

EDITORIAL

ASPIRAÇÃO ESPLÉNICA EM LEISHMANIOSE VISCERAL

A aspiração esplênica é o método mais confiável para o diagnóstico da leishmaniose visceral (LV). Simples e barato, não exige técnicas laboratoriais dispendiosas ou complicadas e pode ser realizado em áreas remotas. É rápido e de fácil aceitação por parte dos pacientes que o preferem à aspiração da medula óssea^{16 17 35 51}. Por que, então, a aspiração esplênica é tão pouco utilizada, mesmo em países com LV endêmica? Por que suscita controvérsia? É a sua segurança questionada por motivos justos? Desde que haja boa indicação e o procedimento seja realizado por técnica adequada e com as devidas precauções, para um lado se inclinará a balança: para suas vantagens ou desvantagens?

A aspiração esplênica tem gerado controvérsias desde a sua provável introdução na Europa, em meados do século XIX. Esse método foi abandonado devido a acidentes, mas reintroduzido por volta da virada do século, na pesquisa de doenças infecciosas com esplenomegalia^{24 28}. Donovan, em 1903, foi o primeiro a demonstrar o parasito causador de calazar, em vida, após a punção do baço de um paciente na Índia⁷. Por volta de 1909, a aspiração esplênica foi admitida na prática clínica, especialmente, mas não exclusivamente, para o diagnóstico de calazar²⁶. Esta era extensamente usada em todos os países em torno do Mar Mediterrâneo, no Sudão e, mais tarde, na Índia¹⁶.

Na década de 1920, a aspiração esplênica era praticada em muitas condições causando aumento de volume do baço, na Europa Central^{24 25} e, na década de 1950, era aconselhada nos Estados Unidos da América do Norte, para a investigação de doenças hematológicas e esplenomegalia de origem desconhecida^{3 5 10 22 34 36 46}.

Na Escandinávia, logo foi desenvolvido o diagnóstico citológico e sugerida a aspiração esplênica^{15 33 38}.

O desenvolvimento de outras técnicas de diagnóstico menos invasivas, para muitas das condições que, no passado, eram diagnosticadas

SPLENIC ASPIRATION IN VISCERAL LEISHMANIASIS

Splenic aspiration is the most reliable method of diagnosing visceral leishmaniasis (VL). It is simple and cheap, not requiring expensive or elaborate laboratory techniques and can be performed in remote areas. It is quick and acceptable to the patients who prefer it to bone marrow aspiration^{16 17 35 51}. Why then is splenic aspiration used so little even in VL endemic countries? Why does it arouse controversies? Is its safety questioned for right reasons? To what side would the balance of its advantages and disadvantages tip provided the procedure were done for good indications, with proper technique and with the right precautions?

Splenic aspiration has been controversial from its probable introduction in Europe in the mid 19th century. It was abandoned because of accidents but reintroduced around the turn of the century in the investigation of infectious diseases with splenomegaly^{24 28}. Donovan, in 1903, was the first to demonstrate the parasite causing kala azar during life after puncturing the spleen of a patient in India⁷. By 1909 splenic aspiration had entered clinical practice especially but not exclusively for the diagnosis of kala azar²⁶. It was widely used in all countries around the Mediterranean Sea, in the Sudan and, later, in India¹⁶.

In the 1920's splenic aspiration was practised in many conditions causing enlargement of the spleen in Central Europe^{24 25} and in the 1950's it was advocated in the USA for the investigation of haematological disorders and splenomegaly of unknown origin^{3 5 10 22 34 36 46}.

In Scandinavia cytological diagnosis was developed early and splenic aspiration advocated^{15 33 38}.

The development of other, less invasive diagnosis techniques for many of the conditions that in the past were diagnosed by splenic aspiration (like typhoid fever, malaria, Chagas's disease, tuberculosis, syphilis and endocarditis), and the introduction of bone marrow aspiration (practiced since 1928 for

pela aspiração esplênica (tais como: febre tifóide, malária, doença de Chagas, tuberculose, sífilis e endocardite) e a introdução da aspiração da medula óssea (praticada desde 1928 para doenças hematológicas) reduziram as indicações para aspiração esplênica. Quando o diagnóstico de calazar é improvável e onde outros procedimentos diagnósticos falharam, a aspiração esplênica, muitas vezes, é uma investigação útil. A aspiração cega pode produzir resultados em condição difusa do baço, a aspiração guiada por ultrassom é indicada para lesões localizadas e, provavelmente, mais freqüentemente praticada que publicada.

A literatura sobre aspiração esplênica é relativamente limitada. Uma pesquisa Medline, de 1960 a 1991, sobre baço ou esplênica juntamente com aspiração, biópsia ou punção em humanos resultou, respectivamente, em 38, 37 e 37 relatos em inglês, francês, alemão e holandês. Nove trabalhos sobre leishmaniose humana e aspiração esplênica foram mencionados.

Desde 1984, a aspiração esplênica tem sido descrita para fins de diagnóstico em hemat-oncologia^{2 9 13 18 27 39 41 42 43}, para diagnóstico e tratamento de cistos esplênicos e abscessos^{8 11 20 29 30 31 32 47} e algumas vezes em outras infecções além de LV^{21 40}. As aspirações foram feitas sob tomografia computadorizada ou (na maior parte) guiadas por ultrassom e algumas vezes durante laparoscopia^{44 45}. Na leishmaniose visceral a aspiração esplênica deve ser levada em consideração. O diagnóstico definitivo de LV é feito pela demonstração do parasita, o qual tem sido encontrado em todos os tecidos e secreções humanas. Com as técnicas disponíveis atualmente, não é prático pensar-se em outra coisa que não em aspirados do baço, medula óssea, fígado e gânglios linfáticos. O resultado de outros métodos, como cultura do sangue ou mesmo do creme leucocitário⁶, é muito precário para ser aconselhado.

Técnicas biológicas moleculares poderão mudar isto, mas ainda precisam ser utilizadas e avaliadas. É improvável que essas técnicas sejam extensamente aplicáveis em áreas endêmicas. Está fora do escopo deste editorial discutir os méritos relativos das técnicas indiretas de detecção de anticorpos e de抗原s. Raramente, os testes são avaliados adequadamente nas respectivas regiões pelos seus mencionados valores. São raros os testes simples,

haematological diseases) has reduced the indications for splenic aspiration. In conditions where kala azar is unlikely and where other diagnosis procedures have failed to yield a diagnosis it often is a useful investigation. Blind aspiration may yield results in a diffuse condition of the spleen, ultrasound guided aspiration is indicated for localized lesions, and probably is more often practised than published.

The literature on splenic aspiration is relatively limited; a Medline search from 1960 through 1991 under spleen or splenic together with aspiration, biopsy or puncture in humans revealed 38, 37 and 37 reports respectively, in English, French, German and Dutch. Nine reports of human leismaniasis and splenic aspiration were traced.

Since 1984 splenic aspiration has been described for diagnostic purposes in haemato-oncology^{2 9 13 18 27 39 41 42 43}, for diagnosis and treatment of splenic cysts and abscesses^{8 11 20 29 30 31 32 47} and sometimes in infections other than VL^{21 40}. Aspirations were done under computed tomographic or (mostly) ultrasound guidance and sometimes during laparoscopy^{44 45}.

In visceral leishmaniasis splenic aspiration has to be considered. The definitive diagnosis of VL is by demonstration of the parasite which has been found in all human tissues and secretions. With the presently available techniques it is not practical to look elsewhere other than in aspirates from the spleen, bone marrow, liver and lymph glands. The yield from other procedures like culturing of the blood or even of the buffy coat⁶ is too low to be advocated.

Molecular biological techniques may change this but this remains to be seen and evaluated. It is unlikely that these techniques will be widely applicable in the endemic areas. It is beyond the scope of this editorial to discuss the relative merits of indirect techniques of antibody and antigen detection. Tests are rarely assessed properly in the respective regions for their predictive values. Simple, practical yet reliable and affordable tests that can be performed at the periphery of

práticos, confiáveis e disponíveis, que podem ser realizados na periferia dos sistemas de saúde em áreas remotas. Um teste de aglutinação direta pode se aproximar desse objetivo¹².

Existem poucos estudos comparando técnicas parasitológicas nos mesmos pacientes^{14 37 50 51}; todos eles provaram a superioridade da aspiração esplênica. Pode ser proveitoso detalhar a técnica, nem sempre descrita nos livros textos de uso corrente. A técnica da aspiração esplênica já foi essencialmente descrita por Bousfield no Sudão em 1911⁴. As exigências básicas são: 1) o uso de uma agulha de pequeno calibre, 2) rapidez, devendo a agulha permanecer no baço o mais rápido possível, e retirar apenas algumas gotas de material, e 3) observação do paciente por algumas horas após o procedimento, de maneira que se possa tomar providência no caso de alguma complicação. Para técnicas utilizadas no passado, deve-se consultar alguma revisão¹⁶. De uma experiência no Kênia, resultaram as seguintes recomendações:^{17 23 48} usar agulha calibre 21 x 1^{1/4}" (0,8mm de diâmetro por 32mm de comprimento) acoplada a seringa de 5 a 10ml. Delinear o baço do paciente deitado. Fazer a aspiração 2-4cm abaixo da margem costal entre a linha média clavicular e a axilar anterior. Limpar a pele com álcool. Pode-se usar um método de duas ou de uma etapa. No método de duas etapas, a agulha é inserida na parede abdominal, exatamente sob a pele. Muitos pacientes com calazar são extremamente magros; deve-se tomar cuidado para não dilacerar a cápsula esplênica. A agulha aponta no sentido do crânio (ombro esquerdo) num ângulo de cerca de 45°. Puxa-se o êmbolo cerca de 1-2ml (vácuo) e enquanto se mantém o vácuo, empurra-se a agulha para o baço, por cerca de 2cm de profundidade, num movimento de entrada e saída muito rápido. Especialmente em crianças pequenas, deve-se preferir o método de uma etapa: insere-se a agulha no baço, através da parede abdominal, num movimento rápido, puxa-se o vácuo por 1-2ml e, enquanto se mantém o vácuo, retira-se, imediatamente, a seringa e a agulha. Isso deve acontecer num movimento rápido e fluente, para diante e para trás, permitindo que a agulha permaneça no baço por apenas uma fração de segundo. A rapidez assegura a não produção de dilaceração na cápsula esplênica. O inexperiente pode praticar num travessero.

the health care system in remote areas are scarce. A direct agglutination test may come close to this aim¹².

Only few studies comparing parasitological techniques in the same patient are available^{14 37 50 51}; they all proved the superiority of splenic aspiration.

It may be useful to dwell on the technique as little help is afforded by current textbooks. The technique of splenic aspiration was essentially already described by Bousfield in Sudan in 1911⁴. The basic requirements are: 1) the use of a small calibre needle, 2) speed, the needle being in the spleen as quickly as possible and aiming at a few drops of material only, and 3) observation of the patient for some hours after the procedure so that action can be taken in case of any complication. For techniques used in the past a review may be consulted¹⁶. Experience in Kenya has resulted in the following recommendations:^{17 23 48} a 21 Gauge x 1^{1/4}-inch needle (0.8mm diametre, 32mm long) attached to a 5 or 10ml syringe is used. The spleen of the lying patient is delineated. The aspiration is done some (2-4) cms below the costal margin between the midclavicular and anterior axillary line. The skin is cleaned with alcohol. One can use a two-step or a one-step method. In the two-step method the needle is inserted into the abdominal wall, just below the skin. Many kala azar patients are extremely thin; care must be taken not to scratch splenic capsule. The needle is aimed cranially (left shoulder) under an angle of about 45°. Now the plunger is withdrawn about 1-2ml ("vacuum") and while maintaining vacuum the needle is pushed into the spleen about 2cm deep in a very quick in-and out movement. Especially in young children the one-step method may be preferred: the needle is inserted in one quick movement through the abdominal wall into the spleen, vacuum is sucked to about 1-2ml and while maintaining vacuum, the syringe and needle are withdrawn immediately. This should happen in one quick fluent movement of to-and fro, allowing the needle to be in the spleen for a tiny part of a second only. The speed assures that no tear is made in the

Muitas vezes, nenhum material aparece na seringa e os espectadores dizem, suspirando, "negativo", e depois ficam surpresos em ver como muitas lâminas podem ser feitas. O pulso e a pressão sanguínea são registrados a cada meia hora durante as 4 primeiras horas e, depois, de hora em hora, por 4 a 6 horas. Aconselha-se repouso no leito por pelo menos, 4 ou 12 horas. No Quênia e no Sudão, muitas milhares de aspirações esplênicas foram feitas e, no sul do Sudão¹, estão sendo feitas em condições de campo e aí os pacientes são observados por um período de 2 a 4 horas e voltam para casa à tarde, 6-8 horas após o procedimento. Os líderes da comunidade são informados e solicitados a relatarem complicações.

Aconselha-se fazer a aspiração estando ao lado direito do paciente. Entrando pelo lado esquerdo, a agulha pode atingir sinusóides hilares, possivelmente aumentando o risco de sangramento, mas, também, prejudicando os resultados pela diluição do sangue. Técnicas para aspiração de baço do tamanho normal foram descritas^{19 49}, mas o presente autor jamais tentou esse método potencialmente perigoso. Aconselha-se fazer o tempo se sangramento e de coagulação. Quando o tempo de protrombina e o número de plaquetas podem ser determinados, eles devem ser feitos (um tempo de protrombina não maior que 5 segundos mais que o controle e uma contagem de plaquetas de pelo menos 40.000 por mm³ são recomendáveis, mas estes não são limites absolutos). Em muitas circunstâncias, especialmente no campo, isto não é possível. Tendência evidente de sangramento seria uma contra-indicação. Letargia, falta de cooperação e condições extremamente más são consideradas contra-indicações, ainda que se possa imaginar que especialmente esta última possa ser uma indicação numa tentativa de se encontrar uma patologia tratável.

Hemorragia é claramente a mais importante complicação, mas com acompanhamento após o procedimento e, se necessário, medidas de suporte, como gotejamento endovenoso, transfusão sanguínea ou esplenectomia, somente em situações extremamente raras levaria a graves problemas. A maioria das mortes relatadas na literatura e as poucas de que o autor teve notícias nos últimos 10 anos, ocorreram com o uso de métodos insatisfatórios, agulhas grandes, aspirações

splenic capsule. The inexperienced may practise on a pillow.

Often no material appears in the syringe and bystanders sigh "negative", to be amazed to see how many slides can be made. The pulse and bloodpressure are recorded 1/2 hourly for the first 4 hours then hourly for a further 4 to 6 hours. Bedrest for at least 4 or 12 hours is advised. In Kenya and Sudan many thousands splenic aspirations have been done and, in South Sudan¹ are being done in field conditions. Here patients are observed 2 to 4 hours and return home in the afternoon 6 to 8 hours after the procedure. The community leaders are informed and are asked to report complications.

It is advisable to do the aspiration standing on the right side of the patient. Entering from the left side the needle might reach hilar sinusoids possibly increasing the risk of bleeding but also spoiling the results by blood dilution. Techniques for aspiration of the normal sized spleen have been described^{19 49} but the present writer has never attempted this potentially dangerous procedure. A simple bleeding and clotting time are advisable. Where prothrombin time and platelet numbers can be assessed these should be done (a prothrombin time no longer than 5 seconds more than the control and a platelet count of at least 40.000 per mm³ are advised but they are no absolute limits). In many circumstances, especially in the field this is not possible. Overt bleeding tendency would be a contraindication. Lethargy, inability to cooperate and extremely bad condition are considered contraindications though one can imagine that especially the latter could be an indication in an attempt to find a treatable pathology.

Haemorrhage is clearly the most important complication but with observations after the procedure and if needed appropriate measures of an i.v. drip, blood transfusion or a splenectomy this should only in extremely rare situations lead to severe problems. Most deaths reported in the literature and the few that the writer has heard of in the past 10 years have occurred using unsatisfactory methods, large needles, prolonged aspirations or without

prolongadas ou sem acompanhamento após o procedimento, ou por falta de tomada de medidas, a despeito de evidentes sinais de hemorragia e de choque iminente^{16 17}. Um relatório recente sobre biópsia com uma agulha Trucut, com sangramento exigindo transfusão em 4 de 32 pacientes, e esplenectomia em 1 desses¹⁸, aponta novamente para os riscos maiores envolvidos em biópsias, ao invés de aspirações. Outras complicações de dor, infecção, aspiração accidental de outra víscera foram relatadas e são de pequena consequência e em caso de infecção devem ser evitadas.

A aspiração esplênica é indubitavelmente valiosa quando se suspeita do diagnóstico de calazar e quando se procura prova definitiva desse diagnóstico, por exemplo, em experiências de tratamento ou avaliação de outros métodos de diagnóstico. Em áreas onde considerações de diagnóstico diferencial em pacientes com esplenomegalia, com ou sem febre, são limitadas, pode-se consentir num diagnóstico clínico sorológico, mas em muitas áreas endêmicas o diagnóstico clínico está longe de ser satisfatório e testes sorológicos não são disponíveis nem confiáveis. A aspiração esplênica desempenha, definitivamente, um papel na medicina "moderna" em hemato-oncologia e em doenças infecciosas, além de LV, muitas vezes guiada por técnicas modernas de ultrassom e exploração por tomografia computadorizada, com uso de agulhas flexíveis. Tudo isto, naturalmente, concorre para o aumento de seus custos, mas é menos dispendiosa que a laparoscopia ou a esplenectomia, e menos incômoda e menos perigosa para o paciente. Também na medicina "moderna" ela é, provavelmente, subutilizada^{8 18 27 30 47}.

Nas zonas rurais tropicais, a aspiração esplênica é um método proveitoso, rápido, confiável, simples e barato, representando um risco muito limitado. Ela requer uma agulha pequena e uma seringa, uma lâmina, corante e um microscópio e, acima de tudo, alguém, não necessariamente um médico, mas instruído, dedicado às tarefas e aos seus pacientes. Nesta condições, a aspiração esplênica, embora sendo um método antigo, não deve ser abandonada nem esquecida.

observations after the procedure or for lack of measures being taken despite clear signs of haemorrhage and impending shock^{16 17}. A recent report on biopsies with a Trucut needle with bleeding requiring transfusion in 4 of 32 patients and splenectomy in 1 of these¹⁸, again points to the greater risks involved in biopsies, greater than in aspirations. Other complications of pain, infection, accidental aspiration of other viscera have been reported and are of little consequence and, in the case of infection should be avoidable.

Splenic aspiration is undoubtedly of value when kala azar is a consideration and when definite proof of this diagnosis is sought, e.g. in treatment trials or evaluation of other diagnostic procedures. In areas where differential diagnostic considerations in patients with splenomegaly with or without fever are limited one may be considered with a clinical and serological diagnosis but in many endemic areas the clinical diagnosis is far from satisfactory and serological tests are unavailable or unreliable. Splenic aspiration definitely also plays a role in "modern" medicine in haemato-oncology and infectious diseases other than VL, here often guided by modern techniques of ultrasound and CT scanning with the use of flexible needles. All this of course increases to its costs but it is less expensive than laparoscopy or splenectomy and less cumbersome and less dangerous for the patient. Also in "modern", medicine it is probably underused^{8 18 27 30 47}.

In the rural tropics splenic aspiration is a useful, quick, reliable, simple and cheap procedure that should carry a very limited risk. It requires a small needle and a syringe, a slide, stain and a microscope and above all someone, not necessarily a doctor, knowledgeable, devoted to her/his task and patients. Under these conditions splenic aspiration, though being an old procedure should not be abandoned nor forgotten.

REFERENCES

1. Ashford RW, Seaman J, Schorscher J, Pratlong F. Epidemic visceral Leishmaniasis in southern Sudan: identity and systematic position of the parasites from

patients and vectors. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 86:379-381, 1992.

2. Barbazza R, De-Martini A, Mognol M, Banzi A, D-Agata G. Fine needle aspiration biopsy of a splenic hemangioma. A case report with review of the literature. *Haematologica* 75:278-281, 1990.
3. Block M, Jacobson LO. Splenic puncture. *Journal of the American Medical Association* 142:641-647, 1956.
4. Bousfield L. Some remarks on kala-azar in the Sudan. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 5:234-239, 1911-1912.
5. Chatterjea JB, Arrau LM, Dameshek W. Splenic puncture. *British Medical Journal* 1:987-990, 1952.
6. Chulay JD, Adoyo MA, Githure JS. Leishmania donovani parasitaemia in Kenyan visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 79:218-222, 1985.
7. Donovan C. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. *British Medical Journal* 2:79, 1903.
8. Dwyer DE, Packhan DR, Sorrell T. Aspiration drainage of splenic abscesses. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 56:689-692, 1986.
9. Falk S, Stutte HJ. Hamartomas of the spleen: study of 20 biopsy cases. *Histopathology* 14:603-612, 1989.
10. Ferris DO, Hargraves MM. Splenic puncture. *Archives of Surgery* 67:402-407, 1953.
11. Goldfinger M, Cohen MM, Steinhardt MI, Rothberg R, Rother I. Sonography and percutaneous aspiration of splenic epidermoid cyst. *Journal of Clinical Ultrasonography* 14:147-149, 1986.
12. Harith AE, Kolk AHJ, Kager PA, Leeuwenburg J, Muigai R, Kuigu S, Laarman JJ. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies of visceral leismaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 80:583-586, 1986.
13. Henter JI, Elinder G. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. Clinical review based on the findings in seven children. *Acta Paediatrica Scandinavica* 80:269-277, 1991.
14. Ho EA, Soong TH, Li Y. Comparative merits of sternum, spleen and liver punctures in the study of human visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 41:629-636, 1948.
15. Johansen C. Diagnostisk Miltpunktur Ugesk f Laeger 113:933-937, 1951.
16. Kager PA, Rees PH. Splenic aspiration. Review of the literature. *Tropical Geographical Medicine* 35:11-124, 1983.
17. Kager PA, Rees PH, Manguyu FM, Bhatt KM, Bhatt SM. Splenic aspiration; experience in Kenya. *Tropical Geographical Medicine* 35:125-131, 1983.
18. Lindgreen PG, Hagberg H, Eriksson B, Glimelius B, Magnusson A, Sundstrom C. Excision biopsy of the spleen by ultrasonic guidance. *British Journal of Radiology* 58:853-857, 1985.
19. Moeschlin S. Spleen puncture (translated by Piney A.) London: Willian Heinemann Ltd., 1951.
20. Moir C, Guttman F, Jequier S, Sonnino R, Youssef S. Splenic cysts: aspirations, sclerosis, or resection. *Journal of Pediatric Surgery* 24:646-648, 1989.
21. Monkare S. Clinical aspects of farmer's lung: airway reactivity, treatment and prognosis. *European Journal of Respiratory Diseases (Supplement)* 137:1-68, 1984.
22. Morrison M, Samwick AA, Rubinstein J, Morrison H, Loewe L. Splenic aspiration. Clinical and hematological considerations based on observations in one hundred five cases. *Journal of the American Medical Association* 146:1575-1580, 1951.
23. Muigai R, Bryceson A. The diagnosis and management of leishmaniasis. *Postgraduate Doctor - Africa* 4:280-288, 1982.
24. Nagy von G. Ueber die Technik der Miltzpunktion und über ihren Diagnostischen Wert. *Klinische Wochenschrifte* 3:274-276, 1924.
25. Nassau E. Beitrag zur praktisch-diagnostischen Bedeutung der Miltzpunktion im Säuglingsalter. *Archiv der Kinderheilkunde* 78:203-206, 1926.
26. Nicolle C. Sur la technique de la ponction de la rate. *Bulletin de la Société Pathologique Exotique* 2:444-445, 1909.
27. Nosanchuck JS, Tyler WS, Terepka RH. Fine-needle aspiration of spleen: diagnosis of a solitary ovarian metastasis. *Diagnostic Cytopathology* 4:159-161, 1988.
28. Perlès SCA. La ponction de la rate. *Procédé de diagnostic cytologique*. Thèse. Paris: Masson & Cie, 1935.
29. Quinn SF, van Sonnenberg E, Casola G, Wittich GR, Neff CG. Interventional radiology in the spleen. *Radiology* 161:289-291, 1986.
30. Schwerk WB, Gorg C, Gorg K, Richter G, Beckh K. Percutaneous drainage of liver and splenic abscess. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 29:146-152, 1991.
31. Schwerk WB, Maroske D, Roth S, Arnold R. Ultrasound-guided fine-needle puncture in the diagnosis and therapy of liver and spleen abscesses. *Deutsche Medizinische Wochenschrifte* 111:847-853, 1986.
32. Sebag G, Anagnostopoulos C, Chagnon S, Jacquier P, Blery M. Splenic abscess. A new diagnostic and therapeutic approach. Apropos of 7 cases. *Journal of Radiology* 68:563-568, 1987.
33. Selroos O. Fine-needle aspiration biopsy of spleen in diagnosis of sarcoidosis. *Zeitschrift für Erkrankungen des Atmungsorgans* 149:109-111, 1977.

34. Shapiro HD, Watson RJ. Splenic aspirations in multiple myeloma. *Blood* 755-759, 1953.
35. Sharam K, Sinha RK. Fine needle aspiration biopsy of spleen in kala-azar. *Indian Pediatrics* 27:1287-1289, 1990.
36. Shields JW, Hargraves MM. An evaluation of splenic puncture. *Staff Meetings of the Mayo Clinics* 441-453, 1956.
37. Siddig M, Ghalib HW, Shillington DC, Petersen EA. Visceral leishmaniasis in the Sudan: comparative parasitological methods of diagnosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 82:66-68, 1988.
38. Söderstrom N. How to use cytodiagnostic spleen puncture. *Acta Medica Scandinavica* 199:1-5, 1976.
39. Spiers AS, Parekh SJ, Bishop MB. Hairy-cell leukemia: inductions of complete remission with pentostatin (2'-deoxycoformycin). *Journal of Clinical Oncology* 2:1316-1342, 1984.
40. Staib F. Detection of Cryptococcus neoformans in biopsy specimens from the spleen and the liver of AIDS patients: critical comments. *Mykosen* 29:551-555, 1986.
41. Susuki T, Shibuya H, Yoshimatsu S, Susuki S. Ultrasonically guided staging splenic tissue core biopsy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 60:879-882, 1987.
42. Swolin B, Weinfield A, Westin J, Waldenstrom J, Magnusson B. Karyotypic evolution in Ph-positive chronic myeloid leukemia in relation to management and disease progression. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 18:65-79, 1985.
43. Taavitsainen M, Koivuniemi A, Helminen J, Bondestam S, Kivisaari L, Pamilo M, Tierala E, Tüntinen H. Aspiration biopsy of the spleen in patients with sarcoidosis. *Acta Radiologica* 28:723-725, 1987.
44. Tesoro-Tess JD, Balzarini L, Ceglia E, Petrillo R, Santoro A, Musumeci R. Magnetic resonance imaging in the initial staging of Hodgkin's disease and non-Hodgkin lymphoma. *European Journal of Radiology* 12:81-90, 1991.
45. Tirelli U, Carbone A, Zagonel V, Volpe R, Veronesi A, Galligioni E, Tumolo S, Brema F, Trovo MG, Grigoletto E. Staging and treatment with cyclophosphamide, vincristine and prednisone (CVP) in advanced cutaneous T-cell lymphomas. *Hematological Oncology* 4:83-90, 1986.
46. Watson RJ, Shapiro HD, Ellison RR, Lichtman HC. Splenic aspiration in clinical and experimental hematology. *Blood* 10:259-271, 1955.
47. Wernecke K, Heckemann R. Treatment of pyogenic splenic abscess by ultrasonically guided fine needle puncture. *European Journal of Radiology* 5:216-217, 1985.
48. WHO Expert Committee. Control of the Leishmaniasis. World Health Organization Technical Report Series nº 793, 1990.
49. Wintrobe MM. *Clinical Hematology*. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981.
50. Young S. Kala-azar in Pi-Hsien District, Kiangsu Province, China. II Findings in films of spleen and liver puncture juice and some other observations in kala-azar. *Journal of the Shanghai Science Institute* 4:26-272, 1939.
51. Zijlstra EE, Siddig Ali M, El-Hassan M, El-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, Kager PA. Kala-azar: a comparative study of parasitological methods and the direct agglutination test in diagnosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 86:505-507, 1992.

P.A. Kager
Department of Infectious Diseases
Tropical Medicine and AIDS
University of Amsterdam