

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:

«ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ: ΛΕΪΣΜΑΝΙΑΣΗ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ
ΚΥΠΡΟΥ. ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ 2005-2018**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ: ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΑΚΑΡΙΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΝΙΚΟΣ ΣΠΥΡΙΔΗΣ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2019

MSc “PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASES”

NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS
MEDICAL SCHOOL

MSc THESIS

SUBJECT: LEISHMANIASIS IN CYPRUS.
RETROSPECTIVE STUDY 2005-2018

POSTGRADUATE STUDENT: IOANNIS MAKARIOU
SUPERVISOR: NIKOS SPYRIDIS

ATHENS
JUNE 2019

Abstract

Background:

Leishmaniasis is a vector-borne disease caused by an intracellular parasite transmitted to humans by the bite of the female sandfly. It is endemic in 97 countries worldwide with 700 000-1 000 000 new cases and 20 000- 30 000 deaths every year. In Cyprus leishmaniasis was prevalent before 1945. Two campaigns resulted the destruction of reservoir hosts and vectors and only few cases were reported until 2005. Since then an increased number of new leishmaniasis cases in humans have been reported in Cyprus. The aim of this study is to describe the clinical and epidemiological characteristics of leishmaniasis in Cyprus and evaluate the current and future aspects of the problem.

Methods:

We retrospectively reviewed all leishmaniasis cases recorded in the population of Cyprus during the period 2005-2018. Data were accessed from Cyprus Ministry of Health, the Veterinary Services Laboratory and medical records. Demographic, clinical, laboratory and diagnostic findings as well as treatment and outcome data were collected.

Results:

Between 2005-2018, 38 cases of human leishmaniasis were recorded. 28 autochthonous and 10 imported cases by Syrian refugees. 10 visceral cases were detected in local population. 6 visceral cases were diagnosed in children. Cutaneous leishmaniasis occurred in both local population (18 cases) and refugees (10). Median time from onset of symptoms to diagnosis of VL was 38 days vs CL 180 days. Anthroponotic *Leishmania donovani*-MON37 was identified in autochthonous cases while anthroponotic *Leishmania tropica* was identified in refugee cases. 4 out of 6 pediatric (66%) visceral cases developed hemophagocytic lymphohistiocytosis syndrome.

Conclusion:

Despite leishmaniasis is a rare disease in Cyprus it remains a serious problem of public health. Because of the delayed diagnosis of CL versus VL, the cutaneous form is considered a major risk factor for transmission. Therefore training of the physicians is required so that earlier diagnosis is achieved. The importation of anthroponotic *L. tropica* may become an additional problem if it becomes transmissible to the local population given the similarity of climatic conditions with Syria and the presence of competent vectors for transmission. Continuous surveillance of the pathogen and the disease is required.

Γενική περιγραφή του θέματος:

Η λείσμανίαση είναι παρασιτική νόσος που οφείλεται σε πρωτόζωα του γένους *Leishmania* και μεταδίδεται με το δείγμα του θηλυκού φλεβοτόμου. Είναι ενδημική νόσος σε 97 χώρες παγκοσμίως με 700.000-1.000.000 νέες περιπτώσεις και 20.000-30.000 θανάτους ετησίως. Στην Κύπρο η λείσμανίαση ήταν διαδεδομένη πριν το 1945. Δύο εκστρατείες είχαν ως αποτέλεσμα την καταστροφή των διαβιβαστών και των ξενιστών της νόσου και μόνο λίγες περιπτώσεις αναφέρθηκαν μέχρι το 2005. Από τότε καταγράφεται αυξημένος αριθμός νέων κρουσμάτων λείσμανίασης στην Κύπρο. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η περιγραφή των κλινικών και επιδημιολογικών χαρακτηριστικών της λείσμανίας στην Κύπρο και η αξιολόγηση της παρούσας κατάστασης και εξέτασης της δυνατότητας επιδείνωσης του προβλήματος.

Μέθοδοι:

Αναδρομική μελέτη των καταγεγραμμένων περιστατικών λείσμανίασης στον πληθυσμό της Κύπρου κατά την περίοδο 2005-2018. Τα δεδομένα ελήφθησαν από το Υπουργείο Υγείας της Κύπρου, το Εργαστήριο Κτηνιατρικών Υπηρεσιών και του ατομικούς φακέλους των ασθενών. Συγκεντρώθηκαν δημογραφικά δεδομένα, κλινικά στοιχεία, εργαστηριακά ευρήματα, θεραπεία και στοιχεία για την έκβαση της νόσου.

Αποτελέσματα:

Μεταξύ 2005-2018, καταγράφηκαν 38 περιπτώσεις ανθρωπίνης λεισμανίασης. 28 αυτόχθονες και 10 εισαγόμενες που αφορούσαν Σύριους πρόσφυγες. Καταγράφηκαν 10 σπλαχνικές λεισμανιάσεις, όλα αυτόχθονα περιστατικά, εκ των οποίων οι 6 σε παιδιά. Δερματική λεισμανίαση παρατηρήθηκε τόσο στο τοπικό πληθυσμό (18 περιπτώσεις) όσο και σε πρόσφυγες (10). Ο διάμεσος χρόνος από την εμφάνιση των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση της ΣΛ ήταν 38 ημέρες έναντι 180 ημερών για τη διάγνωση ΔΛ. Ανθρωπονοτική *Leishmania donovani*-MON37 εντοπίστηκαν σε αυτόχθονες περιπτώσεις ενώ ανθρωπονοτική *Leishmania tropica* εντοπίστηκε σε πρόσφυγες. 4 από τις 6 παιδιατρικές ΣΛ (66%) ανέπτυξαν αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο.

Συμπεράσματα:

Αν και η λεισμανίαση είναι μια σπάνια νόσος στην Κύπρο παραμένει ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας. Λόγω της καθυστερημένης διάγνωσης της ΔΛ έναντι της ΣΛ, η δερματική μορφή θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για μετάδοση. Συνεπώς, απαιτείται η εκπαίδευση των γιατρών, ώστε να επιτυγχάνεται η έγκαιρη διάγνωση. Η εισαγωγή του ανθρωπονοτικού *L. tropica* στο νησί μπορεί να αποτελέσει πρόσθετο πρόβλημα εάν μεταδοθεί στον τοπικό πληθυσμό λόγω της ομοιότητας των κλιματολογικών συνθηκών με τη Συρία και της παρουσίας στο κατάλληλων φορέων για μετάδοση. Κρίνεται αναγκαία η παρακολούθηση του παθογόνου και της περαιτέρω εξέλιξης της νόσου.

Λέξεις κλειδιά: Leishmaniasis , Cyprus, pediatric, Λεισμανίαση , Κύπρος , παιδιά

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

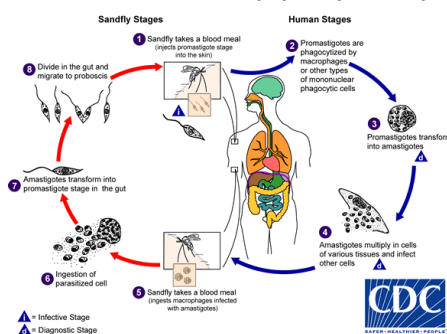
1. Γενική περιγραφή του δέματος	6
2. Μεθοδολογία.....	12
3. Ανάλυση.....	14
4. Συζήτηση.....	31
5. Συμπεράσματα.....	39
6. Βιβλιογραφία.....	40

Γενική περιγραφή του δέματος:

Η λεισμανίαση είναι παρασιτική νόσος που οφείλεται σε πρωτόζωα του γένους *Leishmania* και μεταδίδεται με το νύγμα του δηλυκού φλεβοτόμου. Έχει χαρακτηριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως «παραμελημένη τροπική νόσος». Η σημασία της στη δημόσια υγεία έχει υποεκτιμηθεί σε μεγάλο βαθμό παγκοσμίως, λόγω της πολύπλοκης επιδημιολογίας και οικολογίας της, της έλλειψης εύκολα εφαρμοζόμενων μέτρων αντιμετώπισης και της ανεπαρκούς επιδημιολογικής επιτήρησής της. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια είναι μια αναδυόμενη νόσος με εμφάνιση νέων εστιών, αύξηση των περιστατικών σε παραδοσιακά ενδημικές περιοχές και άρα με μεγάλη σημαντικότητα γενικότερα σε παγκόσμιο επίπεδο και ειδικότερα στην περιοχή της Μέσης Ανατολής και Ανατολικής Μεσογείου, στο κέντρο της οποίας βρίσκεται το νησί της Κύπρου.

Οι λεισμάνιες ανήκουν στην οικογένεια Trypanosomatidae και χωρίζονται σε 2 υπογένη, *Leishmania (Leishmania)* και *Leishmania (Viannia)*. Είναι δίμορφα πρωτόζωα. Η μία μορφή είναι μαστιγοφόρα και ανευρίσκεται στον διαβιβαστή ενώ η άλλη είναι μη μαστιγοφόρα και ανευρίσκεται αυστηρά ενδοκυττάρια στα μακροφάγα των θηλαστικών ξενιστών. Η λεισμανίαση προκαλείται από 20 διαφορετικά είδη και μεταδίδεται με το νύγμα μολυσμένων θηλυκών φλεβοτόμων. Οι φλεβοτόμοι μολύνονται με τις αμαστίγωτες ενδοκυττάριας λεισμάνιες που υπάρχουν στο αίμα των ξενιστών μέσω νύγματος. Στο έντερο του φλεβοτόμου η λεισμάνια αλλάζει μορφή αποκτώντας πρόσδιο μαστίγιο (προμαστιγοφόρο), πολλαπλασιάζεται και εγκαθίσταται στο στοματοφάρυγγα του εντόμου. Ακολούθως οι μολυσμένοι φλεβοτόμοι μέσω νύγματος μεταφέρουν τις λεισμάνιες στο αίμα ενός υγιούς ξενιστή. (1-3)

Εικόνα 1. Κύκλος ζωής λεισμανίας.(4)



Οι λεισμάνιες εισβάλλουν στα μακροφάγα του ξενιστή μέσω σύνδεσης με τον υποδοχέα Fc και τους υποδοχείς του συμπληρώματος τύπου 1 και 3. Στο φαγολυσόσωμα αποκτούν την αμαστίγωτη μορφή τους χάνοντας το μαστίγιο και πολλαπλασιάζονται, αποτρέποντας την απέκκριση υπεροξειδίου και νιτρικού οξέως από τα μακροφάγα. Το ανοσοποιητικό σύστημα αμύνεται με επαγωγή, κυρίως μέσω της ιντερλευκίνης 12, Th1 απάντησης με παραγωγή ιντερφερόνης γ η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί μακροφάγα για περιορισμό της νόσου. Από την άλλη η Th2 απάντηση ευνοεί τη νόσο μέσω της έκκρισης ιντερλευκινών όπως της ιντερλευκίνης 4 ή/και ιντερλευκίνης 10 οι οποίες αναστέλλουν την μακροφαγο-διαμεσολαβούμενη θανάτωση των παρασίτων.(1-3,5)

Οι φλεβοτόμοι έχουν περιορισμένη εμβέλεια πτήσης, είναι ανενεργοί κατά τη διάρκεια της ημέρας και τρέφονται κυρίως το θράδυ. Ζούν κατά προσέγγιση 2 εβδομάδες, μπορούν να μεταδώσουν τις λεισμάνιες 3 με 7 ημέρες μετά την πρόσληψη του παρασίτου και ακολούθως δεν μεταδίδουν. Οι φλεβοτόμοι τρέφονται από διάφορα θηλαστικά όπως σκύλους, ανθρώπους, γάτες, τρωκτικά, νυκτερίδες οι οποίοι γίνονται έτσι ξενιστές των λεισμανιών. Ο χρόνος επώασης του παρασίτου μέσα στους ξενιστές του μπορεί να διαρκέσει συνήθως από 2 εβδομάδες μέχρι 18 μήνες(6). Η λεισμάνια μεταδίδεται συνήθως μέσω του φλεβοτόμου από τα μολυσμένα ζώα στον άνθρωπο, η μετάδοσή της είναι δηλαδή ζωνοτική. Η νόσος όμως μπορεί να είναι και ανθρωπονοτική, δηλαδή να μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο μέσω των διαβιβαστών χωρίς την μεσολάβηση ζώων. Αυτό καθορίζεται από το είδος της λεισμάνιας. Για παράδειγμα η μετάδοση της *L. infantum* είναι ζωνοτική ενώ της *L. donovani* είναι ανθρωπονοτική.

Υπάρχουν διάφορες νοσολογικές οντότητες της ανθρώπινης λεισμανίασης, οι οποίες σχετίζονται με διαφορετικά παράσιτα, διαβιβαστές, υποδόχα και διαφορετική γεωγραφική κατανομή. Η μορφή της νόσου καθορίζεται από το είδος του παρασίτου, αν και η ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή, σε συνδυασμό με το γενετικό υπόστρωμα, μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ευαισθησία στη λοίμωξη από λεισμάνια και τις κλινικές εκδηλώσεις. Οι κύριες μορφές λεισμανίασης **είναι η σπλαχνική (visceral), η δερματική(cutaneous) και σπανιότερα η βλεννογονοδερματική (mucocutaneous).**

Η σπλαχνική λεισμανίαση είναι συστηματική νόσος. Εκδηλώνεται κυρίως με πυρετό, κακουχία και ηπατοσπληνομεγαλία. Τα συμπτώματα αυτά οφείλονται στη δράση της λεισμάνιας στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα. Συσσωρεύονται στο μυελό των οστών όπου μπορούν να προκαλέσουν καταστολή με αποτέλεσμα την εμφάνιση: α) αναιμίας, η οποία εκδηλώνεται κλινικά ως ωχρότητα και αδυναμία, β) θρομβοπενίας με πιθανή κλινική εκδήλωση την αιμορραγική διάθεση και γ) λευκοπενίας. Η συσσώρευση παρασίτων στο ήπαρ μπορεί να προκαλέσει διόγκωση και διαταραχή της λειτουργικότητας του ήπατος, τα οποία προβάλλουν ως ηπατομεγαλία κατά τη κλινική εξέταση και διαταραχή των ηπατικών ενζύμων κατά τον εργαστηριακό έλεγχο. Τέλος, το παράσιτο μπορεί να συσσωρευτεί στο σπλήνα προκαλώντας αναιμία με υπερσπληνισμό. Τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται σταδιακά, λιγότερο συχνά όμως μπορεί να εμφανιστούν οξέως με ταχεία επιδείνωση. Χωρίς θεραπεία η σπλαχνική λεισμανίαση οδηγεί σε θάνατο στις πλείστες περιπτώσεις(2,3)

Η δερματική λεισμανίαση χαρακτηρίζεται από δερματικές βλάβες. Οι βλάβες εμφανίζονται στις εκτεθειμένες περιοχές του δέρματος, στο πρόσωπο και στα άκρα, αφού το νύγμα του φλεβοτόμου δε διαπερνά τα ρούχα. Οι βλάβες ξεκινούν συνήθως σαν ροδαλή κηλίδα η οποία μεγαλώνει και υπεργείρεται δημιουργώντας οξίδιο ή μια πλακόμορφη βλάβη που εξελίσσεται σε ανώδυνο έλκος το οποίο περιβάλλεται από ερυθρότητα και σκληρία. Το έλκος μπορεί να καλυφθεί από υπερκερατωσική εσχάρα. Δεν υπάρχει πυώδης έκκριμα, εκτός και αν επιπλακεί με βακτηριακή επιμόλυνση. Οι βλάβες συνήθως υποχωρούν αυτόματα με την πάροδο μηνών ή και ετών, ανάλογα με το είδος και το μέγεθος της βλάβης αφήνοντας ουλή.(2,3)

Επιδημιολογία

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας η λεισμανίαση είναι ενδημική σε 97 χώρες και υπολογίζεται ότι υπάρχουν 700 000-1 000 000 νέα κρούσματα και 20 000-30 000 θάνατοι ετησίως. Η λεισμανίαση εμφανίζεται σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές, όπου και διαβιεί ο φλεβοτόμος. 65 χώρες είναι ενδημικές για σπλαχνική και δερματική λεισμανίαση, 10 χώρες είναι ενδημικές για σπλαχνική και 22 για δερματική.

Ετησίως καταγράφονται περί τα 200000-400000 νέα περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίασης. Το κύριο ποσοστό περιστατικών σπλαχνικής λεισμανίασης παγκοσμίως

(>90%) αφορά επτά χώρες: τη Βραζιλία, την Αιθιοπία, την Ινδία, την Κένυα, τη Σομαλία, το Νότιο Σουδάν και το Σουδάν.

Παγκόσμια, δύο είναι τα κυριότερα στελέχη που προκαλούν σπλαχνική λεισμανίαση. Το πρώτο είναι η *L. donovani* που προκαλεί ανθρωπονοτική νόσο σε δύο κύριες εστίες. Η πρώτη περιοχή όπου κυριαρχεί είναι η Νότια Ασία (Ινδία, Μπαγκλαντές και Νεπάλ) όπου και προκαλεί περισσότερο από τα 2/3 του συνόλου των περιστατικών της σπλαχνικής λεισμανίασης στον κόσμο. Η δεύτερη σημαντική εστία της *L. donovani* είναι η Ανατολική Αφρική κυρίως στο Σουδάν, Αιθιοπία, Κένυα και Σομαλία με μεγαλύτερη επίπτωση στις πρώτες δύο χώρες.

Το δεύτερο κύριο αίτιο σπλαχνικής λεισμανίασης είναι η *L. infantum*, η οποία προκαλεί ζωνοτική νόσο σε ακόμη 2 σημαντικές εστίες. Η πρώτη είναι η λεκάνη της Μεσογείου όπου κυριαρχεί και η δεύτερη είναι ο Νέος Κόσμος(Νότια Αμερική) και ιδιαίτερα η Βραζιλία(όπου είναι γνωστή και ως *L. chagasi*).(7)

Η δερματική λεισμανίαση είναι ενδημική με διάσπαρτες εστίες ανά τον κόσμο. Η ετήσια συχνότητα της δερματικής λεισμανίασης εκτιμάται ότι είναι 0,7 έως 1,2 εκατομμύρια νέα κρούσματα ετησίως(8). Προκαλείται κυρίως από τις *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* και σπανιότερα από την *L. infantum* στον Παλαιό Κόσμο (Ευρώπη, Ασία, Αφρική) και από τις *L. mexicana*, *L. braziliensis* στο Νέο Κόσμο. Οι 10 χώρες με τον υψηλότερο αριθμό περιπτώσεων δερματικής λεισμανίασης στις αναφορές του Π.Ο.Υ του 2018 για το 2016 είναι: στον Παλαιό Κόσμο Αφγανιστάν, Αλγερία, Ιράκ, Πακιστάν, Συρία, Τυνησία και Υεμένη, και στο Νέο Κόσμο Βραζιλία, Κολομβία και Περού. Όλες μαζί αντιπροσωπεύουν το 84% των περιστατικών παγκοσμίως.(9)

Σημαντικό επιδημιολογικό πρόβλημα είναι η εισαγωγή περιστατικών λεισμανίασης σε μη ενδημικές περιοχές. Κατά πρώτον, αυτό οφείλεται στην είσοδο ατόμων από μη ενδημικές σε ενδημικές περιοχές όπου και μολύνονται με αποτέλεσμα κατά την επιστροφή τους στη μη ενδημική χώρα προέλευσης να εισάγουν και την λεισμάνια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτέλεσαν οι επιχειρήσεις του Αμερικανικού στρατού στο Ιράκ και το Αφγανιστάν. Μετά την επιστροφή τους στις Η.Π.Α. παρατηρήθηκε έξαρση περιστατικών δερματικής

λεϊσμανίασης από *L. major* σε αυτούς που έκαναν θητεία στο Ιράκ, και από *L. major* και *L. tropica* σε αυτούς που έκαναν θητεία στο Αφγανιστάν (συνολικά πάνω από 2000 περιστατικά) (10).

Κατά δεύτερο, μέσω της μετακίνησης πληθυσμών από ενδημικές σε μη ενδημικές περιοχές με αποτέλεσμα την εισαγωγή περιστατικών στις περιοχές αυτές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα οι πρόσφατες πολεμικές συγκρούσεις στην Αραβική δημοκρατία της Συρίας με τις επακόλουθες επιπτώσεις στην υποδομή υγείας της χώρας και τη μαζική μετακίνηση πληθυσμού που οδήγησαν από τη μία σε έξαρση της νόσου στην ίδια τη Συρία με υπερδιπλασιασμό της επίπτωσης της νόσου συγκριτικά με πριν τον πόλεμο (11), και από την άλλη στην εμφάνιση επιδημιών δερματικής λεϊσμανίασης μεταξύ των προσφύγων στη Τουρκία, την Ιορδανία και το Λίβανο (12-14).

Η Ευρώπη παρουσιάζει το μικρότερο ποσοστό λεϊσμανίασης συγκριτικά με τις υπόλοιπες ηπείρους, συμβάλλοντας περίπου στο 2% των περιστατικών παγκοσμίως. Σημαντικότατο ρόλο στην επιδημιολογία της νόσου στην Ευρώπη διαδραματίζει η μετανάστευση και η μαζική μετακίνηση προσφύγων κυρίως από Συρία με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των περιπτώσεων λεϊσμανίασης σε χώρες που δεν είχαν ή είχαν λίγες περιπτώσεις προ της μετανάστευσης. Γι' αυτό και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας τόνισε την επείγουσα ανάγκη για συλλογή επικαιροποιημένων πληροφοριών σχετικά με την έκταση του προβλήματος στην Ευρώπη, ούτως ώστε να εξασφαλιστούν επαρκείς εθνικές αλλά και περιφερειακές πολιτικές, για τον έλεγχο της νόσου με στόχο την ανίχνευση εστιών, αλλαγών στις τάσεις της νόσου και εφαρμογή μέτρων προς αυτή τη κατεύθυνση. (15)

Σύμφωνα με την έκδοση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας του 2018 για τις δηλώσεις περιστατικών λεϊσμανίασης στις ευρωπαϊκές χώρες, κατά το 2016 καταγράφηκαν περιστατικά σπλαχνικής λεϊσμανίασης από τη *L. infantum* σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης, της Βαλκανικής, της Κεντρικής Ασίας, του Νότιου Καυκάσου και της Τουρκίας. Σχεδόν το 75% των περιστατικών καταγράφηκαν στην Αλβανία, τη Γεωργία, την Ιταλία και την Ισπανία. Το 90% των περιπτώσεων ήταν αυτόχθονα περιστατικά ενώ το 10% εισαγόμενα. (16)

Όσον αφορά τα περιστατικά δερματική λεισμανίασης, στην Ευρώπη καταγράφηκαν 4046 περιπτώσεις, από τις οποίες το 71% ήταν αυτόχθονες και το 29% εισαγόμενες. Το μεγαλύτερο ποσοστό του συνόλου των εισαγόμενων περιστατικών δερματικής λεισμανίασης στην Ευρώπη αφορούσε την Τουρκία, της οποίας τα περιστατικά ήταν το 90% των εισαγόμενων περιστατικών παγκοσμίως.(16)

Στη λεκάνη της Μεσογείου διαπιστώνονται τέσσερα είδη *Leishmania* που προκαλούν σπλαχνική (VL) ή / και δερματική νόσο (CL): Η *Leishmania infantum*, το πιο συνηθισμένο είδος στην περιοχή, υπεύθυνο για σπλαχνική και σποραδικά δερματική νόσο σε ανθρώπους και σπλαχνική νόσο σε σκύλους είναι ένα σημαντικό παθογόνο με τη χρήση του σκύλου ως ξενιστή δεξαμενής.(17) Η *Leishmania major*, που βρίσκεται στη Βόρεια Αφρική και τη Μέση Ανατολή, προκαλεί ζωνοτικές δερματικές μορφές. Η *Leishmania tropica* έχει παραδοσιακά περιορισμένη παρουσία στην Ευρώπη και προκαλεί ανθρωπονοτική δερματική νόσο. Στην ανατολική Μεσόγειο παρουσιάστηκαν πρόσφατα επιδημίες, σε χώρες όπως η Τουρκία, ο Λίβανος και η Ιορδανία σε προσφυγικούς πληθυσμούς από τη Συρία στην οποία και ενδημεί. (12-14) Τέλος η *Leishmania donovani*, που πρόσφατα αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη περιοχή, με περιπτώσεις δερματικής λεισμανίασης στη Συρία, στο Ισραήλ, στη Τουρκία και σπλαχνική μορφή στη Κύπρο, (18-21) προκαλεί ανθρωπονοτική σπλαχνική και δερματική νόσο.

Στην Κύπρο, η λεισμανίαση στους σκύλους ήταν αρκετά διαδεδομένη πριν από το 1945 με το *Phlebotomus tobbi* να είχε ενοχοποιηθεί ως ο διαβιβαστής της *L. infantum*. Δύο εκστρατείες είχαν ως αποτέλεσμα σχεδόν την εξάλειψη της λεισμανίας. Η πρώτη ήταν η ανδελονοσιακή εκστρατεία μεταξύ 1940-1950, η οποία οδήγησε στη μείωση των διαβιβαστών- φλεβοτόμων.(22) Η δεύτερη ήταν η αντιεχινοκοκκική εκστρατεία του 1970-1975 που οδήγησε στη μείωση του αριθμού των ξενιστών-σκύλων του νησιού (οι αριθμοί έπεσαν από 46,000 σε 6,000).(23) Για περισσότερο από 20 χρόνια, η Κύπρος παρέμεινε απαλλαγμένη από τη νόσο, αλλά μετά από αυτή την περίοδο οι πληθυσμοί των φλεβοτόμων αυξήθηκαν και ο αριθμός των σκύλων επανήλθε σε περίπου 100000 (1996). Αυτό οδήγησε στην επανεμφάνιση το ίδιο έτος περιστατικών λεισμανίασης στους σκύλους από *L.infantum*. (17) Στους ανθρώπους μόνο δύο περιπτώσεις παιδικών σπλαχνικών λεισμανιών

αναφέρθηκαν από το 1935. Ωστόσο κατά την περίοδο 2005-2006 η ανθρώπινη λεισμανίαση επανεμφανίστηκε στο νησί με την καταγραφή των πρώτων κρούσματος σπλαχνικής και δερματικής λεισμανίασης, κάτι που φαίνεται ότι συνεχίστηκε και τα επόμενα χρόνια. Η παρατήρηση ότι τα νέα κρούσματα λεισμανίασης στην Κύπρο έχουν σαν αιτιολογικό παράγοντα την ανθρωπονοτική *L. donovani* και όχι την ζωνοτική *L. infantum* η οποία είναι ευρέως διαδεδομένη μεταξύ των σκύλων στην Κύπρο οδήγησε στην υπόθεση της ύπαρξης δύο ανεξάρτητων κύκλων μετάδοσης της νόσου στο νησί, κάτι που ονομάστηκε ‘Το παράδοξο της Κύπρου’ (17).

Παρ’ ότι υπήρξαν δημοσιεύσεις σχετικά με τη λεισμανίαση στην Κύπρο, παρόλα αυτά δεν υπάρχει ολοκληρωμένη μελέτη για τα ανθρώπινα περιστατικά από το 2005 και έπειτα.

Η παρούσα μελέτη σκοπεύει στην ανάλυση των περιστατικών λεισμανίασης στον πληθυσμό της Κύπρου από επιδημιολογική σκοπιά, των παραγόντων κινδύνου, κλινικών χαρακτηριστικών, εργαστηριακών ευρημάτων, διαγνωστικών και θεραπευτικών μεθόδων που εφαρμόστηκαν. Σκοπεύει επίσης στη σύνδεση των στοιχείων με τα ευρήματα στην ευρύτερη περιοχή της ανατολικής Μεσογείου, στην αξιολόγηση της παρούσας κατάστασης στο νησί με την αύξηση των καταγραφόμενων περιστατικών, αυτόχθονων αλλά και εισαγόμενων με την είσοδο στο νησί προσφύγων από την Συρία και εξέτασης της δυνατότητας επιδείνωσης του προβλήματος και εξέλιξης σε μείζων πρόβλημα δημόσιας υγείας.

Μεθοδολογία:

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στην Κυπριακή Δημοκρατία, στην περιοχή που βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο της Κυβέρνησης. Η περιοχή αυτή αποτελείται από 5 επαρχίες και καλύπτει έκταση 5,896 km². Καταγράφηκαν αναδρομικά όλα τα περιστατικά λεισμανίασης στον πληθυσμό της Κύπρου την περίοδο 2005-2018. Επειδή πρόκειται για δηλωτέο νόσημα, στοιχεία λήφθηκαν από το αρχείο καταγραφής των περιστατικών της νόσου στην Μονάδα Επιτήρησης και Ελέγχου Λοιμωδών Νοσημάτων του Υπουργείου υγείας της Κύπρου καθώς και από το εργαστήριο των κτηνιατρικών υπηρεσιών Κύπρου. Ατομικοί φακέλοι ασθενών ανευρέθηκαν μόνο για τους παιδιατρικούς ασθενείς το σύνολο

των οποίων είχαν νοσηλευθεί στο νοσοκομείο Αρχιεπίσκοπος Μακάριος III, Λευκωσία. Συγκεντρώθηκαν δημογραφικά δεδομένα, κλινικά στοιχεία, εργαστηριακά και διαγνωστικά ευρήματα, στοιχεία για την θεραπευτική αγωγή και την έκβαση της νόσου.

Ορολογικός έλεγχος: Δείγματα αίματος εξετάστηκαν αρχικά με την ποσοτική μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού (Indirect immunofluorescence test, IFAT) για την ανίχνευση αντισωμάτων IgG στον ορό κατά του παράσιτου της *Leishmania* (Anti-human IgG, Fluorescein Conj. F(ab')₂ Sanofi Diagnostics Pasteur, France) σε πλάκες ανοσοφθορισμού (Multitest slide 15 well, 4mm, MP Biomedicals, USA). Τίτλος $\geq 1:200$ θεωρήθηκε θετικός για τους ασθενείς με συμπτώματα σπλαχνικής λεισμανίασης (ΣΛ) και ακολούθως διεξήχθησαν περαιτέρω δοκιμές για την επιβεβαίωση της λοίμωξης.

Καλλιέργεια: Η καλλιέργεια του παρασίτου από βιολογικά δείγματα πραγματοποιήθηκε με σκοπό την απομόνωσή του. Η απομόνωση των *Leishmania spp* έγινε σε ασθενείς με συμπτώματα ΔΛ και ΣΛ, μετά από καλλιέργεια του παράσιτου σε ιστό και μυελό των οστών αντίστοιχα. Η καλλιέργεια έγινε, μετά από κατάλληλη επεξεργασία του δείγματος, σε NNN (Novy-MCNeal-Nicolle) καλλιεργητικό υλικό και το υπόλοιπο 1/2 της ποσότητας σε πλαστική αποστειρωμένη φιάλη 25 cm³ (Nunc, Denmark) με υλικό RPMI 1640 το οποίο περιέχει επιπλέον 5% φιλτραρισμένα ούρα (Howard et al., 1991). Οι καλλιέργειες τοποθετήθηκαν σε επωαστικό κλίβανο 26°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) (WHO, 1991) και ελέγχονταν κάθε 2-3 μέρες για ένα μήνα για την ανεύρεση παρασίτων.

PCR: Με τη μέθοδο της PCR (Polymerase Chain Reaction) επιτυγχάνεται ο πολλαπλασιασμός μιας επιλεγμένης αλληλουχίας νουκλεοτιδίων στο DNA του παράσιτου της *Leishmania*. Δημιουργείται η ανάγκη ύπαρξης ενός ή περισσότερων πρωταρχικών κομματιών RNA μήκους 10 νουκλεοτιδίων και άνω, τα οποία συνιστούν τους εναρκτές (primers) της αντιγραφής και πολλαπλασιασμού του παρασιτικού DNA. PCR πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δείγματα ύποπτων ασθενών (αίμα, μυελός των οστών, δερματικός ιστός) μετά από την εκχύλιση του DNA (QIAamp DNA Blood & Tissue Mini Kit, QIAGEN GmbH, Germany) από αυτά. Επελέγησαν τα κατάλληλα γονίδια ως εναρκτές της δοκιμής PCR τα οποία

ευρίσκονται σε όλα τα στελέχη *Leishmania* και επαναλαμβάνονται αρκετές φορές στο γονιδίωμα της. Οι εναρκτές οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν στο μίγμα της αντίδρασης για τον πολυμερισμό του DNA ήταν οι LEIT₂ (5'-CGG CTT CGC ACC ATG CGG TG-3') και LEIB₄ (5'- ACA TCC CTG CCC ACA TAC GC-3') χρησιμοποιώντας QX DNA High Resolution Cartridge και QX Alignment Marker 15 bp / 5 kb. Παράλληλα με τα δείγματα φορτώθηκαν: ένας θετικός μάρτυρας του οποίου η απεικόνιση δηλώνει την επιτυχία της δοκιμής και ένας αρνητικός μάρτυρας του οποίου η μη απεικόνιση δηλώνει την απουσία επιμόλυνσης του τελικού προϊόντος και ψευδώς θετικού αποτελέσματος.

Ταυτοποίηση: Τα στελέχη που απομονώθηκαν, στάληκαν για ταυτοποίηση α) στο εργαστήριο Laboratoire de Parasitologie, Montpellier, France όπου η ταυτοποίηση έγινε με τη δοκιμή της Πολυεστιακής Ισοενζυμικής Ηλεκτροφόρησης (*Multi-Locus Enzyme Electrophoresis*, MLEE) και η οποία αποτελεί την gold standard τεχνική για την ταυτοποίηση και ταξινόμηση των στελεχών *Leishmania*. Η ταυτοποίηση των στελεχών βασίζεται στο ισοενζυμικό προφίλ του στελέχους, το οποίο αποτελείται από 15 διαφορετικά ένζυμα, τα ένζυμα του ζυμοδέματος και β) στο Εργαστήριο Μοριακής Παρασιτολογίας στο Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur, όπου η ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε με την ενίσχυση του γονιδιακού δείκτη K26 (K26 PCR based assay) των παράσιτων, ο οποίος έχει την ικανότητα να διαχωρίζει τα στελέχη του συμπλέγματος *L. donovani* (*L. donovani infantum* από τα *L. donovani donovani*) λόγω του διαφορετικού μεγέθους και της πολυμορφικής αλληλουχίας του ληφθέντος κάθε φορά αμπλικονίου K26 αλλά και να διαχωρίζει τα MON-1 στελέχη από τα άλλα είδη ζυμοδεμάτων.

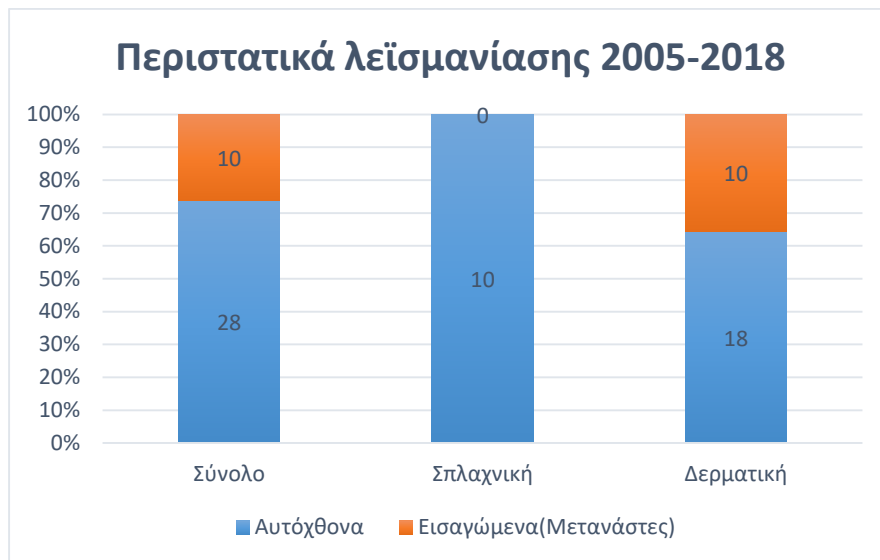
Ο ορισμός των εργαστηριακών παραμέτρων ακολουθά τις φυσιολογικές τιμές με βάση την ηλικία των παιδιών.

Ανάλυση:

Κατα την περίοδο 2005-2018 έχουν καταγραφεί συνολικά 38 περιστατικά λεισμανίασης από τα οποία, 10 περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίασης (26.3%) και 28 περιστατικά δερματικής λεισμανίασης (73,7%). Από τα 38 περιστατικά τα 28 ήταν αυτόχθονα και τα 10

εισαγόμενα(μετανάστες από Συρία). Από τα αυτόχθονα περιστατικά τα 10 αφορούν σπλαχνική λεισμανίαση (35,7%) και τα 18 δερματική (64,3%). Τα 10 εισαγόμενα περιστατικά αφορούν αποκλειστικά δερματική λεισμανίαση.

Γράφημα 1.Περιστατικά λεισμανίασης στην Κύπρο κατά την περίοδο 2005-2018.



Γράφημα 2.Περιστατικά λεισμανίασης ανα έτος.



Τα τελευταία 3 έτη της καταγραφής (2016-2018) παρατηρείται αύξηση του αριθμού των περιστατικών σπλαχνικής λεισμανίασης όπως επίσης και για πρώτη φορά στο νησί

παρατηρούνται εισαγόμενα περιστατικά δερματικής λεισμανίασης, τα οποία σταδιακά αυξάνονται σε αριθμούς.

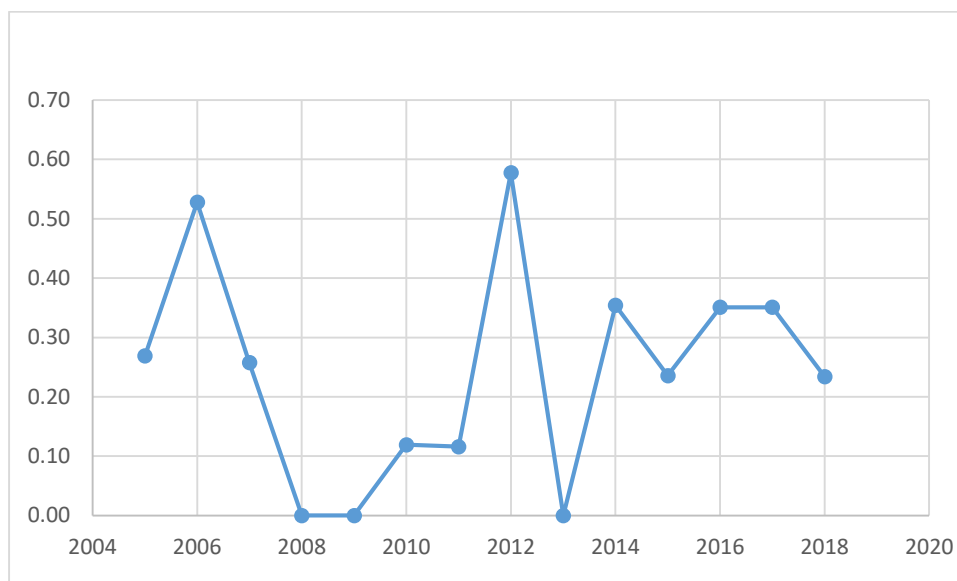
Στον πίνακα 1 αναγράφεται η επίπτωση ανά έτος ανά 100000 πληθυσμού συνολικά για όλα τα αυτόχθονα περιστατικά λεισμανίασης. αλλά και αναλυτικά για τη σπλαχνική και δερματική λεισμανίαση στα αυτόχθονα περιστατικά. Η διάμεση επίπτωση είναι 0.25 περιστατικά λεισμανίασης ανα έτος ανα 100000 πληθυσμού.

Πίνακας 1. Επίπτωση λεισμανίασης ανα έτος.

Έτος	Συνολική επίπτωση	Επίπτωση δερματικής	Επίπτωση σπλαχνικής
		Αυτόχθονες	
2005	0.27	0.27	0.00
2006	0.53	0.26	0.26
2007	0.26	0.13	0.13
2008	0.00	0.00	0.00
2009	0.00	0.00	0.00
2010	0.12	0.12	0.00
2011	0.12	0.00	0.12
2012	0.58	0.58	0.00
2013	0.00	0.00	0.00
2014	0.35	0.35	0.00
2015	0.24	0.24	0.00
2016	0.35	0.12	0.23
2017	0.35	0.12	0.23
2018	0.23	0.00	0.23

Στο γράφημα 3 απεικονίζεται η επίπτωση της λεισμανίασης στην Κύπρο κατά τα έτη 2005-2018. Η επίπτωση αυτή αφορά όλα τα αυτόχθονα περιστατικά.

Γράφημα 3. Συνολική επίπτωση λείσμανιάσης στην Κύπρο 2005-2018.



Στο γράφημα 4 παρουσιάζεται αναλυτικά η επίπτωση στον πληθυσμό της Κύπρου της σπλαχνικής και δερματικής μορφής (αυτόχθονα περιστατικά). Οι δερματικές λεισμανιάσεις που αφορούν μετανάστες καταγράφονται ξεχωριστά. Τα τελευταία 3 έτη της καταγραφής (2016-2018) παρατηρείται αύξηση της επίπτωσης της σπλαχνικής λείσμανιάσης.

Γράφημα 4. Επίπτωση λείσμανιάσης.

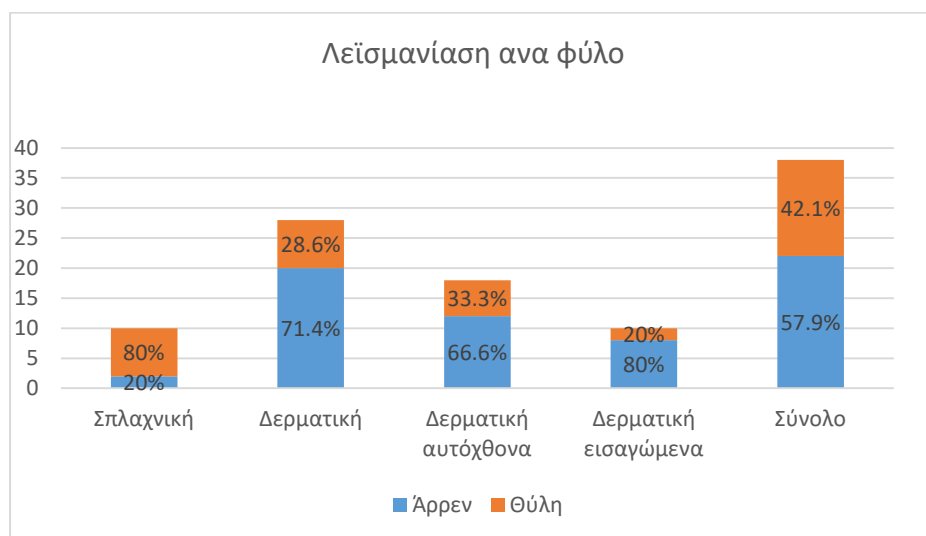


Φύλο

Όσον αφορά το φύλο των περιστατικών με λείσμανιάση, 22 ήταν άρρενες (57.9%) και 16 θήλεις (42.1%). Άνδρες προς γυναίκες 1.4:1. Σπλαχνική λείσμανιάση παρουσίασαν κυρίως

γυναίκες (80%, 8). Αντίθετα δερματική λεισμανίαση παρουσίασαν κυρίως άρρενες (71,4%, 20). Οι άρρενες υπερτερούσαν σε αριθμό τόσο στα αυτόχθονα περιστατικά με δερματική λεισμανίαση (12 άρρενες(66,6%)-6 θήλεις(33,3%)) όσο και στους μετανάστες με δερματική λεισμανίαση(8 άρρενες (80%)-2 θύλεις(20%)).

Γράφημα 5. Λεισμανίαση ανα φύλο.



Χρησιμοποιήθηκε λογαριθμιστική παλινδρόμηση (univariable logistic regression) για να συγκριθεί κατα πόσο το φύλο σχετίζεται με την εμφάνιση σπλαχνικής ή δερματικής λεισμανίασης. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι συγκριτικά με τις γυναίκες, οι άντρες είναι πιο πιθανόν να εμφανίσουν δερματική λεισμανίαση (OR = 10, 95% CI = 1.73-57.72, p-value=0.01)

Πίνακας 2.Λεισμανίαση ανα Φύλο.

	CL	VL	Variable	Odds Ratio	Lower 95% CI	Upper 95% CI	p value
female	8	8	gender				
male	20	2	gendermale	10	1.73	57.72	0.01

Ηλικία

Όσον αφορά την ηλικιακή κατανομή των περιστατικών η διάμεση ηλικία συνολικά ήταν 42 έτη (εύρος 8 μηνών- 73 ετών). Η διάμεση ηλικία για σπλαχνική λεισμανίαση ήταν 4.25 έτη

(εύρος 8 μηνών-73 ετών) και για δερματική λειψμανίαση ήταν 45 ετών (εύρος 11 μηνών -73 ετών). Η διάμεση ηλικία αυτόχθονων περιστατικών με δερματική λειψμανίαση ήταν 53 έτη , όλοι ενήλικες με μόνο ένα παιδί μεταξύ τους. Η διάμεση ηλικία περιστατικών σε μετανάστες με δερματική λειψμανίαση ήταν 6,5 έτη, όλα παιδιά με μόνο ένα ενήλικα μεταξύ τους.

Κατατάσσοντας τα περιστατικά σε ενήλικες (>18ετών) και παιδιά (18<=ετών): Από το σύνολο των 38 περιστατικών το 58% ήταν ενήλικες με ηλικίες από 28 μέχρι 73 ετών και 42% παιδιά με ηλικίες από 8 μηνών μέχρι 12 ετών. Από τα 10 περιστατικά σπλαχνικής λειψμανίαση το 60% ήταν παιδιά και το 40% ενήλικες. Από τα 28 περιστατικά δερματικής λειψμανίασης το 64% ήταν ενήλικες και το 36% παιδιά . Δερματική σε αυτόχθονες παρουσιάστηκε κυρίως σε ενήλικες (94%) και δερματική σε μετανάστες κυρίως σε παιδιά(90%).

Πίνακας 2. Ηλικιακή κατανομή περιστατικών Λειψμανίασης.

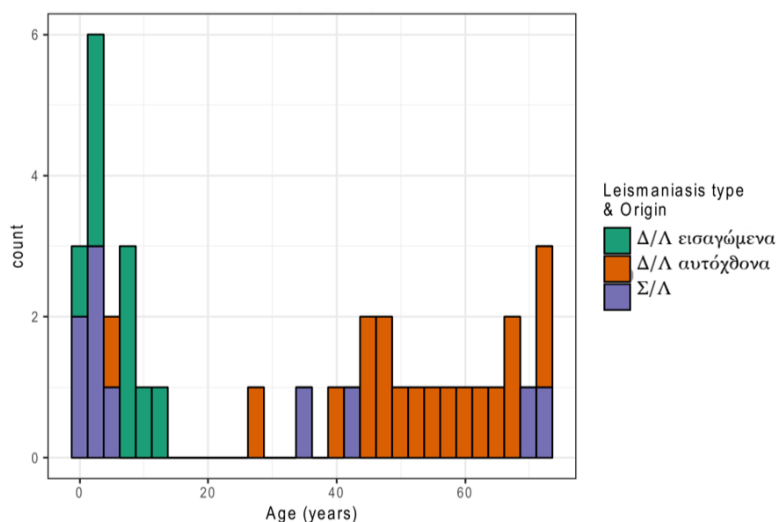
	Διάμεση ηλικία (έτη)	Παιδιά (<18 ετών)	Ενήλικες (>=18 ετών)	Σύνολο
Σύνολο	42	16, (42%)	22, (58%)	38
Σπλαχνική	4,25	6, (60%)	4,(40%)	10
Δερματική	45	10,(36%)	18, (64%)	28
Δερματική αυτόχθονα	54	1,(6%)	17,(94%)	18
Δερματική εισαγόμενα	6.5	9,(90%)	1,(10%)	10

Παρατηρούμε ότι τα παιδιά υπερτερούν στη σπλαχνική μορφή της νόσου (60%) ενώ οι ενήλικες στη δερματική (64%). Ωστόσο η στατιστική ανάλυση με λογαριθμιστική παλινδρόμηση ανέδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ηλικίας του ασθενή και του είδους της λειψμανίασης που ανέπτυξαν.(OR=0.98, 95%, CI=0.95-1.01,

p-value=0.187). Επίσης διαχωρίζοντας την ηλικία σε ενήλικες και παιδιά, και πάλι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (OR=0,39 , 95% CI 0,09-1,73, p value=0,217)

Η συνολική διάμεση ηλικία των περιστατικών είναι 42 έτη ενώ η διάμεση ηλικία των περιστατικών με σπλαχνική λεισμανίαση είναι 4,25 ετών.

Γράφημα 6. Ηλικιακή κατανομή περιστατικών λεισμανίασης ανα μορφή νόσου.



Γεωγραφική κατανομή

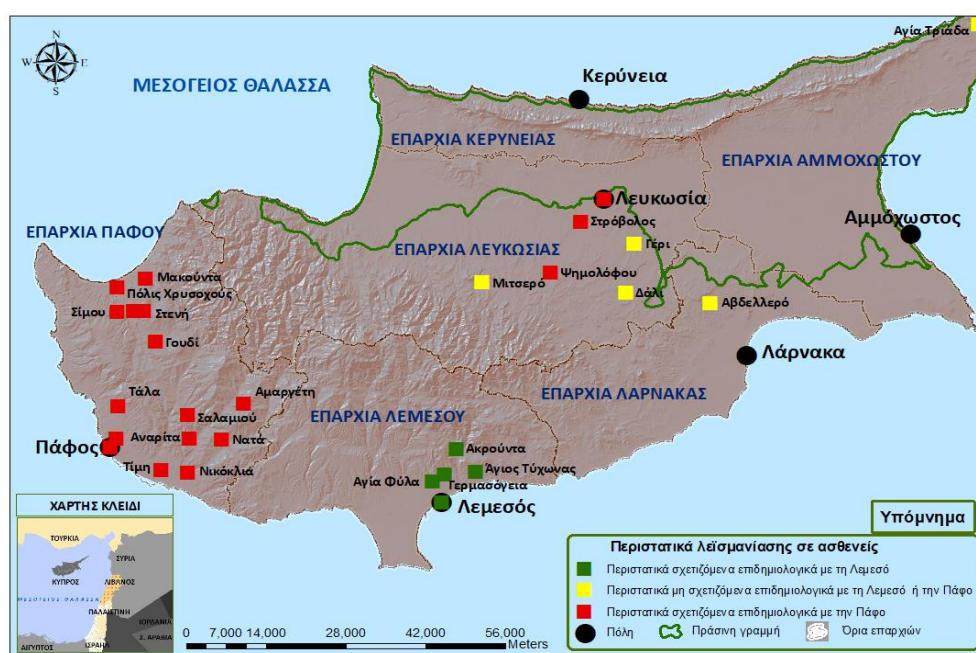
Η κατανομή των αυτόχθονων περιστατικών σπλαχνικής και δερματικής λεισμανίασης αναγράφεται στον πίνακα και αποτυπώνεται στο χάρτη του νησιού

Πίνακας 3. Γεωγραφική κατανομή αυτόχθονων περιστατικών λεισμανίασης

Επαρχία	ΣΛ	ΔΛ	ΣΥΝΟΛΟ (%)
ΠΑΦΟΣ	3	12	15, (53,6%)
ΛΕΥΚΩΣΙΑ	2	4	6, (21,4%)
ΛΕΜΕΣΟΣ	4	1	5, (17,9%)
ΑΜΜΟΧΩΣΤΟΣ	0	1	1, (3,6%)
ΛΑΡΝΑΚΑ	1	0	1, (3,6%)
Σύνολο	10	18	28

Η μεγαλύτερη συγκέντρωση περιστατικών ήταν στην επαρχία Πάφου(53%). Τα περισσότερα από τα περιστατικά της Πάφου αφορούσαν δερματική λείσμανίαση (80%) . Λιγότερα περιστατικά παρατηρήθηκαν στις επαρχίες Λευκωσίας (21,4%) και Λεμεσού(17,9%) ενώ από 1 περιστατικό καταγράφηκε στις επαρχίες Λάρνακας και Αμμοχώστου. Τα 3/6 περιστατικά που καταγράφηκαν στην επαρχία Λευκωσίας είχαν επιδημιολογική συσχέτιση με επαρχία Πάφου (π.χ. διακοπές στην Πάφο, ιδιόκτητο εξοχικό στην Πάφο) και αφορούσαν δερματική λείσμανίαση.

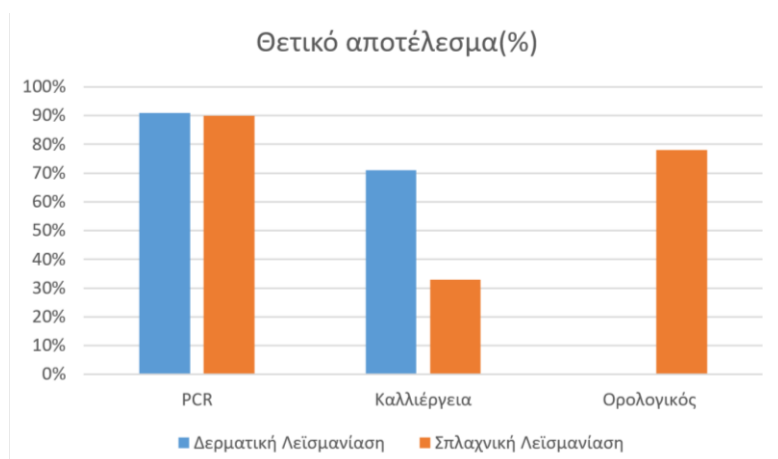
Χάρτης 1. Γεωγραφική κατανομή αυτόχθονων περιστατικών λείσμανίας



Διαγνωστικές μέθοδοι

Οι διαγνωστικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη διάγνωση της λείσμανίας ήταν ορολογικές(IFA/ELISA), μοριακή ανάλυση(PCR), και καλλιέργεια σε υλικό από ιστό και μυελό των οστών. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 4. Η PCR παρουσίασε το υψηλότερο ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων (91%) τόσο συνολικά, όσο και επιμέρους με 91% θετικό αποτέλεσμα στις περιπτώσεις δερματικής λείσμανίας και 90% στις περιπτώσεις σπλαχνικής λείσμανίας. Η καλλιέργεια ήταν δεύτερη με 61% θετικό αποτέλεσμα και οι ορολογικές μέθοδοι ακολουθούν με 44% θετικό αποτέλεσμα. Οι ορολογικές μέθοδοι ήταν θετικές μόνο στη σπλαχνική μορφή της νόσου σε ποσοστό 78%.

Γράφημα 7. Διαγνωστικές Μέθοδοι. Θετικό αποτέλεσμα (%).



Πίνακας 4. Διαγνωστικές Μέθοδοι.

Διαγνωστική μέθοδος	Δερματική Αριθμός δειγμάτων	Θετικό αποτέλεσμα: αριθμός(%)	Σπλαχνική Αριθμός δειγμάτων	Θετικό αποτέλεσμα (%)	Συνολικά (ΣΛ+ΔΛ) Θετικό αποτέλεσμα (%)
PCR	23	21, (91%)	10	9, (90%)	30, (91%)
Καλλιέργεια	24	17, (71%)	9	3, (33%)	20, (61%)
Ορολογικός	7	0, (0%)	9	7, (78%)	7, (44%)

Από το σύνολο των 38 περιστατικών στα 19 από αυτά έγινε περαιτέρω ταυτοποίηση του στελέχους της λεισμανίας. Από τα 10 περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίας έγινε ταυτοποίηση στα 4. Σε όλα ταυτοποιήθηκε *L. donovani* MON 37. Από τα 18 αυτόχθονα περιστατικά με δερματική λεισμανίαση έγινε ταυτοποίηση στα 12. Σε όλα ταυτοποιήθηκε *L. donovani* MON 37. Από το σύνολο των 10 περιστατικών σε μετανάστες με δερματική λεισμανίαση ταυτοποιήθηκε το στέλεχος σε 3 από αυτά και πρόκειται για *L. tropica*.

Πίνακας 5. Ταυτοποίηση Στελέχους Λεισμάνιας.

Λεισμανίαση	Σύνολο	Ταυτοποίηση	Αποτέλεσμα
Σπλαχνική	10	4	4 <i>L. donovani</i> MON-37
Δερματική αυτόχθονα	18	12	12 <i>L. donovani</i> MON-37
Δερματική μετανάστες	10	3	3 <i>L. tropica</i>

Ο διάμεσος χρόνος που μεσολάβησε από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση για τη σπλαχνική λεισμανίαση ήταν 38 ημέρες σε αντίθεση με τον αντίστοιχο χρόνο μέχρι τη διάγνωση για τη δερματική λεισμανίαση που ήταν 205 ημέρες στις αυτόχθονες δερματικές λεισμανιάσεις, 165 ημέρες στις δερματικές λεισμανιάσεις σε μετανάστες και 180 ημέρες σε όλες τις δερματικές λεισμανιάσεις.

Όσον αφορά την έκβαση και τα 28 περιστατικά δερματικής λεισμανίασης ιάθηκαν, ενώ από τα 10 περιστατικά με σπλαχνική λεισμανίαση ένα παρουσίασε υποτροπή με καλή έκβαση και ένα κατέληξε.

Περιστατικά Λεισμανίασης σε μετανάστες.

Από το 2016 και έπειτα παρουσιάστηκαν συνολικά 10 περιστατικά δερματικής Λεισμανίασης σε πρόσφυγες από τη Συρία. Σε 3 από αυτά έγινε ταυτοποίηση του στελέχους της Λεισμάνιας και σε όλα ταυτοποιήθηκε η *L.tropica*.

Τα περιστατικά αφορούσαν 1 ενήλικα και 9 παιδιά. Για τον ενήλικα δεν έχουν ανευρεθεί στοιχεία. Όσον αφορά τα παιδιά όλα ήταν πρόσφυγες από Συρία οι οποίοι έφτασαν στην Κύπρο μέσω Τουρκίας. Τα παιδιά αφορούσαν 5 συγκεκριμένες οικογένειες. Οι ηλικίες τους κυμαίνονται από 11 μηνών έως 12 ετών με διάμεση ηλικία τα 6,5 έτη. Οι δερματικές βλάβες εμφανίστηκαν πριν την είσοδο στην Κύπρο σε ποσοστό 28.6% και μετά την είσοδο

σε ποσοστό 71.4% . Ο διάμεσος χρόνος εμφάνισης βλαβών μετά την είσοδο στο νησί ήταν 1 μήνας με μέγιστο χρόνο εμφάνισης 5 μήνες από την είσοδο.

Όλοι παρουσίασαν δερματικές βλάβες χωρίς κάποιο άλλο σύμπτωμα. Ο αριθμός των βλαβών ανα ασθενή κυμαίνονταν από 1 μέχρι 6 με μέσο όρο 1.8 .Οι βλάβες εντοπίζονταν στις εκτιθέμενες επιφάνειες του σώματος με κύρια εντόπιση το πρόσωπο (53%) και τα άνω άκρα (40%). Το υπόλοιπο 7% αφορούσε τα κάτω άκρα. 1 παιδί παρουσίασε βακτηριακή επιλοίμωξη από MRSA.

ΣΠΛΑΧΝΙΚΗ ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ

Από τα 7 παιδιά με αυτόχθονη νόσο τα 6 παρουσίασαν σπλαχνική λεισμανίαση. Η διάμεση ηλικία των παιδιών ήταν 19,5 μηνών με εύρος 8 μηνών με 5 ετών.

Συμπτώματα και κλινικά σημεία κατά την εισαγωγή

Τα συμπτώματα και κλινικά σημεία κατά την εισαγωγή εμφανίζονται στον πίνακα 6. Κατά την εισαγωγή όλα τα παιδιά παρουσίαζαν πυρετό(100%), εκ των οποίων 5 $>39^{\circ}\text{C}$ (ποσοστό 83.3%). Διάμεση διάρκεια του πυρετού πριν την διάγνωση 28.5 ημέρες, (εύρος 5-71 ημέρες). Συνοδά παρουσίασαν κακουχία και ανορεξία 33% , εμετούς διάρροιες και κοιλιακό άλγος 16.6% , εξάνθημα 16%.

Κατά την κλινική εξέταση όλοι οι νοσούντες παρουσίασαν σπληνομεγαλία. Στο υπερηχογράφημα κοιλίας διαπιστώθηκε σπληνομεγαλία με διάμεση διάμετρο σπληνός 10,5cm (εύρος 9.5-10.2 cm). Πολύ συχνά ευρήματα ήταν ηπατομεγαλία 83.3% ενώ λεμφαδενοπάθεια συνυπήρχε στο 16.5%.

Πίνακας 6. Συμπτώματα και κλινικά σημεία παιδιών με σπλαχνική λεισμανίαση κατά την εισαγωγή.

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ(%)
Πυρετός $>38^{\circ}\text{C}$	6 (100%)

Κακουχία	2 (33%)
Ανορεξία	2(33%)
Εμετοί	1 (16.6%)
Διάρροιες	1(16.6%)
Κοιλιακό άλγος	1(16.6%)
Εξάνθημα	1(16.6%)
ΣΗΜΕΙΑ	
Σπληνομεγαλία	6 (100%)
Ηπατομεγαλία	5 (83.3%)
Λεμφαδενοπάθεια	1(16.6%)

Εργαστηριακά ευρήματα

Στον εργαστηριακό έλεγχο κατά τη νοσηλεία τα κύρια ευρήματα αφορούσαν σε αναιμία(100%), λευκοπενία (83%) και θρομβοπενία(66%) ενώ στη βιοχημεία αίματος αυξημένες τρανσαμινάσες (100%), αυξημένοι δείκτες φλεγμονής(CRP,ESR: 100%), υπερτριγλυκεριδαιμία (83%) και υπαλβουμιναιμία(66.6%) (Πίνακας 7)

Όλοι λοιπόν οι ασθενείς παρουσίασαν αναιμία κατά τη νοσηλεία,η οποία ήταν έκδηλη από την εισαγωγή με διάμεση τιμή αιμοσφαιρίνης κατά την εισαγωγή 7.75 g/dl.(Πίνακας 8) Στη συνέχεια της νοσηλείας η αιμοσφαιρίνη έφτασε στην διάμεση ελάχιστη τιμή 6,75 g/dl (Πίνακας 9). Πέντε παιδιά χρειάστηκε να μεταγγιστούν με συμπυκνωμένα ερυθρά (83.3%) ενώ ένα από αυτά χρειάστηκε να μεταγγιστεί 4 φορές.

Η λευκοπενία και η ουδετεροπενία ήταν ένα ακόμη συχνό εύρημα σε ποσοστό 83% με διάμεση ελάχιστη τιμή των λευκών αιμοσφαιρίων 3520/κκχ και των ουδετεροφίλων 1020/κκχ. Θρομβοπενία εμφάνισε το 66.6% με διάμεση ελάχιστη τιμή 84,000 αιμοπετάλια κκχ. Οι χαμηλότερες τιμές και των τριών σειρών του μυελού κατά την νοσοκομειακή τους νοσηλεία έχουν διάμεση ημέρα εμφάνισης εντός της 3^η εβδομάδας νόσου.

Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε σε όλους τους ασθενείς αύξηση των δεικτών φλεγμονής crp, esr και φερριτίνης. Η Φερριτίνη μάλιστα είχε μια εξαιρετικά υψηλή διάμεση μέγιστη τιμή 5152 pmol/L με εύρος 992-18570 pmol/L. Άλλα σημαντικά ευρήματα ήταν η αύξηση των τρανσαμινασών στο 100% των περιπτώσεων με διάμεση τιμή κατά την εισαγωγή AST 147 U/L και ALT 126 U/L. Η διάμεση μέγιστη τιμή κατά τη νοσηλεία ήταν για την AST 232 U/L και για την ALT 128 U/L.. Τέλος παρατηρήθηκε κατά τη νοσηλεία στο 83.3% υπερτριγλυκεριδαιμία με διάμεση μέγιστη τιμή το 525 και ήπια υπολευκωματιναιμία στο 66.6% (διάμεση ελάχιστη τιμή 2,85).

Πίνακας 7. Εργαστηριακά ευρήματα κατα τη νοσηλεία παιδιών με σπλαχνική λείσμανίαση

Εργαστηριακά ευρήματα κατα τη νοσηλεία	Αριθμός ασθενών (ποσοστό)
Αναιμία	6 (100%)
Λευκοπενία	5 (83.3%)
Ουδετεροπενία	5 (83.3%)
Θρομβοπενία	4 (66.6%)
Αυξημένοι δείκτες φλεγμονής(crp/esr)	6 (100%)
Αυξημένες τρανσαμινάσες	6 (100%)
Αυξημένα τριγλυκερίδια	5 (83.3%)
Υπαλβουμιναιμία	4 (66.6%)

Πίνακας 8. Εργαστηριακά ευρήματα κατά την εισαγωγή παιδιών με σπλαχνική λείσμανίαση.

Εργαστηριακά ευρήματα κατά την εισαγωγή	Διάμεση τιμή (εύρος)
Αιμοσφαιρίνη (g/dl)	7.75 (6.6-9.2)
Λευκοκύτταρα /κκχ	4.55 (3.77-12.6)
Ουδετερόφιλα(Απόλυτος αριθμός)	1470 (710-8500)

Αιμοπετάλλια/κκχ	119500	(60000-529000)
C αντιδρώσα πρωτεΐνη mg/dL	15	(6-99)
Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών mm/lh	50	(41-74)
Φερριτίνη pmol/L	884	(350-9473)
TG mg/dL	224.5	(151-1002)
AST U/L	147	(61-1000)
ALT U/L	126	(39-580)
LDH units/L	2183	(505-8941)
Αλβουμίνες g/dL	3.3	(2.7-3.5)
IGG mg/dL	2391	(880-2841)

Πίνακας 9. Ακραίες τιμές εργαστηριακών ευρημάτων κατά τη νοσηλεία παιδιών με σπλαχνική λεϊσμανίαση

Ακραίες τιμές εργαστηριακών	Διάμεση τιμή (εύρος)	Διάμεση ημέρα νόσου
Hbmin	6.75 (6.1-8.9)	17
Wbc max	9.4 (4-19.58)	34
Wbc min	3.52 (1.7-6.38)	16.5
ANC min	1.02 (0.24-1.59)	18
PLTs min	84000 (49000-156000)	17
AST	232 (71-1001)	23.5
ALT	128 (43-550)	23
FERRITINmax pmol/L	5152 (992-18570)	25
ALBUMINmin	2.85 (2.3-3.1)	25.5
TGmax	525 (157-1708)	45

Διαγνωστικές μεθοδοι

Οι διαγνωστικές μεθόδους που εφαρμόστηκαν για τη διερεύνηση πιθανής λείσμανιάσης ήταν ορολογικός έλεγχος, βιοψία μυελού των οστών, καλλιέργεια μυελού και PCR. Σε όλα τα παιδιά η PCR ήταν θετική (100%), ο ορολογικός έλεγχος (IFA/ELISA) ήταν θετικός στο 80% των περιστατικών (4 από τα 5 δείγματα- σε ένα περιστατικό δεν υπάρχουν στοιχεία) ενώ η καλλιέργεια ήταν θετική στα 2/5 περιστατικά (40%)

Πίνακας 10. Διαγνωστικές μεθόδους στα παιδιά με σπλαχνική λείσμανιάση.

Διαγνωστική μέθοδος	Ασθενής	Θετικό αποτέλεσμα (%)
PCR	6	6 (100%)
Καλλιέργεια	5	2 (40%)
Ορολογικός	5	5 (80%)

Παράλληλα ανευρέθηκε σε δύο παιδιά συλλοίμωση με EBV(33%) επιβεβαιωμένο με PCR και σε ένα άλλο παιδί συλλοίμωση με *Mycoplasma pneumoniae*(16,6%) επιβεβαιωμένο με αυξημένη IGM .

Όλα τα παιδιά με σπλαχνική λείσμανιάση έλαβαν αγωγή με λιποσωμακή αμφοτερικίνη β. Η διάμεση ημέρα απυρεξίας μετά την έναρξη θεραπείας ήταν 3 ημέρες. Σε όλα υπήρξε πλήρης ίαση. Σε ένα παιδί είχαμε υποτροπή και χρειάστηκε να ξαναπάρει δεύτερο σχήμα αγωγής με αμφοτερικίνη β.

ΣΠΛΑΧΝΙΚΗ ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗ ΚΑΙ ΑΙΜΟΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ

ΣΥΝΔΡΟΜΟ(HLH)

Το 66% των παιδιών με σπλαχνική λείσμανιάση (4 από τα 6 περιστατικά) παρουσίασαν ως επιπλοκή της νόσου αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο αφού πληρούσαν τουλάχιστον 5 από τα 8 κριτήρια για HLH όπως έχουν καθοριστεί από τη μελέτη HLH-2004 . (36). Στον πίνακα

10 καταγράφονται τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα, που αποτελούν κριτήρια διάγνωσης HLH, των παιδιών με σπλαχνική λειψμανίαση.

Πίνακας 11. Κριτήρια HLH στα παιδιά με σπλαχνική λειψμανίαση.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ HLH	ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ HLH				ΠΑΙΔΙΑ ΧΩΡΙΣ HLH		P value
	1	2	3	4	5	6	
1.Πυρετό ≥ 38.5	+	+	+	+	+	+	n/a
2.Σπληνομεγαλία	+	+	+	+	+	+	n/a
3.Κυτταροπενία σε 2 σειρες:	+	+	-	+	+	+	0.667
α. Αιμοσφαιρίνη < 9 g/dl	+	+	+	+	+	+	n/a
β. Αιμοπετάλια $< 100000/Ml$	+	+	-	+	+	-	0.573
γ. ANC $< 1000/Ml$	-	+	-	-	+	+	0.131
4. Ένα από τα εξής:	+	+	+	+	+	-	0.273
α.Τριγλυκερίδια > 265 mg/dl	+	+	+	+	+	-	0.208
β. Ινωδογόνο < 150 mg/dl	N/A	+	-	-	-	-	0.538
5. Φερριτίνη > 500 ng/Ml	+	+	+	+	N/A	+	n/a
6.Αιμοφαγοκυττάρωση bm	-	+	+	+	-	-	0.131
7.Αυξημένο soluble cd25(υποδοχέας IL2)	N/A	-	N/A	N/A	N/A	N/A	n/a
Αριθμός πληρουμένων κριτηρίων.	5	6	5	6	4	4	

Από τα παιδιά με HLH 3 πληρούσαν τα κριτήρια του πυρετού, σπληνομεγαλίας,κυτοπενίας στη περιφέρεια,αυξημένης φερριτίνης και τριγλυκεριδίων, ενώ 2 από αυτά πληρούσαν και 6^ο κριτήριο, την αιμοφαγοκύτωση στο νωτιαίο μυελό. Το 4^ο παιδί με HLH πληρούσε τα κριτήρια του πυρετού,σπληνομεγαλίας, αυξημένης φερριτίνης, αυξημένων τριγλυκεριδίων και αιμοφαγοκυττάρωσης στο νωτιαίο μυελό.

Τα 2 παιδιά χωρίς HLH πληρούσαν 4 κριτήρια.Πυρετός, σπληνομεγαλία και κυταροπενία παρατηρήθηκε και στα 2 παιδιά.Επιπρόσθετα το ένα παρουσίασε υπερτρυγλικεριναιμία ενώ το άλλο παρουσίασε υψηλή φερριτίνη.

Εγινε στατιστική ανάλυση με λογαριθμιστική παλινδρόμηση και διερευνήθηκε κατά πόσο υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση για κάθε κριτήριο και την εμφάνιση αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου σε παιδιά με σπλαχνική λειψμανίαση. Όπως φαίνεται στον πίνακα ΙΙ σε κανένα κριτήριο δεν ανευρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

Σε δύο παιδιά με HLH υπήρχαν συλλοιμώξεις. Στο ένα υπήρχε συλλοίμωξη από EBV (+PCR) και στο άλλο συλλοίμωξη με μυκόπλασμα πνευμονίας(+IGM).

Από τα 4 περιστατικά σπλαχνικής λειψμανίασης με HLH έγινε γενετικός έλεγχος στα 3. Τα 2 ήταν αρνητικά ενώ στο 1 ανευρέθηκε ετεροζυγωτία για τη μετάλλαξη c.1039T>C p.F347L (NM_199242.2) στο γονίδιο UNC13D.

Πίνακας 12. Ακραίες τιμές εργαστηριακών ευρημάτων κατα τη νοσηλεία παιδιών με σπλαχνική λειψμανίαση που παρουσίασαν HLH συγκριτικά με αυτά που δεν παρουσίασαν HLH.

	HLH	NON HLH
Ακραίες τιμές εργαστηριακών κατα τη νοσηλεία	Διάμεση τιμή	Διάμεση τιμή
Hbmin	7.15	6.6
Wbc max	15315	7580

Wbc min	4504	2635
ANC min	1175	560
PLTs min	84000	115000
FERRITINmax pmol/L	5372	992
TGmax	549.)	157
Fibrinogen(g/l)	174	246

Συγκρίθηκαν οι μέσες τιμές των ακραίων τιμών των εργαστηριακών ευρημάτων κατά τη νοσηλεία των παιδιών με hlh και χωρίς hlh με τη μέθοδο ‘Mann-Whitney’, χωρίς να ανευρεθεί στατιστικά σημαντική διαφορά.

Συζήτηση:

Πρόκειται για την πρώτη μελέτη που καταγράφει αναδρομικά όλα τα περιστατικά λείσμανιάσης στην Κύπρο τα τελευταία 14 χρόνια, μετά την επανεμφάνιση της νόσου στο νησί. Το κύριο στέλεχος που προκαλεί περιστατικά είναι η ανθρωπονοτική *L. donovani*-*MON37*, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες μεσογειακές χώρες όπου επικρατεί η ζωνοτική *L. infantum*. Η μελέτη της επιδημιολογίας του παρασίτου δείχνει πιθανή επέκταση της *L. donovani* προς νεες εστίες ενώ έχει περιγραφεί και η εισαγωγή νέου στελέχους λείσμανιάς, της *L. tropica* από Σύριους πρόσφυγες. Σημαντικό ποσοστό της σπλαχνικής λείσμανιάσης συμβαίνει σε παιδιά (6/10), με το αιμοφαγοκυταρικό σύνδρομο να αποτελεί μια σημαντικής συχνότητας επιπλοκή.

Περιορισμοί της μελέτης αποτελούν το μικρό δείγμα ασθενών με λείσμανιάση καθώς και η αδυναμία εύρεσης ατομικών φακέλων ενηλίκων ασθενών και άρα πιο αναλυτικών στοιχείων σχετικά με την νοσηλεία τους, σε αντίθεση με τα παιδιατρικά περιστατικά.

Στην Κύπρο η λείσμανιάση στους ανθρώπους αν και σπάνια νόσος, αποτελεί ένα πιθανό πρόβλημα για την δημόσια υγεία καθώς τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση των κρουσμάτων, τόσο της σπλαχνικής όσο και της δερματικής μορφής της νόσου. Ενώ από το 1953 αναφέρθηκαν μόνο δύο περιστατικά σε ανθρώπους (δύο παιδικές σπλαχνικές λείσμανιάσεις), κατά την περίοδο 2005-2006 παρατηρήθηκαν αυξημένα κρούσματα της

νόσου με έξι νέες περιπτώσεις ανθρωπίνης σπλαχνικής και δερματικής λεισμανίασης.(17) Συνολικά από το 2005 μέχρι και το τέλος του 2018 έχουν καταγραφεί 38 περιστατικά, εκ των οποίων τα 28 ήταν αυτόχθονα περιστατικά ενώ τα 10 μετανάστες από τη Συρία.

Σε όλα τα αυτόχθονα περιστατικά ταυτοποιήθηκε το ίδιο στέλεχος λεισμανίας, η *L. donovani*-MON 37, η οποία προκαλεί ανθρωπονοτική νόσο, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες χώρες της Νότιας Ευρώπης στις οποίες επικρατεί το στέλεχος *L. infantum* το οποίο προκαλεί ζωνοτική νόσο. Επιβεβαιώνεται λοιπόν με την παρούσα μελέτη το 'παράδοξο της Κύπρου', η ύπαρξη δηλαδή δύο κύκλων λεισμανίας στο νησί, ένας σε ανθρώπους από την ανθρωπονοτική *L. donovani* και ένας σε σκύλους από την *L. infantum*.(17) Αυτό οδηγεί στα εξής δύο ερωτήματα: Γιατί δεν υπάρχουν περιστατικά *L. infantum* στον άνθρωπο στην Κύπρο; Αν και υπάρχουν υποθέσεις σχετικά με τις πιθανές γενετικές διαφορές του ανοσοποιητικού συστήματος του τοπικού πληθυσμού, δεν υπάρχουν ακόμα οριστικές απαντήσεις. Το δεύτερο ερώτημα είναι ποιά είναι η προέλευση του *L. donovani*. Πρόσφατα έχουν αναφερθεί για πρώτη φορά περιπτώσεις δερματικής λεισμανίασης από *L. donovani* στη Συρία (ενώ στο παρελθόν είχαν απομονωθεί μόνο σε φλεβοτόμους(24), στο Ιράκ, στο Ισραήλ, και στη Τουρκία. (18-20) Στη Τουρκία έχουν αναφερθεί αρκετές αυτόχθονες περιπτώσεις δερματικής λεισμανίασης από *L. donovani* στη νοτιοανατολική Ανατολία, η οποία γειτονεύει με τη Συρία (18). Επιπρόσδετα σε μοριακή ανάλυση με K26-PCR και MLMT (multilocus microsatellite typing) των στελεχών *L. donovani* που απομονώθηκαν στη Τουρκία αναδείχτηκε στενή συγγένεια με τα στελέχη *L. donovani* που απομονώθηκαν στην Κύπρο και μάλιστα κατατάχθηκαν σε μια γενετικά διακριτή μονοφυλετική ομάδα. (25) Σε συνδυασμό με τη στενή επικοινωνία μεταξύ Τουρκίας και κατεχόμενης περιοχής της Κύπρου ισχυροποιείται το σενάριο το στέλεχος αυτό να εισήχθηκε στην Κύπρο από τη Τουρκία.

Στελέχη φλεβοτόμων που μπορούν να μεταδώσουν την *L. donovani* όπως το *P. tobbi*, *P. galilaeus* και το *P. alexandri* έχουν εντοπιστεί στην Κύπρο από διάφορους μελετητές από το 1946 μέχρι και το 2006(17,26,27). Τέτοια στελέχη φλεβοτόμων έχουν εντοπιστεί σε αφθονία ειδικά στην επαρχία Πάφου και σε μικρότερο βαθμό στο δυτικό μέρος της

επαρχίας Λεμεσού. Οι φλεβοτόμοι αυτοί έχουν μικρή εμβέλεια πτήσης γιαυτό και η μετάδοση είναι κυρίως τοπική.

Αυτό φαίνεται να επιβεβαιώνεται και από τη γεωγραφική κατανομή των αυτόχθονων περιστατικών, τα περισσότερα από τα οποία είχαν επιδημιολογική συσχέτιση με την επαρχία Πάφου. Μέχρι και το 2015 το ποσοστό των περιστατικών που διέμεναν στην επαρχία Πάφου (10 περιστατικά) ή είχαν επιδημιολογική συσχέτιση με την επαρχία Πάφου (3 περιστατικά στη Λευκωσία) ήταν ιδιαίτερα υψηλό (72.2%). Μετά το 2016 είχαμε την εμφάνιση νέων εστιών με τρία περιστατικά σε χωριά της επαρχίας Λευκωσίας χωρίς επιδημιολογική συσχέτιση με την επαρχία Πάφου. Αυτό δείχνει πιθανή επέκταση των εστιών μετάδοσης του παρασίτου, κάτι το οποίο πιθανόν να σχετίζεται με επέκταση των στελεχών φλεβοτόμων που μπορούν να μεταδώσουν την *L. donovani* και προς νέες περιοχές.

Ο διάμεσος χρόνος που μεσολαβεί από την εμφάνιση των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση και θεραπεία για τη δερματική Λεϊσμανίαση είναι σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με τη σπλαχνική λεϊσμανίαση (180 έναντι 38 ημέρες). Ο αυξημένος χρόνος μεταδοτικότητας στους ασθενείς με δερματική λεϊσμανίαση καθώς και η εντόπιση των δερματικών βλαβών οι οποίες όπως φαίνεται εντοπίζονται σε εκτεθημένες περιοχές του σώματος των ασθενών αυξάνουν τον κίνδυνο μετάδοσης της νόσου. Επομένως συμπεραίνουμε ότι η δερματική λεϊσμανίαση αποτελεί ένα κύριο παράγοντα κινδύνου για τη μετάδοση της νόσου, σημαντικότερο από τη σπλαχνική μορφή της νόσου. Έχοντας ως δεδομένο ότι χωρίς θεραπεία ένας ασθενής με δερματική λεϊσμανίαση σε εκτιθέμενη επιφάνεια του σώματος του αποτελεί κύρια εστία μετάδοσης της νόσου οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι μεγάλη σημασία στο περιορισμό της εξάπλωσης της νόσου έχει η έγκαιρη αναγνώριση και θεραπεία της δερματικής μορφής της νόσου. Άρα κρίνεται αναγκαία η ενημέρωση και ευαισθητοποίηση των γιατρών και ειδικά των δερματολόγων, οι οποίοι έρχονται συχνότερα σε επαφή με ασθενείς με δερματικές βλάβες, σχετικά με τη λεϊσμανίαση.

Κατά τη διερεύνηση κατά πόσο υπάρχει συσχέτιση μεταξύ φύλου και μορφής νοσου αναδείχθηκε ότι οι άνδρες είναι πιο πιθανόν να εμφανίσουν δερματική λεϊσμανίαση. (OR = 10, 95% CI = 1.73-57.72, p-value=0.01). Αυτό έρχεται σε συμφωνία με αρκετές

βιβλιογραφικές αναφορές (50,51). Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί σε κοινωνικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα στην υπόθεση ότι οι άρρενες περνούν περισσότερο χρόνο σε υπαίθριες ασχολίες και έχουν μεγαλύτερη επιφάνεια του σώματος εκτεθειμένη και άρα μεγαλύτερη πιθανότητα να τσιμπηθούν από το φλεβοτόμο. Φαίνεται όμως ότι η απάντηση είναι πιο σύνθετη, αφού πέρα από τους κοινωνικούς και επιδημιολογικούς παράγοντες πιθανότατα υπάρχει και βιολογική προδιάθεση αφού έχουν ανευρεθεί φυλοεξαρτώμενες διαφορές στην ανοσολογική απάντηση του ξενιστή στη λεισμανίαση(28-30).

Όσον αφορά τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την εργαστηριακή διάγνωση λεισμανίασης, παρόλο που η παρασιτολογική απομόνωση της λεισμάνιας, είτε μικροσκοπικά είτε σε καλλιέργεια, θεωρείται ακόμα η κλασσική μέθοδος για διάγνωση λόγω της υψηλής ειδικότητας της (31), ωστόσο παρουσιάζει χαμηλή ευαισθησία, ανάλογα και με το είδος του δείγματος που εξετάζεται.(32).Η PCR φαίνεται να αποτελεί την πιο ευαίσθητη μέθοδο για διάγνωση λεισμανίασης κάτι που έρχεται σε συμφωνία και με άλλες σειρές (32,33). Στα δικά μας περιστατικά η PCR έδωσε την διάγνωση στα περισσότερα από αυτά ακόμα και σε περιπτώσεις που η καλλιέργεια ήταν αρνητική. Σημαντική είναι και η συμβολή της IFA / ELISA στα περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίασης αφού φαίνεται ότι στα περιστατικά δερματικής μορφής της νόσου δεν εκκλύεται ανοσολογική απάντηση του οργανισμού.

Σε όλα τα περιστατικά χορηγήθηκε λιποσωμική αμφοτερικίνη β. Στα $\frac{3}{4}$ περιστατικά αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου χρειάστηκε επιπλέον θεραπεία με δεξαμεταζόνη. Όλα είχαν καλή έκβαση. Ένα από τα περιστατικά παρουσίασε υποτροπή της λεισμανίασης και έλαβε δεύτερο σχήμα με λιποσωμιακή αμφοτερικίνη β με καλά θεραπευτικά αποτελέσματα.

Η διάμεση ηλικία για σπλαχνική λεισμανίαση στον πληθυσμό της Κύπρου ήταν 4.25 έτη (εύρος 8 μηνών με 73 ετών). Αν και δεν ανευρέθηκε στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ της ηλικίας του ασθενή και του είδους της λεισμανίασης που ανέπτυξαν, ωστόσο το 60% των περιπτώσεων ήταν παιδιά κάτω των 5 ετών. Το εύρημα αυτό συμφωνά με την διεθνή βιβλιογραφία η οποία θεωρεί την σπλαχνική λεισμανίαση ως νόσο που εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά (34-36).

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της σπλαχνικής λεισμανίασης στα παιδιά ήταν πυρετός (100%) σπληνομεγαλία (100%) και ηπατομεγαλία (83.3%) , ευρήματα που συμβαδίζουν και με άλλες μελέτες (26,24,). Άλλα συχνά ευρήματα ήταν η ανορεξία(33%) και η κακουχία (33%). Στον εργαστηριακό έλεγχο κατα τη νοσηλεία τα κύρια ευρήματα ήταν αναιμία(100%) λευκοπενία (83%) και θρομβοπενία(66%) ενώ στη βιοχημεία αίματος αυξημένοι δείκτες φλεγμονής(100%) αυξημένες τρανσαμινάσες(100%) και υπερτριγλυκεριδαιμία (83%).

Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο(Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)) είναι ένα επιθετικό, απειλητικό για τη ζωή σύνδρομο. Χαρακτηρίζεται από υπερ-ενεργοποίηση και δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Παρατηρείται αυξημένη ενεργοποίηση των μακροφάγων τα οποία εκκρίνουν αυξημένες ποσότητες κυτοκινών . Παράλληλα τα κυταροτοξικά T λεμφοκύτταρα και οι φυσικοί φόνεις (NK) αδυνατούν να απενεργοποιήσουν τα μακροφάγα. Η υπερδιεγερση των μακροφάγων, η επηρεασμένη κυτοτοξική λειτουργία των T λεμφοκυττάρων και Nk κυττάρων και η συνακόλουθη υπερέκκριση κυτοκινών οδηγεί σε ιστική βλάβη που μπορεί να οδηγήσει σε οργάνικη ανεπάρκεια(37).

Στη δική μας μελέτη τα 4 στα 6 παιδιά με σπλαχνική λεισμανίαση παρουσίασαν ως επιπλοκή της νόσου αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (66.6 %) αφού πληρούσαν τουλάχιστον 5 από τα 8 κριτήρια για HLH.(38) Το ποσοστό αυτό είναι αρκετά υψηλότερο από το ποσοστό άλλων σειρών περιστατικών όπως στην Ελλάδα(9.3%) (26) και την Ισπανία(41,7%)(33). Επιπρόσδετα παρατηρήθηκε ότι τα άλλα δύο παιδιά με σπλαχνική λεισμανίαση πληρούσαν τα 4 από τα 8 κριτήρια για HLH. Οι 2 πιο πάνω παρατηρήσεις μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπικάλυψη των κλινικών εκδηλώσεων της σπλαχνικής λεισμανίασης και του αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου και σημαντική δυσκολία στη διαφοροδιάγνωση των δύο νοσημάτων. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την υποδιάγνωση ή καθυστέρηση στη διάγνωση και θεραπεία του δευτεροπαδούς HLH που οφείλεται σε λεισμανίαση.

Το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο μπορεί είναι πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές. Το πρωτοπαθές προκαλείται από γενετικές μεταλλάξεις σε γονίδια που είτε σχετίζονται με το μονοπάτι του σχηματισμού και απέκκρισης κυταροτοξικών κοκκίων(γονιδιακοί τύποι οικογενούς λεμφοφαγοκυταρικής λεμφοιστιοκυτάρωσης FHL)(39) είτε σχετίζονται με ανοσοανεπάρκειες(40). Η μετάδοση των γονιδίων αυτών συχνά γίνεται με το αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο.Οι περισσότεροι ασθενείς είναι ομοζυγώτες σε μια συγκεκριμένη μετάλλαξη.Κάποια ασθενείς όμως μπορεί να είναι σύνθετοι ετεροζυγώτες (με διαφορετική μετάλλαξη σε κάθε αλληλίο του ιδίου γονιδίου) ή να έχουμε διγονική κληρονομικότητα(διαφορετικές μεταλλάξεις σε δυο διαφορετικά γονίδια). (41)

Το δευτεροπαθές HLH εμφανίζεται σε ασθενείς χωρίς γνωστές οικογενείς μεταλλάξεις. Εκκλυτικά αίτια μπορεί να αποτελέσουν λοιμώξεις, αυτοάνοσα νοσήματα, κακοήθειες. Συχνότερα λοιμώδη αίτια είναι οι ιογενείς λοιμώξεις με κύριο εκκλυτικό παράγοντα τον EBV, ενώ και άλλοι ιοί έχουν ενοχοποιηθεί όπως παρβοιοί,HSV,VZV,HHP8,HIV. Λιγότερο συχνά μπορεί να εμφανισθεί μετά από βακτηριακές(πχ Βρουκέλλα) παρασιτικές και μυκητιασικές λοιμώξεις.(42). Η σπλαχνική λεισμανίαση θεωρείται ένα σημαντικό αίτιο δευτερογενούς hlh κυρίως στα παιδιά(43) αν και δεν έχουν αναφερθεί αρκετές περιπτώσεις στη βιβλιογραφία . Ο γενετικός έλεγχος αποτελεί αναγκαίο βοήθημα στη διαφοροδιάγνωση πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς HLH.

Στη δική μας μελέτη από τα 4 περιστατικά σπλαχνικής λεισμανίασης με HLH έγινε γενετικός έλεγχος στα 3. Τα 2 ήταν αρνητικά ενώ στο 1 ανευρέθηκε ετεροζυγωτία για τη μετάλλαξη c.1039T>C p.F347L (NM_199242.2) η οποία είναι άγνωστης σημασίας μέχρι σήμερα, στο γονίδιο UNC13D το οποίο σχετίζεται με την έκφραση πρωτεϊνών αναγκαίων για την κυταροτοξική λειτουργία των T λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων. Ομόζυγη μετάλλαξη του UNC13D προκαλεί το FHL τύπου 3. (44)

Πέρα από αυτά παρατηρήθηκε ότι όλες οι σπλαχνικές λεισμανιάσεις σε παιδιά άρα και όλα τα περιστατικά αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου, ήταν κορίτσια, σε αντίθεση με τη βιβλιογραφία όπου τα περιστατικά αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου εμφανίζονται συνήθως σε αγόρια(45,46)

Όσον αφορά τη θεραπευτική αντιμετώπιση όλα τα παιδιά έλαβαν αγωγή με λιποσωμακή αμφοτεरिकίνη β. Επιπρόσθετα, τα 3 από τα 4 αγωγή έλαβαν και δεξαμεθαζόνη. Όλα είχαν καλή έκβαση της νόσου. Παρατήρήθηκε σε 1 περιστατικό υποτροπή της λείσμανιάσης (επιβεβαιωμένη με PCR και μικροσκόπηση περιφερικού αίματος). Έλαβε δεύτερο σχήμα με λιποσωμακή αμφοτεरिकίνη β με καλά θεραπευτικά αποτελέσματα.

Από το 2011 ως επακόλουθο των πολεμικών συγκρούσεων στην Συρία παρατηρήθηκε μαζική μετακίνηση πληθυσμού σε γειτονικές χώρες της Μέσης Ανατολής και ανατολικής Μεσογείου. Σύμφωνα με τα Ηνωμένα Έθνη, πάνω από 5,6 εκατομμύρια Συρίων έφυγαν από τη Συρία αναζητώντας καταφύγιο κυρίως στο Λίβανο, τη Τουρκία και την Ιορδανία(47)

Η δερματική λείσμανιάση ενδημεί στη Συρία. Η σημαντική παρουσία της στη χώρα φαίνεται και από τη χαρακτηριστική της ονομασία ανάμεσα στο συριακό λαό ως ‘Aleppo boil’. Μάλιστα αναφέρεται 2,6 φορές αύξηση της επίπτωσης της δερματικής λείσμανιάσης στη Συρία μετά τον πόλεμο συγκριτικά με την επίπτωση πριν από τον πόλεμο (64,498 περιστατικά/έτος συγκριτικά με ≈25,000 /έτος αντίστοιχα) (11,48). Παράλληλα και στους τρεις κύριους προορισμούς μετανάστευσης (Λίβανος, Τουρκία, Ιορδανία) παρατηρήθηκαν επιδημίες δερματικής λείσμανιάσης μεταξύ των προσφύγων [12-14]. Χαρακτηριστικά στο Λίβανο ενώ από το 2000-2012 είχαν μόνο 6 περιστατικά δερματικής λείσμανιάσης, το 2013 παρουσίασαν 1033 περιστατικά με το 96.6% να αφορά Σύριους πρόσφυγες(12).

Η δερματική λείσμανιάση από *L.tropica*, η οποία μεταδίδεται ανθρωπονοτικά, αναφέρεται ως το κύριο αίτιο λείσμανιάσης στη Συρία. Σε πρόσφατη μελέτη που αφορά την λείσμανιάση στη Συρία μετά το πόλεμο αναφέρεται η *L.tropica* ως αιτιολογικός παράγοντας στο 80% των περιπτώσεων, με παρουσία κυρίως στη βόρεια Συρία(10). Παράλληλα η *L.tropica* αναφέρεται ως κύριο αίτιο δερματικής λείσμανιάσης και σε αντίστοιχες μελέτες από την Τουρκία στην νοτιοανατολική Ανατολία στα συνόρα με Συρία(18)

Στην δική μας μελέτη, με τη συνεχή είσοδο προσφύγων από τη Συρία, οι οποίοι συνηθώς έρχονται μέσω Τουρκίας, έχει καταγραφεί για πρώτη φορά στο νησί δερματική λείσμανιάση από *L.tropica* το 2016. Η εντόπιση, όπως αναφέρεται ευρέως στη βιβλιογραφία, αφορά κυρίως τις εκτιθέμενες επιφάνειες του σώματος αφού το νήγμα το φλεβοτόμου δεν μπορεί

να διαπεράσει τα ρούχα. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη δική μας μελέτη με το 50% των βλαβών να βρίσκεται στο πρόσωπο, το 43% στα άνω άκρα και το 7% στα κάτω άκρα. Από το 2016 και έπειτα παρουσιάστηκαν συνολικά 10 περιστατικά δερματικής Λεισμανίασης σε πρόσφυγες. Σε 3 από αυτά έγινε ταυτοποίηση του στελέχους της Λεισμανίας και σε όλα ταυτοποιήθηκε η *L.tropica*.

Σε επιδημιολογική μελέτη που έγινε στη Συρία το 2010, λίγο πριν την έναρξη του πολέμου ανευρέθηκε *Phlebotomus sergenti* ως διαβιβαστής της *L. tropica* ή οποία για ακόμη μια φορά επιβεβαιώθηκε ως αιτιολογικός παράγοντας της δερματικής λεισμανίασης στις περιοχές Edlib και Hama. (49) Το ίδιο στέλεχος φλεβοτόμου έχει ανευρεθεί στην Κύπρο σε σειρά μελετών από το 1944 μέχρι και το 2006 (17,26,27). Δεδομένου λοιπόν ότι στο νησί υπάρχει φλεβοτόμος με δυνατότητα μετάδοσης του συγκεκριμένου στελέχους από άνθρωπο σε άνθρωπο και του γεγονότος ότι οι κλιματολογικές συνθήκες ταιριάζουν με Συρία και νοτιοανατολική Τουρκία αναδυσκνείται ο κίνδυνος μετάδοσης του νέου στελέχους *Leishmania* στο τοπικό πληθυσμό ως ένα πιθανό μελλοντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας .

Δεδομένου ότι στην Ελλάδα συνελέγηκαν με παγίδες φλεβοτόμοι γύρω από οικισμούς μεταναστών από τη Συρία και εντοπίστηκαν φλεβοτόμοι με δυνατότητα μετάδοσης σε άλλους ανθρώπους δεικνύει την ανάγκη εκτίμησης του κινδύνου και στην Κύπρο πραγματοποιώντας παρόμοιες έρευνες σε περιοχές όπου διαμένει αυξημένος αριθμός μεταναστών.(50)

Συμπεράσματα:

Αν και η λεισμανίαση είναι μια σπάνια νόσος, στην Κύπρο επανεμφανίστηκε το 2005 και παραμένει έκτοτε ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας με συνεχή καταγραφή περιστατικών. Στα αυτόχθονα περιστατικά καταγράφηκε δερματική και σπλαχνική λεισμανίαση από την ανθρωπονοτική *Leishmania donovani*-MON37. Αντίθετα με τις υπόλοιπες χώρες της λεκάνης της Μεσογείου, στην Κύπρο η ζωνοτική *L. infantum* προσβάλλει μεν τους σκύλους αλλά όχι τους ανθρώπους. Αυτό υποδεικνύει την παρουσία δύο ανεξαρτήτων κύκλων μετάδοσης, ένα στους σκύλους με τη *L.infantum* και ένα στους

ανθρώπους με τη *L.donovani*. Αν και τα πρώτα περιστατικά αφορούσαν κατά κύριο λόγο την επαρχία Πάφου και Λεμεσού, η εμφάνιση νέων εστιών απο το 2016 δείχνει πιθανή επέκταση των φλεβοτόμων που μπορούν να μεταδώσουν την *L. donovani* και προς νέες περιοχές. Απο το 2016 εισήχδει για πρώτη φορά στο νησί απο Σύριους πρόσφυγες δερματική λεισμανίαση απο την ανθρωπονοτική *Leishmania tropica*, με συνεχή καταγραφή νέων περιστατικών έκτοτε. Η εισαγωγή της ανθρωπονοτικής *L. tropica* στο νησί μπορεί να αποτελέσει πρόσθετο πρόβλημα εάν μεταδοθεί στον τοπικό πληθυσμό λόγω της ομοιότητας των κλιματολογικών συνθηκών με τη Συρία και της παρουσίας στο νησί κατάλληλων διαβιβαστών για μετάδοση. Κρίνεται αναγκαία η παρακολούθηση του παθογόνου και της περαιτέρω εξέλιξης της νόσου. Πέρα απο αυτό, σημαντικό ποσοστό της σπλαχνικής λεισμανίασης συμβαίνει σε παιδιά (6/10), με το αιμοφαγοκυταρικό σύνδρομο να αποτελεί μια σημαντική επιπλοκή με σοβαρές συνέπειες στην περίπτωση που δε διαγνωσθεί έγκαιρα. Τέλος λόγω της καθυστερημένης διάγνωσης της ΔΛ έναντι της ΣΛ(180 έναντι 38 ημέρες), η δερματική μορφή θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για μετάδοση της νόσου. Συνεπώς, απαιτείται η εκπαίδευση των γιατρών, ώστε να επιτυγχάνεται η έγκαιρη διάγνωση. Λόγω των μεταβολών στην επιδημιολογική εικόνα της λεισμανίασης στην Κύπρο επιβάλλεται στενή επιτήρηση των περιστατικών και μοριακή μελέτη του παρασίτου.

Βιβλιογραφία:

1. Torres-Guerrero E, Quintanilla-Cedillo M, Ruiz-Esmenjaud J, Arenas R. Leishmaniasis: a review. *F1000Research*. 2017;6:750.
2. Berkowitz F. *Leishmania species* . In: Long S, Prober C, Fischer M. *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 4th ed. 2012. p1285.
3. Melby P. Leishmaniasis In: Kliegman, Stanton, St. Geme, Schor, Nelson textbook of paediatrics, 20th ed. 2016. p.1689
4. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Leishmania life cycle [Internet]. 2010 [cited 19 April 2019]. Available from:
https://www.cdc.gov/parasites/images/leishmaniasis/Leishmania_LifeCycle.gif
5. Spellberg B, Edwards J. Type 1/Type 2 Immunity. In: *Infectious Diseases. Clinical Infectious Diseases*. 2001;32(1):76-102.
6. John DT, Petri WA. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9th ed. Missouri: Saunders/Elsevier Inc.; 2006. p. 127–139
7. van Griensven J, Diro E. Visceral Leishmaniasis. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2012;26(2):309-322.
8. Alvar J, Vélez I, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS ONE*. 2012;7(5).
9. WHO, Global Health Observatory (GHO) data, Leishmaniasis .[cited 2019 Feb 10] Available from: https://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/.
10. Aronson N. Leishmaniasis in American soldiers: Parasites from the front. In: *Emerging Infections* 7, Scheld W, Hooper D, Hughes J (Eds), ASM Press, Washington, DC 2007. p.325.

11. Rehman K, Walochnik J, Mischlinger J, Alassil B, Allan R, Ramharter M. Leishmaniasis in Northern Syria during Civil War. *Emerging Infectious Diseases*. 2018;24(11):1973-1981.
12. Alawieh A, Musharrafieh U, Jaber A, Berry A, Ghosn N, Bizri A. Revisiting leishmaniasis in the time of war: the Syrian conflict and the Lebanese outbreak. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014;29:115.
13. Inci R, Ozturk P, Mulayim M, Ozyurt K, Alatas E, Inci M. Effect of the Syrian Civil War on Prevalence of Cutaneous Leishmaniasis in Southeastern Anatolia, Turkey. *Medical Science Monitor*. 2015;21:2100.
14. His Excellency, Murshidi MM, Hijjawi MQ, et al. Syrian refugees and Jordan's health sector. *Lancet* 2013; 382:20
15. WHO, Expert Committee on the Control of the Leishmaniasis & World Health Organization. (2010). Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.[cited 2019 Feb 10] Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/44412>
16. WHO, Weekly epidemiological record, 5 October 2018. 2018;93,(40):521–540
17. Mazeris A, Ivović V, Soteriadou K, Pratlong F, Christodoulou V, Tsatsaris A et al. Leishmaniasis and the Cyprus Paradox. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2010;82(3):441-448.
18. Özbilgin A, Harman M, Karakuş M, Bart A, Töz S, Kurt Ö et al. Leishmaniasis in Turkey: Visceral and cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania donovani* in Turkey. *Acta Tropica*. 2017;173:90-96.
19. Zackay A, Nasereddin A, Schnur L, Jaffe C. Molecular characterization of *Leishmania donovani* in Israel, GenBank accession no. HQ170543; 2016 [cited 2018 Jun 22]. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/315454626/>

20. Bhattacharyya T, Boelaert M, Miles M. Comparison of Visceral Leishmaniasis Diagnostic Antigens in African and Asian *Leishmania donovani* Reveals Extensive Diversity and Region-specific Polymorphisms. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2013;7(2):e2057.
21. Antoniou M, Haralambous C, Mazeris A, Pratlong F, Dedet J, Soteriadou K. *Leishmania donovani* leishmaniasis in Cyprus. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008;8(1):6-7.
22. Constantinou K. Anopheles (malaria) eradication in Cyprus. *Parassitologia*. 1998;40:131–135.
23. Polydorou K. A short history of echinococcosis control in Cyprus. *Hist Med Vet*. 1984;9:61–64
- .24. Rioux J, Leger N, Haddad N, Desjeux P. Natural infestation of *Phlebotomus tobbi* (Diptera, Psychodidae) by *Leishmania donovani* s. st. (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in Syria. *Parassitologia*. 1998;40(Suppl1):148.
25. Gouzelou E, Haralambous C, Amro A, Mentis A, Pratlong F, Dedet J et al. Multilocus Microsatellite Typing (MLMT) of Strains from Turkey and Cyprus Reveals a Novel Monophyletic *L. donovani* Sensu Lato Group. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2012;6(2):1507.
26. Léger N, Depaquit J, Ferté H, Rioux J, Gantier J, Gramiccia M et al. Les phlébotomes (Diptera-Psychodidae) de l'île de Chypre.II - Presence de *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* Nicolle, 1908 (zymodeme MON 1) chez *Phlebotomus* (*Larroussius*) *tobbi* Adler et Theodor, 1930. *Parasite*. 2000;7(2):143-146.
27. Adler S. The Sandflies of Cyprus (Diptera). *Bulletin of Entomological Research*. 1946;36(04):497-511.

28. Travi B. Gender Is a Major Determinant of the Clinical Evolution and Immune Response in Hamsters Infected with *Leishmania* spp. *Infection and Immunity*. 2002;70(5):2288-2296.
29. Soares L, Abad-Franch F, Ferraz G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence among rural settlers and field biologists. *Tropical Medicine & International Health*. 2014;19(8):988-995.
30. Lockard R, Wilson M, Rodríguez N. Sex-Related Differences in Immune Response and Symptomatic Manifestations to Infection with *Leishmania* Species. *Journal of Immunology Research*. 2019;2019:1-14.
31. de Vries H, Reedijk S, Schallig H. Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2015;16(2):99-109.
32. de Ruiter C, van der Veer C, Leeflang M, Deborggraeve S, Lucas C, Adams E. Molecular Tools for Diagnosis of Visceral Leishmaniasis: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014;52(9):3147-3155.
33. Blázquez-Gamero D, Domínguez-Pinilla N, Chicharro C, Negreira S, Galán P, Pérez-Gorricho B et al. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Children with Visceral Leishmaniasis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2015;34(6):667-669.
34. Kafetzis D. An overview of paediatric leishmaniasis. *Journal of Postgraduate Medicine*. 2003;49(1):31.
35. Fu Q, Li S, Wu W, Hou Y, Zhang S, Feng Y et al. Endemic characteristics of infantile visceral leishmaniasis in the People's Republic of China. *Parasites & Vectors*. 2013;6(1):143.

36. Tofighi Naeem A¹, Mahmoudi S², Saboui F¹, Hajjarian H³, Pourakbari B², Mohebbali M³ et al. Clinical Features and Laboratory Findings of Visceral Leishmaniasis in Children Referred To Children Medical Center Hospital, Tehran, Iran during 2004-2011. Iran J Parasitol. 2014; 9(1): 1–5.
37. Filipovich A, McClain K, Grom A. Histiocytic Disorders: Recent Insights into Pathophysiology and Practical Guidelines. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2010;16(1):S82-S89.
38. Henter J, Horne A, Aricó M, Egeler R, Filipovich A, Imashuku S et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatric Blood & Cancer. 2007;48(2):124-131.
39. Larroche C. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: Diagnosis and treatment. Joint Bone Spine. 2012;79(4):356-361.
40. Chinn I, Eckstein O, Peckham-Gregory E, Goldberg B, Forbes L, Nicholas S et al. Genetic and mechanistic diversity in pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood. 2018;132(1):89-100.
41. Zhang K, Chandrakasan S, Chapman H, Valencia C, Husami A, Kissell D et al. Synergistic defects of different molecules in the cytotoxic pathway lead to clinical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood. 2014;124(8):1331-1334.
42. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A, Khamashta M, Bosch X. Adult haemophagocytic syndrome. The Lancet. 2014;383(9927):1503-1516.
43. Daher E, Lima L, Vieira A, Nascimento L, Soares D, Abreu K et al. Hemophagocytic Syndrome in Children With Visceral Leishmaniasis. The Pediatric Infectious Disease Journal. 2015;34(12):1311-1314.

44. Meeths M, Chiang S, Wood S, Entesarian M, Schlums H, Bang B et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) caused by deep intronic mutation and inversion in UNC13D. *Blood*. 2011;118(22):5783-5793. 36.
45. Krepis P, Krepis A, Argyri I, Aggelis A, Soldatou A, Papaevangelou V et al. Childhood Visceral Leishmaniasis: Distinctive Features and Diagnosis of a Re-emerging Disease. An 11-year Experience From a Tertiary Referral Center in Athens, Greece. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2018;37(5):419-423.
46. Scalzone M, Ruggiero A, Mastrangelo S, Trombatore G, Ridola V, Maurizi P et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis and visceral leishmaniasis in children: case report and systematic review of literature. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2016;10(01):103.
47. United Nations High Commission [cited 2019 Apr 20]. Available from: <https://www.unhcr.org/syria-emergency.html>.
48. World Health Organization. Number of cases of cutaneous leishmaniasis reported; data by country, 2005–2016 [cited 2019 Apr 20]. Available from <http://apps.who.int/gho/data/view.main.NTDLEISHCNUMv>
49. Haddad N, Saliba H, Altawil A, Villinsky J, Al-Nahhas S. Cutaneous leishmaniasis in the central provinces of Hama and Edlib in Syria: Vector identification and parasite typing. *Parasites & Vectors*. 2015;8(1):524.
50. Fotakis E, Giantsis I, Avgerinou A, Kourtidis S, Agathaggelidou E, Kapoula C et al. Identification of *Leishmania* Species in Naturally Infected Sand Flies from Refugee Camps, Greece. *Emerging Infectious Diseases*. 2019;25(2):361-364.