

Dijagnostika rikecioza: rezultati Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Tatjana VILIBIĆ-ČAVLEK¹⁾, dr. sc., dr. med., specijalist medicinske mikrobiologije s parazitologijom

Sunčana LJUBIN-STERNAK¹⁾, doc. dr. sc., dr. med., specijalist medicinske mikrobiologije s parazitologijom

Branko KOLARIĆ²⁾, doc. dr. sc., dr. med., specijalist epidemiologije

Gordana MLINARIĆ-GALINOVIĆ¹⁾, prof. dr. sc., dr. med., specijalist medicinske mikrobiologije s parazitologijom

¹⁾Odjel za virologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

²⁾Služba za socijalnu medicinu i gerontologiju, Zavod za javno zdravstvo Zagrebačke županije i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Ključne riječi

Rickettsia typhi
Rickettsia conorii
dijagnostika

Key words

Rickettsia typhi
Rickettsia conorii
diagnosis

Primljeno: 2012–11–11

Received: 2012–11–11

Prihvaćeno: 2012–12–18

Accepted: 2012–12–18

Uvod

Rikecioze su skupina bolesti uzrokovane obligatnim unutarstaničnim bakterijama roda *Rickettsia*. Vrste roda *Rickettsia* svrstane su u tri skupine: skupina pjegavih tifusa (*R. prowazekii*, *R. typhi*), skupina pjegavih groznica s više od dvadeset vrsta (*R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. africae*, *R. heilongjiangensis*, *R. australis*, *R. slovacica*, *R. sibirica*, *R. honei*, *R. japonica*, *R. parkeri*, *R. akari* i dr.) te skupina tzv. starijih (engl. *ancestral*) rikecija (*R. canadensis*, *R.*

Stručni rad

U razdoblju od 2009. do 2012. godine u Odsjeku za serološku dijagnostiku Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo testirana su ukupno 124 uzorka seruma na prisutnost IgM/IgG protutijela na *Rickettsia typhi* i *Rickettsia conorii* metodom indirektno imunofluorescencije. Ispitanici su bili s područja 12 hrvatskih županija. U 10 (8 %) testiranih uzoraka dokazana su IgG protutijela na *R. typhi*, a u 36 (29 %) uzoraka IgG protutijela na *R. conorii*. Od njih je 5 (4 %) bilo seropozitivno na obje rikecije. Seroprevalencija se nije značajno razlikovala između muškaraca i žena kao niti između dobrih skupina. Seropozitivni bolesnici bili su iz četiri županije priobalnog područja (Istarska, Ličko-Senjska, Šibensko-kninska i Dubrovačko-neretvanska županija), tri županije istočne Hrvatske (Požeško-slavonska, Brodsko-posavska i Osječko-baranjska županija) te područja grada Zagreba. Tijekom navedenog razdoblja, akutna infekcija *R. typhi* nije dokazana niti u jednog bolesnika. Akutna infekcija *R. conorii* dokazana u 11 bolesnika (pozitivan nalaz IgM/IgG protutijela) uz sezonsku pojavnost, od svibnja do studenog.

Diagnosis of rickettsioses: Results of the Croatian National Institute of Public Health

Professional paper

In the period from 2009–2012, a total of 124 serum samples were tested at the Laboratory for serologic diagnosis, Croatian National Institute of Public Health for the presence of IgM/IgG antibodies to *R. typhi* and *R. conorii* using indirect immunofluorescence method. Participants were from twelve Croatian counties. Eight percent of patients demonstrated IgG antibodies to *R. typhi*, 29 % of patients IgG antibodies to *R. conorii* while five subjects (4.0 %) were seropositive to both rickettsia. Seroprevalence did not differ statistically among males and females as well as among age groups. Seropositive participants were from four counties of the coastal areas (Istria, Lika-Senj, Šibenik-Knin and Dubrovnik-Neretva county), three counties of eastern Croatia (Požega-Slavonija, Brod-Posavina and Osijek-Baranja county) and Zagreb county. During the tested period, acute murine typhus was not documented while the Mediterranean spotted fever was detected in 11 patients (positive for IgM/IgG antibodies) with a seasonal occurrence, from May to November.

bellii). Osim epidemijskog pjegavca, sve su rikecioze zoonoze koje se na ljude prenose zaraženim člankonošcima (krpelji, uši, buhe, grinje) [1].

Rikecijske su bolesti rasprostranjene širom svijeta gdje se održavaju u endemskim područjima, često i s epidemijskim pojavljivanjem [2]. Posljednjih su dvadesetak godina zabilježene infekcije uzrokovane novootkrivenim vrstama kao i širenje pojedinih rikecioza izvan poznatih endemskih područja te ponovno epidemijsko javljanje već poznatih [3–5]. Od za ljude patogenih rikecija, na

području Hrvatske dokazana je prisutnost *R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. conorii* te *R. akari* [6–10].

R. prowazekii uzročnik je epidemijskog pjegavog tifusa (typhus exanthematicus). Prirodni domaćin *R. prowazekii* je čovjek, a vektor prtena uš *Pediculus humanus corporis*. Nakon preboljenja bolesti, rikecije ostaju godinama u retikuloendotelnim stanicama te uslijed slabljenja imuniteta može doći do kasnog recidiva tj. Brill-Zinsserove bolesti. Osobe s Brillovom bolešću predstavljaju rezervoar za epidemični pjegavac u interepidemijskom razdoblju [2]. U Hrvatskoj su se nakon drugog svjetskog rata javljali bolesnici oboljeli od epidemijskog tifusa, a sada se još katkad dijagnosticira Brillova bolest.

R. typhi uzročnik je endemijskog ili murinog (štakorskog) tifusa. Murini tifus je rasprostranjen po čitavom svijetu. Prirodni rezervoar su štakori (*Rattus* spp.), a vektor štakorska buha (*Xenopsylla cheopis*) [11]. U Hrvatskoj se murini tifus pojavljuje sporadično, pretežno u priobalnom području i na otocima, gdje ljudi žive u blizini štakora [9]. *R. conorii* uzrokuje mediteransku pjegavu groznicu (MPG) (kenijski krpeljni tifus, izraelski krpeljni tifus, Astrakhanska groznica). MPG je najrasprostranjenija rikecizioza. Javlja se u svim mediteranskim i drugim suptropskim zemljama. Glavni domaćin *R. conorii* je pas, a vektor smeđi pseći krpelj *Rhiphicephalus sanguineus* [12, 13]. U Hrvatskoj je MPG endemijska u priobalnom području i na otocima.

R. akari uzrokuje rikecijske boginje. Rezervoar je sivi kućni miš, a vektor mišja grinja (*Allodermanyssus sanguineus*). Javlja se u urbanim sredinama, većinom na području Sjedinjenih Američkih Država. U Hrvatskoj je ova rikecija do sada dokazana u jednog bolesnika [8].

Dijagnostika rikecizioza provodi se izravnim i neizravnim metodama. Izolacija rikecija moguća je iz krvi uzete u ranoj fazi bolesti (prije početka antimikrobne terapije) u raznim vrstama staničnih kultura (Vero, L-929, HEL, MRC5), žumanjčanoj vrećici oplođenog kokošjeg jajeta te pokusnim životinjama (testisi zamorca) [14]. Rikecije se mogu dokazati u bioptičkom uzorku kožne lezije pomoću protutijela obilježenih fluorescentnom bojom (DFA) ili enzimom. PCR metodom rikecije se mogu dokazati u krvi, leukocitno-trombocitnom sloju stvorenom iznad koncentriranih eritrocita ("buffy coat"), plazmi te bioptičkom uzorku kožne promjene [15].

Dijagnostika rikecizioza najčešće se postavlja serološkim metodama. Protutijela se stvaraju nešto sporije, obično u drugom tjednu bolesti. Weil-Felixova reakcija aglutinacije nastaje zbog križno reaktivnih epitopa u lipopolisaharidu rikecija s antigenima sojeva proteusa (OX-2 i OX-19 *P. vulgaris* te OX-K *P. mirabilis*). Aglutinacijska protutijela pretežno su klase IgM, a mogu se dokazati 5–10 dana nakon pojave simptoma bolesti. Nedostatak ovog testa je niska osjetljivost i specifičnost za rikecije zbog čega je danas zamijenjen specifičnijim meto-

dama [16]. Test mikro-imunofluorescencije (mikro-IF) je referentna serološka metoda za dijagnostiku rikecizioza, čija osjetljivost i specifičnost iznosi >97 % odnosno >99 % [1]. Ovim je testom moguće detektirati IgM i IgG protutijela. Dijagnostičkim se smatra titar ≥ 40 . Kod MPG, titar ≥ 40 detektira se u oko 46 % bolesnika između 5.–9. dana, 90 % između 20.–29. dana te svih bolesnika nakon 30. dana od početka bolesti. Oko 50 % oboljelih od murinog tifusa razvija dijagnostički značajan titar protutijela krajem prvog tjedna bolesti, a gotovo svi oboljeli nakon 15 dana [17]. Imunoenzimski test (EIA) također razlikuje IgM i IgG protutijela, ali je slabije osjetljivosti od IF testa (npr. osjetljivost i specifičnost dot EIA testa za detekciju murinog tifusa iznosi 89 % odnosno 91 %) [18]. Western blot test se koristi za potvrdu serološke reaktivnosti dobivene prethodno spomenutim testovima [16].

U radu prikazujemo rezultate serološkog testiranja na rikecije učinjenog u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo (HZJZ) tijekom četverogodišnjeg razdoblja.

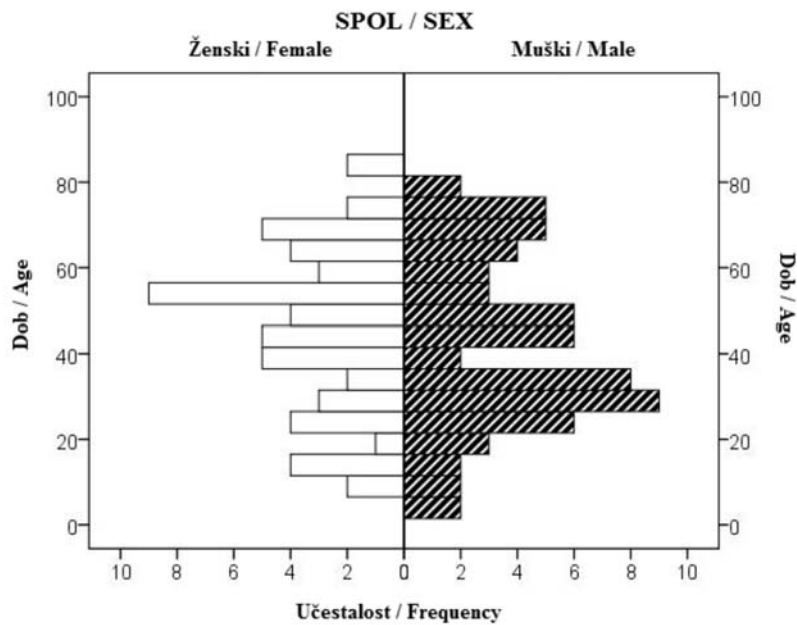
Ispitanici i metode

U razdoblju od 2009.–2012. godine u Odsjeku za virološku serologiju HZJZ pregledana su ukupno 124 uzorka seruma bolesnika na specifična IgM/IgG protutijela na *R. typhi* i *R. conorii*. Od toga je bilo 69 (55,6 %) muškaraca i 55 (44,4 %) žena u dobi od 5–86 godina (slika 1) s područja 12 hrvatskih županija (slika 2). Trideset i četiri bolesnika upućena su iz Klinike za infektivne bolesti (KZIB) "Dr. Fran Mihaljević". Najčešće uputne kliničke dijagnoze bile su nejasno febrilno stanje te febrilno stanje s osipom. Prisutnost specifičnih protutijela dokazana je metodom neizravne IF pomoću komercijalnih dijagnostičkih antigena (Rickettsia conorii-Spot IF/Rickettsia mooseri-Spot IF; BioMerieux, Marcy l'Etoile, France) te fluoresceinom-obilježenih anti-humanih imunoglobulina IgM/IgG (Fluoline M/G; BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Prije detekcije IgM protutijela serumi su apsorbirani s anti-humanim IgG (RF absorbent; BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Pozitivnim je rezultatom smatran IgM titar ≥ 40 te IgG titar ≥ 80 .

Prevalencije seropozitivnosti prikazane su s pripadajućim intervalima pouzdanosti, a razlika između skupina računata je Fischer exact testom pomoću paketa STATA/IC ver.11.2 (StataCorp LP).

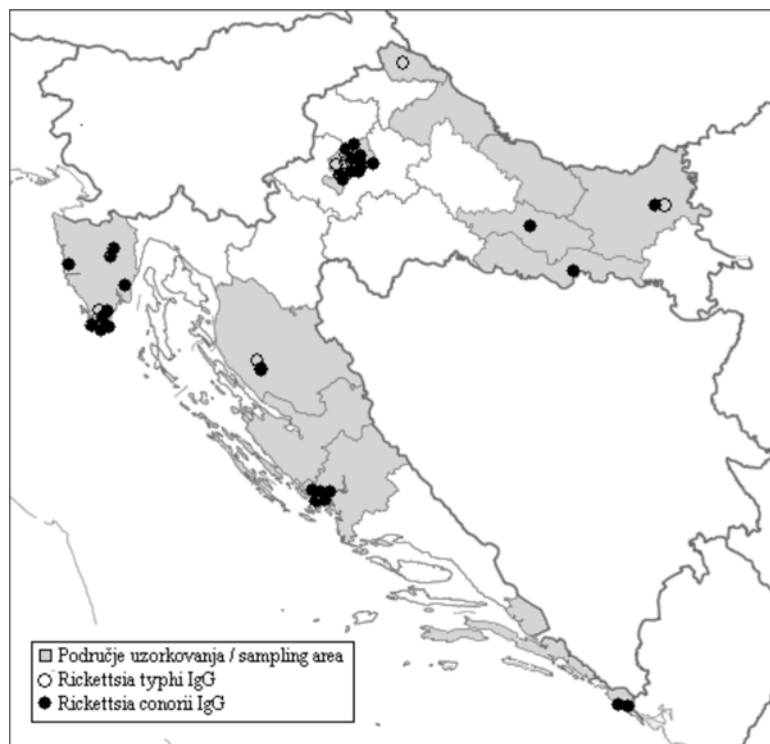
Rezultati

Tijekom ispitivanog razdoblja, na *R. typhi* IgG seropozitivnih bilo je 10 (8 %) ispitanika, a na *R. conorii* 36 (29 %) ispitanika. Od ukupnog broja seropozitivnih bolesnika, u njih pet (4 %) dokazana su IgG protutijela na obje rikecije. Seropozitivni bolesnici bili su iz četiri županije priobalnog



Slika 1. Raspodjela ispitanika prema dobi i spolu testiranih na specifična IgM/IgG protutijela na *R. typhi* i *R. conorii* u razdoblju od 2009.–2012. godine u Odsjeku za virološku serologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Figure 1. Distribution of participants according to age and sex tested for the presence of IgM/IgG antibodies to *R. typhi* and *R. conorii* from 2009 to 2012 in the Laboratory for viral serology, Croatian National Institute of Public Health



Slika 2. Raspodjela IgG seropozitivnih ispitanika po županijama testiranih na *R. typhi* i *R. conorii* u razdoblju od 2009.–2012. godine u Odsjeku za virološku serologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Figure 2. Geographical distribution of IgG seropositive participants tested for *R. typhi* and *R. conorii* from 2009 to 2012 in the Laboratory for viral serology, Croatian National Institute of Public Health

područja (Istarska, Ličko-Senjska, Šibensko-kninska i Dubrovačko-neretvanska županija), tri županije istočne Hrvatske (Požeško-slavonska, Brodsko-posavska i Osječko-baranjska županija) te područja grada Zagreba (slika 2). Seroprevalencija na *R. typhi* ($p = 0,509$) i *R. conorii* ($p = 0,432$) se nije značajno razlikovala između muškaraca i žena (tablica 1). Obzirom na dob, seroprevalencija na *R. conorii* se povećava s dobi od 7,1 % u osoba mlađih od 20 godina do 39,5 % u osoba u dobi od 41–60 godina, nakon čega se u osoba starijih od 60 godina smanjuje, međutim razlike nisu statistički značajne ($p = 0,148$). Također nema značajne razlike u prevalenciji na *R. typhi* između dobni skupina ($p = 0,149$) (tablica 1).

Tijekom testiranog razdoblja, akutna infekcija *R. typhi* nije dokazana niti u jednog bolesnika dok je akutna infekcija *R. conorii* (pozitivan nalaz IgM protutijela) dokazana u 11 bolesnika. Bolest se pojavljivala sezonski, od svibnja do studenog (slika 3).

Rasprava

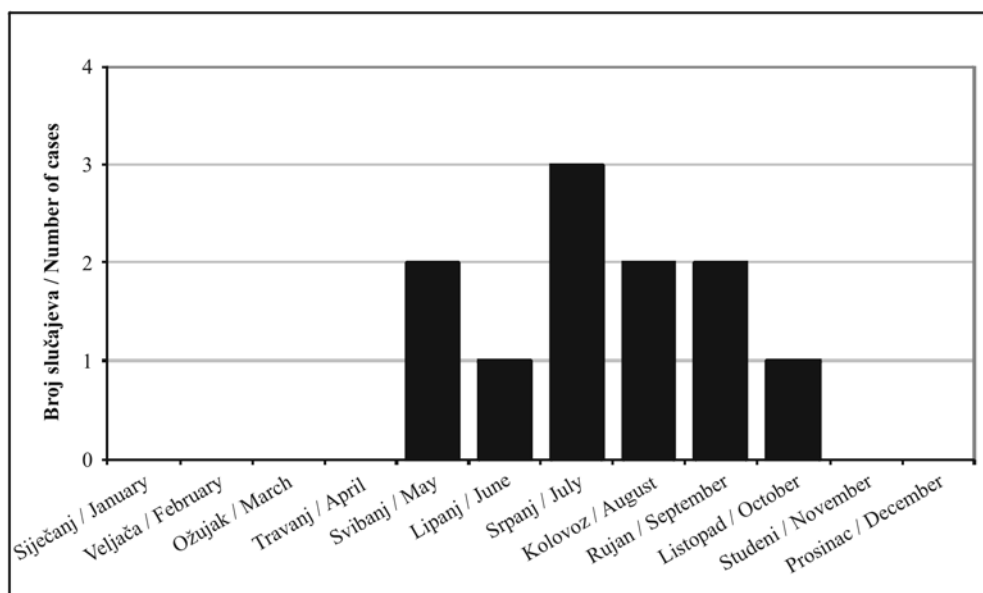
Najčešće rikecijske bolesti na području Hrvatske su MPG i murini tifus. Epidemijski se pjegavi tifus pojavljuje u lošim higijenskim uvjetima, vezanim uz pojavu ratova i prirodnih katastrofa koji omogućuju održavanje prijenosa *R. prowazekii* između čovjeka i prtene uši.

Tablica 1. Seroprevalencija na *Rickettsia typhi* i *Rickettsia conorii* obzirom na dob i spol u ispitanika testiranih u razdoblju od 2009.–2012. godine u Odsjeku za virološku serologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Table 1. Seroprevalence to *Rickettsia typhi* and *Rickettsia conorii* according to age and sex tested from 2009 to 2012 in the Laboratory for viral serology, Croatian National Institute of Public Health

Karakteristika / Characteristic	Testirani / tested N (%)	<i>Rickettsia typhi</i> IgG			<i>Rickettsia conorii</i> IgG		
		N(%)	95 %CI	P	N(%)	95 %CI	P
Spol/sex				0,509			0,432
Muški/Male	69 (55,6)	7 (10,2)	4,2–20,1		22 (31,9)	21,5–44,8	
Ženski/Female	55 (44,4)	3 (5,5)	1,1–15,1		14 (25,5)	14,7–39,0	
Dob (godine) /Age (yrs)				0,149			0,148
≤20	14 (11,4)	0 (0)	/–23,2*		1 (7,1)	0,2–33,9	
21–40	40 (32,5)	4 (10,0)	2,8–23,7		11 (27,5)	14,6–43,9	
41–60	38 (30,9)	1 (2,6)	0,1–13,8		15 (39,5)	24,0–56,6	
60+	31 (25,2)	5 (16,1)	5,5–33,7		9 (29,0)	14,2–48,0	

*one-sided confidence interval



Slika 3. Sezonska distribucija infekcija uzrokovanih *R. conorii* u ispitanika testiranih u razdoblju od 2009.–2012. godine u Odsjeku za virološku serologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Figure 3. Seasonal distribution of infections caused by *R. conorii* in participants tested from 2009 to 2012 in the Laboratory for viral serology, Croatian National Institute of Public Health

Od 2009.–2012. godine, akutni murini tifus nije dokazan niti u jednog bolesnika testiranog u HZJZ, dok je MPG dokazana u njih 11 sa sezonskim pojavljivanjem, od svibnja do studenog. Sezonsku pojavnost *R. conorii* pokazalo je i istraživanje na području Splitsko-dalmatinske županije gdje je u razdoblju od 1982.–2002. godine zabilježeno 126 slučajeva MPG te 57 slučajeva murinog tifusa. U tom je razdoblju MPG detektirana od srpnja do rujna (81,7 % slučajeva), a murini tifus tijekom čitave godine [6]. Iako se MPG češće pojavljuje tijekom proljeća i jeseni, zbog pojačane aktivnosti u prirodi i ljudi i krpelja, neki su radovi pokazali pojavnost rikecioza iz skupine pjegavih groznica tijekom cijele godine [19, 20].

Do sada je u Hrvatskoj provedeno nekoliko studija o seroprevalenciji rikecioza, većinom na području Dalmacije. Protutijela na *R. conorii* nađena su u 14,7 % stanovnika otoka Mljeta 1986. godine [21]. U razdoblju od 1989.–1993. godine na području sjeverne Dalmacije pregledano je ukupno 380 uzoraka seruma dobrovoljnih davatelja krvi i zdravih ispitanika. IgG seropozitivitet na *R. conorii* iznosio je 41,6 %, s visokom prevalencijom u svim dobnim skupinama [19]. Na području Splita je 2003. godine značajan titar IgG protutijela (≥ 40) na *R. conorii* dokazan u 43,7 % zdravih ispitanika. Osobe iz prigradskih i seoskih sredina bile su značajno češće seropozitivne (48,4 % odnosno 52,1 %) u odnosu na one iz gradskih područja (30,2 %) [22].

U našoj je skupini 29 % ispitanika bilo pozitivno na *R. conorii* te 8 % na *R. typhi*. Slične je podatke o seroprevalenciji na *R. typhi* pokazalo i istraživanje provedeno na području sjeverne Španjolske (7,5 %) [23], dok je u istraživanju na području južne Španjolske opisana prevalencija od 3,8 % [24]. U sjeverozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine zabilježena je vrlo visoka seroprevalencija na *R. typhi* od čak 37,7 % [25]. Rezultati seroprevalencije na *R. conorii* razlikuju se u mediteranskim zemljama: 3,9 % u Italiji [26]; 4,4 %–8,7 % u Španjolskoj [24, 27]; 7,9 % u Grčkoj [28]; 10 % u Izraelu [29] te 4,76–15,38 % u različitim područjima Srbije [30].

U naših ispitanika nije bilo značajne razlike u seropozitivitetu na *R. typhi* i *R. conorii* između muškaraca i žena, kao niti između dobnih skupina. Na području Splita također nije dokazana razlika u prevalenciji *R. conorii* obzirom na spol, ali je prevalencija bila značajno viša u osoba starijih od 40 godina [22]. Grčki autori dokazali su značajno višu seroprevalenciju MPG u muškaraca u odnosu na žene [28].

Većina seropozitivnih ispitanika iz priobalnih županija testiranih u HZJZ je bila s područja Istarske i Šibensko-kninske županije. Iako je Splitsko-dalmatinska županija već dokazano endemsko područje za rikecioze, uzorci s ovog područja nisu testirani u HZJZ budući se dijagnostika ovih bolesti vrši u područnom županijskom zavodu. Na području kontinentalne Hrvatske, najveći broj seropoziti-

vnih osoba je bio s područja grada Zagreba (većina upućena iz KZIB) što je za očekivati obzirom su pretraživani uzorci osoba sa kliničkom slikom sumnjivom na rikeciozu. Nalaz seropozitivnih osoba na području istočno-hrvatskih županija u skladu je s već ranije publiciranim istraživanjem [31].

U zaključku, prisutnost *R. typhi* i *R. conorii* dokazana je u priobalnom i kontinentalnom dijelu Hrvatske. Stoga u febrilnih bolesnika s osipom u širu diferencijalnu dijagnozu treba uključiti i rikecioze.

Literatura

- [1] Dobler G, Wölfel R. Typhus and other rickettsioses. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 348–54.
- [2] Gillespie JJ, Ammerman NC, Beier-Sexton, Sobral BS, Azad AF. Louse- and flea-borne rickettsioses: biological and genomic analyses. *Vet Res* 2009; 40: 12.
- [3] Blanco JR, Oteo JA. Rickettsiosis in Europe. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1078: 26–33.
- [4] Richards AL. Worldwide detection and identification of new and old rickettsiae and rickettsial diseases. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 64: 107–10.
- [5] Paddock CK. The science and fiction of emerging rickettsioses. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1166: 133–43.
- [6] Punda-Polić V, Lukšić B, Čapkun V. Epidemiological features of Mediterranean spotted fever, murine typhus, and Q fever in Split-Dalmatia County (Croatia), 1982–2002. *Epidemiol Infect* 2008; 136: 972–9.
- [7] Sardelić S, Fournier PE, Punda Polić V, i sur. First isolation of *Rickettsia conorii* from human blood in Croatia. *Croat Med J* 2003; 44: 630–4.
- [8] Radulovic S, Hui-min F, Morovic M, i sur. Isolation of *Rickettsia akari* from a patient in a region where Mediterranean spotted fever is endemic. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 216–20.
- [9] Mulić R, Mihajlović N, Ropac D, i sur. Epidemiological characteristics of rickettsial diseases in Croatia. *Mil Med* 2006; 171: 64–8.
- [10] Dželalija B, Lozančić T. Klimatske promjene i rikecioze. *Infektol Glasn* 2008; 28: 69–73.
- [11] Uchiyama T. Tropism and pathogenicity of rickettsiae. *Front Microbiol* 2012; 3: 230.
- [12] Rovey C, Brouqui P, Raoult D. Questions on Mediterranean spotted fever a century after its discovery. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1360–7.
- [13] Parola P, Socolovschi C, Jeanjean J, i sur. Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2(11): e338.
- [14] Vestris G, Rolain JM, Fournier PE, i sur. Seven years' experience of isolation of *Rickettsia* spp. from clinical specimens using the shell vial cell culture assay. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 990: 371–4.
- [15] Giulieri S, Jaton K, Cometta A, Trellu LT, Greub G. Development of a duplex real-time PCR for the detection of *Rickettsia* spp. and typhus group rickettsia in clinical samples. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 64: 92–7.
- [16] Ereemeeva ME, Balayeva NM, Raoult D. Serological response of patients suffering from primary and recrudescence typhus: compari-

- son of complement fixation reaction, Weil-Felix test, microimmunofluorescence, and immunoblotting. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994; 1: 318–24.
- [17] Walker DH, Bouyer DH. *Rickettsia* and *Orriestia*. U: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (ur.). *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press, 2011: 1001–11.
- [18] Kelly DJ, Chan CT, Paxton H, i sur. Comparative evaluation of a commercial enzyme immunoassay for the detection of human antibody to *Rickettsia typhi*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 356–60.
- [19] Dželalija B. Klinička, epidemiološka i ekološka obilježja mediteranske pjegave groznice u sjevernodalmatinskoj regiji. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1993. Disertacija.
- [20] De Sousa R, Luz T, Parreira T, Santos-Silva M, Bacellar F. Boutonneuse fever and climate variability. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1078: 162–9.
- [21] Punda V, Vesenjani-Hirjan J, Galinović-Weisglass M, Stepić J. Presence of rickettsiae on a Dalmatian island of Mljet. *Giorn Mal Infett Parassit* 1986; 38: 1197–200.
- [22] Punda-Polić V, Klišmanić Z, Čapkun V. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in the region of Split (southern Croatia). *Eur J Epidemiol* 2003; 18: 451–5.
- [23] Lledo L, Gegundez MI, Medina J, Gonzalez JV, Alamo R, Saz JV. Epidemiological study of *Rickettsia typhi* infection in two provinces of the north of Spain: analysis of sera from the general population and sheep. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 2005; 5: 157–61.
- [24] Bernabeu-Wittel M, del Toro MD, Noguera MM, i sur. Seroepidemiological study of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, and *Rickettsia conorii* infection among the population of southern Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 375–81.
- [25] Punda-Polić V, Leko-Grbic J, Radulovic S. Prevalence of antibodies to rickettsiae in the north-western part of Bosnia and Herzegovina. *Eur J Epidemiol* 1995; 11: 697–9.
- [26] Cinco M, Luzzati R, Mascioli M, Floris R, Brouqui P. Serological evidence of *Rickettsia* infections in forestry rangers in north-eastern Italy. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 493–5.
- [27] Bolanos-Rivero M, Santana-Rodriguez E, Angel-Moreno A, i sur. Seroprevalence of *Rickettsia typhi* and *Rickettsia conorii* infections in the Canary Islands (Spain). *Int J Infect Dis* 2011; 15:481–5.
- [28] Alexiou Daniel S, Manika K, Arvanitidou M, Antoniadis A. Prevalence of *Rickettsia conorii* and *Rickettsia typhi* infections in the population of northern Greece. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66: 76–9.
- [29] Harrus S, Lior Y, Ephros M, i sur. *Rickettsia conorii* in humans and dogs: a seroepidemiologic survey of two rural villages in Israel. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77: 133–5.
- [30] Samardžić S, Marinković T, Marinković D, i sur. Prevalence of antibodies to *Rickettsia* in different regions of Serbia. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 2008; 8: 219–24.
- [31] Topolovec J, Puntarić D, Antolović-Požgain A, i sur. Serologically detected "new" tick-borne zoonoses in eastern Croatia. *Croat Med J* 2003; 44: 626–9.