

The review of imported visceral leishmaniosis in the Czech Republic

Chalupa P, Vanista J, Burget I, Stary J, Sukova M, Nohynkova M

Přehled importovaných viscerálních leishmanióz v České republice

Abstract

Chalupa P, Vanista J, Burget I, Stary J, Sukova M, Nohynkova M:

The review of imported visceral leishmaniosis in the Czech Republic

Bratisl Lek Listy 2001; 102 (2): 84–91

Background: From the late 1950s through 2000, a total of 8 cases of imported visceral leishmaniosis (VL) were registered in the Czech republic.

Objectives: The authors were made to point to the issue of imported VL by the fact 3 cases of this disease (imported from East Africa, Croatia, and southern Italy) were reported in 1999, plus another one (again imported from Croatia) in 2000.

Methods: The case reports of 4 cases of imported VL are presented. They are cases 5-8 ever reported in the Czech Republic.

Results: The infection manifested itself by fever, marked splenomegaly, leukopenia, thrombocytopenia, and rapid weight loss. The diagnosis was confirmed by the microscopic finding of amastigotes in punctate obtained from bone marrow, liver, spleen and, also, by serology. All the patients were successfully treated with amphotericin B.

Conclusion: Infection by VL should be considered when establishing the diagnosis not only in patient returning from endemic regions and show hepatosplenomegaly, fever, leukopenia, and thrombocytopenia. Given the long incubation time, VL may be encountered also in foreigners who had lived in the above regions. Besides, the diagnosis of VL should also be considered in immunocompromised individuals. (Ref. 27.)

Key words: visceral leishmaniosis, kala azar, *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, splenomegaly, leukopenia, thrombocytopenia, amphotericin B, liposomal amphotericin B.

Abstrakt

Chalupa P., Vaništa J., Burget I., Starý J., Suková M., Nohýnková E.:

Přehled importovaných viscerálních leishmanióz v České republice

Bratisl. lek. Listy, 102, 2001, č. 2, s. 84–91

Pozadí problému: Od 50. let do konce roku 2000 se v České republice vyskytlo celkem 8 případů importované viscerální leishmaniózy.

Cíl a východiská sledování: Autory vedla k rozhodnutí upozornit na problematiku importované viscerální leishmaniózy skutečnost, že v roce 1999 se v České republice vyskytla 3 tato onemocnění (z východní Afriky, Chorvatska a jižní Itálie) a v roce 2000 další jedno onemocnění opět z Chorvatska.

Soubor nemocných a metodika: Uvedeny kasuistiky 4 případů importované viscerální leishmaniózy. Jde o 5. až 8. případ popsaný v České republice.

Hlavní výsledky: Nákaza se projevovala horečkou, nápadnou splenomegalií, leukopenií, trombopenií a rychlým úbytkem tělesné hmotnosti. Diagnóza se potvrdila mikroskopickým nálezem amastigotů v punktátu kostní dřeně, jater, sleziny a také serologicky. Všichni nemocní byli úspěšně léčeni amfotericiinem B.

Závěry: Onemocnění viscerální leishmaniózou třeba zahrnout do našich diferenciálně diagnostických úvah nejen u pacientů, kteří se vrátili z endemických oblastí a mají hepatosplenomegálii, febrilie, leukopenii a trombopenii, ale vzhledem k dlouhé inkubační době se s ní můžeme setkat i u cizinců, kteří dříve v těchto oblastech žili a třeba na toto onemocnění myslet i u pacientů imunokompromitovaných. (Lit. 27.)

Klíčová slova: viscerální leishmanióza, kala azar, *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, splenomegalie, leukopenie, trombopenie, amfotericin B, liposomální amfotericin B.

Clinic of Infectious Diseases, University Hospital Brno, pchalupa@fnbrno.cz

Clinic of Infectious Diseases, University Hospital Bulovka, Prague, 2nd Department of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Department of Tropical Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Address for correspondence: P. Chalupa, MD, PhD, Clinic of Infectious Diseases, University Hospital, Jihlavská 20, CZ-639 00 Brno, Czech Republic. Phone: +420.5.4719 2201, Fax: +420.5.4719 2380

Klinika infekčních chorob Fakultní nemocnice Brno, Klinika inekčních chorob Fakultní nemocnice Bulovka v Praze, 2. dětská klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Klinika tropické medicíny 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Adresa: Doc. MUDr. P. Chalupa, CSc., Klinika infekčních chorob, Fakultní nemocnice, Jihlavská 20, 639 00 Brno.

Until recently, leishmaniasis, and its visceral form in particular, was regarded here as an absolutely exotic disease in this country. Of the eight cases of VL, imported to the Czech Republic from the 1950s to the end of the 20th century (1, 21, 25, 26, 27), the first four were diagnosed over a period of 45 years. The first case of VL was described by Bendář in 1951. The patient was a 22-year-old man who fell ill 2 years after a visit to Dalmatia (1, 21). The other case of imported VL was reported by Vortel and Erben 22 years later, in 1973 (27). The infection diagnosed in a 47-year-old man most likely originated from the former Yugoslavia. It was not until 1984 that a third case was reported (a year later); the patient was a 58-year-old man who started to show symptoms of the VL 5 months after his return from a long-term visit to Cyprus and Greece (25). Ten years later, in 1994, the fourth case of VL was diagnosed in a 32-year-old man falling ill 7 months after his return from 3-week vacations in Sardinia (21). Originally, the condition was believed to be chronic hepatitis associated with bone marrow depression. Unlike these four cases, the next four we report in this communication (being cases 5-8 of imported VL) were diagnosed and treated within a mere 2 years, in the period 1999—2000. The implication is that, with the explosion of travel and migration of people in Central Europe, the medical community may encounter this rare imported infection more often. We think it important to present the following case reports indicating that VL may often pose a challenge in terms of the differential diagnosis.

Case report 1

A 23-year-old Somali refugee started to complain, after some 3 weeks of his stay in the Czech Republic, of headache accompanied by irregular fever with chills and tremor. Outpatient treatment with oral penicillin was ineffective. In 1999, he was admitted, because of fever, vomiting, and epigastric discomfort, to the Department of Infectious Disease in Ústí nad Labem Hospital. The dominant objective finding included hepato- and splenomegaly, with the liver and spleen protruding over the rib arch by 4 cm; they were also harder and tender. Laboratory investigation revealed appreciable leukopenia and thrombocytopenia. While, initially, the diagnosis of malaria was considered; a correct diagnosis was made on the basis of a high titer of antibody against *Leishmania donovani*.

After transfer to a department of infectious disease in Prague, the patient was instituted therapy with amphotericin B, 60 mg/day on the first day (1 mg/kg of body weight) and 50 mg/day for the next ten days. From day 3 of treatment, the patient was afebrile. On day 10, renal function deteriorated (urea 12.8 mmol/L and creatinine 302 µmol/L) so amphotericin therapy was discontinued. During the next 3 weeks, the patient had no fever; the leukopenia and thrombocytopenia disappeared, and renal function parameters normalized. The patient left the refugee camp and no more information is available on his current whereabouts.

The highest abnormal laboratory values were as follows: red blood cells 2.7; hemoglobin 73; white blood cells 1.2; platelets 39; albumin 30; IgG 31.3; CRP 211 (all in SI units).

Microscopy revealed in sternal punctate before therapy very rare amastigotic stages of *Leishmania* sp.; after therapy, sternal punctate was microscopically negative. Indirect hemagglutination of *L. donovani*: 1:2048 before and 1:128 after therapy.

Leishmaniózu, především její viscerální formu, jsme ještě nedávna považovali za onemocnění pro nás naprosto exotické. Z osmi případů viscerální leishmaniózy (VL), které byly importovány do České republiky od 50. let do konce 20. století (1, 21, 25, 26, 27), byly první 4 zachyceny v průběhu 45 let. První případ VL publikoval Bednář v roce 1951, a to u 22letého muže, který onemocněl za 2 roky po pobytu v Dalmácii (1, 21). O druhém případě importované VL informovali až o 22 let později (1973) Vortel a Erben (27). Nákaza prokázána u 47letého muže pravděpodobně rovněž pocházela z území bývalé Jugoslávie. Teprve v roce 1984 bylo hlášeno, a za rok poté publikováno v pořadí 3. onemocnění VL, ke kterému došlo u 58letého muže 5 měsíců po návratu z dlouhodobého služebního pobytu na Kypru a v Řecku (25). O 10 let později (1994) byl diagnostikován 4. případ VL u 32letého muže, který onemocněl za 7 měsíců po návratu ze 3 týdenní dovolené na Sardinii (21). Onemocnění bylo původně považováno za chronickou hepatitidu provázenou útlumem kostní dřeně. Na rozdíl od těchto čtyř případů byly další čtyři, o nichž referujeme v našem příspěvku, a které představují 5. až 8. případ importované VL, diagnostikovány a léčeny během pouhých dvou let, v období 1999—2000. To dokládá, že i ve střední Evropě se v souvislosti s rozvojem turistiky a migrací obyvatel může odborná veřejnost častěji setkat s touto vzácnou importovanou infekcí. Považujeme proto za poučné uvést následující kazuistiky, které navíc dokazují, že VL mnohdy představuje z diferenciálně diagnostického hlediska nelehký problém.

Kazuistika 1

23letý uprchlík ze Somálska si po 3 týdnech pobytu v ČR začal stěžovat na bolesti hlavy provázené nepravidelnými horečkami se zimnicí a třesavkou. Ambulantní léčba perorálním penicilinem byla bez efektu. Pro horečku, zvracení a bolest v nadbřišku byl v roce 1999 přijat na infekční oddělení v Ústí nad Labem. V objektivním nálezu dominovalo zvětšení jater a sleziny, která přesahovala oblouk žeberní o 4 cm, byla tužší a citlivá. Laboratorně byla nápadná leukopenie a trombocytopenie. Zprvu pomýšleno na malárii, ale diagnózu objasnil nález vysokého titru protilátek proti *Leishmania donovani*.

Po přeložení na infekční kliniku v Praze začal být pacient léčen amfotericinem B — první den 60 mg/den (1 mg/kg tělesné váhy) a dalších 10 dnů 50 mg/den. Od 3. dne léčby byl afebrilní. Desátý den zaznamenáno zhoršení funkce ledvin (urea 12,8 mmol/l a kreatinin 302 µmol/l), proto byla léčba amfotericinem ukončena. Během následujících 3 týdnů pacient bez horeček, leukopenie i trombopenie vymizely a parametry funkce ledvin se normalizovaly. Nemocný opustil uprchlický tábor a o jeho dalším osudu není nic známo.

Maximálně abnormální laboratorní hodnoty: erytrocyty 2,7 — hemoglobin 73 — leukocyty 1,2 — trombocyty 39 — albumin 30 — IgG 31,3 — CRP 211 (vše v soustavě SI).

Ve sternalním punktátu byla před léčbou mikroskopicky prokázána velmi ojedinělá amastigotní stadia *Leishmania* sp., po léčbě byl kontrolní sternalní punktát mikroskopicky negativní. Nepřímá hemagglutinace *L. donovani*: před léčbou 1:2048 a po léčbě 1:128.

Pacient uvedl, že v roce 1998 dlouhým pochodem uprchl ze Somálska do Etiopie. Zde žil 9 měsíců v oblastech, kde probíhala epidemie VL.

The patient reported he fled Somalia on foot to Ethiopia in 1998. While in Ethiopia, he spent 9 months in a region where VL epidemic was just under way.

Case report 2

A 23-year-old man from south Moravia started to complain of indigestion, headache, and a sensation of abdominal fullness. Later, he had fever of about 38 °C with chills. Over a period of 6 weeks, he lost 12 kg in weight; because of this, he was admitted to a department of internal medicine in 1999. An examination showed hepatomegaly, laboratory investigations demonstrated a high B.S.R., leukopenia, thrombocytopenia and, later, anemia. The diagnosis was supported by liver biopsy showing numerous amastigotes of *Leishmania sp.*, in Kupffer cells. When transferred to a department of infectious disease in Brno, the patient's liver beyond the rib arch by 3 cm and the spleen by 8 cm. The patient was treated with amphotericin B 40 mg/day (0.5 mg/kg body weight) for 14 days. There was a rise in creatininemia to 150 µmol/L before the end of therapy. Fever disappeared during therapy, and the patient's blood count and liver tests fully normalized; the splenomegaly also disappeared.

The highest abnormal laboratory values were as follows: red blood cells 3.2; hemoglobin 76; white blood cells 0.9; platelets 64; CRP 57; albumin 32; IgG 30.67 (all in SI units); B.S.R. 90/120.

Liver biopsy and trepanobiopsy of the hip bone before therapy demonstrated amastigotes of *Leishmania sp.* Six weeks after therapy, liver biopsy was microscopically negative. Indirect hemagglutination of *L. donovani*: 1:8192, 2 months after therapy 1:4096; after another 2 months still positive demonstrating, and a decrease toward borderline values (titer 1:64) was not noted until after 16 months when the patient reported to a follow-up visit.

Before the onset of disease, the patient spent 6 months on Brac Island in Croatia, here he was sleeping rough and was often bitten by insects.

Case report 3

A seven-year-old boy, with no health problems to date, was admitted to a catchment pediatric department with a history of 10-day pyrexia, hepatosplenomegaly, and pancytopenia. Bone marrow examination excluded leukemia; an infectious etiology of the disease was not demonstrated by physical and laboratory investigations. This was followed by a 4-week period of hyperpyrexia, progression of hepatosplenomegaly and pancytopenia associated with a decrease in white blood cell count to $1.6 \times 10^9/L$ and that of thrombocytes to $17 \times 10^9/L$. The differential diagnosis considered the systemic form of juvenile chronic arthritis; however, treatment with methylprednisolone pulses did not result in a convincing response as did not high doses of intravenous immunoglobulins (3x0.4 g/kg). Evaluation of repeat bone marrow aspirates revealed activated macrophage phagocytosing red blood, white blood cells, and platelets.

When transferred to the 2nd Department of Pediatrics, Motol University Hospital, the boy was febrile, with generalized lymphadenopathy, hepatomegaly +4 cm and splenomegaly +6 cm under the rib arch. Characteristic laboratory findings (elevated transaminases, ferritin 30300 µg/L, triglycerides 4.84 mmol/L, LDH

Kazuistika 2

23letý muž z jižní Moravy začal trpět nechutenstvím, bolestmi hlavy a pocitem plnosti v břiše. Později se objevily horečky kolem 38 °C se zimnicí. Za 6 týdnů zhubl o 12 kg, proto byl v roce 1999 přijat k vyšetření na interní oddělení. Objektivně zjištěna hepatosplenomegalie, laboratorně vysoká FW, leukopenie, trombopenie a později anémie. Diagnóza objasněna jaterní biopsií: v Kupfferových buňkách byly nalezeny četné amastigoty *Leishmania sp.* Při přeložení na infekční kliniku v Brně játra přesahovala oblouk žeberní o 3 cm a slezina o 8 cm. Pacient léčen amfotericinem B 40 mg/den (0,5 mg/kg tělesné váhy) po dobu 14 dnů. Před ukončením léčby došlo k vzestupu kreatininémie na 150 µmol/l. Během léčby vymizely horečky a za 6 týdnů došlo k úplné normalizaci krevního obrazu, jaterních testů i k vymizení splenomegalie.

Maximálně abnormální laboratorní hodnoty: erytrocyty 3,12 — hemoglobin 76 — leukocyty 0,9 — trombocyty 64 — CRP 57 — albumin 32 — IgG 30,67 (vše v soustavě SI); FW 90/120.

V jaterní biopsii a trepanobiopsii kyčelní kosti byly před léčbou nalezeny amastigoty *Leishmania sp.* Za 6 týdnů po léčbě byla jaterní biopsie mikroskopicky negativní. Nepřímá hemaglutinace *L. donovani*: před léčbou 1:8192, za 2 měsíce po léčbě 1:4096, další 2 měsíce stále pozitivní a pokles směrem k hraničním hodnotám (titer 1:64) byl zachycen až za 16 měsíců po léčbě, kdy se po dlouhé době dostavil ke kontrole.

Pacient pobýval půl roku před začátkem onemocnění v Chorvatsku na ostrově Brač, kde přespával "pod širákem" a byl často postípan hmyzem.

Kazuistika 3

Sedmiletý, dosud zdravý chlapec, byl přijat na podzim 1999 na spádové dětské oddělení s anamnézou 10 dnů trvajících pyrexii, s hepatosplenomegalií a pancytopenií. Vyšetřením kostní dřevě byla vyloučena leukémie, infekční původ onemocnění nebyl klinickým ani laboratorním vyšetřením prokázán. Následovaly 4 týdny hyperpyrexii, progresse hepatosplenomegalie a pancytopenie s poklesem leukocytů na hodnotu $1,6 \times 10^9/L$ a trombocytů $17 \times 10^9/L$. V diferenciální diagnóze zvažována systémová forma juvenilní chronické artritidy, léčba pulsy metylprednisolonu ale zůstala bez přesvědčivé klinické odpovědi, stejně jako vysoké dávky intravenózních imunoglobulinů (3x0,4 g/kg). V opakovaně prováděných aspirátech kostní dřevě byly při zpětném hodnocení nalezeny aktivované makrofágy fagocytující erytrocyty, leukocyty i trombocyty.

Při překladech na II. dětskou kliniku FN Motol byl chlapec febrilní, s generalizovanou lymfadenopatií, hepatomegalií +4 cm a splenomegalií +6 cm pod oblouk žeberní. Charakteristické laboratorní nálezy (elevace transamináz, ferritin 30 300 µg/L, triacylglyceroly 4,84 mmol/L, LDH 35,0 µkat/L, hypofibrinogenemie, aktivace T – lymfocytů a snížení NK buněk) doplňovaly kritéria hemofagocytujícího syndromu. Jako induktor byla zvažována infekce HSV-1. Šest týdnů od začátku onemocnění byla zahájena kombinovaná imunosupresivní terapie podle protokolu pro hemofagocytující lymfohistiocytózu (HLH-94) etoposidem, dexametazonem a cyklosporinem A. Počáteční odpověď na léčbu byla příznivá, vymizely horečky, normalizoval se krevní obraz i laboratorní markery nemoci, trvala hepatosplenomegalie. Po 4 týdnech

35.0 μ kat/L; hypofibrinogenemia, T-lymphocyte activation and a decrease in NK cells) complemented the criteria of hemophagocytosing syndrome. HSV-1 infection was considered as the inducer. Six weeks from the onset of disease, combination immunosuppressive therapy according to the protocol developed for hemophagocytosing lymphohistiocytoses (HLH-94) was instituted with etoposide, dexamethasone, and cyclosporin A. The initial response to therapy was favorable; with fever disappearing, blood count and laboratory markers of the disease normalizing; the hepatosplenomegaly persisted. After 4 weeks of therapy, there was a relapse of fever and pancytopenia, associated with an increase in laboratory marker activity. After 3 months of disease duration, the 5th collection of bone marrow detected massive amastigotic stages of leishmaniasis. Judging by literary data, the general picture of the disease was consistent with that of VL whose manifestation under the picture of the hemophagocytosing syndrome is no exception in children (11, 12).

Once the diagnosis had been established, immunosuppressive therapy was discontinued initiating therapy with liposomal amphotericin B instead at an induction cumulative dose of 30 mg/day; followed by four single re-inductions. A febrile response with macrophage syndrome reactivation and an episode of ventricular tachycardia were observed at week 1 of therapy; these were ascribed to antigenic stimulation occurring with the destruction of a large number of *Leishmania* cells given the massive infection. The complication was controlled by a high dose of intravenous immunoglobulins. The hepatosplenomegaly disappeared within 3 weeks of amphotericin therapy. The *Leishmania* disappeared from bone marrow and the patient is healthy at 9 months after the end of therapy.

Microscopy of the sternal punctate revealed massive infection with *Leishmania* sp. One week after the start of *Leishmania* therapy were still present in the follow-up punctate; however, their count dropped significantly. Another follow-up collection 1 month post-therapy was already microscopically negative. Indirect hemagglutination of *L. donovani*: 1:256 before therapy, a borderline titer of 1:32 one month after therapy.

Three weeks before the disease onset, the boy spent 2 weeks with his parents in southern Italy.

This case report illustrates the complex differential diagnosis of the hemophagocytosing syndrome in childhood and the need to consider VL as a rare cause of this life-threatening disease.

Case report 4

A 45-year-old man from Plumlov was examined in 2000 at the department of internal medicine of a district hospital for fever of unclear etiology, lasting for 3 months, not responding to antibiotics, associated with hepatomegaly and pancytopenia. Because of concomitant umbilical hernia and hepatomegaly, a decision was made to perform herniotomy concomitantly with laparoscopic revision of the abdominal cavity. The revision produced a macroscopically negative finding on the liver so liver biopsy was not performed. In the ensuing course, corticoids (methylprednisolone tablets of 16 mg; two in the morning and one at noon) were instituted because of persisting fever. The treatment resulted in a decrease in body temperature; however, the patient again developed fever as the dose of corticoids was being tapered. As a result, the

lčby došlo k relapsu horečky a pancytopenie, provázeném vzestupem laboratorní aktivity. Po 3 měsících trvání nemoci byla v pátém odběru kostní dřeně zachycena masivně amastigotní stádia leishmanií. Dle literárních údajů celý obraz nemoci odpovídal VL, jejíž manifestace pod obrazem hemofagocytujícího syndromu není u dětí výjimkou (11, 12).

Po stanovení diagnózy byla imunosupresivní léčba ukončena a zahájena terapie liposomálním amfotericinem B v indukční kumulativní dávce 30 mg/kg, následované čtyřmi jednorázovými reindukcemi. V prvním týdnu léčby se objevila febrilní reakce s reaktivací makrofágového syndromu a ataka komorové tachykardie, přičítané antigenní stimulaci při rozpadu velkého počtu buněk leishmanií vzhledem k masivní infekci. Komplikace byla zvládnuta vysokou dávkou intravenózních imunoglobulinů. Hepatosplenomegalie vymizela po 3 týdnech léčby amfotericinem. Leishmanie z kostní dřeně vymizely a pacient je 9 měsíců po skončení léčby zdrav.

Ve sternálním punktátu před léčbou mikroskopicky prokázána masivní nákaza *Leishmania* sp. V kontrolním punktátu 1 týden po zahájení terapie leishmanie stále přítomny, ale výrazný pokles jejich počtu. Další kontrolní odběr 1 měsíc po léčbě již mikroskopicky negativní. Nepřímá hemaglutinace *L. donovani*: před léčbou 1:256, 1 měsíc po léčbě hraniční titer 1:32.

Chlapec strávil s rodiči 3 měsíce před začátkem nemoci 2 týdnů v jižní Itálii.

Tato kazuistika ilustruje složitou diferenciální diagnostiku hemofagocytujícího syndromu v dětství a nutnost pomýšlet na VL jako vzácnou příčinu tohoto život ohrožujícího onemocnění.

Kazuistika 4

45letý muž z Plumlova byl vyšetřován v roce 2000 na interním oddělení okresní nemocnice pro 3 měsíce trvající febrilie 38–39 °C nejasné etiologie, nezabírající na antibiotika, s hepatomegalií a pancytopenií. Vzhledem k současné umbilikální hernii a hepatomegalií bylo rozhodnuto provést herniotomii a současně laparoskopickou revizi dutiny břišní, při které byl makroskopicky negativní nález na játrech, a proto se od provedení jaterní biopsie upustilo. V dalším průběhu pro trvající febrilie nasazeny kortikoidy (methylprednisolon tbl po 16 mg 2—1—0), po kterých sice došlo k poklesu teplot, ale při jejich postupném vysazování opět febrilie. Pacient byl proto přeložen na interní pracoviště vyššího typu. Vzhledem ke splenomegalií (podle UZ vyšetření slezina 170x70 mm) byla provedena aspirační punkce sleziny, kde překvapivý mikroskopický nález leishmanií v monocyto-makrofágovém systému sleziny. Následně bylo indikováno provedení jaterní biopsie, která prokázala velké množství leishmanií ve výrazně zduřelých Kupfferových buňkách, a pacient byl přeložen k terapii na infekční kliniku do Brna, kde byl nasazen amfotericin B 40 mg/den (0,5 mg/kg tělesné váhy). V průběhu této terapie dochází k rozvoji oboustranné bronchopneumonie s respirační insuficiencí a multiorgánovým selháním. Stav si vyžádal 33 dní trvající arteficiální ventilaci, podporu oběhu katecholaminy a provedení pěti akutních dialýz. Další průběh byl komplikován septickým stavem s četnými septickými embolizacemi do periferie a diseminovanou intravaskulární koagulací, což se podařilo také terapeuticky zvládnout. Léčba VL amfotericinem B trvala celkem 9 dní a byla přerušena pro renální insuficienci. Jako východisko byl použit

patient was transferred to the department of internal medicine of a university hospital. Because of the splenomegaly (ultrasound revealed the spleen measured 170 x 70 mm), aspiration spleen puncture was undertaken with the surprising microscopic finding of *Leishmania* in the monomacrophage spleen system. Subsequently, liver biopsy was indicated which demonstrated a large amount of *Leishmania* in markedly swollen Kupffer cells. The patient was transferred to a department of infectious disease in Brno where amphotericin B 40 mg/day (0.5 mg/kg body weight) was instituted. During this therapy, the patient developed bilateral bronchopneumonia with respiratory insufficiency and multiorgan failure. The patient's condition required mechanical ventilation, catecholamine support, and five ace dialysis sessions over a period of 33 days. His ensuing course was complicated by sepsis with frequent septic peripheral embolisms and disseminated intravascular coagulopathy, also controlled in the end. Overall, VL treatment with amphotericin lasted 9 days, and was discontinued on account of renal insufficiency. The drug to be used next was pentamidine, both because of VL treatment and because of unclear pulmonary finding, where the differential diagnosis considered pneumocystic pneumonia, which, however, was not demonstrated when repeatedly using the available methods. Pentamidine was administered at doses of 300 mg i.v. every other day for a period of 10 days.

The highest abnormal laboratory values were as follows: red blood cells 2.52; hemoglobin 70; white blood cells 1.8; platelets 73; CRP 19.7; albumin 28.3; IgG 38.5 (all in SI units). B.S.R. 54/100.

Cytology from the spleen punctate revealed obvious macrophages with voluminous cytoplasm containing numerous amastigous stages of *Leishmania* sp., whereas liver biopsy contained dispersed markedly swollen Kupffer cells, again with a high number of leishmanias. Indirect hemagglutination of *L. donovani*: 1:256 before and borderline titer of 1:32 at 2 months after therapy.

The patient traveled to Croatia every year in the summer months, the last time was 9 months before the development of his health problems. He was staying a camp while in Croatia, but also sleeping rough in a sleeping bag and was repeatedly bitten by insects.

Discussion

Symptomatic VL is a systemic life-threatening infection unless treated. Its vectors are parasitic *Leishmania* organisms, mainly *L. donovani* and *L. infantum* (*L. chagasi*), transmitted by the blood-sucking females of phlebotomes, a tiny two-winged insect. When infected by *L. donovani*, the reservoir of infection is the infected man (Indian kala-azar) whereas the reservoir of infection for *L. infantum* (e.g. Mediterranean VL) are infected dogs. Female insects get infected when sucking the blood of the reservoir mammal, and can transmit *Leishmania* into the skin of man. *Leishmania* infect mononuclear phagocytosing cells they multiply therein. Infected macrophages spread further in to the visceral organs, particularly, into the lymphatic nodes, spleen, liver, and bone marrow. Occasional parenteral infections, e.g., by transfusion or injection needles in laboratories, occur very rarely. Congenital transmission is extremely rare yet possible (17).

VL is endemic in more than 50 countries of the world, from China to India to the Middle east to the Mediterranean, from So-

pentamidin, a to jak pro terapii VL, tak pro nejednoznačný nálezn na plicích, kdy byla diferenciatně diagnosticky zvažována možnost pneumocystové pneumonie, která se ovšem opakovaně dostupnými metodami neprokázala. Pentamidin byl podáván v dávkách 300 mg i.v. ob den po 10 dní.

Maximální abnormální laboratorní hodnoty: erytrocyty 2,52 — hemoglobin 70 — leukocyty 1,8 — trombocyty 73 — CRP 19,7 — albumin 28,3 — IgG 38,5 (vše v soustavě SI); FW 54/100.

V cytologii z punktátu sleziny zjištěny nápadné makrofágy s objemnou cytoplazmou, ve které byla uložena četná amastigotní stádia *Leishmania* sp. a v jaterní biopsii byly disperzně přítomny výrazně zduřené Kupfferovy buňky opět s velkým množstvím leishmanií. Nepřímá hemaglutinace *L. donovani*: před léčbou 1:256 a za 2 měsíce po léčbě již hraniční titer 1:32.

Pacient cestoval každý rok v letních měsících do Chorvatska, naposledy 9 měsíců před vznikem obtíží. V Chorvatsku nocoval v kempu, ale spal i ve spacáku "pod širákem" a opakovaně byl poštípán hmyzem.

Diskuse

Symptomatická viscerální leishmanióza představuje systémovou infekci, která, není-li léčena, ohrožuje život. Jejimi původci jsou parazitické prvoci rodu *Leishmania*, především *L. donovani* a *L. infantum* (*L. chagasi*), přenašeči krevsajcími samičkami flebotomů, drobného dvoukřídleho hmyzu. Při nákazách *L. donovani* je rezervoárem infekce pro přenašeče nemocný člověk (indická kala-azar), rezervoárem infekce *L. infantum* (např. středomořská VL) jsou nakažení psi. Hmyzí samičky se nakazí při sání krve rezervoárového savce a během dalšího sání mohou přenést leishmanie do kůže člověka. *Leishmania* infikují mononukleární fagocytující buňky, uvnitř kterých se množí. Infikované makrofágy šíří infekci dál do vnitřních orgánů, především do lymfatických uzlin, sleziny, jater a kostní dřene. Velmi vzácné jsou náhodné parenterální nákazy, např. transfuzí nebo injekcemi jehlami v laboratořích. Extrémně vzácný, ale možný, je kongenitální přenos (17).

Viscerální leishmanióza je endemická ve více než 50 zemích světa: od Číny přes Indii a Blízký Východ po Středomoří, od Somálska a Etiopie přes Sudán po Tunis a Maroko, od Argentiny přes Brazílii po Mexiko. V řadě těchto zemí je však výskyt VL spíše sporadický s několika desítkami případů ročně. Z půl milionu osob, které dle odhadu WHO ročně onemocní VL, víc než 90 % připadá na Indii, Nepál, Bangladéš, Súdán a Brazílii (5, 13).

V Evropě je endemickou oblastí viscerální leishmaniózy (původce *L. infantum*) celé Středomoří od Portugalska po Turecko, včetně Baleárských ostrovů, Sardinie, Sicílie a Malty (7, 10), ale i okolí velkých měst jako je Neapol nebo Atény (15). Naprostá většina případů VL importovaných do severnější položených zemí Evropy, kde se nákaza nevyskytuje, pochází právě z turistických oblastí Středomoří; např. v Německu se ročně diagnostikuje až 10 případů (6, 12, 23). S výjimkou uprchlíka ze Somálska (kazuistika 1) se všech 7 českých občanů s importovanou VL nakazilo rovněž v jižní Evropě (1, 21, 25, 26, 27). Za pozornost stojí 2 případy VL recentně importované z Chorvatska (kazuistiky 2 a 4), jehož pobřeží se opět stává turisticky atraktivní a kde v posledních několika letech výskyt této nákazy stoupá (22).

malaria to Ethiopia through the Sudan to Tunisia to Morocco, from Argentina to Brazil to Mexico. However, the incidence of VL in a number of these countries is fairly sporadic with several dozens of case reports a year. Of the 500,000 individuals infected by VL every year, as estimated by the WHO, more than 90 % of cases occur in India, Nepal, Bangladesh, the Sudan, and Brazil (5,13).

In Europe, the endemic region of VL (with *L. infantum* as the vector) is the entire Mediterranean basin from Portugal to Turkey including the Balearic Islands, Sardinia, Sicily, and Malta (7,10) but, also, the areas surrounding major cities such as Naples or Athens (15). The overwhelming majority of cases of VL imported to the more northerly located parts of Europe where the infection is not common, comes from the recreational regions of the Mediterranean; in Germany, up to 10 cases are diagnosed to year (6,12,23). Except for the Somali refugee (case report 1), all seven Czech citizens with imported VL also got infected in Southern Europe (1,21,25,26,27). Attention should be given to the two cases of recent cases of VL imported from Croatia (cases 2 and 4) whose coast is again becoming a tourist attraction and where the incidence of this infection has been rising recently (22).

As a result, a travel history is absolutely important to be able to establish a correct diagnosis. However, it should be remembered that the incubation time of VL is relatively long, from several weeks to several months but, also, to several years (3,16). In the cases of Mediterranean VL we reported, the interval is some 3-9 months. The infection may long take an inapparent course so the clinical manifestation does not occur until the body defense capacity has been reduced (e.g., by immunosuppressive therapy, organ transplantation, or HIV infection). Since 1979, when the first case of VL development following renal transplantation was described, a total of 32 cases of this complication have been reported which usually gets manifested about month 8 post-transplant (2,4). The co-incidence of HIV and VL infection as a opportunistic infection is most often described from endemic regions of transplantation of southern Europe, Spain in particular (13), or from Sicily recently (7).

The clinical pattern of full-blown VL includes high temperature to 41°C, sometimes with two peaks during the day, splenomegaly, often followed by hepatomegaly. The blood count shows anemia, thrombocytopenia, and leukopenia with a decrease in granulocyte count, eosinophil multiplication, relative lymphocytosis and monocytosis. Another marked feature is hypergammaglobulinemia with a concomitant decrease in albumin. B-lymphocytes are activated. The differential diagnosis should primarily rule out malaria, as suggested by fever with chills, sweating, headache, spleen enlargement, and thrombocytopenia, especially so if the patient's travel history includes the visit to a country where malaria is endemic. Splenomegaly, abdominal pain, and mild diarrhea may sometimes result in the misdiagnosis of salmonellosis, paratyphoid, or brucellosis. However, treatment with antimalarial agents or antibiotics does not result in improvement of the clinical status. The hepatosplenomegaly with mild lymphadenectomy and a weight loss requires to exclude hemoblastosis or lymphoma. The differential diagnosis includes schistosomiasis, African trypanosomiasis, histoplasmosis, millitary tuberculosis, liver cirrhosis, and bacterial endocarditis. Elevated serum levels of liver enzymes along with hypergammaglobulinemia may occasionally remind the do-

Pro správné stanovení diagnózy je tudíž důležitá cestovní anamnéza. Je třeba pamatovat na to, že inkubační doba VL je poměrně dlouhá, od několika týdnů po několik měsíců, ale i několik let (3, 16). U námi popisovaných případů středomořské VL byla 3—9 měsíců. Nákaza může dlouho probíhat inaparentně a ke klinické manifestaci dojde až při snížení obranyschopnosti organismu např. imunosupresivní léčbou, transplantací orgánu či nákazou virem HIV. Od roku 1979, kdy byl popsán první případ vzniku VL po transplantaci ledvin, bylo publikováno již 32 případů této komplikace, která se obvykle projeví kolem 8. měsíce po transplantaci (2, 4). Koincidence infekce HIV a VL jako oportunní nákazy je nejčastěji popisována z endemických oblastí jižní Evropy, zejména ze Španělska (13), v nedávné době rovněž ze Sicílie (7).

Do klinického obrazu rozvinuté VL patří vysoké teploty až 41 °C, někdy se dvěma vrcholy během dne, splenomegalie, často následně s hepatomegalií. V krevním obraze je anémie, trombocytopenie a leukopenie s poklesem granulocytů, se zmožením eosinofilů, relativní lymfocytóza a monocytóza. Výrazná je hypergammaglobulinemie se současným poklesem albuminů. Aktivované jsou B lymfocyty. Diferenciálně diagnosticky je především nutné vyloučit malárii, na kterou upomíná horečka s třesavkou, pocením, bolestí hlavy, zvětšením sleziny a trombocytopenií zvláště, je-li v cestovní anamnéze nemocného pobyt v malarické oblasti. Splenomegalie, bolest břicha a mírný průjem svádějí někdy k diagnóze salmonelózy, paratyfu nebo brucelózy. Léčba antimalariky, či antibiotiky však nevede ke zlepšení klinického stavu. Hepatosplenomegalie s mírnou lymfadenopatií a úbytkem tělesné váhy vyžaduje vyloučit hemoblastózu či lymfom. Diferenciálně diagnosticky nutno pomýšlet i na schistosomózu, africkou trypanosomózu, histoplasmózu, miliární tuberkulózu, jaterní cirhózu a bakteriální endokarditidu. Zvýšené hodnoty jaterních enzymů v séru spolu s hypergammaglobulinemií mohou někdy připomínat autoimunní hepatitidu, zvláště tehdy, je-li dlouhá inkubační doba (16).

Laboratorní diagnostika, která infekci potvrdí, se opírá o serologický průkaz specifických protilátek podepřený přímým průkazem leishmanií. Nejčastější metodou pro přímý průkaz zůstává tradičně mikroskopické vyšetření roztěrových nebo histologických preparátů zhotovených z punktátu nebo biopátů kostní dřevě, sleziny, event. jater nebo zvětšených lymfatických uzlin. Výhodou je rychlost vyšetření. Nevýhodou je, že mikroskopický průkaz vyžaduje značnou pozornost a zkušenost, neboť při nízkém počtu, zvláště ve sternálním punktátu, lze parazity (2—4 µm) snadno přehlédnout. Možný je i kultivační záchyt leishmanií na speciální půdě nebo i.p. inokulací do zvířete. Ten ale vyžaduje čerstvý materiál a výsledek je znám až za několik dnů. PCR reakce pro průkaz specifické DNA je vhodnou alternativou, zejména u asymptomatických nákaz (13). Detekce specifických protilátek při symptomatické VL napomáhá stanovení diagnózy. U imunokompetentních osob je obvykle výrazná protilátková odpověď. Před léčbou se v séru prokáže vysoká hladina specifických protilátek, které indikují infekci (viz kazuistiky 1 a 2). Při podání imunosupresivních léků je však nutné zvažovat navozenou imunosupresi spojenou s výrazným snížením tvorby protilátek (viz kazuistiky 3 a 4).

K léčbě VL byl u všech čtyř pacientů užít amfotericin B, který podle výsledku mikroskopického vyšetření kontrolních odbě-

ctor of autoimmune hepatitis, especially so in cases with long incubation times (16).

Laboratory diagnosis confirming the infection is based on the serological evidence of specific supported by direct evidence of Leishmania. The most frequently employed method for direct evidence has traditionally been microscopic investigation of smear or histological preparations made from the puncture or biopsy specimen of bone marrow, spleen or, possibly, liver or enlarged lymphatic nodes. The rapidity of the investigation is a distinct advantage. A drawback is that microscopic evidence requires considerable attention and experience as the parasites (2–4 μm), if their numbers of low-in the sternal punctate in particular, may be easily overlooked. Another possibility is culture-based detection of Leishmania in a special medium or via i.p. inoculation into an animal. However, this requires fresh material and the result is not known until after several days. The PCR for evidence of specific DNA is an appropriate alternative, especially so with asymptomatic infection (13). Detection of specific antibody with symptomatic VL aids in establishing the diagnosis. Immunocompetent individuals usually show an appreciable antibody response. High levels of specific antibody indicating infection is demonstrated in the serum before therapy (see case reports 1 and 2). However, when administering immunosuppressives, consideration should be given to induced immunosuppression associated with considerable reduction in antibody production (see case reports 3 and 4).

All four patients with VL were treated with amphotericin B which was effective, judging by the results of microscopic examination of follow-up specimens and by the clinical response, in 100% even if therapy had to be discontinued prematurely because of renal function deterioration. Amphotericin B at a dose of 0.5–1.0 mg/kg weight and day, administered for a period of 2 weeks, is regarded as an effective alternative to antimony agents (13). Currently, amphotericin B is even preferred to antimony in the treatment of Indian kala-azar (*L. donovani*) as up to 50% either do not respond at all to conventional antimony therapy or relapses frequently occur (5). The child (see case report 3) was treated with the liposomal form of amphotericin. Liposomal amphotericin (AmBisome) with reduced nephrotoxicity can be administered at a higher dose (2–4 mg/kg weight and day) and short term (23). A distinct disadvantage is its price. However, it is being considered the first-line therapy in Mediterranean VL at childhood (8, 19, 20). Two alternative regimens are recommended. 3 mg/kg weight and day administered for 10 days or 3 mg/kg weight and day administered for 5 days in a row, with the last sixth dose, to be given on day 10 (8, 18). Liposomal amphotericin at a total dose of 1.5–2.1 g has also been successfully given to patients with VL which got activated after transplantation (4). Still, the most widely used agent for VL, except for Indian kala-azar, remain to be heptavalent antimony compounds, sodium stibogluconate (Pentostam) or meglumine antimonate (Glucantime), administered parenterally at a dose of 20 mg Sb^{5+} /kg weight and day for a period of 2 to 4 weeks. Antimony, introduced into therapy as early as 1940, continues to be useful in 90% of treated patients. However, side effects are also frequent (fatigue, body tenderness, impaired hemopoiesis, damage to the liver, pancreas, or myocardium); moreover, prolonged therapy makes toxic effects more pronounced. There have also been accumulating reports of vector resistance to the agents. None of the antimony-based products have been authorized for marke-

rů a podle klinické odezvy byl účinný ve 100 %, a to i tehdy, jestliže terapie musela být ve dvou případech (viz kazuistiky 1 a 4) v souvislosti se zhoršením funkce ledvin ukončena předčasně. Amfotericin B v dávce 0,5–1,0 mg/kg váhy a den podávaný po dobu 2 týdnů je považován za účinnou alternativu antimonovým preparátům (13). Pro léčbu indické kala-azar (*L. donovani*) je v současné době amfotericinu dávána dokonce přednost před antimonem, neboť až 50 % případů buď vůbec neodpovídá na konvenční antimonovou terapii nebo po ní dochází k častým relapsům (5). Dítě (viz kazuistika 3) bylo léčeno liposomální formou amfotericinu. Liposomální amfotericin (AmBisome) se sníženou nefrotoxicitou lze aplikovat ve vyšší dávce (2–4 mg/kg váhy a den) a krátkodobě (23). Nevýhodou je jeho vysoká cena. U středomořské viscerální leishmaniózy v dětském věku je však stále častěji považován za lék první volby (8, 19, 20). Doporučovány jsou dva alternativní režimy: 3 mg/kg váhy a den podávaný 10 dnů nebo 3 mg/kg váhy a den podávaný 5 dnů po sobě a poslední, šestou dávku podat 10. den (8, 18). Liposomální amfotericin v celkové dávce 1,5–2,1 g byl rovněž s úspěchem podán nemocným s VL, která se u nich aktivovala po provedené transplantaci (4). Nejrozšířenějším lékem při VL, s výjimkou indické kala-azar, ale zůstávají sloučeniny pětimocného antimonu, stibogluconát sodný (Pentostam) nebo meglumin antimonát (Glucantime), aplikované parenterálně v dávce 20 mg Sb^{5+} /kg váhy a den po dobu 2 až 4 týdnů. Antimon, zavedený do léčby už v roce 1940, je stále úspěšný u 90 % léčených. Vedlejší účinky jsou ovšem časté (únava, bolesti těla, poškození krvetvorby, jater, pankreatu či myokardu) a delší léčba toxické projevy ještě zvyšuje. Přibývá i zpráv o rezistenci původce na tyto preparáty. V ČR není žádný z antimonových preparátů registrován, proto v případě potřeby nebývá rychle k dispozici. Alternativně lze užít pentamidin isethionát (Pentacarinat) (i.v. nebo i.m.) 4 mg/kg ob den ve 14–30 dávkách. Ve východoindickém státě Bihar, který je hyperendemickou oblastí výskytu kala-azar, byl nedávno s úspěchem vyzkoušen miltefosin (14). Tento derivát fosfolipidu (hexadecylfosfocholin), původně vyvinutý pro léčbu nádorů (9), představuje vůbec první preparát pro orální terapii VL (24). Studie zahrnovala 120 pacientů s VL, rezistentní na léčbu antimonem, kterým byl podáván miltefosin v dávce 100 mg/den per os po dobu 4 týdnů. Úspěšnost byla 95 % a lék byl zhodnocen jako dobře snášený a velmi nadějný pro terapii indické kala-azar. Klinické studie zaměřené na úspěšnost miltefosinu při léčbě středomořské viscerální leishmaniózy zatím chybí. Po ukončení léčby VL je vzhledem k možnosti relapsu vždy nutná nejméně dvouletá dispenzarizace rekonvalescenta.

Závěr

Uvedené kazuistiky ukazují, že v diferenciální diagnostice horečnatých stavů s hepatosplenomegalií je třeba myslet také na importovanou viscerální leishmaniózu, která může postihnout nejen cestovatele do endemických oblastí, ale může se projevit i u cizinců, kteří dříve v těchto oblastech žili a je třeba na ni myslet i u pacientů imunokompromitovaných.

ting so it is not readily available when necessary. Alternatively, pentamidine isethionate (Pentacarinat, i.v. or i.m.) 4 mg/g every other day at 14–30 doses can be used. Miltefosin has been successfully tested in the East Indian state of Bihar, which is the hyperendemic region for kala-azar, (14). This derivative of a phospholipid (hexadecylphosphocholine), originally developed for the treatment of tumors (9) is the first ever agent intended of oral therapy of VL (24). A study included 120 patients with VL resistant to antimony therapy whose were given miltefosin at a dose of 100 mg/day orally for a period of 4 weeks. The success rate was 95 % and the agent was rated as well tolerated and a promise for the treatment of Indian kala-azar. No clinical trials focused on the success rate of miltefosin in the treatment of Mediterranean VL has been conducted to date. Once treatment of VL is over, the convalescent patient must be on follow-up for at least two years because of the possibility of a relapse.

Conclusion

The above case reports show that imported VL, which may affect not only individuals traveling to the endemic regions but may also manifest itself in foreigners previously living in those regions for some time, should be considered in the differential diagnosis of feverish conditions with hepatosplenomegaly as well as in immunocompromised patients.

References

1. **Bednář B.:** Diferenciální diagnóza a průkaz viscerální leishmaniázy (Kala-azar) při biotickém vyšetření. Čas. Lék. čes., 1951; 90: 1019–1020.
2. **Berenguer J., Gomezcampdera F., Padilla et al.:** Visceral leishmaniasis in transplant recipients. Transplantation, 1998; 65: 1401–1404.
3. **Berman J.D.:** Human Leishmaniasis: Clinical, Diagnostic, and Chemotherapeutic Developments in the Last 10 Years. Clin. Inf. Dis., 1997; 24: 684–703.
4. **Boletis J., Pefanis A., Stathakis Ch. et al.:** Visceral leishmaniasis in renal transplant recipients. Clin. Inf. Dis., 1999; 28: 1308–1309.
5. **Bora D.:** Epidemiology of visceral leishmaniasis in India. Natl. Med. J. India, 1999; 12: 62–68.
6. **Burbach G., May J., Harms G., Bienzle U.:** Leishmaniosen. Dtsch. med. Wschr., 1999; 124: 88–93.
7. **Cascio A., Gradoni L., Scarlata F. et al.:** Epidemiologic surveillance of visceral leishmaniasis in Sicily. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1997; 57: 75–78.
8. **Davidson R.N., DiMartino L., Gradoni L. et al.:** Liposomal amphotericin B (AmBisome) in Mediterranean visceral leishmaniasis: a multicentre trial. Q. J. Med., 1994; 87: 75–81.
9. **Eibl H., Unger C.:** Hexadecylphosphocholine: a new and selective antitumor drug. Cancer Treat. Rev., 1990; 17: 233–242.
10. **Fenech F.F.:** Leishmaniasis in Malta and the Mediterranean basin. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1997; 91: 747–753.
11. **Gagnaire M.H., Galambrun C., Stéphan J.L.:** Hemophagocytic syndrome: A misleading complication of visceral leishmaniasis in children. Pediatrics, 2000; 106: E58.
12. **Granert C., Elinder G., Ost A., Henter J.I.:** Kala-azar in a one-year-old Swedish child. Diagnostic difficulty because of active hemophagocytosis. Acta Paediatr., 1993; 82: 794–796.
13. **Herwaldt B.L.:** Leishmaniasis. Lancet, 1999; 354: 1191–1199.
14. **Jha T.K., Sundar S., Thakur C.P. et al.:** Miltefosine, an oral agent for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. New Engl. J. Med., 1999; 341: 1795–1780.
15. **Maltezou H.C., Sifas C., Mavrikou M. et al.:** Visceral leishmaniasis during childhood in southern Greece. Clin. Infect. Dis., 2000; 31: 1139–1143.
16. **Matzdorff A.C., Metthes K., Kemkes-Matthes S. et al.:** Leishmaniose mit ungewöhnlich langer Inkubationszeit. Dtsch. med. Wschr., 1997; 122: 893–894.
17. **Meinecke C.K., Schottelius J., Oskam L., Fleischer B.:** Congenital transmission of visceral leishmaniasis (kala-azar) from an asymptomatic mother to her child. Pediatrics, 1999; 104: E65.
18. **Meyrhoft A.:** U.S. Food and Drug Administration Approval of AmBisome for treatment of visceral leishmaniasis. Clin. Inf. Dis., 1999; 28: 42–48.
19. **Minodier P., Faraut-Gambarelli F., Piarroux R., Gire C., Garnier J.M.:** Treatment of infantile visceral leishmaniasis. Arch. Pediatr., 1999; 6: 59–66.
20. **Minodier P., Garnier J.:** Visceral leishmaniasis in children in South France. Arch. Pediatr., 2000; 7: 5729.
21. **Miřejovský P., Bednář B., Kodetová D., Stejskal J.:** Viscerální a kutánní leishmaniázy. Čs. Patol., 1996; 32: 70–74.
22. **Punda-Polic V., Sardelic S., Bradaric N.:** Visceral leishmaniasis in southern Croatia. Lancet, 1998; 351: 188.
23. **Smith O.P., Hann I.M., Cox H., Novelli V.:** Visceral leishmaniasis: rapid response to AmBisome treatment. Arch. Dis. Child., 1995; 73: 157–159.
24. **Sundar S., Rosenkaimer F., Makharia M.K. et al.:** Trial of oral miltefosine for visceral leishmaniasis. Lancet, 1998; 352: 1821–1823.
25. **Valkoun A., Nádvorník V., Kostrhun L.:** Příklad viscerální leishmaniázy, importované ze Středomoří. Čas. Lék. čes., 1985; 124: 1582–1585.
26. **Vaništa J., Hejlová A., Kubek J., Nohýnková E.:** Febrilní splenomegalie – možnost leishmaniázy. Klin. Mikrobiol. Inf. Lék., 2000; 6: 52–53.
27. **Vortel V., Erben J.:** Příklad střední formy leishmaniázy (kala-azar) u 47letého muže. Lék. zprávy (Hradec Králové), 1973; 18: 253–256.

Received January 8, 2001.
Accepted February 14, 2001.