

# La febbre bottonosa del Mediterraneo in età pediatrica e in età adulta: due realtà cliniche differenti nella stessa malattia

## ***Mediterranean spotted fever in paediatric and adult patients: two clinical aspects of the same disease***

Claudia Colomba<sup>1</sup>, Laura Saporito<sup>1</sup>, Lucia Siracusa<sup>1</sup>,  
Giovanni Giammanco<sup>2</sup>, Silvia Bonura<sup>1</sup>, Lucina Titone<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute, Sezione di Malattie Infettive, Università degli Studi di Palermo, Italy;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Palermo, Italy

### ■ INTRODUZIONE

La febbre bottonosa del Mediterraneo (FBM) è una malattia infettiva a decorso acuto causata da *Rickettsia conorii* e trasmessa all'uomo dalla zecca del cane *Rhipicephalus sanguineus*, considerata la zecca più comune nel bacino del Mediterraneo. La reale incidenza della FBM non è nota, dal momento che nella maggior parte dei Paesi non esiste un programma attivo di sorveglianza epidemiologica. Il numero dei casi in Italia, così come in altri paesi, sembra essere aumentato nell'ultimo ventennio e in particolare in Sicilia oggi vengono notificati quasi 500 casi annui, un quinto dei quali si verifica in età pediatrica [1].

Per diverse decadi *R. conorii* è stata considerata la sola specie causa di FBM in Europa. Nell'ultimo ventennio il più diffuso impiego delle tecniche di biologia molecolare ha permesso l'identificazione di nuove specie e sottospecie di rickettsie quali nuovi patogeni emergenti responsabili di malattie che si presentano con quadri clinici nuovi e diversi dalla classica forma di FBM. Nel 1996 e nel 1997 sono stati descritti in Francia i primi casi di infezione umana da *R. mongolotimonae* e *R. slovaca*; nel 2003 in Sicilia è stata identificata nella zecca *R. israeli*, già riconosciuto agente eziologico di rickettsiosi in Portogallo [2-6]. *R. massiliae*, identificata per la

prima volta a Marsiglia, è stata riconosciuta agente di malattia nel 2006 in Sicilia [7].

La FBM è una malattia che clinicamente si presenta, dopo un periodo di incubazione di circa una settimana dal morso della zecca, con febbre, cefalea, artromialgie; dopo 3-4 giorni compare un esantema maculo-papuloso nodulare, bottoniforme ad estensione caudo-craniale e diffuso su tutto il mantello cutaneo, incluse le superfici palmo-plantari [8, 9]. La diagnosi si fonda su criteri epidemiologici, clinici e sierologici. La conferma di laboratorio si ottiene con la ricerca di anticorpi specifici anti-*R. conorii* mediante tecniche immunoenzimatiche o di immunofluorescenza indiretta [10]. La terapia con tetracicline e, in età pediatrica, con i macrolidi, consente la guarigione completa [11-13]. Forme gravi e complicate possono instaurarsi in adulti con patologie associate.

### ■ OBIETTIVO

Obiettivo del nostro studio è quello di confrontare le caratteristiche cliniche e di laboratorio della FBM nella popolazione pediatrica e adulta mediante l'analisi dei risultati ottenuti in due studi da noi condotti con la medesima metodologia su un campione di bambini e su uno di adulti provenienti dalla stessa area geografica.

## PAZIENTI E METODI

Sono stati inclusi nello studio i pazienti ricoverati per sospetta FBM presso l'U.O.C di Malattie infettive del Policlinico Universitario Paolo Giaccone di Palermo nel periodo compreso tra Gennaio 2007 e Agosto 2010 e i pazienti pediatrici ricoverati presso l'ospedale G. Di Cristina tra Gennaio 1997 e Dicembre 2004. Al momento del ricovero tutti i pazienti sono stati sottoposti all'esame clinico e ai seguenti esami di laboratorio: emocromo completo, azotemia, creatinina, AST/ALT, VES, esame d'urina. La ricerca degli anticorpi specifici anti-*R. conorii* è stata effettuata, al ricovero e dopo due settimane, su tutti i pazienti con metodica di immunofluorescenza indiretta usando un Kit del commercio (*Rickettia conorii*-spot; bio-Merieux, Marcy l'Etoile, Francia). La PCR anti-*Rickettsia* è stata effettuata su alcuni campioni provenienti dai pazienti adulti. Per l'esecuzione del test sono state utilizzate sonde sequenza-specifiche marcate con fluorofori FRET (test di idrolisi della sonda -TaqMan- fase per fase). La diagnosi di FBM veniva confermata secondo criteri epidemiologici, clinici e laboratoristici [10]. I pazienti pediatrici sono stati trattati con Cloramfenicolo (50 mg/kg/die per os o ev per 7 gg) o con un macrolide (claritromicina 15 mg/kg/die in due dosi per 7 gg o azitromicina 10 mg/kg/die in unica somministrazione per 3 gg). I pazienti adulti invece sono stati trattati con doxiciclina (100 mg due volte al dì per os per 7 giorni) o con un fluorochinolone.

Il tempo di defervescenza è stato definito come il periodo di tempo intercorrente tra l'inizio

della terapia antibiotica e la prima defervescenza costante (temperatura ascellare di 37°C per almeno tre gg consecutivi).

La valutazione dei dati ottenuti dal confronto tra pazienti adulti e pediatrici si è basata sulla determinazione del livello di significatività osservato (p-value) tramite il test chi-quadrato.

## RISULTATI

Abbiamo studiato 415 pazienti pediatrici e 58 adulti. La maggior parte dei casi di malattia si è verificata tra Luglio e Settembre nel corso di tutti gli anni ed in entrambe le popolazioni. L'età mediana dei pazienti pediatrici era di 6 anni (range: 1 mese-15 anni), quella della popolazione adulta era di 49 anni (range: 15 anni-77 anni). I pazienti maschi erano 245 (59%) nella popolazione pediatrica e 44 (75,8%) nella popolazione adulta.

Anamnesticamente in 13 casi (22,4%) adulti e in 86 (20,7%) pediatrici era avvenuto il contatto con cani, mentre il morso della zecca era documentabile in 9 (15,5%) adulti e 142 (34,2%) bambini. In Tabella 1 vengono segnalate le principali caratteristiche cliniche dei 58 casi adulti e dei 415 casi pediatrici.

Per quanto riguarda l'esantema, questo era tipico in 374 (95,4%) casi pediatrici e in 42 (82,3%) casi adulti. Tra i 18 bambini che presentavano un esantema atipico, 9 (2,3%) avevano una forma petecchiale, 8 (2%) vescicolare, 1 emorragica e vescicolare insieme (0,2%). Le nove forme atipiche osservate negli adulti avevano tutte un'espressività emorragica. Le forme anesante-

**Tabella 1 - Caratteristiche cliniche dei 415 bambini e dei 58 adulti ricoverati per FBM.**

Manifestazioni cliniche	Adulti (58) (%)	Bambini (415) (%)	P
Febbre	49 (84,5%)	386 (92,8%)	<0,005
Esantema	51 (88%)	392 (94,2%)	0,056
Tache noir	34 (58,6%)	263 (63,2%)	0,483
Linfoadenopatia loco-regionale	13 (22,4%)	214 (51,4%)	<0,005
Cefalea	38 (65,5%)	122 (29,3%)	<0,005
Artralgie	36 (62%)	158 (38%)	<0,005
Sintomatologia gastrointestinale	9 (15,5%)	116 (27,8%)	<0,005
Epatosplenomegalia	21 (36,2%)	273 (65,6%)	<0,005
Iniezione congiuntivale	5 (8,6%)	53 (12,7%)	0,366
Meningismo	1 (1,7%)	3 (0,7%)	0,435

**Tabella 2 - Esami di laboratorio dei 415 bambini e dei 58 adulti ricoverati per FBM.**

Esami di laboratorio	Adulti n=58 N (%)	Bambini n=415 N (%)	P
Leucopenia ( $\leq 5000/\text{mm}^3$ )	2 (3,4%)	114 (7,5%)	<0,001
Leucocitosi ( $\geq 10000/\text{mm}^3$ )	5 (8,6%)	46 (11,1%)	0,57
Trombocitopenia ( $\leq 150000/\text{mm}^3$ )	36 (62%)	54 (13%)	<0,001
Trombocitosi ( $\geq 400000/\text{mm}^3$ )	0	9 (2,2%)	0,26
AST/ALT ( $\geq 50$ IU/ml)	31 (65,5%)	87 (21%)	<0,001
Ematuria	18 (31%)	145 (68,4%)	0,56
Proteinuria	10 (17,2%)	105 (49,5%)	0,18

matiche pediatriche erano caratterizzate da febbre, *tache noire* e linfadenopatia in 16 casi, febbre e *tache noire* in 2 casi, *tache noire* e linfadenopatia in 2 casi, *tache noire* solamente in altri 2 casi e febbre e linfadenopatia in 1 caso. Gli adulti con forme anesantematiche presentavano: 3 febbre, *tache*, artromialgie e cefalea, 2 febbre, *tache* e linfonodite regionale, 1 febbre e linfadenite e 1 febbre. I parametri ematochimici dei bambini e degli adulti con FBM sono indicati in Tabella 2. Per quanto concerne la diagnosi sierologica nei bambini, la ricerca degli anticorpi specifici è stata effettuata in 365 (87,9%) casi e confermata in 232 (63,6%) soggetti. Di questi, 154 presentavano positività all'esame sierologico al ricovero mentre in 78 casi si documentava la sieroconversione al secondo controllo. Tra i pazienti adulti, 49 (84,5%) possedevano gli anticorpi specifici; in particolare, 23 soggetti li presentavano al ricovero, in 6 veniva documentata la sieroconversione dopo 2 settimane. In tutti i casi sierologicamente negativi la diagnosi veniva fatta sulla base dei criteri clinici ed epidemiologici.

La real-time PCR su campione di sangue è stata eseguita in 50 casi adulti e soltanto in 5 ha consentito l'identificazione del DNA di *Rickettsia conorii*. Per quanto riguarda la terapia dei pazienti con FBM, 107 bambini sono stati trattati

con cloramfenicolo, 230 con claritromicina e 78 con azitromicina. 57 pazienti adulti sono stati trattati con doxiciclina, 1 con doxiciclina e levofloxacina.

Il tempo di defervescenza e la durata media di ospedalizzazione nei differenti gruppi di trattamento sono indicati in Tabella 3.

Il decorso della malattia è stato favorevole in tutti i casi pediatrici e solo un caso si è complicato con un quadro di meningoencefalite. Tra gli adulti invece, complicanze si sono avute in 5 (8,6%) casi (2 casi di IRA, 1 caso di meningoencefalite, 1 caso di fibrillazione atriale e 1 caso di esofagite erpetica).

## DISCUSSIONE

La FBM è una malattia acuta causata da *R. conorii* e trasmessa all'uomo dalla comune zecca del cane *Rhipicephalus sanguineus* che funge non solo da vettore ma anche da serbatoio così che il contatto con il cane non è necessario, come d'altronde testimonia la scarsa incidenza di questo fattore di rischio in tutta la nostra casistica.

Per quel che concerne le manifestazioni cliniche, la FBM assume, nel bambino, caratteristiche particolari e si presenta di regola come una malattia a decorso benigno, non di rado autolimitante e priva di complicanze [8, 9, 14]. Al contrario, nell'adulto, oltre che per la possibilità di complicanze anche gravi che possono manifestarsi, la malattia si presenta in forma più aggressiva e meno prevedibile [15, 16]. Le principali differenze relative alla presentazione clinica della malattia nei bambini e negli adulti studiati riguardano la gravità della cefalea e dell'artromialgia, sintomi più frequenti in modo significativo nella popolazione adulta. Il fatto che la cefalea, sintomo tipico e altamente pro-

**Tabella 3 - Efficacia della terapia antibiotica impiegata nei 415 bambini e nei 58 adulti ricoverati per FBM.**

	Adulti n=58	Bambini n=415
Tempo medio di defervescenza (ore)	57,16	43,23
Durata media di degenza (giorni)	5,19	4,3

strante nella malattia dell'adulto, e le artromialgie siano meno presenti nei bambini affetti da FBM, può rendere ragione della presentazione clinica più lieve in questi ultimi. Nessun adulto facente parte dello studio ha sviluppato segni di artrite e/o compromissione della funzionalità articolare, mentre 3 bambini hanno sviluppato artrite; allo stesso modo, nessun paziente adulto ha sviluppato orchite, mentre un bambino ha sviluppato tale complicanza.

Le forme cliniche tipiche esantematiche sono le più frequenti in entrambi i gruppi; le forme esantematiche atipiche invece hanno un'espressività più variegata nel bambino rispetto all'adulto che presenta prevalentemente esantemi ad espressività emorragica. La prevalenza dei sintomi relativi al coinvolgimento del tratto gastrointestinale è maggiore nei bambini dove è significativamente più frequente il riscontro di epato-splenomegalia.

Per quanto riguarda gli esami di laboratorio abbiamo osservato differenze nella popolazione adulta e pediatrica: la piastrinopenia e l'incremento delle transaminasi sono significativamente più frequenti nell'adulto e di raro riscontro nel bambino.

Il decorso della malattia è stato favorevole in tutti i casi pediatrici eccetto uno che si complicava con un quadro di meningoencefalite. L'evoluzione della FBM negli adulti, pur essendo tendenzialmente favorevole, può essere contrassegnata da complicanze anche gravi, secondarie ad un danno vascolare multi-focale che interessa ogni organo ma che più spesso si concretizza in un danno a carico di cuore, rene e SNC [16, 17].

Numerose sono le descrizioni di forme gravi in età adulta in soggetti con comorbidità e fattori di rischio noti quali diabete mellito, insufficienza renale cronica, malattia cardiovascolare, alcolismo. Sempre più frequenti diventano anche le descrizioni di casi complicati di FBM che insorgono in soggetti precedentemente sani senza fattori di rischio [18, 19]. Nella nostra casistica la malattia ha avuto un decorso favorevole nel 91,4% dei casi adulti in cui, dopo il trattamento per 7 giorni con doxiciclina per os, si è assistito allo sfebbramento e alla scomparsa progressiva della sintomatologia, fino alla completa remissione. Cinque pazienti adulti (8,6%) hanno sviluppato complicanze gravi e, tra questi, due presentavano patologie di base (1 paziente cardiopatico sviluppava IRA, 1 affetto da IRC si complicava con pneumotorace) che potevano rendere ragione dell'evoluzione sfavorevole;

tre pazienti invece, in assenza di comorbidità, sviluppavano complicanze.

La meningoencefalite ha complicato il caso di una donna di 31 anni, che presentava un quadro clinico tipico di FBM con sierologia specifica positiva (IgM: 1:200 e IgG: 1:800) in fase acuta di malattia. In seconda giornata di esantema la paziente presentava segni di coinvolgimento neurologico quali afasia, agitazione, stato confusionale, alternantisi con stato di depressione psicomotoria; veniva quindi sottoposta a rachicentesi e il liquido cefalo-rachidiano non mostrava alterazioni chimico-fisiche. Tutti gli esami microbiologici (colturali e di biologia molecolare per *Rickettsia* e virus erpetici) condotti su liquor davano esito negativo. La TC dell'encefalo non mostrava lesioni focali o diffuse a carico del parenchima cerebrale o segni di impregnazione meningea. La sintomatologia neurologica acuta durava 36 ore e si risolveva completamente dopo terapia con doxiciclina e levofloxacina.

Altro caso complicato è stato quello di un paziente di 58 anni, senza storia di cardiopatia e ipertensione, che veniva ricoverato presso l'U.O. di Cardiologia per l'insorgenza di fibrillazione atriale in corso di ipertensione e cefalea. Anche in questo caso la sierologia per *Rickettsia conorii* risultava positiva in fase acuta (IgM 1:640, IgG 1:320). Dal punto di vista fisiopatologico è possibile che *R. conorii*, patogeno intracellulare, invada le cellule endoteliali causando una flogosi perivasale che funge da trigger per l'aritmia. Il processo infiammatorio che coinvolge le cellule dell'endocardio gioca un ruolo rilevante nella genesi della fibrillazione atriale e un infiltrato di cellule infiammatorie al livello dell'endocardio atriale sinistro è stato dimostrato in soggetti con tale aritmia.

Il terzo caso di FBM a particolare gravità clinica si è presentato in un uomo di 50 anni in cui la FBM si complicava con un quadro di esofagite erpetica documentata endoscopicamente. In terza giornata di malattia, a seguito della comparsa di un grave dolore retro-sternale e di melena, il paziente veniva sottoposto ad esofago-gastro-duodenoscopia che mostrava gravi lesioni ulcerative, a margini rilevati, fondo essudativo, estendentesi per tutta la lunghezza dell'esofago. Il test ELISA confermava la presenza di alti titoli di IgG anti-HSV1. Il trattamento con acyclovir e omeprazolo portava dopo 48 ore alla scomparsa della sintomatologia e alla risoluzione del quadro endoscopico documentato dopo 1 mese.

Per ciò che riguarda la diagnosi della FBM è indubbia l'importanza di un criterio che si avvalga di dati epidemiologici, clinici e di laboratorio dal momento che i test sierologici hanno il grosso limite della scarsa sensibilità se eseguiti in fase acuta [10]. Solo il 37% dei bambini e il 40% degli adulti aveva la sierologia positiva in fase acuta di malattia; nei rimanenti casi la sierconversione veniva documentata a distanza di 2 settimane, quando il paziente tornava a controllo. Altro limite della diagnosi sierologica è la sua scarsa specificità ovvero l'impossibilità di distinguere tra le varie specie di rickettsie che solo con metodiche di biologia molecolare possono essere identificate.

Nelle ultime decadi diverse rickettsiosi sono state descritte in Europa e altrettante specie identificate con tecniche di biologia molecolare nelle zecche e nell'uomo. Le tecniche di biologia molecolare rappresentano oggi il *gold-standard* per la diagnosi di FBM e consentono il ricono-

scimento di forme cliniche atipiche che, in quanto legate a specie differenti da *R. conorii*, risultano negative alle indagini sierologiche e rimangono misconosciute [20]. Nella nostra esperienza soltanto in 5 dei 50 pazienti adulti testati, la PCR su sangue ha documentato la presenza del DNA di *Rickettsia spp.* risultato questo spiegabile con l'osservazione che al momento dell'esame quasi tutti i pazienti avevano assunto almeno una dose di terapia antibiotica specifica che indubbiamente aveva contribuito a ridurre la carica batterica ematica.

Concludendo, la FBM è una malattia infettiva la cui espressività clinica è fortemente condizionata dalle condizioni generali dell'ospite e dall'età del paziente: benigna e autolimitantesi in età pediatrica, grave ed insidiosa in età adulta.

*Key words:* Mediterranean Spotted Fever, *Rickettsia conorii*, *Rhipicephalus sanguineus*, children, tache noire.

## RIASSUNTO

La febbre bottonosa del Mediterraneo (FBM) è una malattia acuta febbrile causata da *Rickettsia conorii* e trasmessa all'uomo dalla zecca bruna del cane *Rhipicephalus sanguineus*. Ogni anno vengono notificati circa 400 casi in Sicilia (principalmente tra Giugno e Settembre). Obiettivo del nostro studio è quello di confrontare le caratteristiche clinico-laboratoristiche della FBM nella popolazione pediatrica e adulta. Abbiamo incluso nello studio i pazienti ricoverati per sospetta FBM presso l'U.O.C di Malattie infettive del Policlinico Universitario "Paolo Giaccone" di Palermo tra Gennaio 2007 e

Agosto 2010 e i bambini ricoverati presso l'ospedale "G. Di Cristina" tra Gennaio 1997 e Dicembre 2004. Tutti i pazienti sono stati sottoposti all'esame clinico e agli esami di laboratorio; la ricerca degli anticorpi specifici anti-*R. conorii* è stata effettuata con metodica di immunofluorescenza indiretta; la PCR anti-*Rickettsia* è stata effettuata su alcuni campioni provenienti dai pazienti adulti. Dall'analisi dei risultati abbiamo osservato come in età pediatrica la FBM si confermi una malattia benigna e autolimitante; diversamente, nell'adulto si presenta più spesso in forma grave e complicata.

## SUMMARY

*Mediterranean Spotted Fever is an acute febrile disease caused by Rickettsia conorii and transmitted to humans by the brown dog tick Rhipicephalus sanguineus. Nearly 400 cases are reported every year in Sicily, mainly from June to September. The aim of this study is to compare the clinical and laboratory features of two different groups of patients, one of adults and one of children. The analysis included all adult patients with MSF diagnosed at the Institute of Infectious Diseases, "Paolo Giaccone" University Polyclinic in Palermo, during the period January 2007 - August 2010 and all*

*the children diagnosed with MSF at the "G. Di Cristina" Children's Hospital in Palermo during the period January 1997- December 2004. On admission, a complete physical and laboratory examination was carried out on every patient. An indirect immunofluorescence assay for Rickettsia conorii was performed in every case, a PCR assay was performed with blood samples from some adult patients.*

*Analysis of the results confirms that MSF is a benign, and self-limiting disease in children, while severe complications can often arise in adults.*



## ■ BIBLIOGRAFIA

- [1] Ministero della Salute. Bollettino Epidemiologico Nazionale [http://www.ministerosalute.it/promozione/malattie/bollettino.jsp]
- [2] Raoult D., Brouqui P., Roux V. A new spotted fever group rickettsiosis. *Lancet* 348, 412, 1996.
- [3] Raoult D., Berbis P., Roux V., Xu W., Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet* 350, 112-113, 1997.
- [4] Giammanco G., Mansueto S. Ammatuna P., Vitale G. Israeli spotted fever Rickettsia in Sicilian Rhipicaphalus sanguineus tick. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 892-893, 2003.
- [5] Bacellar F., Beati L., Franca A., Pocas J., Regnery R., Filipe A. Israeli spotted fever rickettsia (*Rickettsia conorii* complex) associated with human disease in Portugal. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 835-836, 1999.
- [6] Zhu Y., Fournier P.E., Ereemeeva M., Raoult D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia conorii* based on multi-locus sequence typing and emended description of *Rickettsia conorii*. *BMC Microbiol.* 5, 1-11, 2005.
- [7] Vitale G., Mansueto S., Rolain J.M., Raoult D. *Rickettsia massiliae* human isolation. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 1, 174-175, 2006.
- [8] Cascio A., Dones P., Romano A., Titone L. Clinical and laboratory findings of boutonniere fever in Sicilian children. *Eur. J. Pediatr.* 157, 482-486, 1998.
- [9] Antón E., Font B., Muñoz T., Sanfeliu I., Segura F. Clinical and laboratory characteristics of 144 patients with Mediterranean spotted fever. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 22, 126-128, 2003.
- [10] Raoult D., Tissot-Dupont H., Caraco P., Brouqui P., Drancourt M., Charrel C. Mediterranean spotted fever in Marseille: descriptive epidemiology and the influence of climatic factors. *Eur. J. Epidemiol.* 8, 192-197, 1992.
- [11] Cascio A., Colomba C., Di Rosa D., Salsa L., Di Martino L., Titone L. Efficacy and safety of clarithromycin as treatment for Mediterranean spotted fever in children: a randomized controlled trial. *Clin. Infect. Dis.* 33, 3, 409-411, 2001.
- [12] Cascio A., Colomba C., Antinori S., Paterson D.L., Titone L. Clarithromycin versus Azithromycin in the treatment of Mediterranean spotted fever in children: a randomized controlled trial. *Clin. Infect. Dis.* 34, 154-158, 2002.
- [13] Cascio A., Colomba C. Macrolides in the treatment of children with Mediterranean spotted fever. *Infez. Med.* 3, 145-150, 2002.
- [14] Colomba C., Saporito L., Polara V.F., Rubino R., Titone L. Mediterranean spotted fever: clinical and laboratory characteristics of 415 Sicilian children. *BMC Infect. Dis.* 22, 6, 60, 2006.
- [15] Bellissima P., Bonfante S., La Spina G., Turturici M.A., Bellissima G., Tricoli D. Complications of mediterranean spotted fever. *Infez. Med.* 3, 158-162, 2001.
- [16] Saporito L., Giammanco G.M., Rubino R., et al. Severe Mediterranean spotted fever complicated by acute renal failure and herpetic oesophagitis. *J. Med. Microbiol.* 59, 8, 990-992, 2010.
- [17] Colomba C., Saporito L., Colletti P, et al. Atrial fibrillation in Mediterranean spotted fever. *J. Med. Microbiol.* 57, 11, 1424-1426, 2008.
- [18] Tsiachris D., Deutsch M., Vassilopoulos D., Zafiropoulou R., Archimandritis A.J. Sensorineural hearing loss complicating severe rickettsial diseases: Report of two cases. *J. Infect.* 56, 74-76, 2008.
- [19] Tzavella K., Chatzizisis Y.S., Vakali A., Mandraveli K., Zioutas D., Alexiou-Daniel S. Severe case of Mediterranean spotted fever in Greece with predominantly neurological features. *J. Med. Microbiol.* 55, 3, 341-343, 2006.
- [20] Balraj P., Vestris G., Raoult D., Renesto P. Comparison of *Rickettsia conorii* growth within different cell lines by real-time quantitative PCR. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, Suppl 2, 294-295, 2009.