis of visceral leishmaniasis in 10 HIV-infected patients using colonized *Phlebotomus perniciosus*. *AIDS* 1994; **8**:277-279.
- 81 Pineda JA, Macías J. Kala-azar en la infección por VIH, ¿la punta del iceberg? *Med Clin (Barc)* 1996; **106**:697-699.
- 82 de Juan F, Gómez V, García C, et al. Leishmaniosis visceral reveladora de infección por VIH postransfusional. *An Esp Pediatr* 1991; **34**:158-160.
- 83 Guarino A, Gaeta GB, Gradoni L. Visceral leishmaniasis in a child with HIV-1 infection. *Eur J Pediatr* 1994; **153**:301-302.
- 84 Hill FGH, Letsky EA. Infantile kala-azar in Britain. *BMJ* 1975; **9**:354-355.
- 85 Koht AS, Thompson MH. Visceral leishmaniasis contracted in the Mediterranean area. *Arch Dis Child* 1983; **58**:930-931.
- 86 Kinmond S, Galea P, Simpson EM, et al. Kala-azar in a scottish child. *Lancet* 1989; **ii**:325.
- 87 Jeannel D, Tuppin P, Brucker G, et al. Imported and autochthonous kala-azar in France. *BMJ* 1991; **303**:336-338.
- 88 Granert C, Elinder G, Öst Å, Henter J-I. Kala-azar in a one-year-old Swedish child. Diagnostic difficulties because of active hemophagocytosis. *Acta Paediatr* 1993; **82**:794-796.
- 89 Emeis M, Liesenfeld O, Henze G, et al. Importierte viszerale Leishmaniose (Kala Azar) bei einem deutschen Kleinkind. *Klin Padiatr* 1995; **207**:347-349.