

MeB – Pagine Elettroniche

Volume XV

Ottobre 2012

numero 8

IL PUNTO SU

Leishmania: un parassita, molte infezioni

Virano Silvia¹, Le Serre Daniele¹, Garazzino Silvia²,
Silvestro Erika³, Tovo Pier-Angelo⁴

¹Medico Frequentatore presso la S.C.D.U. Pediatria II, Divisione di Malattie Infettive, Ospedale Infantile Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Torino

²Dirigente Medico presso la S.C.D.U. Pediatria II, Divisione di Malattie Infettive, Ospedale Infantile Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Torino

³Medico Specializzando presso la S.C.D.U. Pediatria II, Divisione di Malattie Infettive, Ospedale Infantile Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Torino

⁴Direttore della S.C.D.U. Pediatria II, Divisione di Malattie Infettive, Ospedale Infantile Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Torino

Indirizzo per corrispondenza: silvira07@libero.it

Leishmania: one protozoan, many infections

Key words: Visceral leishmaniasis, Splenomegaly, Pancytopenia, Kala azar

Abstract

A 10-year-old child presented with persistent fever, relevant hepatosplenomegaly and pancytopenia. Abdominal US imaging, serology for most relevant pathogens and Leishmania, PCR for Parvovirus B19 and bone marrow sample were performed in order to discriminate between infectious and oncohaematological aetiology. Free Leishmania cells in bone marrow histiocytes, positive serology for Leishmania and PCR for Parvovirus B19 led to a last diagnosis of visceral Leishmaniasis with Parvovirus B19 super-infection. A specific therapy was set with liposomal preparation of amphotericin B IV. Two fever episodes then occurred during post-hospital discharge follow up, favoured by Leishmania-induced leukopenia: the first was caused by Influenza Virus type AH3, the second was a radiologically-confirmed pneumonia. Leishmaniasis is an uncommon disease in Italy, but prompt diagnosis and treatment, strict follow up and proper therapy of complications led to the progressive improvement of the patient's health condition and to his recovery.

ABSTRACT

RIASSUNTO

Bambino di 10 anni con febbre persistente, epatosplenomegalia e pancytopenia. Si eseguono emocromo con striscio su sangue periferico, ecografia dell'addome, sierologia per *Leishmania* e virus più comuni, PCR per Parvovirus B19 e aspirato midollare. Il riscontro di Leishmanie libere negli istiociti midollari, positività della sierologia specifica e della PCR conducono a diagnosi di Leishmaniosi viscerale con sovrainfezione da Parvovirus B19; si imposta trattamento antiparassitario specifico con amfotericina B liposomiale ev. Durante follow up, si verificano due episodi infettivi febbrili facilitati dalla leucopenia, con isolamento di virus influenzale AH3 in un caso e diagnosi radiologica di polmonite nell'altro.

La Leishmaniosi rappresenta una patologia rara in Italia, tuttavia in questo caso diagnosi e trattamento tempestivi, attenta sorveglianza e terapia delle complicanze hanno condotto ad un progressivo miglioramento del quadro clinico e laboratoristico, fino a guarigione completa.

CASO CLINICO

M., 10 anni, risiede in una comunità in cui sono presenti cani e altri animali domestici con cui il bambino presenta contatti quotidiani, seguito dal servizio di NPI per disturbi del comportamento in trattamento farmacologico. Anamnesi negativa per altre patologie di rilievo.

Trattato con paracetamolo per febbre da circa una settimana, viene accompagnato in PS per la persistenza di iperpiressia in assenza di altri sintomi e segni di puntura di insetto. In tale occasione riscontro di splenomegalia (milza a 1 cm dalla linea ombelicale trasversa), epatomegalia (fegato a 3 cm dall'arco costale), anemia (9,1 g/dl), leucopenia (2900/mm³) e piastrinopenia (86.000/mm³). Si esegue ecografia dell'addome che evidenzia fegato di dimensioni lievemente aumentate ed ecostruttura omogenea e milza di diametro massimo di 20 cm. Nel sospetto clinico di patologia oncoematologica o di natura infettiva si eseguono striscio su sangue periferico, sierologie per CMV, Adenovirus, EBV, HSV-1, HSV-2, HSV-6, *Leishmania*, quest'ultima risultata positiva con alto titolo di IgG (1:1280), PCR per Parvovirus B19, positiva (41.800 copie/ml), e aspirato midollare, con riscontro di Leishmanie libere all'interno degli istiociti. Si pone pertanto diagnosi di Leishmaniosi viscerale con sovrainfezione da Parvovirus B19 e si imposta terapia con amfotericina B liposomiale ev (100 mg/die). Il giorno dell'ultima infusione il piccolo viene nuovamente condotto in PS per febbre elevata (40 °C) da circa 3 giorni e incremento di PCR (12,3 mg/dl), per cui viene trattato con amoxicillina+ac.clavulanico. Per la persistenza dei sintomi, anemia (9,7 g/dl), leucopenia (2870/mm³), piastrinopenia (110.000/mm³), ulteriore incremento degli indici di flogosi (PRC 73 mg/dl) e delle IgG totali (3934 mg/dl),

il bambino viene nuovamente ricoverato e trattato con cefalosporina per 7 giorni. In occasione di tale ricovero viene eseguito Rx torace, nella norma, emocolture, negative, e un tampone faringeo per la ricerca di virus influenzali, risultato positivo per virus di tipo AH3, confermando il sospetto di episodio influenzale intercorrente, giudicato non correlato alla precedente diagnosi e non meritevole di terapia antivirale. A distanza di 20 giorni il bambino presenta un nuovo episodio febbrile per cui viene ricoverato in un ospedale periferico con diagnosi di polmonite e nuovamente trattato con amoxicillina+ac.clavulanico. Nei successivi controlli clinici il piccolo M. presenta una lenta, ma progressiva riduzione della splenomegalia, accompagnata da miglioramento dei parametri clinici e laboratoristici. Tuttavia, in considerazione della frequenza degli episodi infettivi presentati, si pone indicazione alla valutazione della sierologia per HIV (risultato non disponibile).

EPIDEMIOLOGIA E PRESENTAZIONI CLINICHE

La Leishmaniosi è una malattia parassitaria che colpisce 10-50 milioni di persone nelle regioni endemiche tropicali e subtropicali, con un'incidenza annuale di 1,5-2 milioni di nuovi casi/anno; di questi 1-1,5 milioni casi sono forme cutanee, mentre circa 500.000 sono i casi di Leishmaniosi viscerale¹ (Figura 1).

Lo spettro clinico della Leishmaniosi abbraccia forme subcliniche inapparenti, localizzazioni cutanee ed infezioni disseminate (cutanee, mucosali o viscerali), a seconda della specie di *Leishmania* coinvolta, delle caratteristiche dell'ospite e della sua risposta immuno-infiammatoria. La trasmissione dell'infezione avviene attraverso la puntura da parte di flebotomi, che trovano il serbatoio d'infezione in diversi mammiferi (cani, roditori, ecc). Il periodo di incubazione è mediamente di 2 mesi, ma può variare da alcuni giorni ad oltre un anno² (Figura 2).

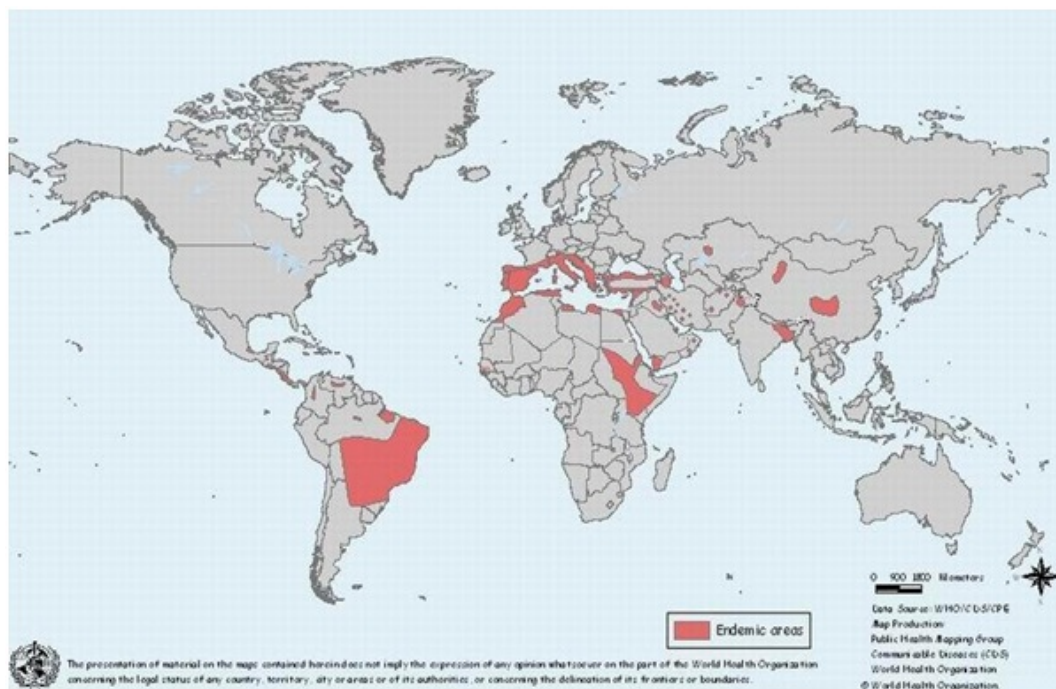


Figura 1. Distribuzione geografica delle aree a maggior endemicità di Leishmaniosi. (<http://www.simti.it>)

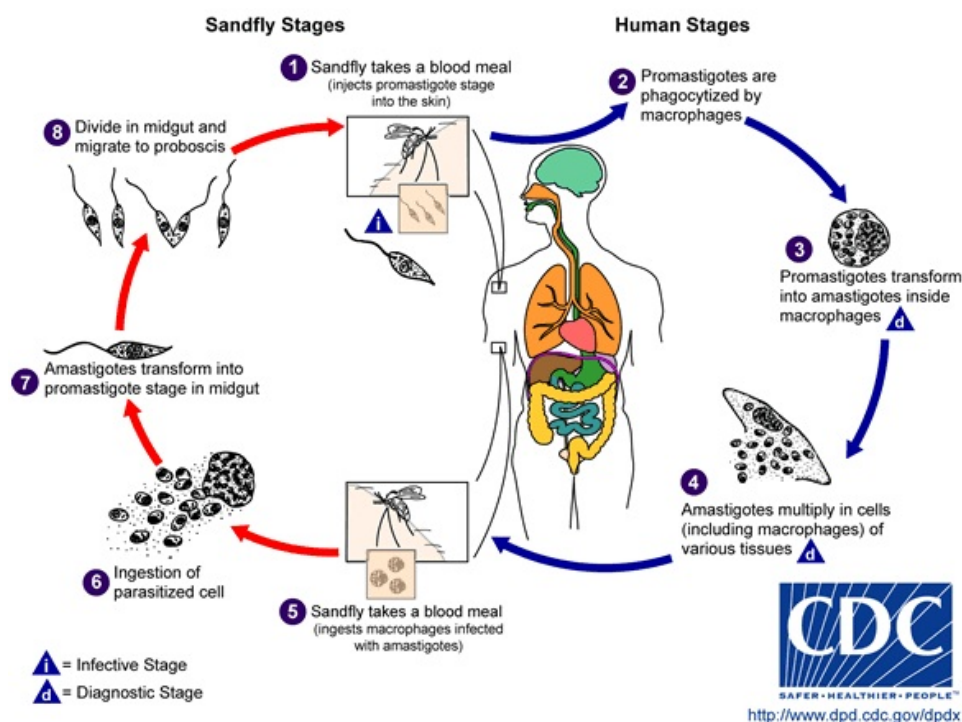


Figura 2. Ciclo vitale della *Leishmania*. (<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>)

Le forme cutanee sono sostenute principalmente da *L. major*, *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. amazonensis* e *L. pifanoi*, e interessano classicamente le aree esposte del corpo. La lesione iniziale nel punto di inoculazione appare come una papula rossa simil-foruncolare che si ingrandisce gradualmente e assume una tonalità più scura. Tale lesione presenta margini induriti e nell'area centrale, dopo

circa 2 settimane, si forma una crosta che, una volta caduta, rivela una lesione ulcerativa, che si amplia progressivamente nei mesi successivi. La guarigione solitamente sopraggiunge dopo 2-6 mesi ed esita in una cicatrice tipicamente atrofica, iperpigmentata e cribriforme (*Figura 3*). Si possono inoltre distinguere delle forme cutanee localizzate, muco cutanee e diffuse³.



Figura 3. Leishmaniosi cutanea. (<http://www.tuttasalute.net>)

La Leishmaniosi viscerale, anche detta *kala-azar* è una patologia infiammatoria cronica sostenuta principalmente da *L. infantum* nel bambino e *L. donovani* nell'adulto. Dopo l'inoculo nell'uomo, in tale forma di malattia, le cellule parassitarie (promastigoti) perdono il flagello e vengono fagocitate dalle cellule del reticolo-endotelio in forma di amastigoti, si moltiplicano e, dopo aver distrutto la cellula ospite, diffondono nei tessuti, trasportati dai macrofagi, localizzandosi a livello delle cellule reticolo-endoteliali di fegato, midollo osseo, linfonodi, milza e reni (Figura 4).

Le manifestazioni principali della Leishmaniosi viscerale sono il risultato dell'iperplasia dei tessuti coinvolti e del malfunzionamento del sistema fagocitario, con conseguenti peculiari manifestazioni ematologiche: anemia, piastrinopenia e leucopenia. Sequestro splenico, emopoiesi inefficace per infiltrazione midollare e produzione di IL-10 da parte dei macrofagi

parassitati sono i principali meccanismi patogenetici alla base della citopenia. A tali manifestazioni si possono associare ipergammaglobulinemia, epatosplenomegalia, aumento delle transaminasi, e sintomi sistemici come febbre intermittente, perdita di peso, astenia, linfadenopatia, diarrea ematica, ritardo di crescita ed elevato rischio di sovrainfezioni⁴.

In genere l'infezione decorre in forma subclinica e asintomatica; gli individui più frequentemente colpiti da Leishmaniosi viscerale sono bambini al di sotto dei 2 anni di età con sistema immunitario ancora immaturo, oppure soggetti immunodepressi o che comunque presentino condizioni predisponenti. Nel bambino la patologia si presenta frequentemente con epatomegalia, rifiuto dell'alimentazione, pianto e irritabilità; nel 25% dei casi si può inoltre verificare concomitante batteriemia⁵.

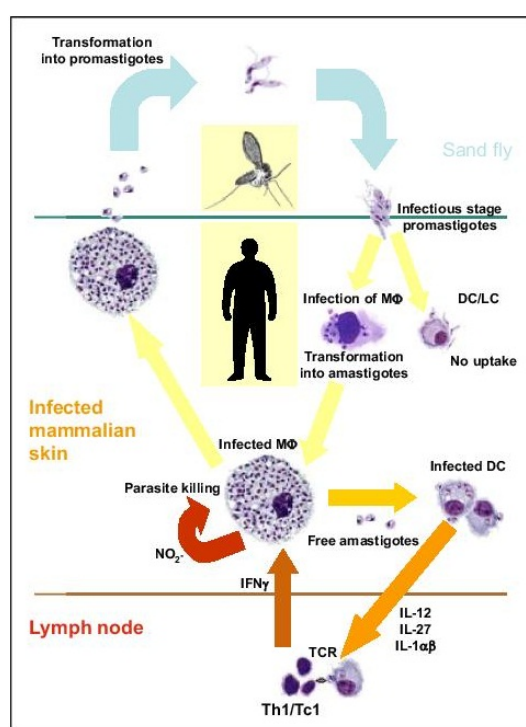


Figura 4. Meccanismo di infezione della Leishmania. [3]

Uno studio retrospettivo italiano⁶ ha analizzato 111 casi di Leishmaniosi viscerale: febbre e splenomegalia (100%), epatomegalia (90,1%), trombocitopenia e anemia (70,1%) e leucopenia (42,3%) sono stati i sintomi di più frequente riscontro. In letteratura sono inoltre segnalati casi di aumento degli autoanticorpi, verosimilmente conseguente ad un'attivazione policlonale dei linfociti B, con alti livelli di IgG circolanti^{7,8}. La forma viscerale risulta endemica in Nord Africa, Medio Oriente, Centro-Sud America, India e Europa del Sud⁴. In Italia, dati recenti dell'Istituto Superiore di Sanità mostrano un aumento dell'incidenza di Leishmaniosi dagli inizi degli anni Novanta, probabilmente a seguito dei flussi migratori e da Paesi a più elevata endemia: sono stati segnalati circa 200 casi/anno, ma con alta percentuale di sottotifica in alcune

Regioni. Le aree più colpite sono Sicilia, Sardegna, Campania (in particolar modo la costiera amalfitana, Napoli e Caserta), ma anche Veneto, Emilia Romagna, Liguria (soprattutto le zone di Imperia e Savona), Piemonte (in cui sono state identificate alcune aree endemiche nel territorio di Torino, Ivrea, Cuneo e Casale), Val d'Aosta, Trentino e Lombardia non possono essere considerate aree completamente sicure⁹⁻¹³ (Figura 5).

L'infezione è più frequente negli immunodepressi, tanto che la coinfezione HIV-*Leishmania* è considerata un importante fattore di rischio per la manifestazione della malattia nell'Europa sud-occidentale, al di fuori delle aree endemiche¹⁴⁻¹⁵.



Figura 5. Leishmaniosi in Italia. (<http://www.salutenotizie.wordpress.com>)

DIAGNOSI

La diagnosi di Leishmaniosi si pone mediante conferma indiretta di infezione tramite ricerca di anticorpi specifici (IFAT, DAT, ELISA, test immunocromatografico rK39-ICT, Western blot), caratterizzata da sensibilità variabile e percentuale non trascurabile di falsi positivi (soprattutto in aree endemiche, in soggetti precedentemente trattati o in immunodepressi, in cui vi può essere persistenza di titolo anticorpale elevato), oppure visualizzazione diretta in microscopia di amastigoti nei monociti o, più raramente, nei neutrofili del sangue periferico o nei macrofagi all'aspirato midollare.

La modalità diagnostica più sensibile è rappresentata dall'esame colturale eseguito su aspirato midollare, la quale richiede però tempi lunghi (10-40 giorni) per la difficoltà di crescita in vitro.

Un'altra possibilità è rappresentata dall'esecuzione di PCR su striscio midollare o su sangue periferico, tecnica poco invasiva e molto sensibile, soprattutto nel paziente immunodepresso⁴.

TRATTAMENTO

I farmaci disponibili a livello mondiale per il trattamento della Leishmaniosi viscerale includono composti pentavalenti antimoniali, amfotericina B deossicolata e formulazioni lipidiche della stessa, miltefosina e paromomicina; l'utilizzo di ognuno di questi farmaci presenta tuttavia delle limitazioni in termini di tossicità, efficacia, effetti collaterali e costi.

Miltefosina e paromomicina sono disponibili in formulazione orale, mentre i restanti suddetti farmaci vengono somministrati per via parenterale, ma presentano l'inconveniente di una somministrazione prolungata^{4,16}.

I composti antimoniali rappresentano ormai un presidio superato a causa delle diffuse resistenze sviluppate.

L'Amfotericina B non liposomiale possiede importanti effetti collaterali (nefrotossicità, disturbi neurologici ecc.), tuttavia, essendo più economica della formulazione non liposomiale, viene comunque utilizzata nei paesi in via di sviluppo¹⁷⁻²⁰.

Attualmente, in Italia, la terapia di scelta si basa sull'impiego di amfotericina B liposomiale, che garantisce, a parità di efficacia con altri composti, un ciclo terapeutico breve e migliore compliance terapeutica. Il trattamento raccomandato prevede l'utilizzo di amfotericina B liposomiale ev (3 mg/kg/die) per 5 giorni, con ulteriori somministrazioni i giorni 14 e 21¹⁷⁻¹⁹. Il miglioramento clinico e la scomparsa di febbre si possono già osservare dopo una settimana dall'inizio del trattamento, mentre la guarigione completa si ha generalmente dopo 4-6 settimane, con progressiva normalizzazione del quadro ematologico e riduzione della splenomegalia⁴.

DISCUSSIONE

Il caso di M. rappresenta un tipico episodio di Leishmaniosi viscerale, in cui diagnosi tempestiva e terapia adeguata hanno portato a rapida risoluzione del quadro clinico e a guarigione senza sequele. La difficoltà e il ritardo nella diagnosi di questa patologia sono spesso la conseguenza della rarità di questa condizione nel nostro Paese, sebbene anche in Italia vi siano aree ad alta endemia, per cui il medico inesperto può essere tratto in inganno, giungendo a considerare tale possibilità di malattia solo in fasi tardive. Tale condizione clinica deve pertanto essere sempre presa in considerazione di fronte ad un quadro clinico infiammatorio con attivazione macrofagica (MAS) associato ad alterazioni dell'emocromo e ipergammaglobulinemia, entrando in diagnosi differenziale con altre

patologie più frequenti, come leucemie, linfomi ed emofagocitosi, per quanto riguarda le forme neoplastiche, oppure con patologie di natura infettivologica come l'infezione da HIV, CMV, Toxoplasma, tubercolosi, malaria, febbre tifoide, schistosomiasi, brucellosi, febbre di origine indefinita (FUO), o con malattie metaboliche da accumulo.

Durante l'infezione da *Leishmania* il piccolo M. ha sviluppato 3 ulteriori episodi infettivi (Parvovirus B19, virus influenzale AH3, polmonite), per i quali la condizione di pancitopenia, associata tipicamente alla patologia di base, può aver giocato un importante ruolo predisponente. In particolar modo all'esordio dei sintomi si è verificata una coinfezione di *Leishmania*-Parvovirus B19, entrambe patologie in grado di interferire con l'immunità cellulo-mediata aspecifica del paziente, compromettendola e aggravando il quadro clinico, nonostante il trattamento adeguato e il progressivo miglioramento delle condizioni cliniche generali. Il sopraggiungere di questi episodi infettivi sottolinea la vulnerabilità del bambino causata dalla leucopenia indotta dalla Leishmaniosi, che si protrae per settimane nonostante l'utilizzo di un trattamento adeguato, evidenziando la necessità di attenta sorveglianza e valutazione clinica periodica nel follow up fino alla completa risoluzione di malattia ed alla normalizzazione dei parametri ematologici e della funzione immunitaria.

La Leishmaniosi, pur essendo una condizione clinica poco frequente, va sempre tenuta in considerazione nella diagnosi differenziale di bambini che giungono all'osservazione medica per sintomi come febbre, epatosplenomegalia e pancitopenia, poiché una diagnosi precoce, un trattamento idoneo e un follow up adeguato sono in grado di risolvere la patologia senza complicanze nella maggior parte dei casi.

Bibliografia

- Oliva G. La leishmaniosi: una malattia in costante aumento (dal sito www.notes.provincia.napoli.it)
- Bari AU. Clinical spectrum of cutaneous leishmaniasis: an overview from Pakistan. *Dermatol Online J* 2012;18:4.
- Von Stebut E. Immunology of cutaneous leishmaniasis: the role of mast cells, phagocytes and dendritic cells for protective immunity. *Eur J Dermatol* 2007;17:115-22.
- Varma N, Naseem S. Hematologic changes in visceral Leishmaniasis/Kala azar. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2010;26:78-82.
- Dionisio MT, Dias A, Rodrigues F et al. Paediatric visceral leishmaniasis. Experience of a Paediatric referral Center: 1990-2009. *Acta Med Port* 2011;24:399-404.
- Cascio A, Colomba C, Antinori S, et al. Pediatric visceral leishmaniasis in Western Sicily, Italy: a retrospective analysis of 111 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:277-82.
- Gagnaire MH, Galambrun C, Stephan JL. Hemophagocytic syndrome: a misleading complication of visceral leishmaniasis in children. A series of 12 cases. *Pediatrics* 2000;106:E58.
- Holaday BJ, Pompeu MM, Jeronimo S, et al. Potential role for interleukin-10 in the immunosuppression associated with kala azar. *J Clin Invest* 1993;92:2626-32.
- <http://www.epicentro.iss.it/problemi/Leishmaniosi/epid.asp>
- Di Martino L, Gramoccia M, Occorsio P, et al. Infantile visceral leishmaniasis in the Campania region, Italy: experience from a Paediatric Referral Centre. *Parassitologia* 2004;46:221-3.
- Natale A. La Leishmaniosi in Italia. *Obiett Doc Vet* 2004;12:23-8.
- Ferroglio E, Maroli M, Gastaldo S, et al. Canine Leishmaniasis, Italy. *Emerging infectious diseases* 2005;11:1618-20.
- http://www.idexx.it/pdf/it_it/smallanimal/snap/leishmania/snap-leish-booklet.pdf
- Cavalcanti A, Medeiros Z, Lopes F, et al. Diagnosing visceral leishmaniasis and HIV/AIDS coinfection: a case series study in Pernambuco, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2012;54:43-7.
- Orsini M, Canela JR, Disch J, et al. High frequency of asymptomatic *Leishmania* spp. Infection among HIV-infected patients living in endemic areas for visceral leishmaniasis in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2012 [Epub ahead of print].
- World Health Organization. Visceral leishmaniasis therapy: statement on the outcome of a meeting.
- Meyerhoff A. U.S. Food and Drug Administration approval of AmBisome (liposomal amphotericin B) for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1999;28:42-8.
- Di Martino L, Davidson RN, Giacchino R et al. Treatment of visceral leishmaniasis in children with liposomal amphotericin-B. *J Pediatr* 1997;131:271-7.
- Cascio A, Di Martino L, Occorsio P, et al. A 6 day course of liposomal amphotericin B in the treatment of infantile visceral leishmaniasis: the Italian experience. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:217-20.
- Sundar S, Jha TK, Thakur CP, et al. Oral miltefosine for Indian Visceral leishmaniasis. *N Eng J Med* 2002;347:1739-46.