

Alteraciones hepáticas en la Leishmaniasis Visceral (Kalazar) en niños: Revisión sistemática de la literatura

Francisco Salomao de Medeiros,¹ Jose Tavares-Neto,² Argemiro D' Oliveira Jr,² Raymundo Paraná³

¹ Hospital Universitario Alcides Carneiro de la Universidad Federal de Campina Grande, Brasil. - ² Curso de Postgrado en Medicina y Salud de la Universidad Federal de Bahia, Brasil. - ³ Unidad de Gastro-Hepatología de la Universidad Federal de Bahia, Brasil.

Acta Gastroenterol Latinoam 2007;37:150-157

Resumen

La Leishmaniasis Visceral o Kalazar es una infección parasitaria causada por subespecies del género *Leishmania donovani* y transmitida por insectos flebotómicos. Puede evolucionar con compromiso hepático caracterizado por citólisis severa, colestasis, hipertensión portal, hepatomegalia persistente y fibrosis hepática. Estos tipos de presentaciones dificultan el diagnóstico y agravan el pronóstico. Se admite que la extensión y frecuencia de este compromiso hepático han sido poco evaluados. **Objetivo:** Sistematizar las alteraciones hepáticas de Kalazar en la infancia descritas en relatos de casos publicados. **Metodología:** revisión sistemática de la literatura utilizando las bases de datos LILACS, MEDLINE y EMBASE. Se incluyeron artículos en portugués, español, inglés y francés. Se siguieron los procedimientos de revisión sistemática recomendados por el NHS Centre for Reviews and Dissemination, University of Cork. La clasificación de los artículos (relatos de casos) se basó en la cantidad de información de cada relato de caso en relación a las variables previamente sistematizadas en este estudio. **Resultados:** 11 (un 55%) artículos fueron incluidos abarcando 28 relatos de casos. La albúmina sérica y el tiempo de protrombina mostraron una asociación con la evolución de la enfermedad: ($p = 0,05$). **Conclusiones:** el compromiso hepático, incluso grave, puede ocurrir al inicio de la enfermedad. El Kalazar debe ser considerado en el diagnóstico diferencial de hepatitis asociadas a fiebre

prolongada, así como en síndromes colestásicos en la infancia en áreas endémicas para la enfermedad.

Palabras clave: Leishmaniasis Visceral, Alteraciones Hepáticas, Kalazar, Niños.

Liver Injury in Visceral Leishmaniasis in Children: Systematic Review

Summary

Visceral Leishmaniasis or Kalazar is a parasitic infection caused by *Leishmania Donovani* subspecies. It is transmitted by phlebotomineos and may lead to liver and spleen enlargements as well as immunological impairment. Sometimes it is described liver injury simulating acute or chronic viral hepatitis and even portal hypertension. The liver injury makes difficult the differential diagnosis of Kalazar and other liver diseases in endemic regions. **Objective:** To define and clarify the liver injury spectrum described in published cases reports. **Methods:** Systematic revision of published data on Kalazar and liver injury, using the following databank: LILACS, MEDLINE and EMBASE. Only paper published in French, English, Portuguese and Spanish were taken into consideration. The procedures for systematic review recommended by the NHS Centre for Reviews and Dissemination, University of Cork, were adopted. The paper quality classification was based on the number of reported variables previously defined in our study. **Results:** Only 11/28 (55%) publications were included in our analysis because they filled the minimal required data. Acute and chronic liver disease were well documented in these articles. Serum albumin and prothrombin time were associated with severity of liver disease

Correspondencia: Argemiro D' Oliveira Jr
Av Juracy magalhaes Jr 2096 Sala 510, salvador-BA 41920000, Brasil.
Tel: 557121084651
E-mail: unif@svn.com.br

($P < .05$). **Conclusion:** "Liver involvement, even when it is severe, may occur at the beginning of the disease. *Kalazar* should be considered as a differential diagnosis of cholestasis, acute and chronic liver injury, as well as portal hypertension in children.

Key words: *Leishmaniasis Visceral, Liver injury, Kalazar, Children.*

La Leishmaniasis Visceral o Kalazar es una infección parasitaria (protozoaria) causada por subespecies de *Leishmania donovani* y transmitida por insectos flebotómicos. Afecta primariamente las células del sistema fagocítico mononuclear, provocando importantes alteraciones en la inmunidad celular y humoral.^{1,2}

Según Bouree & Belec la enfermedad ocurre en forma endémica y esporádica en sesenta países de regiones tropicales y subtropicales del continente asiático, africano, europeo y americano, en una incidencia de 500 mil casos al año, atacando especialmente a niños y adultos jóvenes de ambos sexos.^{3,4,5}

Brasil responde por el 97% de los casos de Kalazar americano y se estima que en las regiones endémicas del Noreste, el 7,5% de los individuos con edad inferior a 15 años está infectado por *Leishmania Chagasi* y en el 20% de ellos se manifiesta la forma crónica de la enfermedad.⁶

El Kalazar se desarrolla generalmente de forma subaguda o crónica, pudiendo ser aguda. La forma crónica (clásica) se caracteriza por fiebre irregular de duración prolongada, anemia, adelgazamiento progresivo, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, hipalbuminemia e hiperglobulinemia.^{7,8}

A pesar de que la hepatomegalia ocurre en cerca del 90% de los casos Kalazar, las enzimas hepáticas se mantienen generalmente normales o poco alteradas, sin constituir mayores trastornos en el curso de la enfermedad.⁹ En algunos pacientes se puede desarrollar con compromiso hepático caracterizado por citólisis severa, colestasis, hipertensión portal, hepatomegalia persistente y fibrosis hepática. Se reconoce que la extensión y frecuencia de este compromiso hepático han sido poco evaluadas. Se sabe también que las alteraciones clínicas, biológicas e histológicas del compromiso hepático varían de acuerdo al tipo nosogeográfico de la LV y se relacionan con su duración y gravedad, y no con el número de parásitos.^{10,11}

La inexistencia en la literatura consultada de estudios sistemáticos sobre el compromiso hepático de Kalazar, así como la dificultad de diagnosticarlo cuando las manifestaciones clínicas y/o bioquímicas predominantes se relacionan al compromiso hepático, motivaron este estudio que tiene por objetivo la sistematización de las alteraciones hepáticas del Kalazar, en las descripciones de relatos de casos publicados.

Metodología

La revisión sistemática empleada en la metodología de este trabajo consiste en un estudio planteado para responder a una pregunta específica. De esta forma se utilizaron métodos explícitos y sistemáticos para identificar, seleccionar y evaluar críticamente los estudios relacionados al tema en cuestión.¹³ Se siguieron los procedimientos de revisión sistemática recomendados por el NHS *Centre for Reviews and Dissemination, University of Cork*.¹²

La pregunta que lleva a esta revisión es: cuáles son las alteraciones hepáticas relatadas en los casos publicados y las implicancias para el diagnóstico y evolución de la enfermedad.

Los criterios de inclusión fueron: artículos planteando alteraciones hepáticas de LV en niños con edad ≤ 16 años, en lengua portuguesa, española, francesa e inglesa, publicados entre 1980 y 2001. Se excluyeron los estudios de frecuencia.

Los estudios fueron identificados a través de investigaciones en las bases de datos LILACS, MEDLINE y EMBASE. Según McDonald y col, y Suarez-Almazor y col, investigar solamente en la base MEDLINE es insuficiente.^{13,14} Por eso una revisión sistemática crítica exige investigar más que una base de datos. Un estudio conducido por Minozzi y col, para analizar la utilidad de los bancos de datos MEDLINE y EMBASE, en el reconocimiento de artículos de rehabilitación, mostró una intersección de un 17% entre el total de los artículos.¹⁵ La búsqueda en EMBASE posterior a MEDLINE, añadió un 32% de artículos nuevos. De esta forma, ambas se complementan mutuamente en las revisiones sistemáticas de literatura. En LILACS, Castro y col, encontraron una sobreposición de 41 revistas con la MEDLINE y EMBASE.¹⁶

Los términos utilizados para la investigación fueron: Leishmaniasis visceral y (Hepatopatías o Enfer-

medades del Hígado). Y para aumentar la sensibilidad en la identificación de los estudios: Leishmaniasis visceral y (Hepatopatías o Enfermedades del Hígado) y relatos de casos.

Límites: Fecha de publicación: desde 01/01/1980 hasta 31/12/2001 en conformidad con los pasos recomendados en Dickersin y col.¹⁷

Counsell & Fraser ya recomendaban la necesidad de seleccionar de forma cualitativa los artículos para revisión sistemática. Posteriormente, Jadad y col establecieron una guía para encontrar y evaluar la calidad de los estudios randomizados.^{18,19} En esta revisión, para clasificar los artículos se adoptó el modelo propuesto por Figueiredo & Tavares-Neto, adaptándolo a cuatro clases de variables.²⁰ Este modelo se basa en la cantidad de información descrita en cada relato de caso en relación a aquellos previamente sistematizados en el estudio. Así, cada relato de caso se inserto en una de las siguientes clases, de acuerdo al

porcentaje de las variables descritas: A (100%); B (75%); C(50 a 74%) y D (< 50%) respectivamente.

Para determinar la validez de los estudios seleccionados, incluidos en este trabajo, así como para posibilitar la recolección de datos de las variables sistematizadas, los artículos fueron analizados en relación a las siguientes variables: región geográfica de la LV, género, edad, duración de la enfermedad, ascitis, ictericia, hepatomegalia, investigación de *L donovani*, registro histopatológico, evolución de la enfermedad, gammaglobulina, albúmina sérica, tiempo de protrombina (TP), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), bilirrubina total (BT) y directa (BD), gamaglutamiltranspeptidasa (GGT), y fosfatasa alcalina (FA).

Resultados

Se identificaron y seleccionaron 20 artículos en las

Tabla 1. Relatos y series de casos incluidos en el estudio.

Referencia	Base de Datos	Casuística	Procedencia	Compromiso hepático
Hervás JÁ, et al. 1991 (8)	M	1	Me	Hepatitis aguda
Khalidi F, et al. 1990 (22)	L	16	Me	Hepatitis aguda = 9 casos Hepatitis grave = 7
Singh UK, 1995 (23)	L	3	I	Hepatitis fulminante (Insuficiencia hepática)
Corbett CEP, 1993 (25)	M	1	A	Hipertensión portal
Moreno A, et al. 1988 (26)	M	1	Me	Hepatitis
Albertini M. 1993 (29)	M	1	Me	Hipertensión portal
Ben-Becher SB, et al. 1991 (27)	M	1	Me	Hepatitis
Castagnola E, et al. 1997 (30)	M	1	Me	Hepatitis
Di Martino L, et al. 1992 (9)	M	1	Me	Hepatitis fulminante (Insuficiencia hepática)
Moragas A, et al. 1986 (31)	E	1	Me	Hepatitis
Raman RTS, et al. 1992 (32)	L	1	I	Hepatitis

M = MEDLINE; E = EMBASE; L = LILACS.

M = Mediterráneo; I = Indiano; A = Americano

bases de datos LILACS, MEDLINE y EMBASE. Después de análisis, 11/20 (55%) artículos, totalizando 28 relatos de casos, se incluyeron en esta revisión sistemática (cuadro 1). De éstos se analizaron los datos referentes a las veinte variables sistematizadas (tablas 2 y 3). Se excluyeron 9/20 (45%) artículos por publicación duplicada, por pacientes > de 16 años y por intersección entre los bancos de datos. La tasa de intersección entre LILACS y MEDLINE fue de un 13%; MEDLINE y EMBASE, 18% y, entre ellas, 25%, (tabla 1).

La frecuencia, valores mínimo y máximo, media, mediana y desvío padrón de los datos relativos a las variables sistematizadas se encuentran en los cuadros 2 y 3. Las relaciones entre variables continuas fueron analizadas por el test de correlación de Pearson. Para medir la precisión de las estimativas de asociación, se estableció un nivel de significancia $\leq 5\%$ ($p= 0,05$). En la primera etapa de análisis en

que se procedió a relación de edad, duración de la enfermedad, género y hepatimetría (variables independientes) entre los parámetros bioquímicos de las pruebas de función hepática, no se verificó asociación. En la segunda etapa del análisis en que se consideró la relación de los parámetros bioquímicos (variables independientes) entre la evolución de la enfermedad, se verificó una tendencia de asociación de la albumina sérica y el tiempo de protrombina con la evolución de la enfermedad (figuras 1 y 2). Kalazar fue relacionado a enfermedad hepática aguda y crónica en los relatos, pero se observa una carencia de sistematización del diagnóstico y pronóstico. En algunos trabajos no había completa definición del diagnóstico diferencial. Todos estos aspectos en conjunto nos hacen admitir carencia de información respecto de la enfermedad hepática relacionada a LV en niños.

Tabla 2. Frecuencia de las variables nominales sistematizadas ($n = 28$ casos)

Variable	n	%
Región de la LV		
América	1	3,6
India	4	14,3
Mediterráneo	23	82,1
Género		
Masculino	21	75,0
Femenino	7	25,0
Ascitis	11	39,3
Ictericia	11	39,3
Hepatomegalia	28	100,0
Investigación de leishmania		
Positiva	25	89,3
Negativa ⁽¹⁾	3	10,7
Patrón histopatológico		
Clásico	1	3,6
Granuloma atípico	4	14,3
Fibrosis intralobular difusa	1	3,6
Evolución ⁽²⁾		
Cura	18	64,3
Óbito	7	25,0
Hepatomegalia persistente	2	7,1

⁽¹⁾ Diagnóstico basado en evidencias clínico- laborales, IFI y respuesta a Sb⁵.

⁽²⁾ No descrita en un caso.

Tabla 3. Frecuencia de las variables continuas sistematizadas (n = 28 casos)

Variable	n (%)	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	DP ⁽¹⁾
Edad (años)	28 (100,0)	0,25	14,0	3,8	3,0	3,3
Duración de la enfermedad (días)	8/28,6	5,0	600,0	125,8	18,0	201,6
Hepatomegalia (cm)	7/25,0	2,0	25,0	8,0	3,0	8,8
γ-globulina (g/dl)	24/85,7	0,9	5,2	3,2	3,2	1,3
Albúmina (g/dl)	23/82,1	1,8	3,6	2,5	2,4	0,5
Tempo de protrombina (s)	19/67,9	10,0	25,0	17,3	17,5	4,4
ALT (U/l)	28/100,0	41,0	1229,0	288,6	190,0	277,6
AST (U/l)	27/96,4	17,0	1335,0	294,	200,0	294,2
BT (mg/dl)	11/39,3	0,3	20,0	8,6	8,2	5,5
BD (mg/dl)	4/14,3	4,8	15,0	10,0	10,3	4,2
GGT (U/l)	2/7,1	53,0	281,0	167,0	167,0	161,2
FA (U/l)	4/14,3	100,0	1961,0	716,0	401,5	843,7

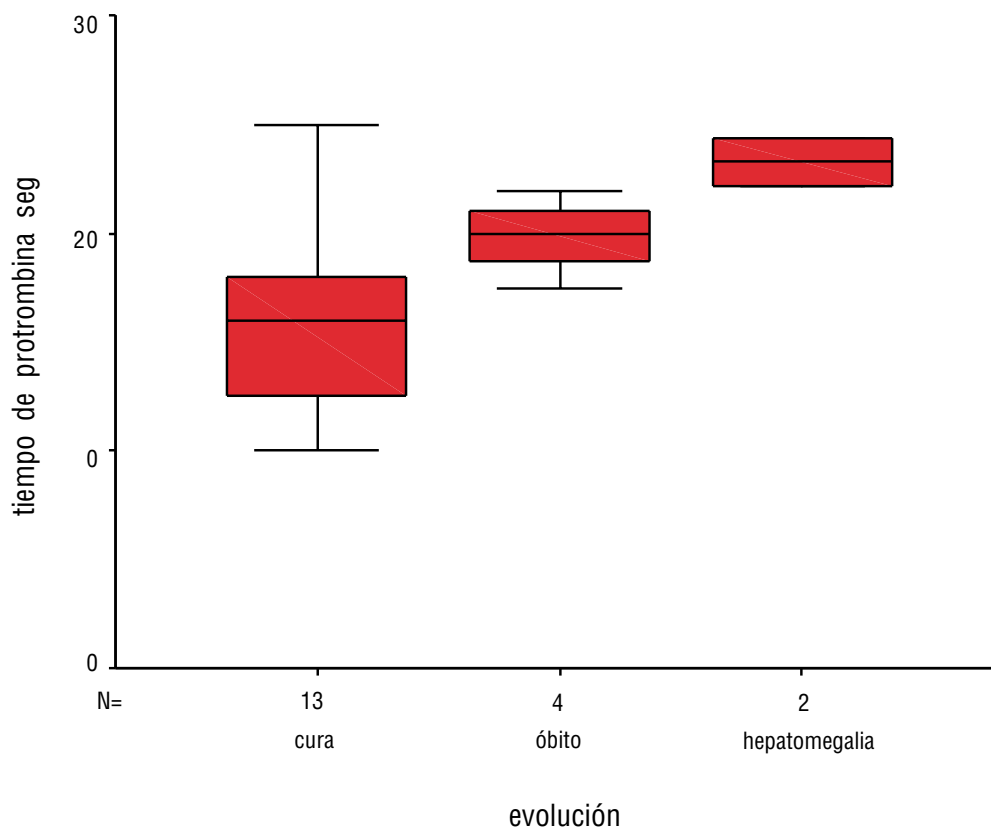
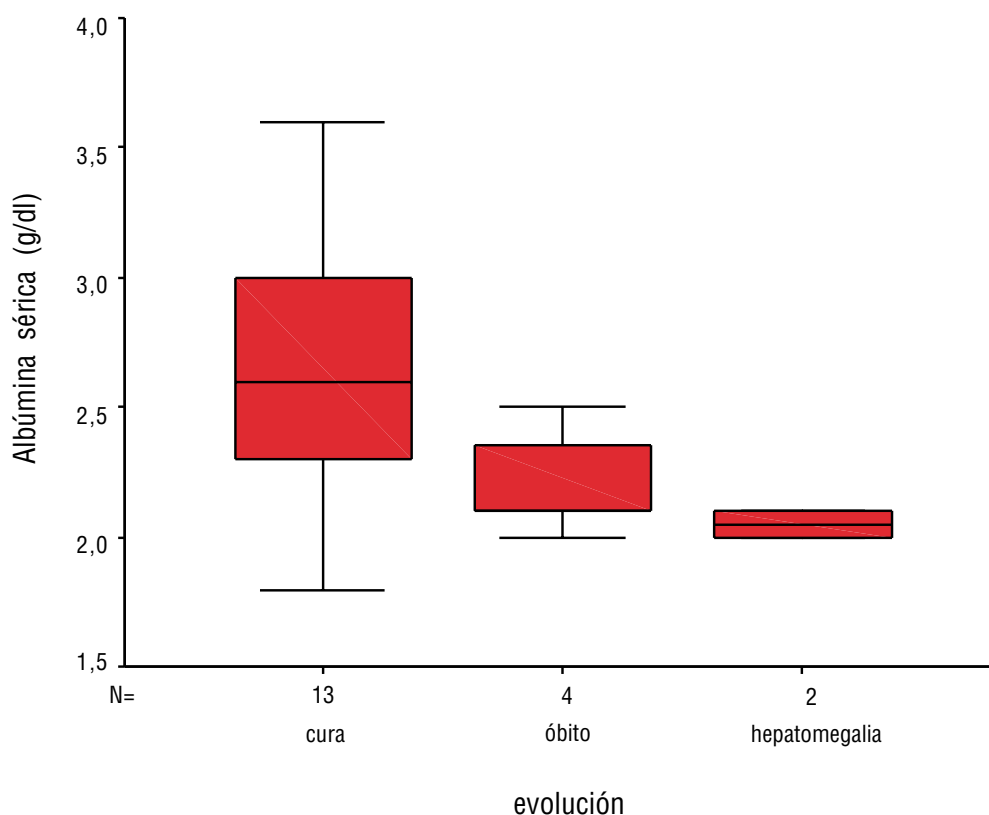
⁽¹⁾ DESVÍO-PADRÓN.**Figura 1.** Tendencia de asociación del tiempo de protrombina con la evolución de la enfermedad.

Figura 2. Tendencia de asociación de albúmina sérica con la evolución de la enfermedad.

Discusión

En el presente estudio fueron incluidos 28 relatos de casos de LV, cuyas manifestaciones clínicas y bioquímicas predominantes se refieren al compromiso hepático, motivando el diagnóstico hipotético, en la admisión, de hepatitis aguda en 19/28, de insuficiencia hepática en 3/28, de hipertensión portal en 2/28 y de hepatitis auto-inmune en 1/28 pacientes, respectivamente. Según Kausalya y col, la presencia de hepatitis aguda, como primera manifestación de LV, contradice el concepto general de que el compromiso hepático constituye apenas una representación tardía de la enfermedad.²¹

Khaldi y col, en un estudio retrospectivo de 180 casos de LV en niños encontraron una frecuencia de 16 (un 8,9%) casos de LV con hepatitis moderada a grave asociada a la enfermedad.²² Singh y col, en un estudio de corte transversal, para determinar la asociación entre hepatitis leve y severa con Kalazar, en una muestra de 150 niños con LV, verificaron un

predominio de 28 (un 18,7%) casos de hepatitis aguda, 3/28 de éstos, con la forma fulminante.²³

La edad inferior a cinco años (media = 3,8 años) ocurrió en 21/28 pacientes, frecuencia superior a la descrita en la literatura para este segmento etario (un 60%). Igualmente, el género masculino respondió por 21/28 de los pacientes.

La media de duración de la enfermedad antes de la hospitalización fue de 125,8 días y osciló de 5 a 600 días. La hepatomegalia fue observada en los 28 pacientes, mas en solo 7/28 de ellos el hígado fue medido abajo del margen costal. La albúmina sérica fue determinada en 23/28 casos, presentando un valor medio de 2,5 g/dl y la gammaglobulina fue determinada en 24/28 casos presentando un valor medio de 3,2 g/dl. Para Elnour et col, la enfermedad es improbable en la ausencia de hipoalbuminemia e hipergammaglobulinemia, cuyos valores se relacionan con la duración de la enfermedad.²⁴

La ictericia y la ascitis, (cada una de ellas), ocu-

rrieron en 11/28 pacientes. La presencia de esas variables, en LV, representa habitualmente una manifestación tardía de disfunción hepática. La ictericia esta presente, en algunos pacientes, al comienzo de la enfermedad, pero puede también ser observada tardíamente. La asociación de estas variables con la gravedad del daño hepatocelular fue propuesta, todavía sin confirmación científica. Detectar estas manifestaciones es importante para el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad.

La investigación de Leishmaniasis se efectuó en un frotis de médula ósea y muestras de biopsia esplénica y hepática, y para los 3/28 pacientes, en los cuales no se encontraron parásitos, el diagnóstico se basó en el patrón histopatológico del hígado o en la positividad de la prueba sérica y la respuesta terapéutica, dejando de lado otras causas, como por ejemplo, toxicidad por drogas, hepatitis viral, toxoplasmosis, brucelosis, fiebre tifoidea, SIDA, mononucleosis infecciosa, rickettsiosis y malaria.

En el estudio histopatológico de especímenes de biopsia hepática, el patrón granuloma atípico ocurrió en 4/6, el clásico en 1/6 y la fibrosis intralobulillar difusa (cirrosis de Rogers) en 1/6 pacientes, respectivamente. La fibrosis intralobulillar difusa es común en los casos crónicos de la enfermedad en indios y rara en los demás tipos nosogeográficos. El único paciente de este estudio con fibrosis intralobulillar difusa se refiere al primer caso autóctono de la enfermedad en el Estado de Roraima, Brasil, y al primer caso de regresión de este tipo histopatológico documentado por estudios histopatológicos y ultraestructurales.²⁵ Igualmente importante, correspondió a Moreno y cols, la descripción de los primeros casos de granuloma hepático en anillo de fibrina asociados al LV.²⁶

La evolución hacia la muerte ocurrió en un 25% un 7% de los pacientes respectivamente, atribuyéndose una de las muertes a la cardiotoxicidad de Sb.²⁷ Esta mortalidad fue superior a la verificada en otros estudios.

La edad inferior a cinco años, anemia grave, trombocitopenia y coagulopatía, y gran pérdida de peso están asociados al peor pronóstico. Además, el tratamiento se enmarca en situaciones de difícil control debido a las infecciones, hemorragias y disfunción hepática desencadenadas durante la enfermedad.

La media de AST (294,8 UI) superior a la de ALT (288,6 UI) puede reflejar la gravedad y/o corta duración de la enfermedad en algunos pacientes. La

AST puede originarse también en otras fuentes, por ejemplo, en hematíes y leucocitos. Todavía este aspecto no fue explorado por los autores.

A pesar del bajo poder estadístico del tamaño de la muestra (n = 28) y del hecho de que la mayoría de las variables incluyen n < 28 (cuadros 2 y 3), se buscó establecer relación entre las variables. En el primer análisis en que se estableció relación entre edad, género, duración de la enfermedad y hepatimetría (variables independientes) y los parámetros de las pruebas de función hepática (variables dependientes) no se verificó asociación con nivel de significancia ≤ 5 (p = 0,05), incluso con la ALT (n = 28) y AST (n = 27), las cuales son muy importantes en la evaluación de lesión hepatocelular. Conviene destacar que Campos Júnior, en un estudio realizado en 54 niños con Kalazar, intentó establecer criterios de valor predictivo en cuanto a la presencia de infecciones intercurrentes en su curso, por medio del análisis discriminante de Fisher. En sus resultados observó significancia estadística de la elevación de AST como factor de riesgo futuro para complicaciones infecciosas.²⁸

En la relación de la evolución de la LV (variable dependiente) con los parámetros de las pruebas de función hepática (variables independientes), a pesar de no presentar significancia estadística, el tiempo de protrombina y albúmina sérica mostraron una tendencia de asociación.

Por lo tanto, hay evidencia de que el compromiso hepático, inclusive grave, puede ocurrir al comienzo del Kalazar y no solo tardíamente como era percibido anteriormente, y de esta forma dificultar en gran manera su diagnóstico y pronóstico. Más aún, la existencia, en las regiones geográficas del Kalazar, de otras enfermedades que causan de daños al hígado, constituye factor limitante para su diagnóstico y aun necesita mejor esclarecimiento.²⁹⁻³²

En conclusión, la Leishmaniasis Visceral debe ser considerada en el diagnóstico diferencial de hepatitis asociadas a fiebre prolongada, así como de síndromes colestáticas en niños procedentes de áreas endémicas para LV. Las pruebas de función hepática deben ser investigadas al comienzo de la LV.

Los parámetros de tiempo de protrombina y de albúmina sérica presentaron tendencia de asociación con la evolución de la LV. Son pocas y deficientes las publicaciones respecto de este problema, sobretodo en áreas endémicas para a LV.

Referencias

1. Badaró R, Duarte MIS. Leishmanose visceral (Kalazar). In: Veronesi R, Focçacia R (ed), Tratado de Infectologia. São Paulo; Atheneu; 1997;1234-1354.
2. Bouree P, Belec L. Leishmaniasis: report of 33 cases and a review of the literature. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 1993;16:251-265.
3. Caldas AJ, Costa JM, Silva AA, Vinhas V, Barral A. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in north-east Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2002; 96:21-28.
4. Benjamin B, Annobil SH, Bassuni WA. Clinical and laboratory features of childhood visceral leishmaniasis in Southwestern Saudi Arabia. *Annals of Saudi Medicine* 1994;b,14:107-110.
5. Benjamin B, Annobil SH, Bassuni WA. Diagnostic and management problems in childhood visceral leishmaniasis in Southwestern Saudi Arabia. *Annals of Tropical Paediatrics* 1994a;14:7-13.
6. Pastorino AC, Jacob CMA, Oselka GW, Carneiro Sampaio MMS. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. *Jornal de Pediatria* 2002;78:120-126.
7. Nyakundi PM, Wasunna KMA, Rashid JR, Gachihi GS, Mbugua J, Kirigi G, Muttunga J. Is one year follow-up justified in Kala-azar post-treatment? *East African Medical Journal* 1994;71:453-459.
8. Hervás JA, Albertí P, Ferragut J, Canet R. Acute hepatitis as a presenting manifestation of kala-azar. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 1991;10:409-410.
9. di Martino L, Vajro P, Nocerino A, Scotti S, Napolitano G, Vegnente A. Fulminant hepatitis in an Italian infant with visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical and Hygiene* 1992;86:34.
10. EL-Hag IA, Hashim FA, EL-Toum IA, Homeida M, EL-Kalifa M, eL-Hassan. Liver morphology and function in visceral leishmaniasis (Kala-azar). *Journal of Clinical Pathology* 1994;47:547-551.
11. Kager PA. Visceral leishmaniasis in the Netherlands. *Netherlands Journal of Medicine* 1985;28:477-481.
12. Khan KS, Riet G, Glanville J, Sowden AJ, Kleijnen J [Eds.]. Undertaking systematic reviews of research on effectiveness. CRD's guidance for those carrying out or commissioning reviews. CRD Report 4, 2001. En: <<http://www.york.ac.uk/~inst/crd/report4.htm>>.
13. McDonald S, Taylor L, Adams C. Searching the right database: a comparison of four databases for psychiatry journals. *Health Libraries Review* 1999;16:151-156.
14. Suárez-Almazor M, Belseck E, Homik J, Dorgan M, Ramos-Remus C. Identifying clinical trials in the medical literature with electronic databases. MEDLINE alone is not enough. *Controlled Clinical Trials* 2000;21:476-487.
15. Minozzi S, Pistotti V, Forni M. Searching for rehabilitation articles on MEDLINE and EMBASE: an example with cross-over design. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2000;81:720-722.
16. Castro AA, Clark AO, Atallah NA. Optimal search strategy for clinical trials in the Latin American and Caribbean Health Science Literature Database (LILACS). *Revista Paulista de Medicina* 1997;115:1423-1426.
17. Dickersin K, Scherer R, Lefebvre C. Identifying relevant studies for systematic reviews. *British Medical Journal* 1994;309:1286-1291.
18. Counsell C, Fraser H. Identifying relevant studies for systematic reviews. *British Medical Journal* 1995;310:126.
19. Jadad AR, Moher D, Klassen TP. Guides for reading and interpreting systematic reviews: II. How did the authors find the studies and assess their quality. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* 1998;152:812-817.
20. Figueiredo GC, Tavares-Neto J. Estruturação de um banco de dados para análise secundária de informações em relatos ou série de casos. *Revista Brasileira de Ortopedia* 2001;36: 407-411.
21. Kausalya S, Malla N, Ganguly NK, Mahajan RC. *Leishmania donovani*: in vitro evidence of hepatocyte damage by Kupffer cells and immigrant macrophages in a murine model. *Experimental Parasitology* 1993;77:326-333.
22. Khaldi F, Bennaceur B, Ben Othman H, Achouri E, Ayachi R, Regaieg R. Les formes sévères d'atteinte hépatique au cours de la leishmaniose viscérale: a propos de 7 cas. *Archives Française de Pédiatrie* 1990;47:257-260.
23. Singh UK, Sinha RK, Sharma VK. Fulminant hepatitis in Kala-azar. *Indian Journal of Pediatrics* 1995;62:571-574.
24. Elnour IB, Akinbami FO, Shakeel A, Venugopalan P. Visceral leishmaniasis in Omani children: a review. *Annals of Tropical Paediatrics* 2001;21:159-163.
25. Corbett CEP, Duarte MIS, Bustamante SE. Regression of diffuse intralobular liver fibrosis associated with visceral leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1993;49:616-624.
26. Moreno A, Marazuela M, Yebra M, Hernández MJ, Hellín T, Montalbán C, Vargas JA. Hepatic fibrin-ring granulomas in visceral leishmaniasis. *Gastroenterology* 1988;95: 1123-1126.
27. Ben-Becher SB, Zaafouri M, Ghram N, Hammami E, Khiari S, Boudhina T. Formes trompeuses de leishmanioses viscérales de l'enfant: a propos de 5 cas. *Medecine Tropicale* 1991;51:289-292.
28. Campos Júnior, D. Características clínico-epidemiológicas do Kalazar na criança (estudo de 75 casos). *Jornal de Pediatria* 1995;71:261-265.
29. Albertini M, Léger I, Marthy P, Gari-Toussaint M, Mary C, Saint Paul MC, Mariani R. Leishmaniose viscérale sévère avec atteinte hépatique. Intérêt diagnostique de la technique sérologique d'immunoempreinte. *Pédiatrie* 1993;48: 377-380.
30. Castagnola E, Tasso L, Timitilli A, Scalone A, Giacchino R. Visceral leishmaniasis presenting as autoimmune hepatitis in a two years old boy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1997;91:28.
31. Moragas A, Serrano A, Torán N. Acute form of visceral leishmaniasis in a 3-month-old infant. *Pediatric Pathology* 1986;6:111-117.
32. Raman TS, Ahuja SA, Mani KV, Jalpota YP, Adaval SK. Kala-azar--diagnostic dilemma. *Indian Pediatrics* 1992;29: 1036-1039.